

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ALKALOIDSTOFFWECHSEL IN DATURAWURZELN—III.*

ACETYL TROPIN IM ALKALOIDSPEKTRUM VON JUNGEM WURZELGEWEBE

A. ROMEIKE und O. AURICH

Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der
Wissenschaften zu Berlin DDR

(Received 28 February 1968)

Abstract—Tropine- $[^{14}\text{C}]\text{H}_3$ and sodium acetate- $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ respectively were fed to excised root cultures of *Datura innoxia* Mill. In both cases a high rate of radioactivity was incorporated into an alkaloid identified with acetyltropine. Feeding experiments with acetyltropine suggest its degradation in aerial parts and roots of *Datura* species.

DIE Gattung *Datura*, welche Alkaloide vorwiegend in der Wurzel bildet, zeigt ein sehr reichhaltiges Spektrum der Wurzelalkaloide, das erhebliche qualitative Unterschiede gegenüber dem der oberirdischen Organe aufweist. Einige Dragendorff-positive Substanzen sind nur in der Wurzel nachweisbar, wie z.B. das Cuskygrin; schon im Keimlingsstadium fanden wir die Kotyledonen frei von Cuskygrin, während Hypokotyl und Wurzel relativ große Mengen enthielten. Es erschien uns lohnend, uns näher mit solchen auf die Wurzel beschränkten Alkaloiden zu beschäftigen und zu versuchen, ihre Rolle im Alkaloidstoffwechsel der Pflanze zu erhellen.

Kaczkowski *et al.*^{1,2} berichteten über eine von ihnen als Alkaloid X bezeichnete Base aus Wurzelkulturen von *D. metel* L., die wir nach papierchromatographischen Vergleichen auch in Keimlingswurzeln und isolierten Wurzelkulturen anderer *Datura*-Arten fanden.³ Andrzejczuk und Kaczkowski¹ zeigten, daß der Gehalt an Alkaloid X in Wurzelkulturen von *D. metel* durch Zugabe von Tropin außerordentlich gesteigert wird und die gleichzeitige Zunahme von Hyoscyamin und Scopolamin prozentual wesentlich übertrifft. Fütterungsversuche mit Putrescin- $[1,4\text{-}^{14}\text{C}]$ an Wurzelkulturen von *D. metel* ergaben einen Einbau der radioaktiven Vorstufe in Hyoscyamin, Scopolamin und Alkaloid X, und zwar war die spezifische Aktivität des unbekanntes Alkaloids nur wenig geringer als die des Hyoscyamins und um ein vielfaches höher als die des Scopolamins.² Auch nach entsprechenden Versuchen mit ^{14}C -Acetat zeigte Alkaloid X starke Radioaktivität.⁴ Essigsäure wird in den Tropanring eingebaut, vor allem in die Kohlenstoffatome 2,3 und 4.^{5,6} Kaczkowski *et al.* vermuteten, daß das unbekanntes Alkaloid eine Vorstufe des Hyoscyamins¹ oder eine Zwischenstufe bei der Umwandlung des Hyoscyamins in Scopolamin sei.²

* Teil I und II siehe Ref. 7 und 8.

¹ J. ANDRZEJCZUK und J. KACZKOWSKI, *Acta Soc. Botan. Polon.* **31**, 461 (1962).

² J. KACZKOWSKI und L. MARION, *Can. J. Chem.* **41**, 2651 (1963).

³ Persönliche Diskussion mit J. KACZKOWSKI (1960).

⁴ J. KACZKOWSKI, persönliche Mitteilung (1960).

⁵ J. KACZKOWSKI, H. R. SCHÜTTE und K. MOTHES, *Naturwissenschaften* **47**, 304 (1960).

⁶ J. KACZKOWSKI, H. R. SCHÜTTE und K. MOTHES, *Biochim. Biophys. Acta* **46**, 588 (1961).

