

## Synthesen in der Carotinoid-Reihe

### 19. Mitteilung<sup>1</sup>: Physikalische Eigenschaften der Carotine

Von U. SCHWIETER, H. R. BOLLIGER, L. H. CHOPARD-DIT-JEAN, G. ENGLERT, M. KOFLER, A. KÖNIG,  
C. V. PLANTA, R. RÜEGG, W. VETTER und O. ISLER

F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel

Im Rahmen unserer Arbeiten auf dem Carotingebiet haben wir vor kurzem  $\delta$ - (4) und  $\varepsilon$ -Carotin (5) hergestellt<sup>2</sup>. Damit standen uns zusammen mit  $\alpha$ - (1)<sup>3</sup>,  $\beta$ - (2)<sup>3,4</sup> und  $\gamma$ -Carotin (3)<sup>3</sup> sowie Lycopin (6)<sup>5</sup> alle bekannten natürlich vorkommenden Carotine der Summenformel  $C_{40}H_{56}$  zur Verfügung (Tabelle 1). Im folgenden werden die physikalischen Eigenschaften dieser Verbindungen verglichen.

#### 1. Massenspektren

Infolge der geringen Flüchtigkeit der Carotine ist es nötig, die Proben zur Aufnahme der Massenspektren direkt in die Ionenquelle des Spektrometers zu verdampfen<sup>6,7</sup>. Die zur Erreichung des erforderlichen

Dampfdrucks nötigen Temperaturen liegen bei 290 bis 330°C.

Da es unter diesen drastischen Verdampfungsbedingungen schwierig ist, bei genau konstantem Proben- druck zu messen, und überdies die Temperatur der Ionenquelle nicht genau kontrolliert werden kann, ist es nicht möglich, gut reproduzierbare Spektren zu erhalten. Den in den Abbildungen 1 und 2 gezeigten Peak- Intensitäten kommt daher nur qualitative Bedeutung zu ( $\sim \pm 20\%$ ). Während diese Ungenauigkeit für bestimmte Verwendungszwecke der Massenspektren, wie die quantitative Analyse von Gemischen oder Identitäts- beweise durch Vergleich von Spektren, sich sehr störend auswirken würde, ist sie für die folgende Diskussion ohne Bedeutung, da bei der Interpretation der Spektren nur auf sehr große Intensitätsunterschiede eingegangen wird.

Es sollen nun gewisse Regeln über das Verhalten der Carotine nach Elektronenbeschuss in der Gasphase beschrieben werden, die sich aus den Massenspektren ergeben. In Abb. 1 ist das Massenspektrum von  $\beta$ -Carotin wiedergegeben. Abb. 2 zeigt die oberen, für die folgende Diskussion wichtigen Massenbereiche aller sechs Iso- meren.

In allen sechs Fällen treten bei  $m/e$  536, dem (mono- isotopen) Molekulargewicht der Carotine, intensive Peaks auf. Die hohe Intensität dieser Peaks ist einerseits durch

<sup>1</sup> 18. Mitteilung dieser Reihe: *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 994.

<sup>2</sup> B. C. L. WEEDON und U. SCHWIETER. Über diese Arbeiten wird an anderer Stelle berichtet werden.

<sup>3</sup> R. RÜEGG, U. SCHWIETER, G. RYSER, P. SCHUDEL und O. ISLER, *Helv. Chim. Acta* 44 (1961) 985.

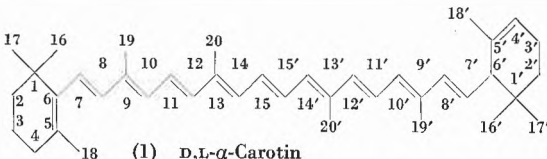
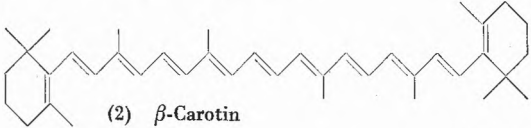
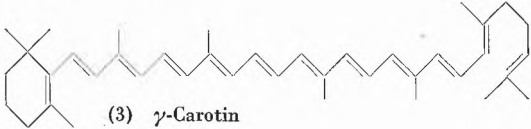
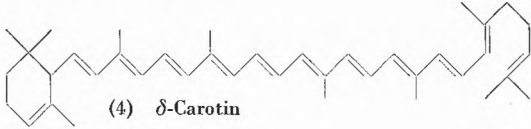
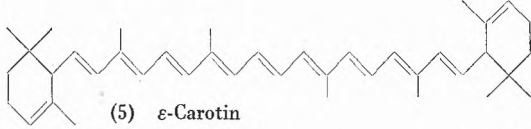
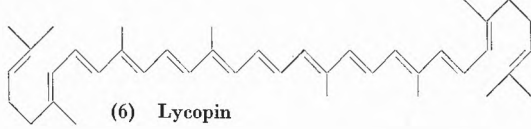
<sup>4</sup> O. ISLER, H. LINDLAR, M. MONTAVON, R. RÜEGG und P. ZELLER, *Helv. Chim. Acta* 39 (1956) 249; O. ISLER, M. MONTAVON, R. RÜEGG und P. ZELLER, *ibid.* 39 (1956) 454; O. ISLER, M. MONTAVON, R. RÜEGG und P. ZELLER, *Liebigs Ann. Chem.* 603 (1957) 129.

<sup>5</sup> O. ISLER, H. GUTMANN, H. LINDLAR, M. MONTAVON, R. RÜEGG, G. RYSER und P. ZELLER, *Helv. Chim. Acta* 39 (1956) 463.

<sup>6</sup> R. I. REED, *J. Chem. Soc.* 1958, 3432.

<sup>7</sup> M. BARBER, T. O. MERREN und W. KELLY, *Tetrahedron Letters* 1964, 1063.

