

¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle.

Generierung und Abfangen von Tricyclo-[3.2.1.0^{2,4}]octa-2(4),6-dien (12). In einem ausgeheizten 25-ml-Dreihals-Rundkolben mit Septum, Thermometer und Inertgas-Überleitung werden 200 mg (0,76 mmol) **15a** und 205 mg (0,76 mmol) DPIBF in 5 ml THF gelöst und während 15 min mittels Spritze bei -80° bis -75° 0,53 ml einer 1,4M *t*-BuLi Lsg. in Pentan (0,74 mmol) zugegeben. Nach jedem Tropfen verfärbt sich die gelbe Lsg. braun. Die gelbbraune Lsg. wird während 30 min bei -50°, dann 1 h bei RT. gerührt. Zur Elimination von evtl. überschüssigem DAPIBF wird mit ca. 200 mg (ca. 2,0 mmol) Maleinsäure-anhydrid versetzt und 15 min weitergerührt. Das Gemisch wird mit 50 ml Et₂O verdünnt, im Scheidetrichter 2 x mit 2N NaOH, 1 x mit H₂O und 1 x mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und i.R.V. bei RT. einrotiert. Das ölige Rohprodukt wird in 2 Teilen durch präp. Schichtchromatographie gereinigt (Merck Art. 5717 PSC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke: 2 mm, Elutionsmittel Pentan/Et₂O 20:1, zweifache Elution). Die Zone mit einem R_F-Wert von 0,61 wird gesammelt und mit Et₂O extrahiert, das Eluat i.R.V. bei RT. eingedampft: 119,8 mg (42%) weisse Kristalle von **16**, die laut ¹H-NMR nur Spuren von Verunreinigungen enthalten. Schmp. 172–173° (Pentan). ¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle. MS: 374 (81, M⁺), 307 (100).

2-Bromo-4-(trimethylsilyl)-endo-tricyclo-[3.2.1.0^{2,4}]oct-6-en (15b). In einem ausgeheizten 25-ml-Dreihals-Rundkolben mit Septum, Thermometer und Inertgas-Überleitung wird eine Lsg. von 500 mg (1,42 mmol) **1,1,2-Tribromo-2-(trimethylsilyl)cyclopropan (13)** [10] in 5 ml THF auf -80° abgekühlt. Man tropft mittels Spritze während 15 min 1,01 ml einer 1,4M *t*-BuLi Lsg. in Pentan (1,41 mmol) zu. Dabei tritt eine deutliche Farbveränderung von violett über grünlich gelb bis braun ein. Innerhalb von 30 min wird unter Rühren von -80° auf -50°, sodann innert 10 min von -50° auf RT. erwärmt und rasch mit einer Lsg. von 0,116 ml (93 mg, 1,41 mmol) Cyclopentadien in 1 ml

THF versetzt. Das braune Gemisch wird weitere 4,5 h bei RT. gerührt, mit 50 ml Et₂O verdünnt, im Scheidetrichter mit H₂O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und i. RV. bei -20°/0,2 Torr eingengt: 253,7 mg (69%) NMR-reines Rohprodukt **15b** als gelbliches Öl. Chromatographie über 15 g Kieselgel mit Pentan liefert 166,8 mg (46%) **15b** als farblose Flüssigkeit. ¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle.

Eingegangen am 30. November 1990

- [1] Teil der geplanten Dissertation von M.M., Universität Bern.
- [2] W.E. Billups, M.M. Haley, G. A. Lee, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1147; B. Halton, M.G. Banwell, 'Cyclopropenes', in 'The Chemistry of the Cyclopropyl Group', Ed. Z. Rappoport, Wiley, New York, 1987.
- [3] H.-U. Wagner, G. Szeimies, J. Chandrasekhar, P.v.R. Schleyer, J.A. Pople, J.S. Binkley, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 1210.
- [4] G. Szeimies, J. Harnisch, O. Baumgärtel, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5183; U. Szeimies-Seebach, G. Szeimies, *ibid.* **1978**, *100*, 3966; U. Szeimies-Seebach, A. Schöffler, R. Römer, G. Szeimies, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1767; H.-G. Zoch, G. Szeimies, R. Römer, G. Germain, J.-P. Declercq, *ibid.* **1983**, *116*, 2285.
- [5] A. Weber, M. Neuenschwander, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 788; *ibid. Int. Ed.* **1981**, *20*, 774; A. Weber, U. Stämpfli, M. Neuenschwander, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 29.
- [6] W.E. Billups, L.-J. Lin, E.W. Casserley, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3698; S.W. Staley, T.D. Norden, *ibid.* **1984**, *106*, 3699.
- [7] K.B. Wiberg, G. Bonneville, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 5385.
- [8] W.E. Billups, L.-J. Lin, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 1575.
- [9] P.J. Chenier, D.A. Southard, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3519; *ibid.* **1990**, *55*, 4333.
- [10] B.R. Dent, B. Halton, A.M.F. Smith, *Aust. J. Chem.* **1986**, *39*, 1621.
- [11] In Abwesenheit von Cyclopentadien lässt sich 1,2-Dibromocyclopropen (**14a**) NMR-spektroskopisch nachweisen: Das charakteristische Singulett der CH₂-Gruppe bei 2,10 ppm (CDCl₃) verschwindet bei Zugabe von Cyclopentadien.
- [12] St. Walther, Dissertation, Universität Bern, 1985.
- [13] Während C(8) von *endo*-Tricyclo[3.2.1.0^{2,4}]oct-6-en bei 63,7 ppm absorbiert, liegt C(8) des *exo*-Isomers bei 37,4 ppm! H. Günther, W. Herrig, H. Seel, S. Tobias, A. de Meijere, B. Schrader, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4329; K. Torii, M. Ueyama, T. Tsuji, H. Matsumura, H. Tanida, H. Iwamura, K. Kushida, T. Nishida, S. Satoh, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 327.
- [14] Die Abfangreaktion von **12** ist nur zu 40% effizient, die Struktur möglicher Nebenprodukte noch unbekannt. Als Folgereaktion von **12** ist vor allem die Dreiringöffnung zu einem Vinylcarben attraktiv, welches sich durch Umlagerung stabilisieren kann. Vgl. z.B. P. Müller, N. Pautex, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1630; N. Pautex, Dissertation, Universität Genf, 1989.
- [15] Trotz dieser überzeugenden Argumente soll versucht werden, die Struktur von **16** durch eine Röntgenstrukturanalyse zu bestätigen.
- [16] Sowohl die Signallage als auch die Kopplungskonstante *J*(3a,3b) von **16** sind den Werten analoger *syn*-konfigurierter Addukte von Diphenylisobenzofuran an Cyclopropene sehr ähnlich. Vgl. P. Müller, G. Bernardinelli, J. Pfyffer, D. Rodriguez, J.-P. Schaller, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 544.
- [17] Aufgrund von Vorversuchen verläuft der (Halogen-Li)-Austausch sogar schneller als die Deprotonierung von Cyclopentadien, so dass das Cyclopropan **13** mit *t*-BuLi sogar in Gegenwart von Cyclopentadien umgesetzt werden kann!
- [18] W.E. Billups, M.M. Haley, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1735; *ibid. Int. Ed.* **1989**, *28*, 1711.