ERGEBNISSE

Die Fütterungsversuche von Kaczowski *et al.* wurden von uns mit Tropin-[$^{14}\text{C}\text{H}_3$]⁷ und Natriumacetat-[2- ^{14}C]⁸ wiederholt. Als Pflanzenmaterial benutzten wir isolierte Wurzelkulturen von *Datura innoxia*, die von dem uns zur Verfügung stehenden Saatgut verschiedener *Datura*-Arten die beste Keimfähigkeit hatte und in der Alkaloidführung der *D. metel* sehr ähnlich ist.

Tropin-Versuch

Das alkalisierte Wurzelmaterial wurde mit Chloroform und anschließend mit Methanol extrahiert, die mit Natriumcarbonat gesättigte Nährlösung mit Hexan perforiert und nochmals mit *n*-Butanol ausgeschüttelt. Der Chloroformextrakt enthielt 18%, der Methanol-extrakt 4%, die Hexanphase 2% und die Butanolphase 26% der gefütterten Aktivität. Wesentliche Mengen an Umsetzungsprodukten des Tropins waren nur im Chloroform- und im Hexanextrakt nachweisbar, während der Methanol- und der Butanol-extrakt fast ausschließlich unverändertes Tropin enthielten. Ein Kölbchen mit aktivem Tropin und steriler Nährlösung, das unter gleichen Bedingungen gehalten wurde wie die Versuchskulturen, diente als Blindprobe, um die Möglichkeit einer außerhalb des Wurzelgewebes stattfindenden Umsetzung zu überprüfen. Hier lag das Tropin am Versuchsende unverändert vor.

Autoradiogramme von Dünnschicht- und Papierchromatogrammen des Chloroform-extrakts zeigten sehr starke Schwärzung durch nicht umgesetztes Tropin und durch Alkaloid X, wesentlich geringere durch Hyoscyamin und sehr geringe durch Scopolamin und einige nicht identifizierte Substanzen. Der Hexanextrakt der Nährlösung enthielt außer Tropin stark aktives Alkaloid X und außerdem eine nicht identifizierte Substanz mittlerer Aktivität. Die Alkaloide wurden mit Hilfe der Papierchromatographie getrennt und nach Detektion durch Autoradiographie mit 1%iger Essigsäure eluiert. Die Ergebnisse der Messung der Impulsraten gibt Tabelle 1 wieder.

TABELLE 1. GESAMTIMPULSRATEN DER ALKALOIDE AUS ISOLIERTEN WURZELKULTUREN VON *Datura innoxia* NACH ZUFUHR VON TROPIN-[$^{14}\text{C}\text{H}_3$]

Alkaloid	Gesamtimpulsrate $\times 10^{-5}$
Tropin	56,00
Alkaloid X	10,10
Hyoscyamin	1,35
Scopolamin	0,40

Aus Chloroformextrakt der Wurzeln und Hexanextrakt der Nährlösung.

Acetat-Versuch

Das alkalisierte Wurzelmaterial wurde mit Chloroform extrahiert. Die Autoradiogramme der Chromatogramme zeigten sehr starke Schwärzung durch Tropin und Alkaloid X und weniger starke durch Hyoscyamin. Die Aktivität des Scopolamins konnte nicht bestimmt werden, da es im Chromatogramm durch Lipide überlagert war, die sehr viel Acetat eingebaut hatten. Die Ergebnisse der Messung der Impulsraten zeigt Tabelle 2.

⁷ A. ROMEIKE und O. AURICH, *Pharmazie* **22**, 603 (1967).

⁸ A. ROMEIKE und O. AURICH, *Pharmazie* **22**, 604 (1967).