Tabelle 1. Absorptionsspektren [in Petroläther (80 bis 105°C)] und Schmelzpunkte der synthetischen all-trans-Carotine

Verbindung	Smp. °C	$\lambda_{max}$ (m $\mu$ )	$E_{1cm}^{1\%}$
 (1) D,L- $\alpha$ -Carotin	162	422 444 473	1900 2800 2520
 (2) $\beta$ -Carotin	180°	453 481	2592 2268
 (3) $\gamma$ -Carotin	152–154	437 462 494	2055 3100 2720
 (4) $\delta$ -Carotin	151–152	431 456 489	2040 3290 2915
 (5) $\epsilon$ -Carotin	199–201	416 440 470	1940 3120 3135
 (6) Lycopin	172–173	446 472 505	2250 3450 3150

die relativ gute Stabilität des Radikations, die ihm die lange Polyenkette verleiht, und andererseits durch die Beständigkeit der Polyenkette gegen Bindungsbrüche bedingt.

Die relativ kleinen Peaks bei  $m/e$  534 stammen wahrscheinlich von Dehydrierungsprodukten, die bei den hohen Verdampfungstemperaturen entstehen. (Der Peak bei 552 im Spektrum des  $\alpha$ -Carotins kommt von einer Verunreinigung.)

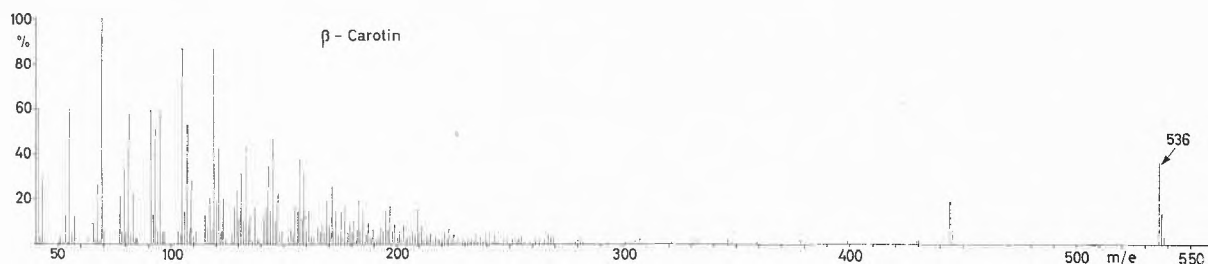
Das grobe Fragmentierungsbild aller Isomeren ist sehr ähnlich. Als Beispiel soll das Spektrum des  $\beta$ -Carotins dienen (Abb. 1). Es tritt eine große Zahl von Peaks auf, deren Intensität im oberen Massenbereich, verglichen mit dem Molekülion, meist gering ist, während sie gegen das untere Ende zu stark ansteigt. Eine Interpretation der Peaks auf Grund des Vergleichs der vorhandenen Massenspektren erscheint nur im oberen Massenbereich möglich. Über die Bildungsweise der Fragmente mit niedrigen Massenzahlen könnten nur umfangreiche Experimente mit isotopenmarkierten Molekülen Aufschluß geben.

Das Signal bei  $m/e$  521 tritt in allen sechs Verbindungen mit sehr geringer Intensität auf, erreicht aber nicht in jedem Spektrum die 1%-Grenze, so daß es in Abb. 2 nicht in allen Fällen erscheint. Es entspricht dem Verlust einer Methylgruppe; seine Intensität ist überraschend gering, wenn man bedenkt, daß die Moleküle insgesamt 10 Methylgruppen tragen, von denen 4 geminale Methylgruppen sind, die überdies zum Teil in Allylstellung zur Polyenkette stehen.

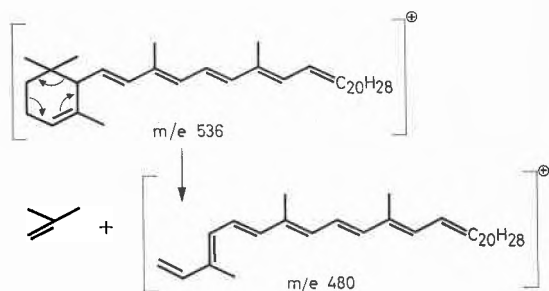
Die zur Unterscheidung der einzelnen Isomeren wichtigsten Peaks liegen bei  $m/e$  467 und  $m/e$  480. Sie können in Analogie zu entsprechenden Fragmenten in den Spektren von  $\alpha$ -Ionon<sup>8</sup> und von den Geranylrest enthaltenden Monoterpenen<sup>9</sup> gedeutet werden. Der Peak bei  $m/e$  480 stammt aus dem Retro-Diels-Alder-Zerfall des  $\alpha$ -Cyclogeranylidenrestes und tritt deshalb in allen Carotinen auf, die dieses Strukturelement enthalten:

<sup>8</sup> K. BIEMANN, *Mass Spectrometry*, Organic chemical applications, McGraw-Hill, New York 1962, S. 103.

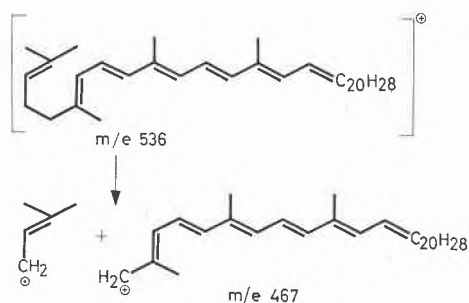
<sup>9</sup> E. v. SYDOW, *Acta Chem. Scand.* 17, (1964) 2504.

Abb. 1. Massenspektrum von  $\beta$ -Carotin

$\alpha$ -,  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Carotin. Die positive Ladung bleibt in diesem Prozeß völlig auf der Seite des Polyens.



Das Ion mit der Massenzahl 467, das in allen Isomeren mit Geranylidenrest auftritt ( $\delta$ -Carotin,  $\gamma$ -Carotin und Lycopin), entstammt der Spaltung der doppelt allylischen Bindung zwischen C-3 und C-4, bzw. C-3' und C-4', wobei die positive Ladung wieder auf dem Polyen bleibt. In diesem Falle tritt aber auch das komplementäre Fragment bei  $m/e$  69 im Spektrum mit relativ großer Intensität auf. Dieser Peak ist jedoch wenig charakteristisch, da bei  $m/e$  69 in allen Isomeren ein Peak auftritt, der aus unspezifischen Fragmentierungen der Moleküle stammt (Abb. 1).



Für den  $\beta$ -Cyclogeranylidenrest konnte kein charakteristischer Peak gefunden werden.