Chimia 45 (1991) 27–29
© Schweiz. Chemiker-Verband; ISSN 0009-4293

Isolierung und Charakterisierung der Hauptcarotinoide aus Blütenblättern von *Brassica napus*

Bertold Debrunner und Hanspeter Pfander*

Abstract. From the yellow petals of rape (*Brassica napus*), five major carotenoids have been isolated. Based on UV/VIS, CD, 400-MHz ¹H-NMR, and mass spectra, they were identified as (9'Z)-neoxanthin, (all-E)- and (9Z)-violaxanthin, and (8'R)- and (8'S)-luteoxanthin.

Einleitung

Raps (*Brassica napus*) ist im gemässigten Klimabereich der nördlichen Hemisphäre die wirtschaftlich wichtigste Öl- und Eiweisspflanze. Genutzt werden in erster Linie die Samen, die bis zu 45% Rohfett enthalten, wovon 80–90% als Öl gewonnen werden kann, welches als Speiseöl in den Handel kommt. Als Nebenprodukte fallen

ein geringwertiges Stroh, sowie die als 'Ölkuchen' gehandelten Pressrückstände als wertvolles, da eiweissreiches Kraftfutter an [1]. Der Anbau von Raps hat in letzter Zeit weltweit an Bedeutung gewonnen. So wurde die Produktion von Rapsöl in den letzten 18 Jahren ungefähr verdreifacht [2]. Dies ist auch insbesondere den Züchtungserfolgen von 00-Sorten (erucasäurefrei, d.h. max. 2% Erucasäure im Gesamtfettsäuregehalt des

Samenöls und glucosinolatarm, d.h. max. 30 µmol Glucosinolate je g entfettetes Samenehl) zu verdanken.

Raps gehört wie Rübsen, alle Kohlarten, brauner Senf usw. in die Familie der Kreuzblütler (Brassicaceae) und ist die Stammform der Kohlrübe [3]. Der im Frühjahr beim Blühen stark verzweigte Hauptstengel trägt grosse, intensiv gelbe Blütentrauben, aus denen sich die zweifährigen Schoten mit zahlreichen Samen entwickeln. Dieser Hauptstengel ist sehr regenerationskräftig. Die Blütezeit erstreckt sich über mehrere Wochen, wobei ein nur sehr kleiner Teil der Blütenanlagen zur Schotenbildung kommt. Blühende Rapsfelder sind auch beliebte Bienenweiden.

Generell sind für die gelbe bis rote Farbe von Blütenblättern neben Flavonolglykosiden (z.B. Quercetin und Kämpferol), Betaxanthine (z.B. Indicaxanthin) und Anthocyanine sehr oft Carotinoide verantwortlich, beispielsweise in Narzissen [4] und Rosen. Die Farbstoffe von Rosenblüten

*Korrespondenz: Prof. Dr. H. Pfander
Institut für organische Chemie
Universität Bern
Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle.

Generierung und Abfangen von Tricyclo-[3.2.1.0^{2,4}]octa-2(4),6-dien (12). In einem ausgeheizten 25-ml-Dreihals-Rundkolben mit Septum, Thermometer und Inertgas-Überleitung werden 200 mg (0,76 mmol) **15a** und 205 mg (0,76 mmol) DPIBF in 5 ml THF gelöst und während 15 min mittels Spritze bei -80° bis -75° 0,53 ml einer 1,4M *t*-BuLi Lsg. in Pentan (0,74 mmol) zugegeben. Nach jedem Tropfen verfärbt sich die gelbe Lsg. braun. Die gelbbraune Lsg. wird während 30 min bei -50°, dann 1 h bei RT. gerührt. Zur Elimination von evtl. überschüssigem DPIBF wird mit ca. 200 mg (ca. 2,0 mmol) Maleinsäure-anhydrid versetzt und 15 min weitergerührt. Das Gemisch wird mit 50 ml Et₂O verdünnt, im Scheidetrichter 2 x mit 2N NaOH, 1 x mit H₂O und 1 x mit ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und i.R.V. bei RT. einrotiert. Das ölige Rohprodukt wird in 2 Teilen durch präp. Schichtchromatographie gereinigt (Merck Art. 5717 PSC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄, Schichtdicke: 2 mm, Elutionsmittel Pentan/Et₂O 20:1, zweifache Elution). Die Zone mit einem R_F-Wert von 0,61 wird gesammelt und mit Et₂O extrahiert, das Eluat i.R.V. bei RT. eingedampft: 119,8 mg (42%) weisse Kristalle von **16**, die laut ¹H-NMR nur Spuren von Verunreinigungen enthalten. Schmp. 172–173° (Pentan). ¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle. MS: 374 (81, M⁺), 307 (100).