TABELLE 2. GESAMTIMPULSRATEN DER DURCH CHLOROFORMEXTRAKTION AUS ISOLIERTEN WURZELKULTUREN VON *Datura innoxia* NACH FÜTTERUNG MIT NATRIUMACETAT-[2-¹⁴C] ERHALTENEN ALKALOIDE

Alkaloid	Gesamtimpulsrate × 10 ⁻⁵
Tropin	3,40
Alkaloid X	1,70
Hyoscyamin	0,68

Identifizierung von Alkaloid X

Die Resultate beider Fütterungsversuche deuteten darauf hin, daß Alkaloid X entweder ein Alkamin mit Tropangerüst oder ein Tropinester sei. Da die Alkamine vom Tropantyp im allgemeinen verhältnismäßig hydrophil sind, Alkaloid X sich jedoch sehr leicht mit organischen Lösungsmitteln aus alkalischer wässriger Phase ausschütteln läßt, vermuteten wir, daß eine Veresterung des zugesetzten Tropins in den Wurzeln stattgefunden habe. Chromatographische Vergleiche zeigten, daß Alkaloid X mit keinem der aus *Datura*-Arten bekannten Tiglinsäureester* identisch ist. Da Evans und Major⁹ kürzlich Acetyltropin und 3 α -Tigloyloxy-6 β -acetoxytropan in Blättern von *D. sanguinea* Ruiz et Pav. nachgewiesen haben, stellten wir als Testsubstanz Acetyltropin nach Barger *et al.*¹⁰ her. Bei Anwendung verschiedener papier- und dünnschichtchromatographischer Methoden deckten sich die Flecke des Acetyltropins genau mit den durch Alkaloid X geschwärzten Zonen der Autoradiogramme. Daraufhin wurde das aus dem Tropin-Fütterungsversuch gewonnene radioaktive Alkaloid X mit inaktivem Acetyltropin verdünnt, als Pikrat gefällt und bis zur konstanten spezifischen Aktivität umkristallisiert. Damit ist der Beweis erbracht, daß in Wurzeln von *D. innoxia* Tropin mit Essigsäure verestert wird.

Hieraus ergab sich nun, daß die Aktivität des im Acetat-Fütterungsversuch gebildeten Acetyltropins z.T. aus der Säurekomponente stammt. Um die Mengen des während des Versuchs gebildeten aktiven Hyoscyamins und Acetyltropins miteinander vergleichen zu können, hydrolysierten wir beide Alkaloide. Die Gesamtimpulsrate des aus Hyoscyamin in Freiheit gesetzten Tropins betrug $0,54 \times 10^5$, die des aus Acetyltropin erhaltenen Tropins $0,83 \times 10^5$, was auf die Bildung der beiden Ester in etwa gleichen Mengen schließen läßt.

Fütterungsversuche mit Acetyltropin

Papier- und dünnschichtchromatographische Analysen hatten ergeben, daß Acetyltropin in Wurzel und Hypokotyl von Keimlingen verschiedener *Datura*-Arten vorkommt. Mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie isolierten wir aus Wurzeln von etwa 3 Wochen alter *D. stramonium* einige mg Acetyltropin und bestätigten seine Identität durch sein i.r.-Spektrum. Während Acetyltropin in etwas älteren Pflänzchen mengenmäßig gegenüber den Hauptalkaloiden zurücktritt, ist sein Anteil in Wurzeln frisch gekeimter Sämlinge erheblich (Abb.2). Da Acetyltropin in den oberirdischen Organen der von uns untersuchten *Datura*-Arten fehlt und sein Gehalt in der Wurzel im Laufe der Entwicklung abnimmt, bestehen die Möglichkeiten eines Abbaus oder einer sekundären Umwandlung. Versuche mit Isotopenmarkiertem Acetyltropin können hierfür weitere Anhaltspunkte geben. Vorläufig führten

* Für Testsubstanzen danken wir auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. W. C. Evans, Nottingham, bestens.

⁹ W. C. EVANS und V. A. MAJOR, *J. Chem. Soc. (C)* 1621 (1966).

