

240. Carotinoid-Glycoside

3. Mitteilung¹⁾

Untersuchungen zur Carotinoidzusammensetzung im Safran

von Hanspeter Pfander und Fritz Wittwer²⁾

Institut für organische Chemie der Universität Bern, Länggass-Strasse 7, 3012 Bern

(1. X. 75)

Carotenoid composition in Safran. Zusammenfassung. In der vorliegenden Arbeit wurden aus dem Äthanol-extrakt (70proz.) von *Safran naturalis* zwei weitere Crocetin-derivate isoliert. Bei den beiden Verbindungen handelt es sich um Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester (VII) und Crocetin-mono-(β -D-glucosyl)-ester (VIII). Die Charakterisierung erfolgte sowohl für die natürlich vorkommenden Zuckerester (VII, VIII), sowie für die entsprechenden Peracetyl-derivate (IX, X) mit Hilfe von UV./VIS.- (VII, VIII, IX, X), IR.- (VII, IX), NMR.- (VII, IX, X) und Massenspektren (IX, X). Der Zuckernachweis erfolgte mittels Papier-, Dünnschicht- und Gas-Chromatographie.

1. Einleitung. – In einer kürzlich erschienenen Mitteilung [1] berichteten wir über die Isolierung von Crocin (I) (8,8'-Diapocarotin-8,8'-disäure-di (β -D-gentiobiosyl)-ester), Crocetin-(β -D-gentiobiosyl- β -D-glucosyl)-ester (II) 8,8'-Diapocarotin-8,8'-disäure-(β -D-gentiobiosyl- β -D-glucosyl)-ester) und Crocetin-di-(β -D-glucosyl)-ester (III) (8,8'-Diapocarotin-8,8'-disäure-di (β -D-glucosyl)-ester) als Hauptpigment im Äthanol-extrakt (70proz.) von *Safran naturalis*. Die isolierten Verbindungen und deren Peracetate (IV–VI) wurden mit Hilfe von spektroskopischen Methoden charakterisiert.

In der vorliegenden Arbeit soll über die Strukturaufklärung von zwei weiteren wasserlöslichen Crocetin-derivaten im Safran berichtet werden.

2. Ergebnisse. – Nach der Isolierung der drei Hauptzonen 1, 5 und 8 (siehe Fig. 1 in [1]) wurden die Verbindungen der Zonen 3 und 6 isoliert, teilweise peracetyliert und spektroskopisch identifiziert. Der Nachweis der Zuckerkomponenten erfolgte nach der Hydrolyse durch Papier-, Dünnschicht- und Gas-Chromatographie. Aus den Zonen 3 und 6 konnten die im *Schema* dargestellten Verbindungen isoliert werden.

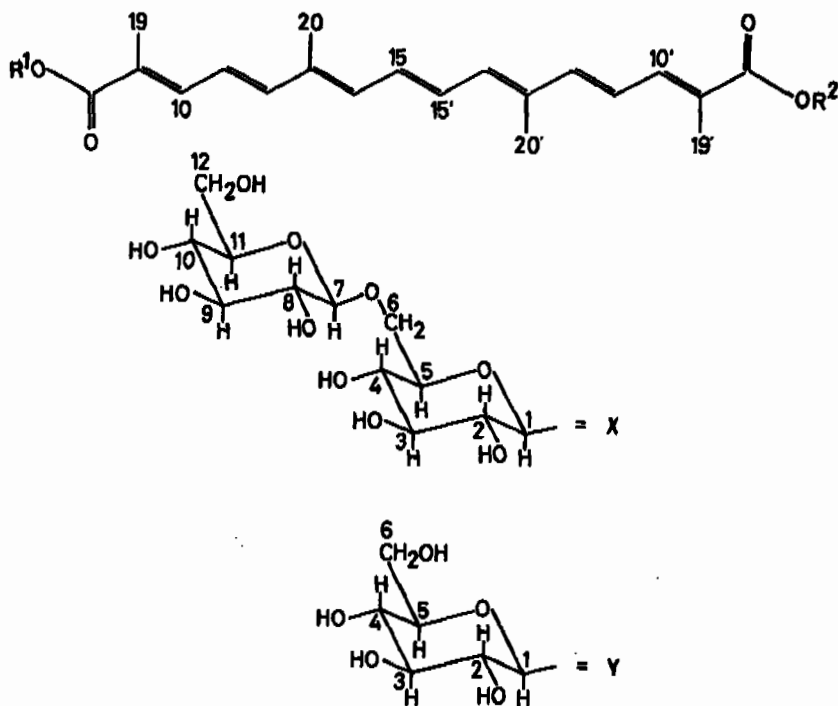
Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester (VII). 8,8'-Diapocarotin-8,8'-disäure-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester). Die aus der Zone 6 isolierte Verbindung weist im Laufmittel Äthylacetat/2-Propanol/H₂O 50:30:15 einen R_f-Wert von ca. 0,4 auf. Sowohl das Elektronenspektrum von VII, als auch das von der peracetylierten Verbindung IX sind gegenüber den entsprechenden Spektren des Crocins in Bezug auf die Lage der Maxima um 4–5 nm nach kürzeren Wellen verschoben. Das Massenspektrum der peracetylierten Verbindung VII bestätigt die vermutete Struktur durch das Auftreten des Molekül-Ions bei *m/e* 946, sowie den Fragmenten bei *m/e* 929 (*M*-17), 328 (*M*-619 + H), 327 (*M*-619), 311 (*M*-635), 310 (*M*-635 – H) und dem Bruchstück bei *m/e* 619.