2-Bromo-4-(trimethylsilyl)-endo-tricyclo-[3.2.1.0^{2,4}]oct-6-en (15b). In einem ausgeheizten 25-ml-Dreihals-Rundkolben mit Septum, Thermometer und Inertgas-Überleitung wird eine Lsg. von 500 mg (1,42 mmol) **1,1,2-Tribromo-2-(trimethylsilyl)cyclopropan (13)** [10] in 5 ml THF auf -80° abgekühlt. Man tropft mittels Spritze während 15 min 1,01 ml einer 1,4M *t*-BuLi Lsg. in Pentan (1,41 mmol) zu. Dabei tritt eine deutliche Farbveränderung von violett über grün-gelb bis braun ein. Innerhalb von 30 min wird unter Rühren von -80° auf -50°, sodann innert 10 min von -50° auf RT. erwärmt und rasch mit einer Lsg. von 0,116 ml (93 mg, 1,41 mmol) Cyclopentadien in 1 ml

THF versetzt. Das braune Gemisch wird weitere 4,5 h bei RT. gerührt, mit 50 ml Et₂O verdünnt, im Scheidetrichter mit H₂O und ges. NaCl-Lsg. gewaschen, getrocknet (MgSO₄) und i. RV. bei -20°/0,2 Torr eingengt: 253,7 mg (69%) NMR-reines Rohprodukt **15b** als gelbliches Öl. Chromatographie über 15 g Kieselgel mit Pentan liefert 166,8 mg (46%) **15b** als farblose Flüssigkeit. ¹H- (300 MHz, CDCl₃) und ¹³C-NMR (75 MHz, CDCl₃): vgl. Tabelle.

Eingegangen am 30. November 1990

- [1] Teil der geplanten Dissertation von M.M., Universität Bern.
- [2] W.E. Billups, M.M. Haley, G. A. Lee, *Chem. Rev.* **1989**, *89*, 1147; B. Halton, M.G. Banwell, 'Cyclopropenes', in 'The Chemistry of the Cyclopropyl Group', Ed. Z. Rappoport, Wiley, New York, 1987.
- [3] H.-U. Wagner, G. Szeimies, J. Chandrasekhar, P.v.R. Schleyer, J.A. Pople, J.S. Binkley, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, *100*, 1210.
- [4] G. Szeimies, J. Harnisch, O. Baumgärtel, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 5183; U. Szeimies-Seebach, G. Szeimies, *ibid.* **1978**, *100*, 3966; U. Szeimies-Seebach, A. Schöffler, R. Römer, G. Szeimies, *Chem. Ber.* **1981**, *114*, 1767; H.-G. Zoch, G. Szeimies, R. Römer, G. Germain, J.-P. Declercq, *ibid.* **1983**, *116*, 2285.
- [5] A. Weber, M. Neuenschwander, *Angew. Chem.* **1981**, *93*, 788; *ibid. Int. Ed.* **1981**, *20*, 774; A. Weber, U. Stämpfli, M. Neuenschwander, *Helv. Chim. Acta* **1989**, *72*, 29.
- [6] W.E. Billups, L.-J. Lin, E.W. Casserley, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 3698; S.W. Staley, T.D. Norden, *ibid.* **1984**, *106*, 3699.
- [7] K.B. Wiberg, G. Bonneville, *Tetrahedron Lett.* **1982**, *23*, 5385.
- [8] W.E. Billups, L.-J. Lin, *Tetrahedron* **1986**, *42*, 1575.
- [9] P.J. Chenier, D.A. Southard, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 3519; *ibid.* **1990**, *55*, 4333.
- [10] B.R. Dent, B. Halton, A.M.F. Smith, *Aust. J. Chem.* **1986**, *39*, 1621.
- [11] In Abwesenheit von Cyclopentadien lässt sich 1,2-Dibromocyclopropen (**14a**) NMR-spektroskopisch nachweisen: Das charakteristische Singulett der CH₂-Gruppe bei 2,10 ppm (CDCl₃) verschwindet bei Zugabe von Cyclopentadien.
- [12] St. Walther, Dissertation, Universität Bern, 1985.
- [13] Während C(8) von *endo*-Tricyclo[3.2.1.0^{2,4}]oct-6-en bei 63,7 ppm absorbiert, liegt C(8) des *exo*-Isomers bei 37,4 ppm! H. Günther, W. Herrig, H. Seel, S. Tobias, A. de Meijere, B. Schrader, *J. Org. Chem.* **1980**, *45*, 4329; K. Torii, M. Ueyama, T. Tsuji, H. Matsumura, H. Tanida, H. Iwamura, K. Kushida, T. Nishida, S. Satoh, *Tetrahedron Lett.* **1974**, 327.
- [14] Die Abfangreaktion von **12** ist nur zu 40% effizient, die Struktur möglicher Nebenprodukte noch unbekannt. Als Folgereaktion von **12** ist vor allem die Dreiringöffnung zu einem Vinylcarben attraktiv, welches sich durch Umlagerung stabilisieren kann. Vgl. z.B. P. Müller, N. Pautex, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1630; N. Pautex, Dissertation, Universität Genf, 1989.
- [15] Trotz dieser überzeugenden Argumente soll versucht werden, die Struktur von **16** durch eine Röntgenstrukturanalyse zu bestätigen.
- [16] Sowohl die Signallage als auch die Kopplungskonstante *J*(3a,3b) von **16** sind den Werten analoger *syn*-konfigurierter Addukte von Diphenylisobenzofuran an Cyclopropene sehr ähnlich. Vgl. P. Müller, G. Bernardinelli, J. Pfyffer, D. Rodriguez, J.-P. Schaller, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 544.
- [17] Aufgrund von Vorversuchen verläuft der (Halogen-Li)-Austausch sogar schneller als die Deprotonierung von Cyclopentadien, so dass das Cyclopropan **13** mit *t*-BuLi sogar in Gegenwart von Cyclopentadien umgesetzt werden kann!
- [18] W.E. Billups, M.M. Haley, *Angew. Chem.* **1989**, *101*, 1735; *ibid. Int. Ed.* **1989**, *28*, 1711.