¹⁰ G. BARGER, W. F. MARTIN und W. MITCHELL, *J. Chem. Soc.* 1820 (1937).

wir zur groben Orientierung Fütterungsversuche mit dem inaktiven Alkaloid an oberirdischen Organen und Wurzelkulturen von *Daturen* durch. Zweige der alkaloidfreien Pfropfkombinationen *D. innoxia* resp. *D. ferox* auf *Cyphomandra betacea* wurden in wässrige Lösung von Acetyltropin-Hydrobromid eingestellt. Nach 6tägiger Versuchsdauer ergab die Analyse des Pflanzenmaterials, daß außer Spuren einer Dragendorff-positiven Substanz mit sehr kleinem R_f -Wert nur Acetyltropin enthalten war. Von 1,9 mg, die jeweils verabfolgt wurden, waren jedoch nur noch Mengen von etwa 100 μg nachweisbar. Auch Fütterungsversuche an Wurzelkulturen von *D. innoxia* ergaben, daß die verabfolgte Menge von 7 mg resp. 4,9 mg Acetyltropin auf 350 resp. 150 μg gesunken war. Die Chromatogramme der Versuchskulturen und der Kontrollen zeigten, abgesehen vom zusätzlichen Acetyltropin, keine wesentlichen Unterschiede des Alkaloidspektrums.

DISKUSSION

Von dem im beschriebenen Versuch an *Datura innoxia*-Wurzelkulturen verabfolgten radioaktiven Tropin wurden 107 μg in Acetyltropin, 14 μg in Hyoscyamin und 4,2 μg in Scopolamin eingebaut. Andrzejczuk und Kaczkowski¹ fanden bei Gabe von inaktivem Tropin an Wurzelkulturen von *D. metel* eine Zunahme des Alkaloids X von durchschnittlich 335% gegenüber einer Steigerung des Hyoscyamin- und Scopolamingehalts um durchschnittlich 30 resp. 10%. Diese Resultate stimmen gut miteinander überein und zeigen, daß ein verhältnismäßig hoher Anteil des Tropins mit Essigsäure verestert wird.

Im Fütterungsversuch mit ¹⁴C-Acetat ist das Verhältnis der Radioaktivität des Acetyltropins zu der des Hyoscyamins wesentlich niedriger als bei Gabe von ¹⁴C-Tropin. Während der Versuchsdauer wurde aktives Acetat in Tropin eingebaut; davon lagen am Versuchsende den Gesamtpulsraten von $3,4 \times 10^5$, $0,83 \times 10^5$ und $0,54 \times 10^5$ entsprechende Mengen jeweils unverestert, mit Essigsäure und mit Tropasäure verestert vor. Mit hoher Wahrscheinlichkeit ist das freie Tropin primär gebildet, wenn auch seine sekundäre Entstehung durch Hydrolyse in der Pflanze nicht ausgeschlossen werden kann.

Eine ungefähre Abschätzung der Mengenverhältnisse der einzelnen Alkaloide in normalen Keimlingswurzeln und Wurzelkulturen gestatten die auf Abb.1 und 2 wiedergegebenen Chromatogramme.

Die verhältnismäßig hohe Zunahme des Acetyltropins bei Troppingabe ist möglicherweise auf den Überschuß an Tropin zurückzuführen. Es könnte sich um eine Entgiftungsreaktion handeln, wobei die reichlich in der Pflanze zur Verfügung stehende Essigsäure zur Veresterung des Alkamins benutzt wird. Andere Säuren, z.B. Tropasäure, sind vielleicht nicht in genügender Menge vorhanden. Bei allen Fütterungsversuchen mit potentiellen Vorstufen ergibt sich zwangsläufig die Situation, daß eine Substanz zusätzlich appliziert wird. Die Pflanze kann anders darauf reagieren, als sie es normalerweise täte.

Eine andere Deutung der Ergebnisse des Fütterungsexperiments mit ¹⁴C-Tropin ergibt sich aus den Vorversuchen über die weitere Umsetzung des Acetyltropins in der Pflanze; augenscheinlich wird es sowohl in den oberirdischen Teilen als auch in der Wurzel von *D. innoxia* rasch abgebaut. Demnach könnte die Veresterung mit Essigsäure die erste Umsetzungsreaktion des Tropins sein, der sofort eine weitere Umwandlung folgt. Normalerweise würden dann größere Mengen Acetyltropin nicht in Erscheinung treten; jedoch unter unseren Versuchsbedingungen ist noch reichlich Tropin in der Nährlösung enthalten, so daß die Neubildung den Abbau überwiegt. Über die Umsetzung des Acetyltropins in der

Pflanze sind Isotopen-Versuche vorgesehen. Die verhältnismäßig niedrige Aktivität des Scopolamins im Tropin-Versuch ist mit seiner sekundären Bildung aus Hyoscyamin zu erklären.