¹⁾ Zweite Mitteilung, siehe [1].

²⁾ Teil der geplanten Dissertation von F. Wittwer, Universität Bern.

Schema. Struktur der isolierten Verbindungen

	R ¹	R ²
Verbindung VII: Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester	X	-H
Verbindung VIII: Crocetin-mono-(β -D-glucosyl)-ester	Y	-H



Die NMR.-Spektren der peracetylierten Verbindung IX und der freien Komponente VII unterstützen die angenommene Struktur. Das Dublett bei 5,75 ppm, welches dem Proton am anomeren C(1) der Gentiobiose zuzuordnen ist und eine Kopplungskonstante von $J \sim 8$ Hz aufweist, deutet auf eine β -D-Konfiguration (siehe exper. Teil).

Das in KBr aufgenommene IR.-Spektrum der acetylierten Verbindung IX zeigt das Vorhandensein einer unveresterten Carboxylgruppe und steht mit der angegebenen Struktur im Einklang. Das IR.-Spektrum der nicht acetylierten Verbindung VII weist praktisch gleiche Lage der Signale auf, jedoch fehlen die intensiven Acetatbanden.

Beim Nachweis der Zuckerkomponente wurde sowohl papier- und dünnschichtchromatographisch als auch gas-chromatographisch (als Silylderivat) einzig Gentiobiose nachgewiesen. Somit kommt der aus Zone 6 isolierten Verbindung VII die Struktur des Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-esters zu.

Crocetin-mono-(β -D-glucosyl)-ester (VIII). (8,8'-Diapocarotin-8,8'-disäure-mono-(β -D-glucosyl)-ester). Die aus Zone 3 isolierte Verbindung weist im Laufmittel Äthylacetat/2-Propanol/ H_2O 50:30:15 einen R_f -Wert von ca. 0,65 auf. Die Elektronenspektren der Verbindung VIII und des Peracetylderivates X sind mit den entspre-

chenden Spektren des Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-esters in Bezug auf die Lage der Maxima und des Habitus identisch.

Das Massenspektrum der Verbindung X zeigt ein Molekel-Ion bei m/e 658 und entspricht somit einem Crocetin-monoester mit einer Hexose. Die Fragmente bei m/e 641 ($M-17$), 327 ($M-331$) und 310 ($M-331 - 17$), sowie das entsprechende Bruchstück bei m/e 331 bestätigen die vorgeschlagene Struktur.

Das NMR.-Spektrum der peracetylierten Verbindung X stimmt mit der postulierten Struktur überein. Das Dublett bei 4,55 ppm (Proton am C(7) der Gentiobiose) fehlt, wogegen das Dublett bei 5,81 ppm (1H, Proton am C(1) der Glucose) mit einer Kopplungskonstante von $J \sim 8$ Hz ebenfalls auf eine β -D-Konfiguration hinweist (siehe exper. Teil).

Als Kohlenhydrat liess sich mit den drei angewendeten chromatographischen Trennmethode n nur Glucose nachweisen, womit der aus Zone 3 isolierten Verbindung die Struktur des Crocetin-mono-(β -D-glucosyl)-esters (VIII) zukommt.

3. Diskussion. - Kürzlich isolierten *Dhingra et al.* (2) aus getrocknetem Safran vier Crocetinderivate, bei welchen es sich um Crocin (I), Crocetin-(β -D-gentiobiosyl- β -D-glucosyl)-ester (II), Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester (VII) und den Crocetin-methyl- β -D-glucosyl-ester handelt. Die Strukturaufklärung der isolierten Verbindungen erfolgte mit Hilfe von UV./VIS.-, IR.-Spektroskopie, Derivaten und papierchromatographischen Zuckernachweisen. Die β -Konfiguration am C(1) des Zuckers wurde mit einer enzymatischen Spaltung der Zuckerester von Crocetin bewiesen. Der postulierte Crocetin-methyl- β -D-glucosyl-ester dürfte wahrscheinlich einen Artefakten darstellen, da die Autoren sowohl für die Extraktion wie für die chromatographische Trennung Methanol verwendeten. Nach unseren Erfahrungen bilden jedoch die Zuckerester von Crocetin in Methanol ausserordentlich leicht Methylester.

Somit zeigt sich, dass drei von *Dhingra et al.* isolierte Crocetinderivate mit den von uns identifizierten Verbindungen Crocin (I), Crocetin-(β -D-gentiobiosyl- β -D-glucosyl)-ester (II) und Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester (VII) übereinstimmen. Die Isolierung des Crocetin-di-(β -D-glucosyl)-esters (III) und des Crocetin-mono-(β -D-glucosyl)-esters (VII) werden in der erwähnten Arbeit [2] nicht beschrieben.