Chimia 45 (1991) 27–29
© Schweiz. Chemiker-Verband; ISSN 0009-4293

Isolierung und Charakterisierung der Hauptcarotinoide aus Blütenblättern von *Brassica napus*

Bertold Debrunner und Hanspeter Pfander*

Abstract. From the yellow petals of rape (*Brassica napus*), five major carotenoids have been isolated. Based on UV/VIS, CD, 400-MHz ¹H-NMR, and mass spectra, they were identified as (9'Z)-neoxanthin, (all-E)- and (9Z)-violaxanthin, and (8'R)- and (8'S)-luteoxanthin.

Einleitung

Raps (*Brassica napus*) ist im gemässigten Klimabereich der nördlichen Hemisphäre die wirtschaftlich wichtigste Öl- und Eiweisspflanze. Genutzt werden in erster Linie die Samen, die bis zu 45% Rohfett enthalten, wovon 80–90% als Öl gewonnen werden kann, welches als Speiseöl in den Handel kommt. Als Nebenprodukte fallen

ein geringwertiges Stroh, sowie die als 'Ölkuchen' gehandelten Pressrückstände als wertvolles, da eiweissreiches Kraftfutter an [1]. Der Anbau von Raps hat in letzter Zeit weltweit an Bedeutung gewonnen. So wurde die Produktion von Rapsöl in den letzten 18 Jahren ungefähr verdreifacht [2]. Dies ist auch insbesondere den Züchtungserfolgen von 00-Sorten (erucasäurefrei, d.h. max. 2% Erucasäure im Gesamtfettsäuregehalt des

Samenöls und glucosinolatarm, d.h. max. 30 µmol Glucosinolate je g entfettetes Samenehl) zu verdanken.

Raps gehört wie Rübsen, alle Kohlarten, brauner Senf usw. in die Familie der Kreuzblütler (Brassicaceae) und ist die Stammform der Kohlrübe [3]. Der im Frühjahr beim Blühen stark verzweigte Hauptstengel trägt grosse, intensiv gelbe Blütentrauben, aus denen sich die zweifährigen Schoten mit zahlreichen Samen entwickeln. Dieser Hauptstengel ist sehr regenerationskräftig. Die Blütezeit erstreckt sich über mehrere Wochen, wobei ein nur sehr kleiner Teil der Blütenanlagen zur Schotenbildung kommt. Blühende Rapsfelder sind auch beliebte Bienenweiden.

Generell sind für die gelbe bis rote Farbe von Blütenblättern neben Flavonolglykosiden (z.B. Quercetin und Kämpferol), Betaxanthine (z.B. Indicaxanthin) und Anthocyanine sehr oft Carotinoide verantwortlich, beispielsweise in Narzissen [4] und Rosen. Die Farbstoffe von Rosenblüten

*Korrespondenz: Prof. Dr. H. Pfander
Institut für organische Chemie
Universität Bern
Freiestrasse 3, CH-3012 Bern

