

Die Trennung von Carotinoidgemischen durch Gegenstromextraktion (II)\*<sup>1</sup>

Von H. PFANDER, F. HALLER und K. BERNHARD

Institut für Organische Chemie, Länggäßstraße 7, 3007 Bern

und H. THOMMEN

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

Professor Rudolf Signer zum 70. Geburtstag gewidmet

## Summary

Countercurrent distribution has been used for the separation of  $\beta$ -carotene and its epoxides without rearrangement reactions. The separation of an extract from *Carica papaya* shows that this method is suitable for the detection of carotenoids which occur in very low concentrations.

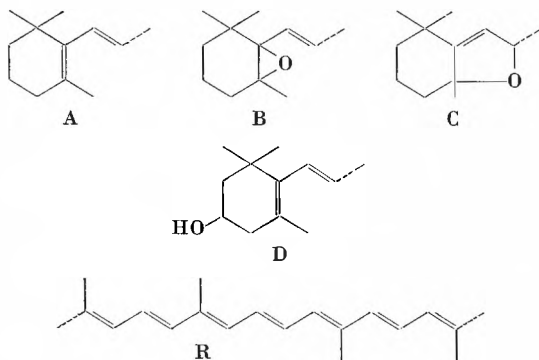
Wie unsere früheren Untersuchungen<sup>1</sup> zeigten, können mit Hilfe der von SIGNER<sup>2,3</sup> entwickelten Verteilungsapparatur, welche nach dem Prinzip der dauernden Bewegung zweier flüssiger Phasen ohne Zerteilung ineinander arbeitet, Gemische von Kohlenwasserstoff-, Monoketo-, Diketo-, Monohydroxi- und Dihydroxicarotinoiden schonend getrennt werden.

Im Hinblick auf eine präparative Trennung der Carotinoide aus pflanzlichem Material und aus Reaktionsgemischen sind einerseits weitere Modellversuche, andererseits Trennversuche an Pflanzenextrakten durchgeführt worden.

## a) Trennung von Carotinoid-Epoxiden

Carotinoid-Epoxide stellen eine wichtige Pigmentklasse dar.

Die 5,6-Epoxide (Abb. 1) lagern sich unter Einwirkung von Säurespuren, bei Belichtung oder bei der chro-



- A-R-A:  $\beta$ -Carotin (I),  $\beta$ , $\beta$ -Carotin  
 A-R-B:  $\beta$ -Carotinmonoepoxid (II), 5,6-Epoxi-5,6-dihydro- $\beta$ , $\beta$ -carotin  
 A-R-C: Mutatochrom (III), 5,8-Epoxi-5,8-dihydro- $\beta$ , $\beta$ -carotin  
 B-R-B:  $\beta$ -Carotindiepoxid (IV), 5,6,5',6'-Diepoxi-5,6,5',6'-tetrahydro- $\beta$ , $\beta$ -carotin  
 B-R-C: Luteochrom (V), 5,6,5',8'-Diepoxi-5,6,5',8'-tetrahydro- $\beta$ , $\beta$ -carotin  
 C-R-C: Aurochrom (VI), 5,8,5',8'-Diepoxi-5,8,5',8'-tetrahydro- $\beta$ , $\beta$ -carotin  
 A-R-D: Kryptoxanthin (VII),  $\beta$ , $\beta$ -Carotin-3-ol  
 D-R-D: Zeaxanthin (VIII),  $\beta$ , $\beta$ -Carotin-3,3'-diol

Abb. 1

matographischen Trennung sehr leicht in die entsprechenden 5,8-Epoxide um, weshalb ihre Isolierung oft sehr schwierig ist.

Aus diesen Gründen führten wir als Modellversuche die Trennung der 5,6- und 5,8-Epoxide von  $\beta$ -Carotin durch. Die Epoxide wurden nach KARRER<sup>4</sup> dargestellt.

In einem ersten Versuch wurde die Verteilungsapparatur mit einem Gemisch von  $\beta$ -Carotin (I),  $\beta$ -Carotinmonoepoxid (II) und  $\beta$ -Carotindiepoxid (IV) beschickt (Abb. 2).

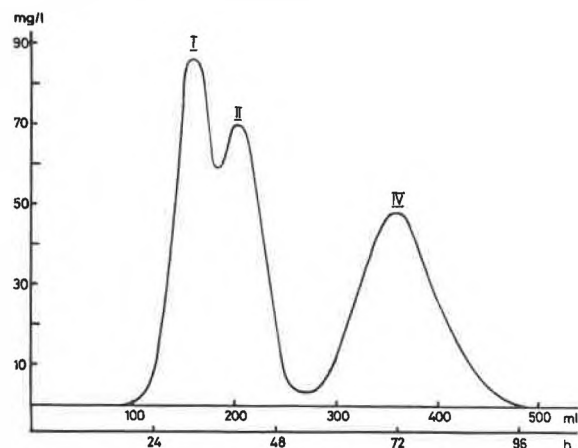


Abb. 2. Ruhende Phase: 98% wässriges Methanol; bewegte Phase: Petroläther, Strömungsgeschwindigkeit: 5 ml/h. Komponenten: 4,4 mg  $\beta$ -Carotin, 4,4 mg  $\beta$ -Carotinmonoepoxid, 4,3 mg  $\beta$ -Carotindiepoxid. Verteilung der Komponenten:

	I:	II:	IV:
Epiphase	100	90	85
Hypophase	0	10	15

Die Verteilungskoeffizienten von I und II liegen so eng beieinander, daß eine vollständige Trennung unter den vorliegenden Bedingungen nicht möglich ist. Allerdings liegen bei den entsprechenden Konzentrationsmaxima die Komponenten rein vor, und nur 50 ml des Eluats sind ein Gemisch derselben. Das Diepoxid IV konnte vollständig abgetrennt werden. 5,8-Epoxide, welche durch Umlagerung aus den entsprechenden 5,6-Epoxiden entstanden sind, konnten nicht festgestellt werden.