Kaczkowski *et al.* führten Fütterungsexperimente mit ^{14}C -Acetat^{5,6} und mit ^{14}C -Putrescin² an Wurzelkulturen von *D. metel* durch. In keinem der beiden Fälle wird die Bildung von freiem ^{14}C -Tropin erwähnt, während wir bei ^{14}C -Acetatgabe den höchsten Einbau beim freien Tropin fanden. Auch Chromatogramme der Wurzeln von *Datura*-Keimlingen und von Wurzelkulturen zeigen erhebliche Mengen Tropin an (Abb. 1 und 2). Die Erklärung hierfür ist wahrscheinlich in Unterschieden bei der Methodik zu suchen. Wir benutzten für die chromatographische Analyse den Chloroformextrakt des alkalisierten Pflanzenmaterials ohne weitere Reinigung. Kaczkowski *et al.* nahmen ein Reinigungsverfahren des Chloroformextrakts vor durch Ausschütteln mit wässriger saurer Phase, Alkalisieren und nochmaliges Ausschütteln mit Chloroform. Tropin bleibt dabei zum großen Teil in der wässrigen Phase zurück.

Radioaktives Tropin wurde von *Datura*-Wurzelkulturen im wesentlichen in Acetyltropin, Hyoscyamin und Scopolamin eingebaut. Markierte Abbauprodukte waren weder im Chloroform- noch im Methanolextrakt nachweisbar. Allerdings wären nach einer Entmethylierung des Tropin- $^{14}\text{CH}_3$ weitere Umsetzungsprodukte nicht mehr durch Autoradiographie erkennbar.

METHODEN

Material

An ca. 5 Wochen alten isolierten Wurzelkulturen (Methodik siehe Ref. 6 und 11) von *Datura innoxia* Mill. wurden Spitzenpassagen durchgeführt unter Verwendung der Nährlösung von Robbins und Schmidt.¹² Für Fütterungsversuche an oberirdischen Organen dienten Zweige der Pfropfkombinationen *D. innoxia* Mill. resp. *D. ferox* L. auf *Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendtn.

Tropin- $^{14}\text{CH}_3$ synthetisierten wir nach Werner *et al.*,¹³ Natriumacetat- ^{14}C war von Isocommerz G.m.b.H., Berlin-Buch, bezogen.

Zur Darstellung des Acetyltropins diente das Verfahren von Barger *et al.*¹⁰ Das aus schwach essigsaurer wässriger Lösung mit gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung gefällte Pikrat wurde dann—in wenigen ml 70%igem Methanol gelöst—auf eine mit Bromid-Ionen beladene Austauschersäule gebracht (Dowex, Typ 1, Vernetzung 8, 100–200 mesh) und das Hydrobromid mit 70%igem Methanol eluiert. Nach Vertreiben des Lösungsmittels i. Vak. kristallisierte das Salz aus Methanol/Äther.

Fütterungsversuche

Das radioaktive Tropin resp. Acetat wurden durch eine G 5-Fritte filtriert und den frisch isolierten Wurzelspitzen, die sich in 100 ml-Erlenmeyerkölbchen mit 30 ml steriler Nährlösung befanden, zugesetzt. 26 Kölbchen erhielten 9,3 mg Tropin- $^{14}\text{CH}_3$ der spezifischen Aktivität $1,9 \text{ mC mMol}^{-1}$, entsprechend einer Gesamtpulsrate von $0,88 \times 10^8 \text{ Imp min}^{-1}$ (Methandurchflußzähler FH 51, Fa. Frieseke und Höpfner). Zu 6 Kölbchen mit Wurzelpassagen wurden 2,6 mg Natriumacetat- ^{14}C der spezifischen Aktivität $4,3 \text{ mC}$

¹¹ A. ROMEIKE, *Flora* **148**, 306 (1959).