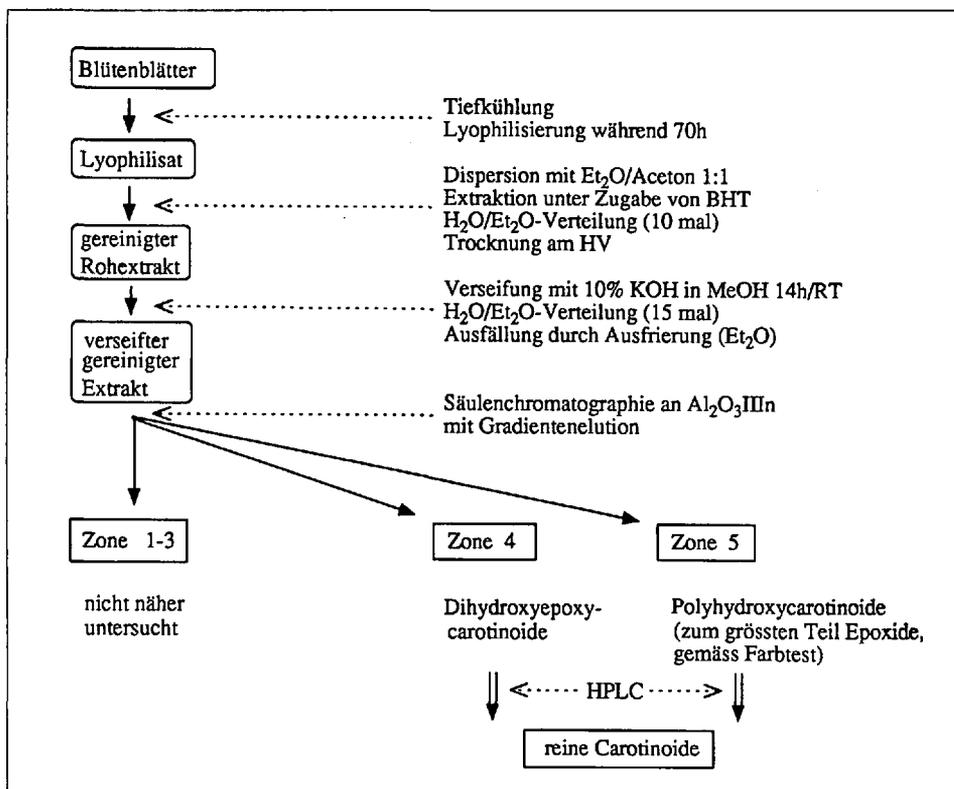


Fig. 1. Isolierschema

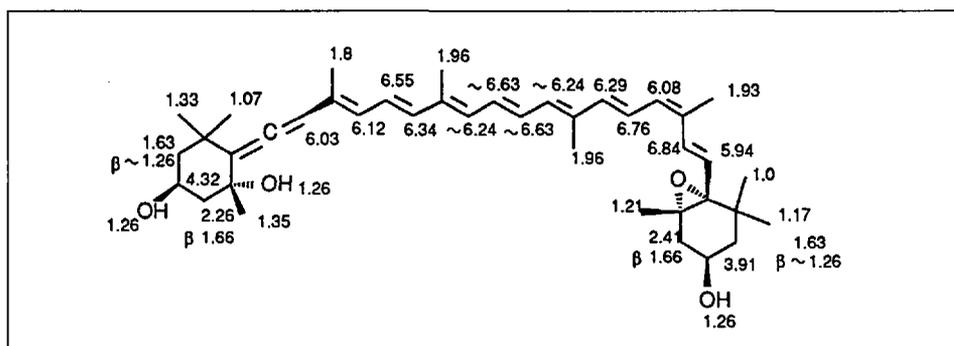


Fig. 2. ¹H-NMR-Daten (400-MHz, CDCl₃) von (9Z)-Neoxanthin

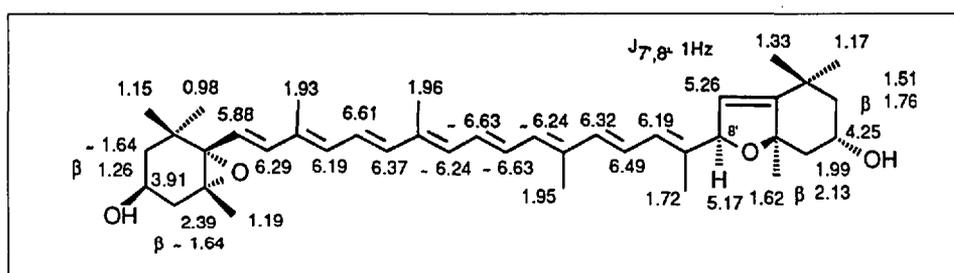


Fig. 3. ¹H-NMR-Daten (400-MHz, CDCl₃) von (8R)-Luteoxanthin

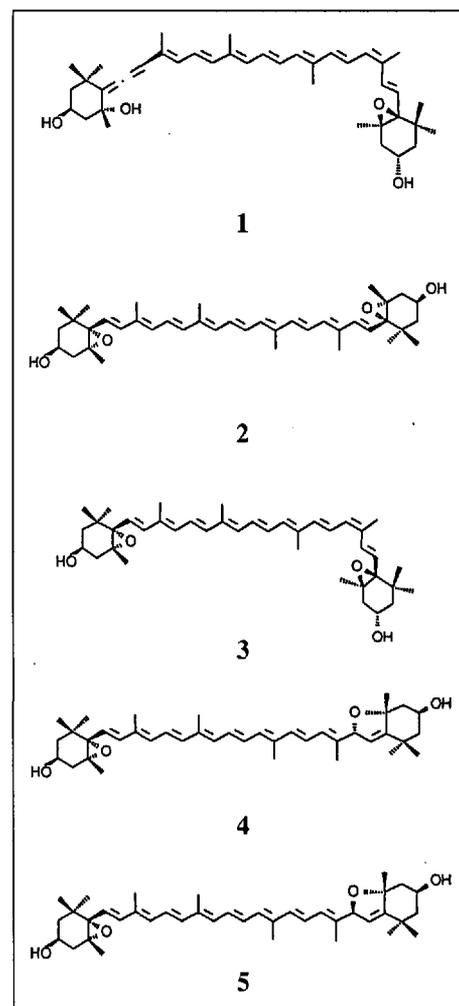
sind eingehend von Eugster und Mitarbeitern untersucht worden [5–8]. So wurden aus den gelben Petalen von *Rosa foetida* HERRM. 35 verschiedene Carotinoide isoliert und ihre Struktur bestimmt [9]. Auffallend ist dabei der hohe Gehalt an Carotinoid-epoxiden, der ca. 87% beträgt. Der Hauptteil dieser Verbindungen ist auf Antheraxanthin und Violaxanthin zurückzuführen, was auf das Vorliegen eines defekten Violaxanthin-Zyklus hinweist. In neueren Arbeiten [10–13] ist zudem auch die Isolierung von verschiedenen Apo- und Diapocarotinoiden beschrieben worden.

In der vorliegenden Arbeit berichten wir

über die Hauptcarotinoide aus den Petalen von Winterraps [14].

Resultate und Diskussion

Aus 68,5 g getrockneten Blütenblätter der Sorte 'Bienvenue' liessen sich nach Extraktion, Verseifung und Vortrennung des Rohextraktes an Al₂O₃ III_n mit Gradientenelution total 626 mg etherlösliche Carotinoide in 5 Hauptfraktionen gewinnen (s. Fig. 1 und Tab. 1). Auffallend ist, in Analogie zu den Rosenblüten, der hohe Anteil von Di- resp. Polyhydroxy-epoxiden;



Fr. 4 und 5 (grösstenteils Epoxide) ergaben über 90% des Gesamtcarotinoidgehaltes.