\* Eingegangen am 27. Dezember 1972.

<sup>1</sup> (I) siehe: E. C. GROB, H. PFANDER, U. LEUENBERGER und R. SIGNER, *Chimia* 25 (1971) 332.

<sup>2</sup> R. SIGNER und H. ARM, *Helv. Chim. Acta* 50 (1967) 46.

<sup>3</sup> R. SIGNER und H. ARM, *Chemiker-Ztg.* 95 (1971) 519.

<sup>4</sup> P. KARRER und E. JUCKER, *Helv. Chim. Acta* 28 (1945) 427.

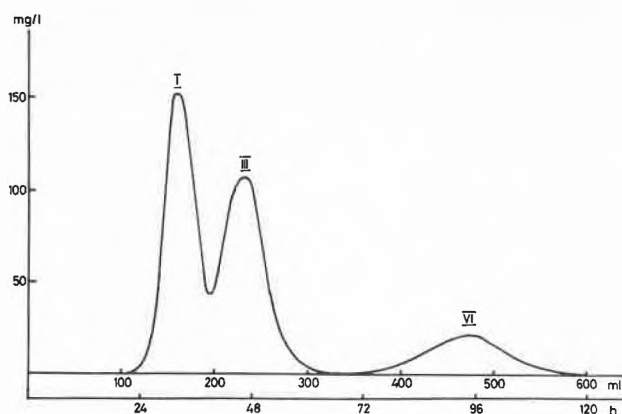


Abb. 3. Ruhende Phase: 98% wässriges Methanol; bewegte Phase: Petroläther, Strömungsgeschwindigkeit: 5 ml/h. Komponenten: 5,0 mg  $\beta$ -Carotin, 5,0 mg Mutatochrom, 2,5 mg Aurochrom. Verteilung der Komponenten:

	I:	III:	VI:
Epiphase	100	88	76
Hypophase	0	12	24

In einem zweiten Versuch trennten wir ein Gemisch von  $\beta$ -Carotin (I), Mutatochrom (III) und Aurochrom (VI): Abb. 3.

Die Trennung von I und III kann als befriedigend bezeichnet werden, da nur innerhalb von 15 ml Eluat ein Gemisch dieser Komponenten auftritt. VI ist vollständig abgetrennt.

Unter den gewählten Bedingungen war eine vollständige Abtrennung sämtlicher 5,6-, 5,8-Epoxyde und  $\beta$ -Carotin nicht möglich, jedoch ist eine weitgehende Anreicherung erreichbar.

#### b) Trennung eines Pflanzenextrakts

Ein verseifter Extrakt aus *Carica papaya* wurde in Epiphase gelöst und auf die Verteilungsapparatur gegeben (Abb. 4).

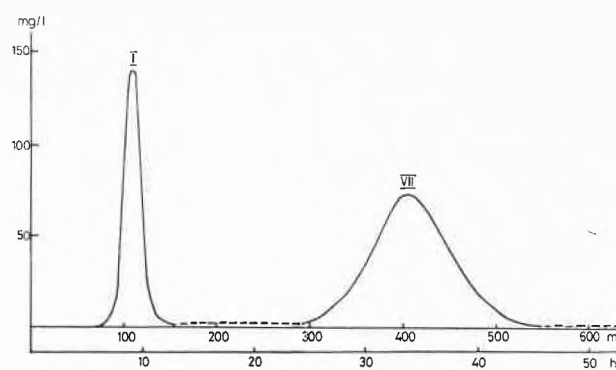


Abb. 4. Ruhende Phase: 95% wässriges Methanol; bewegte Phase: Petroläther, Strömungsgeschwindigkeit: 12 ml/h. Gemisch: verseifter Extrakt aus *Carica papaya*

Nachdem die Hauptkomponenten  $\beta$ -Carotin (I), Kryptoxanthin (VII) und Zeaxanthin (VIII) – letztere nach Ausspülen mit Methanol – abgetrennt waren, konnten in den Zwischenfraktionen (Abb. 4, gestrichelte Linie) durch Dünnschichtchromatographie 10 Nebenkomponenten isoliert werden. Die Isolierung dieser Nebenkomponenten durch chromatographische Methoden ohne vorhergehende Abtrennung der Hauptkomponenten bereitet meist große Schwierigkeiten, da diese Hauptpigmente die Nebenkomponenten oft überdecken.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Modellversuche zeigten, daß während der Trennung an den Epoxyden keine Umlagerungen auftreten. Im weiteren wurde ersichtlich, daß für eine Identifikation aller Carotinoidkomponenten eines Pflanzenextrakts eine selektive Abtrennung der Hauptpigmente von Nutzen ist.

Weitere Versuche zur Trennung von hydroxylierten Carotinoidepoxyden, von Carotinoiden mit gleichen funktionellen Gruppen sowie von anderen Pflanzenextrakten sind im Gange.