¹² W. J. ROBBINS und M. A. BARTLEY-SCHMIDT, *Botan. Gaz.* **99**, 671 (1938).

¹³ G. WERNER, H. SCHMIDT und E. KASSNER, *Liebigs Ann. Chem.* **644**, 109 (1961).

mMol^{-1} (Gesamtimpulsrate $0,95 \times 10^8 \text{ Imp min}^{-1}$) zugesetzt. Die Versuchsdauer betrug 6 Tage, während dieser Zeit standen die Kulturen bei 30° im Brutschrank. Vom Tropin-Versuch ernteten wir 121 mg Wurzeln (Trockengew.) und vom Acetat-Versuch 38 mg. Für die Versuche mit inaktivem Acetyltropin benutzten wir 11 Tage alte Wurzelpassagen. In zwei Parallelversuchen erhielten je 15 Kölbchen 7 mg resp. 10 mg des Hydrobromids, entsprechend 4,9 resp. 7 mg Base. Das von den Versuchskulturen geerntete Trockenmaterial wog 145 resp. 156 mg. Je 15 Kölbchen mit unter gleichen Bedingungen gehaltenen Kulturen dienten als Kontrollen, von denen 160 resp. 166 mg Wurzeln geerntet wurden. Versuchsdauer und -bedingungen waren die gleichen wie oben angegeben.

Oberirdischen Organen applizierten wir Acetyltropin in der Weise, daß abgeschnittene Zweige in eine Lösung von je 2,7 mg des Hydrobromids (1,9 mg Base) in einigen ml Wasser gesetzt wurden. Nach wenigen Stunden war die Flüssigkeit aufgenommen, so daß eine bakterielle Zersetzung des Alkaloids vermieden werden konnte. Dann verblieben die Zweige noch 6 Tage in Wasser eingestellt.

Extraktion des Pflanzenmaterials

Die bei 60° getrockneten Wurzeln wurden im Mörser mit Na_2CO_3 verrieben und im Soxhlet-Apparat 12 Stunden lang mit Chloroform und nochmals während 12 Stunden mit Methanol extrahiert. Um die in der Nährlösung enthaltenen Alkaloide zu gewinnen, perforierten wir die mit Na_2CO_3 gesättigte Lösung 12 Stunden lang mit Hexan und schüttelten sie anschließend noch mehrmals mit n-Butanol aus. Die erhaltenen Extrakte dienten ohne weitere Reinigung zur chromatographischen Analyse, und zwar genügte bei den Versuchen mit radioaktivem Material für ein Rundfilterchromatogramm eine 1 mg Trockengewicht der Wurzeln entsprechende Menge, für ein Dünnschichtchromatogramm 1/10 davon. Die Extraktion oberirdischer Pflanzenteile erfolgte wie bereits an anderer Stelle beschrieben.¹⁴

Papier- und Dünnschichtchromatographie

Für die papierchromatographische Analyse benutzten wir zwei früher mitgeteilte Methoden;^{15,16} zur Dünnschichtchromatographie diente Aluminiumoxyd (VEB Chemiewerk Greiz-Dölau) und als Laufmittel Benzol:Diäthyläther:Methanol:Ammoniak (25%ig) im Volumenverhältnis 75:75:6:0,7. Die Detektion erfolgte mit Dragendorff-Reagens, modifiziert nach Munier, und durch Autoradiographie (ORWO Autoradiographie-Film AF 66). Die in 1 mg Pflanzenmaterial enthaltenen Alkaloidmengen sind so gering, daß sie nicht mehr mit Dragendorff-Reagens nachweisbar sind. Deshalb wurden zusammen mit dem Analysenmaterial Testalkaloide aufgetragen. Diese Methode gestattet es, eindeutig festzustellen, welchen authentischen Alkaloiden die geschwärzten Zonen des Autoradiogramms entsprechen.