Zur Strukturbestimmung wurden im folgenden aus diesen beiden Fraktionen fünf Hauptkomponenten mittels halbpräp. HPLC isoliert (s. Exper. Teil) und mit Hilfe von UV/VIS-, CD-, 400-MHz-¹H-NMR- und Massenspektren eindeutig identifiziert. Auf Grund der spektroskopischen Daten können diesen Verbindungen die im folgenden angegebenen Strukturen zugeordnet werden. Aus der Zone 5 wurde (9Z)-Neoxanthin ((9Z,3S,5R,6R,3'S,5'R,6'S)-5',6'-Epoxy-6,7-didehydro-5,6,5',6'-tetrahydro-β,β-carotin-3,5,3'-triol, 1) isoliert, während aus Zone 4 (all-E)-Violaxanthin ((all-E,3S,5R,6S,3'S,5'R,6'S)-5,6,5',6'-Diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro-β,β-carotin-3,3'-diol, 2), (9Z)-Violaxanthin ((9Z,3S,5R,6S,3'S,5'R,6'S)-5,6,5',6'-Diepoxy-5,6,5',6'-tetrahydro-β,β-carotin-3,3'-diol, 3), (8R)-Luteoxanthin ((3S,5R,6S,3'S,5'R,8'R)-5,6,5',8'-Diepoxy-5,6,5',8'-tetrahydro-β,β-carotin-3,3'-diol, 4) und (8S)-Luteoxanthin ((3S,5R,6S,3'S,5'R,8'S)-5,6,5',8'-Diepoxy-5,6,5',8'-tetrahydro-β,β-carotin-3,3'-diol, 5) isoliert wurde.

Die aus den Petalen von Raps bisher isolierten Carotinoide sind bereits früher in verschiedenen anderen Organismen gefunden worden. Neben (9Z)-Neoxanthin (1) konnte auch das (all-E)-Isomere nachgewiesen werden, doch konnte dieses nicht in völlig reiner Form isoliert werden; mengenmässig überwog bemerkenswerterweise das (Z)-Isomere. Die Daten der 400-

Tabelle. Menge und Zusammensetzung der Carotinoide aus *B.napus* nach Trennung an Al_2O_3 III_n^{a)}

Zone	Menge [mg]	in %
1 Kohlenwasserstoffe	18	2,9
2 Caroniodaldehyde und -ketone	20	3,1
3 Mono- und Dihydroxycarotinoide	18	2,8
4 Dihydroxyepoxycarotinoide	496	79,2
5 Polyhydroxycarotinoide	75	12,0
Total	627	

^{a)} Die aus UV/VIS-Messungen abgeschätzten Gehaltangaben beziehen sich auf 10 g des versiften Extraktes.

MHz-¹H-NMR-Spektren von **1** sind mit denjenigen welche kürzlich von Märki-Fischer und Eugster [15] veröffentlicht wurden in Einklang und sind in Fig. 2 gezeigt. (all-*E*)-Violaxanthin **2**, als auch dessen (9*Z*)-Isomeres **3** wurden früher aus *R. foetida* isoliert [8], ebenfalls die beiden Luteoxanthine **4** (400-MHz-¹H-NMR-Daten s. Fig. 3) und **5**.

Neben der Strukturaufklärung der Hauptcarotinoide wurden die Resultate unserer Voruntersuchungen insofern bestätigt, dass eine grosse Anzahl von verschiedenen Carotinoiden in den Blütenblättern von Raps vorhanden ist. Nach einer DC-Analyse konnten im versiften Gesamtextrakt 20 Komponenten festgestellt werden. Die HPLC-Analyse jedoch zeigte, dass das Gesamtcarotinoidepektrum wesentlich vielfältiger ist. So kann die Anzahl der Carotinoide in den gelben Blütenblättern auf über 50 geschätzt werden. Die Arbeiten zur Strukturaufklärung der weiteren Carotinoide, sowie deren quantitative Zusammensetzung sind zur Zeit im Gang.

Experimentelles

1. *Allgemeines.* Sämtliche Operationen wurden unter Ar und unter Lichtausschluss durchgeführt. Die verwendeten Lsgm. waren von *p.a.*-Qualität oder wurden nach den üblichen Methoden [8] vorgereinigt und vor Gebrauch frisch destilliert. Das Einengen der Lsgm. am RV. erfolgte bei 25°. Die Gehaltsbestimmung für Gemische oder für Carotinoide mit unbekannter quantitativer Extinktion wurde aus E_{cm}^1 -Werten mit 2500 als Standard am Hauptmaximum berechnet. HPLC: HPLC-Analysen erfolgten analytisch (20 μ m) an *Spherisorb 5 ODS-2* (4,6 \times 250 mm) oder semipräp. (100 μ m) an *Nucleosil 5 C₁₈* (10 \times 250 mm), (*Macherey-Nagel*, Düren, BRD). Pumpen *Altex 110 A* mit Mikroprozessor *Altex 420*. Aufnahme der Chromatogramme und der UV/VIS-Spektren mit *Kontron Uvikon LCD 725*-Detektor und Spektrophotometer *Perkin-Elmer 554* oder Photodiodearray *Waters 990 Detector* mit *NEC APC IV*-Computer (*Power Mate 2*), *NEC* Pinwriter *CP 6* und *Waters 990 Plotter*. Angabe von λ_{max} in nm. Alle Lsgm. (*Romil Chemicals*, Kölliken) für die Chromatographie waren HPLC-Qualität und wurden vor Gebrauch durch Glass-Microfibre-Filter *GF/F* (*Whatman*, Maidstone, GB, ϕ 2,5 cm) gefiltert. Als Spritzenfilter dienten *Alltech HPLC-Filter* der Serie *6'000* (*Nylon 66* (0,45 μ m)). CD-Spektren: Modifizierter Dichrograph II (*Jobin-Yvon*), Angaben in nm ($\Delta\epsilon$); aufgenommen bei RT. in EtOH. ¹H-NMR-Spektren: 400 MHz *Brüker Spektroskop AM 400 WB* mit Dual-Kopf, Lsgm. $CDCl_3$. δ in ppm bezüglich TMS (= 0 ppm). *J* in Hz. MS: MS 9 (*AE*, Manchester, GB) mit ZAB-Konsole

(*VG*, Altrincham, GB). Datensystem *SS 300* (*Finnigan MAT*, Bremen, BRD). Probenzuführung auf der Spitze eines Glasstäbchens (ϕ 1 mm). Im N_2 -Strom zur Trockene eingedampft und über eine Vakuumschleuse direkt in der Ionenquelle bei -260° verdampft. Ionisierungsenergie 70 eV. DC: Fertigplatten, *Kieselgel 60 F₂₅₄* (20 \times 20 cm, *Merck*). SC: Al_2O_3 (I neutral, *Camag*, Muttenz). Al_2O_3 (III neutral) wurde durch Zugabe von 6% H_2O zu Al_2O_3 (I neutral) und 12 h Rühren erhalten. Rapsblütenblätter der Sorte 'Bienvenue' wurden zu Beginn der Blütezeit anfangs Mai 1988 während zweier Wochen bei *H. Huber* in Kiesen/BE zusammengetragen.