In den Spektren der Isomeren, die den  $\alpha$ -Cyclogeranylidenrest oder den Geranylidenrest an beiden Enden der Kette tragen, d. h.  $\epsilon$ -Carotin und Lycopin, könnte man die entsprechenden Peaks bei  $m/e$  480 bzw.  $m/e$  467 (und  $m/e$  69) relativ zum Gesamtionenstrom in stark erhöhter Intensität erwarten. Die obenerwähnte mäßige

Reproduzierbarkeit der Spektren erlaubt jedoch nicht, genaue und verlässliche Zahlen für das Verhältnis der einzelnen Peaks zum Gesamtionenstrom anzugeben, so daß auf diese Angaben verzichtet werden muß.

Es ist bemerkenswert, daß konsequente Fragmentierungen nach den beiden angeführten Mechanismen, wie z. B. Verlust von  $C_4H_8$  (56 u) und anschließende Abspaltung von  $C_5H_9$  (69 u) zu einem Fragment mit 411 u in  $\delta$ -Carotin, in keinem Fall in bedeutendem Ausmaße vorkommen.

Die Peaks bei  $m/e$  430 und  $m/e$  444 verdienen Beachtung, weil sie, in wechselnder Intensität, in allen Carotininen zu den intensivsten Signalen des oberen Massenbereiches zählen. Ihre Massenzahlen liegen 92 u bzw. 106 u unter der Molekülmasse. Diese Differenzen entsprechen formal den Massen von Toluol und Xylol. Wenn man diese Peaks durch Verlust entsprechender Teile von den Kettenenden erklären wollte, so müßten teilweise sehr unwahrscheinliche Spaltungen von C-C-Bindungen und gleichzeitig die Umlagerung mehrerer H-Atome postuliert werden. Derartige Fragmentierungen sollten aber nicht zu den relativ intensiven, auch bei niedrigen Ionisierungsspannungen noch vorhandenen Peaks führen, wie sie in allen Isomeren auftreten. Es ist daher anzunehmen, daß die verlorenen Teile aus dem Innern der Polyenkette abgespalten werden, in einem Prozeß ähnlich dem, der von STENHAGEN und Mitarbeitern<sup>10</sup> für den Verlust von  $C_2$ - und  $C_3$ -Bruchstücken aus den Ketten von Fettsäureestern bewiesen worden ist. Voraussetzung für eine solche Fragmentierung ist im vorliegenden Falle die leichte *cis-trans*-Isomerisierung der Olefinbindungen<sup>11</sup>. Nur so ist es möglich, daß die Polyenkette Konformationen annehmen kann, in denen eine Abspaltung von Kettenteilen mit gleichzeitiger Wiederverknüpfung der seitlichen Kettenreste stattfinden kann. Je nach der Konformation der Ketten kann ein 6gliedriges Kettenstück, das eine Methylgruppe trägt, oder ein solches mit zwei Methylgruppen den Molekülverband verlassen. Im ersten Fall entsteht der Peak bei  $m/e$  444 (=  $M-92$  u), im letzteren Fall bei  $m/e$

<sup>10</sup> NG DINH-NGUYEN, R. RYHAGE, S. STÄLLBERG-STENHAGEN und E. STENHAGEN, *Ark. Kemi* 18 (1961) 393.

<sup>11</sup> Ref. 8, S. 83 und 151.