Messung der Impulsraten

Um die Gesamtimpulsraten der einzelnen Alkaloide zu bestimmen, wurden die Extrakte auf je 20 Rundfilterchromatogrammen aufgetrennt, die radioaktiven Zonen ausgeschnitten und mehrmals 10 Stunden lang mit 1%iger Essigsäure mazeriert. Da die Acetate der flüchtigen Basen (Tropin, Acetyltropin) auch flüchtig sind, setzten wir den Meßproben einen Tropfen wässrige Pikrinsäurelösung zu. Alle Messungen wurden mit einem Methandurchflußzähler FH 51 der Fa. Frieseke und Höpfner durchgeführt.

¹⁴ O. AURICH, G. OSSKE, K. PUFAHL, A. ROMEIKE, H. RÖNSCH, K. SCHREIBER und G. SEMBDNER, *Kulturpflanze* **13**, 621 (1965).

¹⁵ A. ROMEIKE, *Pharmazie* **7**, 496 (1952).

¹⁶ A. ROMEIKE, *Flora* **143**, 67 (1956).

Identitätsnachweis für Acetyltropin

Die dem R_f -Wert von Acetyltropin entsprechenden Zonen der Chromatogramme des Chloroform- und des Hexanextrakts aus Wurzeln resp. Nährlösung des ^{14}C -Tropin-Fütterungsversuchs wurden mit 1%iger Essigsäure eluiert, das Eluat i.Vak. auf ein kleines Volumen eingengt, mit 55,5 mg inaktivem Acetyltropin versetzt und mit gesättigter wässriger Pikrinsäurelösung ausgefällt. Das Pikrat wurde bis zur konstanten spezifischen Impulsrate umkristallisiert. (Tab.3).

TABELLE 3. UMKRISTALLISATION DES AUS DEM AKTIVEN ACETYLTROPIN DES ^{14}C -TROPIN-VERSUCHS UND INAKTIVEM ACETYLTROPIN HERGESTELLTEN PIKRATS BIS ZUR KONSTANTEN SPEZIFISCHEN IMPULSRATE

Kristallisationen (Einwaage in mg/ml)	Imp $\text{min}^{-1} \text{mMol}^{-1}$ $\times 10^{-6}$
1. (1,12)	3,05
2. (1,72)	2,85
3. (1,59)	2,77
4. (1,57)	2,86

Acetyltropin aus Datura-Keimlingen

95 g Wurzeln von 3 Wochen alten *D. stramonium*-Keimlingen wurden mit Natriumcarbonat verrieben und 12 Stunden im Soxhlet-Apparat mit Chloroform extrahiert. Zur Auftrennung der Alkaloide diente die oben beschriebene dünnschichtchromatographische Methode auf mikropräparativen Maßstab modifiziert. Aus den dem R_f -Wert von Acetyltropin entsprechenden Zonen wurde das Alkaloid mit 1%iger Essigsäure eluiert, das Eluat mit Natriumcarbonat alkalisiert und mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach Vertreiben des Lösungsmittels i.Vak. konnte die Substanz durch ihr i.r.-Spektrum (in Chloroform) mit Acetyltropin identifiziert werden. (Zeiss-Zweistrahlspektralphotometer UR 10).

Hydrolyse

Das aus dem ^{14}C -Acetat-Versuch gewonnene Hyoscyamin und Acetyltropin wurden der Hydrolyse unterworfen. Zu den i.Vak. eingengten essigsauren Eluaten aus den Papierchromatogrammen wurden je 50 mg inaktives Hyoscyamin-resp. Acetyltropin-Hydrobromid gegeben und 2 Stunden lang mit 30%iger Kalilauge am Rückfluß gekocht. Das freie Tropin läßt sich aus dem Reaktionsgemisch durch 20stündige Perforation mit Hexan eluieren.