2. *Ausgangsmaterial und Extraktion.* Total 1400 g Blütenblätter von *Brassica napus* wurden sofort nach dem Pflücken bei -18° tiefgefroren, dann portionenweise in einem flachen, grossen *Dewar* mit flüssigem N_2 ausgefroren, gemörsert, in Lyophilisierungskolben gefüllt und mehrere Tage an der Gefriertrocknungsanlage belassen. Bis zur weiteren Verwendung wurde das so aufgeschlossene Pflanzenmaterial (200 g) im Tiefkühlfach gelagert. Die getrocknete Petalen (68,5 g) wurden in ein Aceton/Et₂O 1:1 Gemisch eingelegt und mit einem Hochleistungs-Dispergiergerät (*Polytronic*) zu einem feinen Brei zerkleinert und mehrmals mit frischen Portionen Lsgm. extrahiert. Dies ergab eine quantitative Extraktion der Farbstoffe (Rückstand annähernd farblos). Die gelbe Lsg. wurde nach jedem Extraktionsschritt sofort am RV. eingengt. Der honigartige Extrakt wurde dann zwischen H_2O und Et₂O verteilt und die aus der Et₂O-Phase gewonnenen Anteile (16 g) mit 300 ml 10% KOH/MeOH bei RT. während 14 h verseift und erneut zwischen H_2O und Et₂O verteilt. Durch Ausfrieren bei -18° konnten, nach Filtration über *Celite*, aus dem etherlöslichen Extrakt farblose Substanzen entfernt werden.

3. *Säulenchromatographie.* Die Grobtrennung in 5 Zonen erfolgte mittels Gradientelution mit je 2,5 g Extrakt an Al_2O_3 III_n (500 g, Säule: ϕ 5 \times 30 cm, nass gefüllt) in folgender Reihenfolge: Petrolether/Toluol 1:1 \rightarrow Toluol/Et₂O 3:1 \rightarrow Et₂O \rightarrow AcOEt \rightarrow MeOH. Der Extrakt wurde in Petrolether/Toluol 1:1 aufgezogen und die Elution erfolgte mit steigender Polarität. Der Wechsel der Eluiermittel geschah jeweils erst, nachdem eine Zone gesammelt wurde. Die resultierenden Mengen der fünf gelben Zonen nach dem Einengen am RV. und der Trocknung am HV. sind in der Tabelle ersichtlich.

4. *HPLC.* Die semipräp. HPLC-Trennung der Zone 5 geschah mit *Eluent 1*: 15% B in A+B, 3 ml/min Fluss, wobei A: 90 T MeOH, 10 T H_2O , 1 T Et₃N und B: 20 T AcOEt, 80 T MeOH, 1 T Et₃N. Die Retentionszeiten waren für (all-*E*)-Neoxanthin: 12,5 min, für (9*Z*)-Neoxanthin: 14 min, womit eine Grundlinientrennung gelang und beide Carotinoide einzeln aufgefangen werden konnten. Die Trennung der Zone 4 geschah mit *Eluent 2*: 80% C in A+C, 2,3 ml/min Fluss, wobei C: MeCN. Die Retentionszeiten waren für (all-*E*)-Violaxanthin: 11,7 min, für (8*R*)-Luteoxanthin: 12,5 min und für (8*S*)-Luteoxanthin: 13,1 min. Für (all-*E*)-Violaxanthin gelang damit eine Grundlinientrennung und wurde rein aufgefangen. Die Trennung von (8*S*)-Luteoxanthin und einem (8*R*)-Luteoxanthin/(9*Z*)-Violaxanthin-Gemisch mit *Eluent 3*: 97% D in C+D, 2,3 ml/min Fluss, wobei: D: 90 T i-PrOH, 10 T H_2O , 1 T Et₃N. t_R für das (8*R*)-Luteoxanthin/(9*Z*)-Violaxanthin-Gemisch: 17,3 min und für (8*S*)-Luteoxanthin: 18,3 min, womit eine Grundlinientrennung gelang und (8*S*)-Luteoxanthin aufgefangen wurde. Die Trennung von (8*R*)-Luteoxanthin und (9*Z*)-Violaxanthin gelang mit 30% B in A+B, 2,5 ml/min Fluss. t_R für (8*R*)-Luteoxanthin: 17,3 min und für (9*Z*)-Violaxanthin: 18,2 min, womit eine Grundlinientrennung gelang und beide Carotinoide einzeln gesammelt werden konnten. Die Reinheit der einzeln aufgefangenen Komponenten wurde zusätzlich durch wiederholtes Auftragen auf die Säule mit unterschiedlichen Fließmittel bestätigt.

5. *Charakterisierung der Carotinoide.* 5.1. (9*Z*)-Neoxanthin (**1**). UV/VIS: 464, 435, 412, 327 (Hexan); $\alpha/\beta = 0,83$. CD: 471,3 (11,59), 265,5 (4,87), 256,6 (3,45), 227,8 (-7,80), 204,3 (-3,30). ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$, Fig. 5): Signallagen in Übereinstimmung mit [15], zusätzlich: 1,63 (*m*, $H_{eq-C(2'2'')}$); 1,66 (*m*, $H_{ax-C(4'4'')}$); 2,26 (*m*, $H_{eq-C(4)}$); 2,41 (*m*, $H_{eq-C(4')}$).