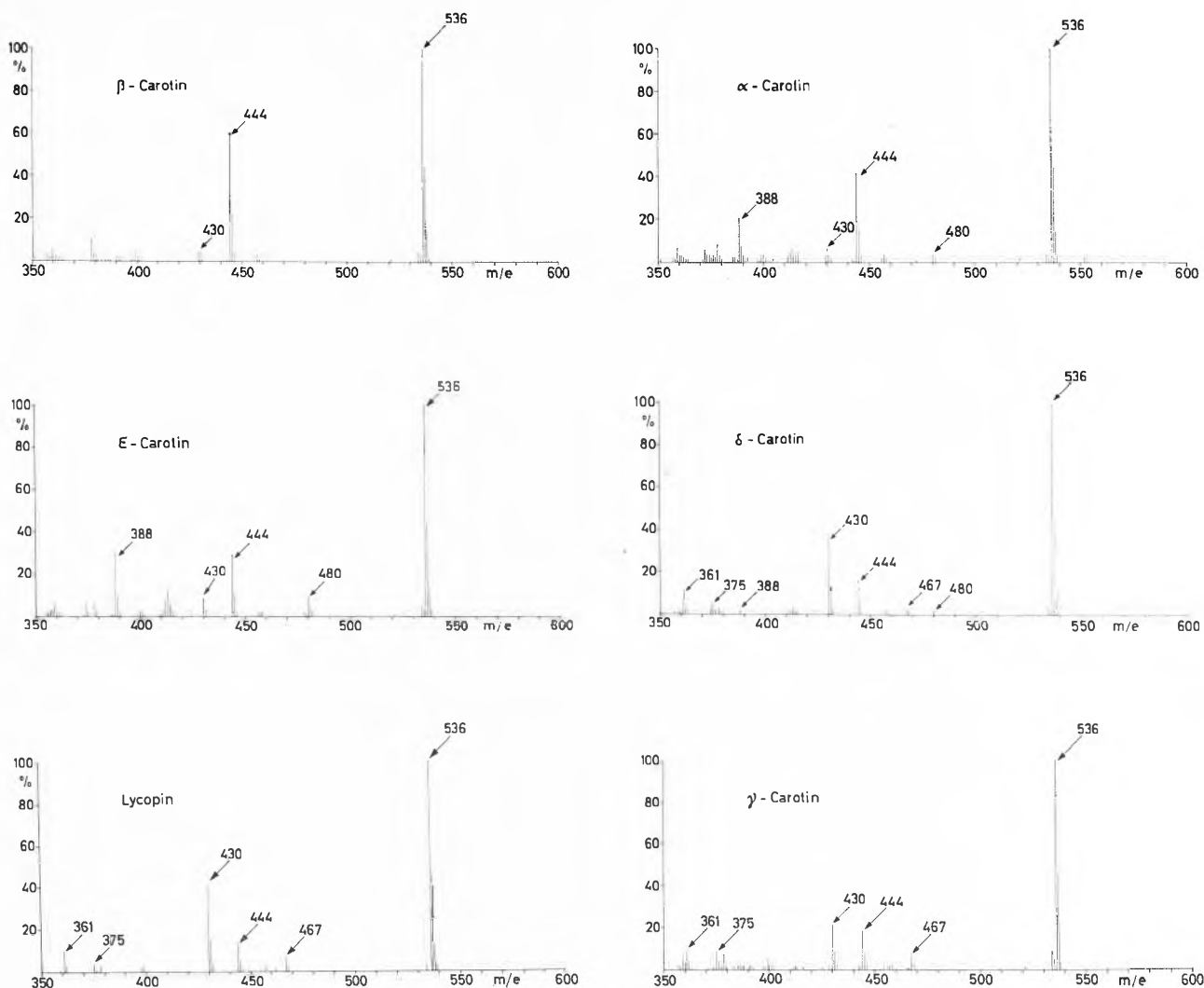


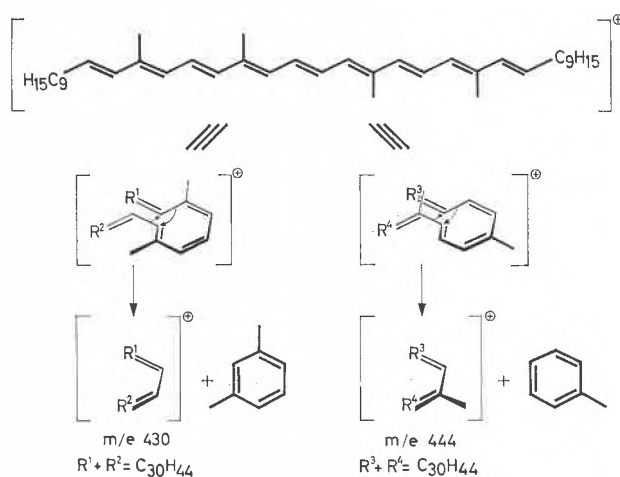
Abb. 2. Teilmassenspektren der sechs Carotine. Alle Peaks, deren Intensität größer als 1% des Basispeaks ist, sind eingezeichnet

430 (= M-106u). Für den Übergang 536 → 444 findet man in allen Spektren ein metastabiles Ion bei 368 (ber. 368,1). Für 536 → 430 konnten keine metastabilen Ionen gefunden werden.

Über die Struktur der ungeladenen Teilchen mit 92 u und 106 u lassen sich aus den vorliegenden Daten keine Schlüsse ziehen, doch liegt die Annahme nahe, daß es sich um Toluol und Xylol handelt<sup>12</sup>. Folgender Mechanismus, an einem beliebigen Teil der Polyenkette dargestellt, könnte diese Fragmentierung erklären.

<sup>12</sup> Die thermische Erzeugung von Toluol und Xylol aus β-Carotin, die durch langes Erhitzen erreicht werden kann<sup>12a</sup>, tritt offenbar unter den Bedingungen unserer Experimente sowohl bei β-Carotin wie bei allen anderen Carotinen in geringem Ausmaße auf. Dies geht aus den bei niedriger Ionisierungsspannung aufgenommenen Spektren hervor, in denen bei den Molekülmassen von Toluol und Xylol, m/e 92 und m/e 106, Peaks von kleiner Intensität auftreten. Ob bei der Bildung der Peaks bei m/e 430 und 444 ebenfalls thermische Reaktionen in geringem Ausmaß beteiligt sind, kann zur Zeit nicht entschieden werden.

<sup>12a</sup> W. C. DAY und J. G. ERDMAN, *Science* 141 (1963) 808; I. MADER, *ibid.* 144 (1964) 533.



Durch die Annahme von mehrstufigen Fragmentierungen nach den obigen Mechanismen lassen sich einige weitere Peaks im oberen Massenbereich deuten:

## Protonenresonanzspektren der Carotine

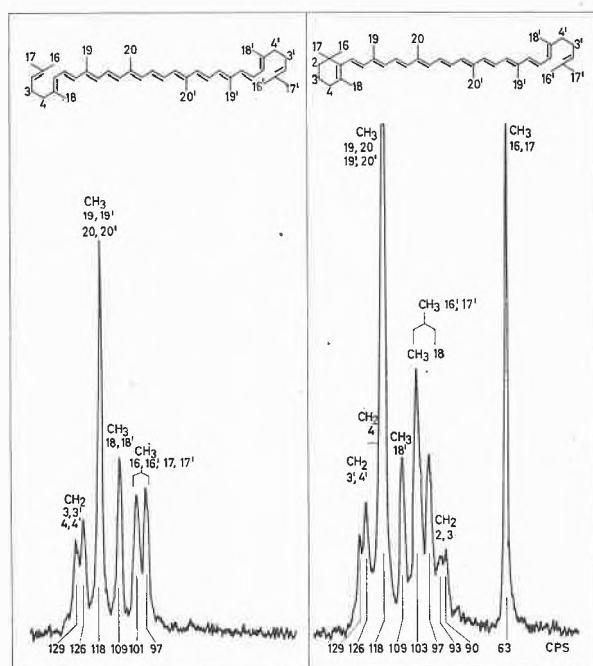


Abb. 3

Abspaltung von 69 u aus den Fragmenten 430 und 444 führt zu den Peaks bei  $m/e$  361 ( $m^* 303,2$ , ber. 303,2) bzw.  $m/e$  375 ( $m^* 316,9$ , ber. 316,8) in den Spektren des Lycopins sowie des  $\gamma$ - und  $\delta$ -Carotins.

Die Retro-Diels-Alder-Reaktion, ausgehend von Fragment  $m/e$  444, führt in den Spektren von  $\alpha$ -,  $\delta$ - und  $\epsilon$ -Carotin zu dem Signal bei  $m/e$  388 ( $m^* 339,4$ , ber. 339,2).