MS: 600 (*M*⁺), 582 (*[M - 18]*⁺), 566, 542 (*[M - 58]*⁺), 502 (*[M - 18 - 80]*⁺), 221, 43.

5.2. (all-*E*)-Violaxanthin (**2**). UV/VIS: 470, 440, 416 (EtOH), $\alpha/\beta = 0,83$. CD: 478,7 (19,38), 450,1 (14,41), 421,1 (11,59), 397,1 (9,98), 327,4 (9,79), 264,0 (-28,40), 227,9 (17,60), 204,0 (-3,21). ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): Signallagen in Übereinstimmung mit [17].

5.3. (9*Z*)-Violaxanthin (**3**). ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$), Signallagen in Übereinstimmung mit [9], zusätzlich: 2,39 (*dq*, $H_{eq-C(4'4'')}$); 6,20 (*d*, $H-C(10)$); 6,25 (*m*, $H-C(14/14')$); 6,29 (*d*, $H-C(12)$); 6,37 (*d*, $H-C(12)$); 6,60 (*dd*, $H-C(11)$); 6,63 (*m*, $H-C(15/15')$).

5.4. (8*R*)-Luteoxanthin (**4**). UV/VIS: 448, 421, 398 (Hexan); $\alpha/\beta = 0,98$. CD: 462,9 (3,01), 444,6 (13,23), 415,6 (11,25), 392,9 (8,69), 372,7 (5,83), 310,1 (-6,06), 298,3 (-4,83), 288,3 (-2,64), 267,9 (-0,34), 243,7 (4,11), 216,2 (0,82). ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$), Signallagen in Übereinstimmung mit [9], zusätzlich: 1,26 (*m*, $H_{ax-C(2)}$); 1,51 (*m*, $H_{eq-C(2'2'')}$); 1,63 (*m*, $H_{eq-C(2)}$); 1,64 (*m*, $H_{ax-C(4)}$); 1,76 (*m*, $H_{ax-C(2'2'')}$); 1,99 (*m*, $H_{eq-C(4')}$); 2,13 (*m*, $H_{ax-C(4)}$); 2,39 (*m*, $H_{eq-C(4)}$); 6,19 (*d*, $H-C(10')$); 6,24 (*m*, $H-C(14/14')$); 6,32 (*d*, $H-C(12')$); 6,37 (*d*, $H-C(12)$); 6,49 (*dd*, $H-C(11')$); 6,63 (*m*, $H-C(15/15')$). MS: 600 (*M*⁺), 520 (*[M - 80]*⁺), 40 (*[M - 80 - 80]*⁺), 340, 299, 221, 181, 43.

5.5. (8*S*)-Luteoxanthin (**5**). UV/VIS: 448, 421, 398 (Hexan); $\alpha/\beta = 0,98$. CD: 456,7 (14,11), 429,8 (8,34), 403,0 (6,12), 386,1 (5,01), 362,1 (2,85), 329,8 (-0,08), 315,2 (0,76), 303,6 (0,39), 249,1 (-14,81), 229,7 (-3,93), 199,2 (-12,32). ¹H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$): Signallagen in Übereinstimmung mit [9], zusätzlich: 1,26 (*m*, $H_{ax-C(2)}$); 2,12 (*m*, $H_{ax-C(4)}$); 2,38 (*m*, $H_{eq-C(4)}$); 6,19 (*d*, $H-C(10')$); 6,24 (*m*, $H-C(14/14')$); 6,32 (*d*, $H-C(12')$); 6,37 (*d*, $H-C(12)$); 6,51 (*dd*, $H-C(11')$); 6,63 (*m*, $H-C(15/15')$). MS: 600 (*M*⁺), 520 (*[M - 80]*⁺), 440 (*[M - 80 - 80]*⁺), 340, 299, 221, 181, 43.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds und der Firma *F. Hoffmann-La Roche AG*, Basel für die Unterstützung dieser Arbeit.

Eingegangen am 6. Dezember 1990

- [1] P. Schütt, 'Weltwirtschaftspflanzen', Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg, 1972, S. 94.
- [2] Raps-Förderungs-Fonds (RFF), Bonn, 'Raps auf neuen Wegen', Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, 1986.
- [3] A. Wehrli, W. Häberli, H. Meyer, R. Weiss, W.G. Bieri, 'Ackerbau', Landwirtschaftliche Lehrmittelzentrale, Zollikofen, 1986, S. 179.
- [4] D. Berset, H. Pfander, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1149.
- [5] E. Märki-Fischer, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1205 und vorangegangene Mitteilungen.
- [6] C.H. Eugster, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Eds. G. Britton and T.W. Goodwin, Pergamon Press, Oxford, 1982, S. 1.
- [7] C.H. Eugster, *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 639.
- [8] C.H. Eugster, in 'Carotenoids: Chemistry and Biology', Eds. N.I. Krinsky, N.M. Mathews-Roth and R.F. Taylor, Plenum Press, New York, 1990, S. 1.
- [9] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 2143.
- [10] E. Märki-Fischer, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1988.
- [11] E. Märki-Fischer, P. Uebelhart, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1994.
- [12] E. Märki-Fischer, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 24.
- [13] E. Märki-Fischer, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1491.
- [14] B. Debrunner, Lizentiatsarbeit, Universität Bern, 1989.
- [15] E. Märki-Fischer, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1637.
- [16] R. Müller, R. Keese, 'Grundoperationen der präparativen organischen Chemie', Juris Verlag, Zürich, 1981.
- [17] M. Acemoglu, P. Uebelhart, M. Rey, C.H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 931.