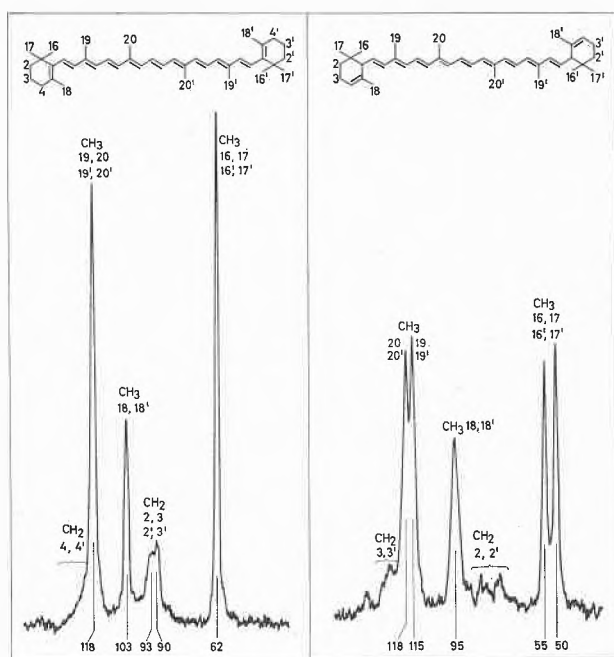


Abb. 4

Die entsprechende andere Fragmentserie  $m/e$  430 und  $m/e$  374 ist in diesen Carotinen aus unbekanntem Gründen offenbar weniger begünstigt.

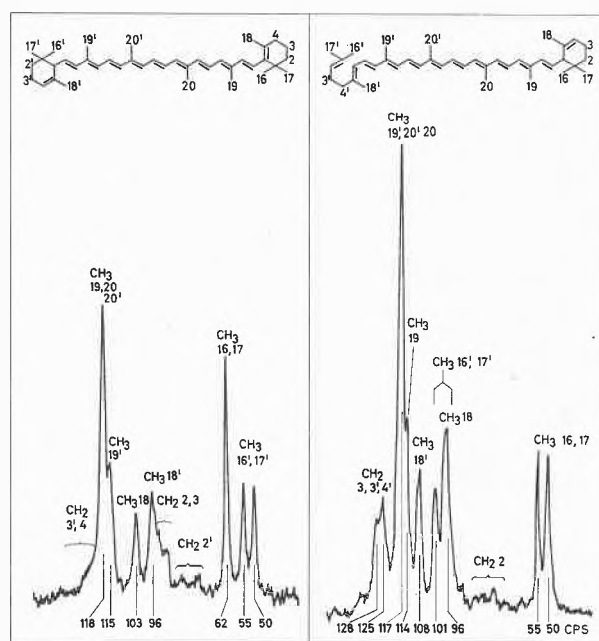


Abb. 5

## Experimenteller Teil

Die Spektren wurden mit einem MS-9 Massenspektrometer der Firma AEI, Manchester, aufgenommen. Die Proben wurden in einer Menge der Größenordnung 0,1 mg auf die Spitze eines Keramikstabes gebracht. Der Keramikstab wurde mittels Vakuumschleuse in eine Bohrung im Ionenquellenblock eingeführt, so daß die Probe am Rande der Ionisationskammer lag<sup>7</sup>. Die Verdampfung der Substanz geschah durch Heizung des Ionenquellenblocks. Temperatur des Blocks während der Aufnahme: 290 bis 330 °C. Ionisierungsspannung: 70 V.

## 2. Protonenresonanzspektren

Die Protonenresonanzspektren von Carotinen und verwandten Substanzen sind in der Literatur ausgiebig beschrieben worden<sup>13,14,15</sup>.

Ausschnitte aus den Protonenresonanzspektren dieser Verbindungen im Gebiet der  $\text{CH}_2$ - und  $\text{CH}_3$ -Signale sind in den Abbildungen 3 bis 5 enthalten (Lösungsmittel  $\text{DCCl}_3$ , Meßfrequenz 60 MHz). Die Beschränkung auf diesen Bereich erschien sinnvoll, da sich die olefinischen Protonensignale wegen ihrer starken Überlappung und komplizierten Aufspaltung nur teilweise zuordnen ließen.

<sup>13</sup> M.S. BARBER, J.B. DAVIES, L.M. JACKMAN und B.C.L. WEEDON, *J. Chem. Soc.* 1960, 2870.

<sup>14</sup> A. ARAI, C.C. YAO und I. ICHIKIZAKI, *Bull. Chem. Soc. Japan* 36 (1963) 1432.

<sup>15</sup> R.D.G. COOPER, J.B. DAVIES und B.C.L. WEEDON, *J. Chem. Soc.* 1963, 5637.

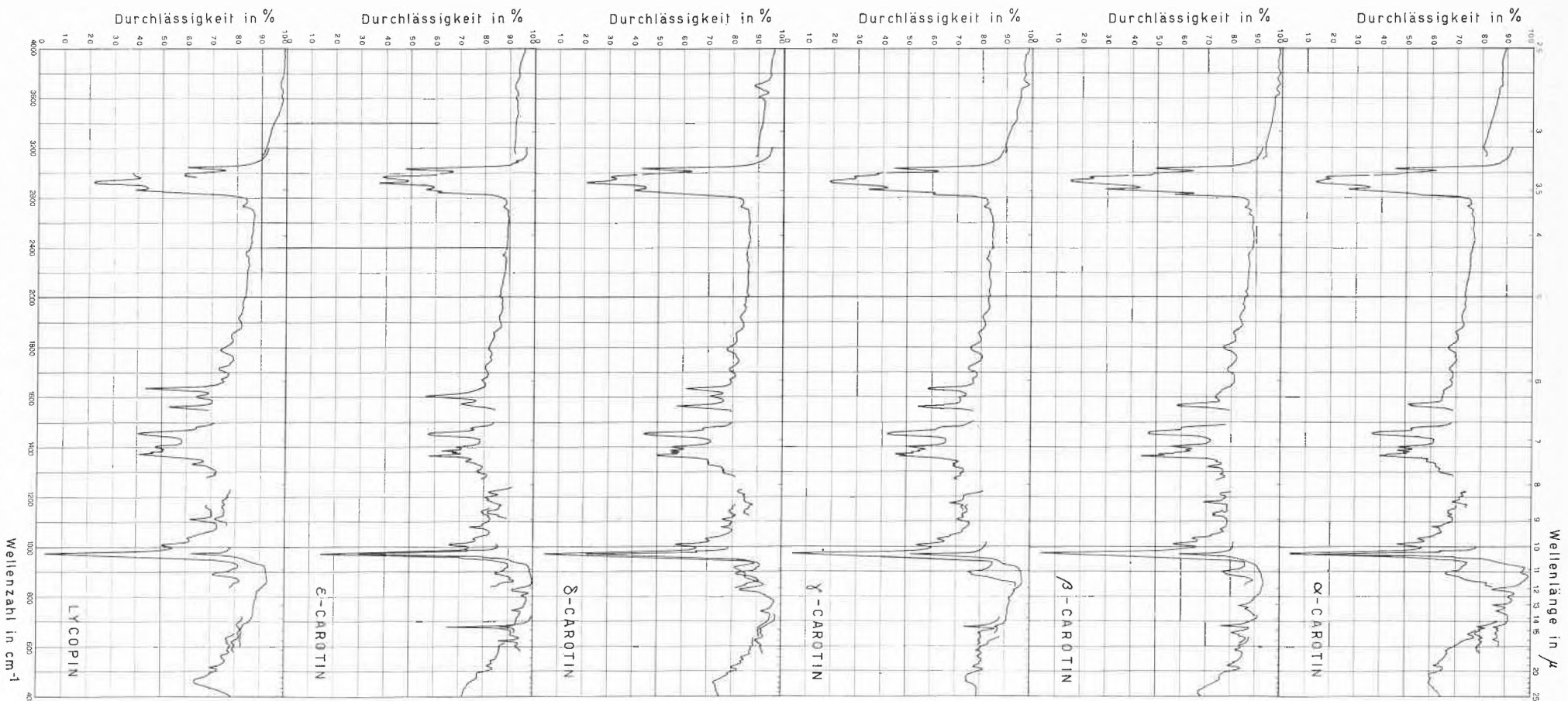


Abb. 6. Infrarotabsorptionsspektren der Carotine

Wie ein Vergleich der Spektren zeigt, sind vor allem die chemischen Verschiebungen der  $\text{CH}_3$ -Signale charakteristisch für die in den Verbindungen vorkommenden Struktureinheiten, z. B. für die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Cyclogeranylideneinheiten.

Betrachtet man zunächst nur die Spektren der symmetrischen Verbindungen  $\beta$ - und  $\epsilon$ -Carotin und Lycopin, so ergibt sich die Zuordnung der  $\text{CH}_3$ - und  $\text{CH}_2$ -Signale zwanglos aus ihrer erwarteten Lage sowie durch Vergleich mit den umfangreichen Literaturdaten<sup>13</sup>. Auffallend ist die Tatsache, daß die geminalen Methylgruppen der  $\beta$ -Cyclogeranylideneinheiten eine einzige scharfe Bande bei etwa 62 Hz ergeben, während die Methylgruppen der  $\alpha$ -Cyclogeranylideneinheiten (50 und 55 Hz) offenbar nicht äquivalent sind.

Eine plausible Erklärung hierfür wurde vorgeschlagen<sup>13</sup>. Beim  $\beta$ -Cyclogeranylideneinheit findet offenbar eine schnelle Umwandlung zwischen den beiden äquivalenten Konformationen des Cyclohexanringes statt, während beim  $\alpha$ -Cyclogeranylideneinheit diejenige Konformation begünstigt wird, bei der die Seitenkette quasi äquatorial ist<sup>16</sup>.

Charakteristische Unterschiede beobachtet man auch bei den Methylsignalen der Seitenkette. Bei  $\beta$ -Carotin und Lycopin ergeben die vier Methylgruppen (19, 20, 19' und 20') nur ein einfaches Signal bei 118 Hz, während bei  $\epsilon$ -Carotin statt dessen zwei Signale bei 118 und 115 Hz auftreten, da hier die Methylgruppen 19 und 19' näher am Ende der konjugierten Kette liegen.

Mit den für die symmetrischen Verbindungen gefundenen chemischen Verschiebungen lassen sich nun auch die  $\text{CH}_2$ - und  $\text{CH}_3$ -Signale der unsymmetrischen Verbindungen  $\alpha$ -,  $\gamma$ - und  $\delta$ -Carotin zuordnen, da sich die Spektren weitgehend additiv aus denjenigen der Molekülhälften aufbauen. So zeigt sich beispielsweise bei  $\alpha$ -Carotin, daß die Signale der Methylgruppen 19, 20 und 20' wieder bei 118 Hz, dasjenige der Methylgruppe 19' deutlich getrennt bei 115 Hz liegen.

Analog liegen die Methylsignale von  $\epsilon$ -Carotin innerhalb der Meßgenauigkeit bei gleicher chemischer Verschiebung wie in den Spektren der Molekülhälften (vgl. Lycopin und  $\epsilon$ -Carotin).

Auch bei den  $\text{CH}_2$ -Signalen gilt eine ähnliche Additivität sowohl hinsichtlich der Lage wie auch der Bandenform, wodurch eine eindeutige Identifizierung dieser Verbindungen anhand ihrer Protonenresonanzspektren ermöglicht wird.

#### Experimenteller Teil

Die Protonenresonanzspektren wurden auf einem Varian A-60-Spektrometer bei einer Meßfrequenz von 60 MHz in  $\text{DCCl}_3$  aufgenommen.

<sup>16</sup> Eine Verallgemeinerung dieser Regel auf beliebige  $\beta$ -Cyclogeranylidenderivate erscheint jedoch nicht möglich zu sein. So fanden wir beispielsweise für die geminalen Methylgruppen eines Vitamin-A-Derivates mit  $\beta$ -Cyclogeranylideneinheit ebenfalls zwei getrennte Signale (Aufspaltung 4 Hz).

### 3. Infrarot-Absorptionsspektren

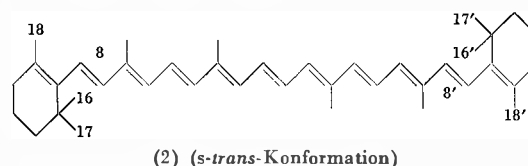
Abb. 6 zeigt die IR-Spektren der hier besprochenen Carotine. Wie von Kohlenwasserstoffen zu erwarten ist, sind diese Spektren relativ wenig intensiv. Die dominierende Bande bei etwa  $970\text{ cm}^{-1}$  kommt von der «out-of-plane»-Schwingung der zwei H-Atome der *trans*-disubstituierten C=C-Doppelbindung. Die Spektren der Chloroform- und Tetrachlorkohlenstoff-Lösungen zeigen diese Bande bei  $970$  bis  $972\text{ cm}^{-1}$  und die Spektren der Cyclohexan-Lösungen bei  $965$  bis  $966\text{ cm}^{-1}$ .

Die Bandengruppe der Methyl-Deformationsschwingung bei  $1360$  bis  $1400\text{ cm}^{-1}$  sieht viel komplizierter aus, wenn sie wie hier mit einem Gittergerät mit hoher Dispersion anstatt mit einem NaCl-Prismengerät aufgenommen wird<sup>17</sup>.

Die Spektren wurden, wenn die Löslichkeit es erlaubte, mit 1-prozentigen und sonst mit gesättigten Lösungen in einer 1-mm-Kaliumbromid-Zelle aufgenommen (mit Kompensation). Die Spektren der Chloroform-Lösungen waren die brauchbarsten (gute Löslichkeit) und wurden mit wenig Lücken von  $400$  bis  $4000\text{ cm}^{-1}$  verwendet. Bei  $3020$  bis  $3140\text{ cm}^{-1}$ ,  $2380$  bis  $2450\text{ cm}^{-1}$ ,  $1150$  bis  $1210\text{ cm}^{-1}$  und  $650$  bis  $730\text{ cm}^{-1}$  lieferten die Spektren der Tetrachlorkohlenstofflösungen zusätzliche Angaben, so auch die Spektren der Cyclohexanlösungen von  $650$  bis  $1000\text{ cm}^{-1}$ . Die schlechte Löslichkeit im letztgenannten Lösungsmittel war aber ein Hindernis für gute Spektren. Die schwache Intensität der Bande bei  $965\text{ cm}^{-1}$  erlaubt eine annähernde Schätzung der Löslichkeit der Carotine in Cyclohexan.

### 4. Absorptionsspektren im sichtbaren und UV-Bereich<sup>18</sup>

Die Absorptionsspektren der Carotine sind in den Abbildungen 7 und 8 dargestellt. Deutlich sichtbar ist der ausgeprägte Abbau der Feinstruktur des Spektrums beim Vorliegen eines  $\beta$ -Cyclogeranylideneinheits-Ringsystems (Abb. 7), bedingt durch sterische Hinderung des Wasserstoffatoms am C8 mit der Methylgruppe 18 in der *s-cis*-Form (Formeln der Tabelle 1) oder den geminalen Methylgruppen 16 und 17 der bislang bei Carotinen noch nicht nachgewiesenen *s-trans*-Konformation<sup>19</sup>.



<sup>17</sup> K. LUNDE und L. ZECHMEISTER, *J. Amer. Chem. Soc.* 77 (1955) 1647.

<sup>18</sup> Die Absorptionsspektren wurden mit einem Cary-Typ-14-Spektrophotometer in Petroläther (80 bis  $105^\circ\text{C}$ ) aufgenommen.

<sup>19</sup> Bislang wurde lediglich die Konformation des 15,15'-Dehydro- $\beta$ -carotins und  $\beta$ -Carotins beschrieben. Die Röntgenstrukturanalyse bewies die *s-cis*-Verknüpfung der Ringe mit der Polyenkette (W. G. SLY, *Acta Cryst.* 8 [1955] 115; C. H. STAM und C. H. MACGILLAVRY, *ibid.* 16 [1963] 62; C. STERLING, *ibid.* 17 [1964] 1224).

## Absorptionsspektren der Carotine

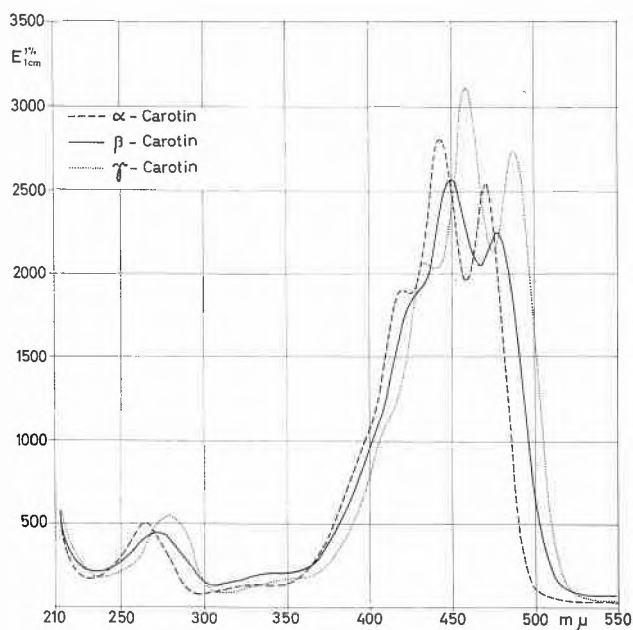


Abb. 7

Diese sterische Hinderung erklärt auch die geringe Rotverschiebung des Spektrums solcher Verbindungen gegenüber den entsprechenden Carotinen mit einem nicht in Konjugation befindlichen  $\alpha$ -Cyclogeranyliden-Ring.

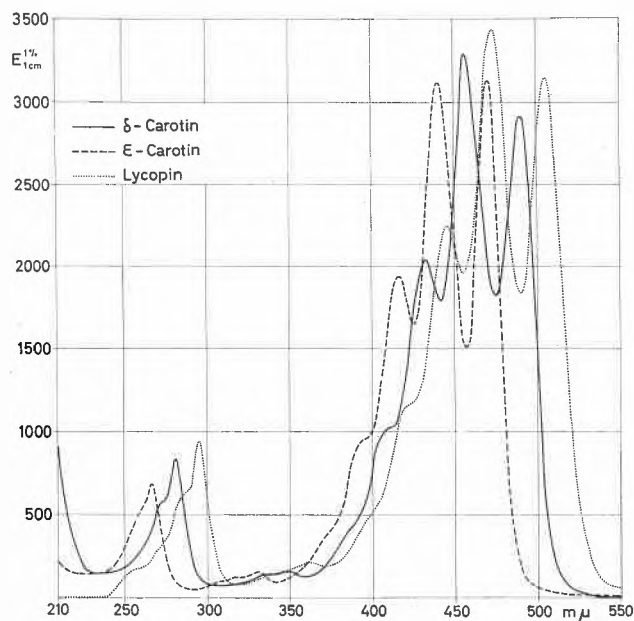


Abb. 8

## 5. Dünnschichtchromatographie

Verschiedene Systeme wurden für die Dünnschichtchromatographie dieser Verbindungen vorgeschlagen<sup>20, 21</sup>. Von weiteren untersuchten Adsorbentien scheint besonders aktiviertes Magnesiumoxid<sup>22</sup> günstig zu sein, auf welchem sich alle sechs Carotine vom Typ  $C_{40}H_{56}$  mit Petroläther (90 bis 110°C)-Benzol (50 + 50) voneinander trennen lassen. Zur noch deutlicheren Auftrennung von  $\epsilon$ -,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin eignet sich das Fließmittelgemisch 90 + 10 und von  $\delta$ - und  $\gamma$ -Carotin und Lycopin jenes mit 10 + 90 Volumenteilen Petroläther-Benzol<sup>23</sup> (vgl. Tabelle 2 und Abbildungen 9 bis 11). Bei Mengen von über 10  $\mu$ g neigen vor allem die langsamer wandernden Carotine zur Schweißbildung. Die Adsorptionsaffinität der Verbindungen nimmt in der Reihenfolge  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Struktur zu. Die Flecken können von der noch lösungsmittelfeuchten Platte abgeschabt, eluiert und durch Absorptionsmessung quantitativ bestimmt werden.

Tabelle 2.  $R_f \times 100$ -Richtwerte der reinen all-*trans*-Carotine auf aktivierten Magnesiumoxidschichten<sup>24</sup>

Struktur <sup>27</sup> / Carotin	Fließmittel: Petroläther (90 bis 110°C)-Benzol		
	90 + 10	50 + 50	10 + 90
$\alpha + R + \alpha$ $\epsilon$ -Carotin	47	70	84
$\alpha + R + \beta$ $\alpha$ -Carotin	26	66	80
$\beta + R + \beta$ $\beta$ -Carotin	11	49	74
$\alpha + R + \gamma$ $\delta$ -Carotin	0	20	55
$\beta + R + \gamma$ $\gamma$ -Carotin	0	11	41
$\gamma + R + \gamma$ Lycopin	0	0-2	13

Die all-*trans*-Carotine wurden in Methylenchlorid gelöst, davon je 10  $\mu$ l (= 10  $\mu$ g) auf die aktivierte Magnesiumoxidplatte aufgetragen und sofort mit dem Fließmittelgemisch Petroläther-Benzol chromatographiert. Mit Ausnahme von  $\beta$ -Carotin (natürlich) handelt es sich um synthetische Verbindungen.

<sup>20</sup> E. STAHL, *Dünnschicht-Chromatographie*, Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1962, S. 222.

<sup>21</sup> K. RANDEATH, *Dünnschichtchromatographie*, Verlag Chemie, Weinheim/Bergstraße 1962, S. 4 und 150.

<sup>22</sup> "Darlington" light magnesium oxide B.P. grade, The Chemical & Insulating Co. Ltd., Darlington Co., Durham (England). Vertretung in der Schweiz: R. Haerberlin & Co., Spielwiesenstraße 9, Zürich.

<sup>23</sup> H. R. BOLLIGER, A. KÖNIG und U. SCHWIETER, *Chimia* 18 (1964) 136.

<sup>24</sup> Herstellung der Schichten<sup>25</sup> und Technik: 10 g Magnesiumoxid<sup>22</sup> und 100 ml dest. Wasser während 2 min intensiv mischen; Streichgeräteeinstellung 0,3 mm; Schichten 30 min an der Luft bei RT trocknen, dann 1 h bei 120°C aktivieren. Nach Abkühlen der Platten Substanzen in Methylenchlorid gelöst auftragen und sofort chromatographieren (Trennkammer KS<sup>26</sup>, Steighöhe 10 cm, Laufzeit etwa 60 min).

<sup>25</sup> Ref. 20, S. 7.

<sup>26</sup> Ref. 20, S. 19.

<sup>27</sup> Diese Darstellung versucht den Einfluß der Endgruppen zu verdeutlichen, wobei unter  $\alpha$  die  $\alpha$ -Cyclogeranyliden-,  $\beta$  die  $\beta$ -Cyclogeranyliden- und unter  $\gamma$  die Geranyliden-Endgruppe zu verstehen ist und R die konjugierte Kette bedeutet.

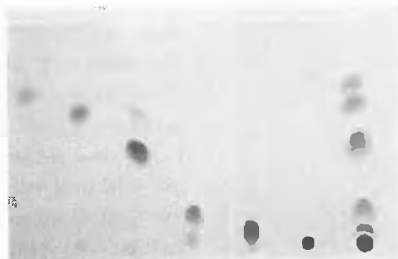
*Dünnschicht-Chromatogramme der Carotine C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>*

Abb. 9. Fließmittelgemisch 90 + 10



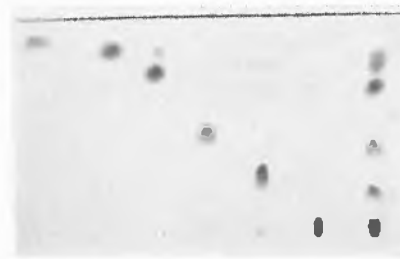
1 2 3 4 5 6 1-6

Abb. 10. Fließmittelgemisch 50 + 50



1 2 3 4 5 6 1-6

Abb. 11. Fließmittelgemisch 10 + 90



1 2 3 4 5 6 1-6

Aufgetragene Substanzen: 1 =  $\epsilon$ -Carotin  
 2 =  $\alpha$ -Carotin  
 3 =  $\beta$ -Carotin  
 4 =  $\delta$ -Carotin  
 5 =  $\gamma$ -Carotin  
 6 = Lycopin

### Summary

The physical properties of the naturally occurring C<sub>40</sub>H<sub>56</sub> carotenes are discussed.

The mass spectra of these compounds show cracking patterns which are partially initiated by the structural differences of the end groups.

The infra red spectra of all carotenes are very similar. The electronic absorption spectra and the proton magnetic resonance spectra show, however, characteristic differences, which allow the identification of the individual compounds.

A procedure for the separation of the carotenes by thin layer chromatography is also described.