Diese Arbeit wurde durch die Firma *F. Hoffmann-La Roche & Co. AG*, (Basel) unterstützt. Besonderer Dank gilt den Herren *Dres. L. Chopard, G. Englert* und *W. Vetter*, sowie Herrn *W. Meister* für die Aufnahme der IR.-, NMR.- resp. Massenspektren und Herrn *Dr. H. Thommen* für die interessanten Diskussionen.

Experimenteller Teil

Isolierung der Safran-Glycoside. - Isolierung und Acetylierung sind in [1] beschrieben.

Spektroskopische Daten der Safran-Glycoside. - *Crocetin-mono-(β -D-gentiobiosyl)-ester (VII)*. UV./VIS. (Pyridin): 418, 439, 467 nm. - NMR. (CD_3_2SO): 7,2-7,45 (1H, Proton am C(10) der Kette, d.h. der Seite der Molekel, mit welcher Gentiobiose verestert ist); 6,9-7,15 (1H, Proton am C(10')); 6,25-6,9 (8 H, übrige Protonen der Kette); 5,4 (1H, Proton am C(1) der Gentiobiose, $J = 8$); 5,1 (-OH der Gentiobiose); 4,15 (1H, Proton am C(7) der Gentiobiose, $J = 8$); 2,8-4,1 (übrige Zuckerprotonen + H_2O); 2,5 (DMSO); 1,97 (12 H, Ketten-Methylgruppen); 1,6 (nicht interpretierbar); 0,6-1,4 (Paraffin und Äthanol). - IR. (KBr): 971 (-CH=CH- *trans*), 1075 (-C-O-C- Äther), 1231 (Ester -C-O-), 1542, 1584 und 1618 (-C=C- konj. Polyen), 1704 (C=O, von COOH und von konj. Ester), 2634 (-OH von COOH), 2890 und 2965 (aliph. CH), 3424 (-OH, wenig Kristallwasser).

Crocin-mono-(2,3,4,8,9,10,12-hepta-O-acetyl-β-D-gentiobiosyl)-ester (IX). UV./VIS. (CHCl₃): 418, 439, 467 nm. - NMR. (CDCl₃): 7,2-7,5 (2 H, Protonen am C(10) resp. C(10') der Kette; CHCl₃); 6,25-6,85 (8 H, übrige olefinische Protonen); 5,75 (1 H, Proton am C(1) der Gentiobiose, *J* = 8); 4,85-5,35 (6 H, Protonen am C(2)-C(4) resp. C(8)-C(10) des Disaccharids); 4,53 (1 H, Proton am C(7) der Gentiobiose, *J* = 8); 3,95-4,4 (2 H, Protonen am C(12) des Zuckers); 3,4-3,95 (4 H, Zuckerprotonen am C(5), C(6) und C(11)); 1,9-2,15 (33 H, Methylprotonen der Acetoxygruppen und der Polycyankette); 1,6 (H₂O in CDCl₃); 0,75-1,45 (Äthanol und Paraffin). - MS.: Carotinoidfragmente bei *m/e* 946 (*M*), 929 (*M*-17), 903 (*M*-43), 902 (*M*-43-H), 887 (*M*-59), 886 (*M*-60), 883 (*M*-43-43-17), 837 (*M*-92-17), 795 (*M*-92-59), 794 (*M*-92-60), 674 (*M*-92-60-60-60), 644 (*M*-92-92-59-59), 627 (*M*-92-92-59-59-17), 599 (*M*-92-92-60-60-43), 328 (*M*-619+H), 327 (*M*-619), 311 (*M*-635), 310 (*M*-635-H), 109, 91, 83, 69, 43 (100%), sowie Zuckerfragmente bei *m/e* 619, 576 (619-43), 560 (619-59), 559 (619-60), 517 (619-59-43), 516 (619-60-43), 499 (619-60-60), 474 (619-59-43-43), 457 (619-60-59-43), 456 (619-60-60-43), 439 (619-60-60-60), 415 (635-59-59-59-43), 397 (619-60-60-59-43), 355 (619-60-59-59-43-43), 354 (619-60-60-59-43-43), 341 (619-59-59-59-59-42), 331, 289 (331-42), 271, 229, 211, 169, 157, 145, 115, 109, 103, 73, 60, 59 und 43 (100%). - IR. (KBr): 968 und 980 (-CH=CH- *trans*); 1075 (-C-O-C-Äther); 1226 (Ester -C-O-); 1578 und 1614 (-C=C- konj. Polycy.); 1677 (-C=O von COOH); 1720 und 1756 (konj. und nicht konj. Ester -C=O); 2634 (-COOH); 2940 (aliph. CH); 3480 (-OH, wenig Kristallwasser).

Crocin-mono-(β-D-glucosyl)-ester (VIII). UV./VIS. (Pyridin): 419, 440 und 468 nm.

Crocin-mono-(2,3,4,6-tetra-O-acetyl-β-D-glucosyl)-ester (X). UV./VIS. (CHCl₃): 419, 440 und 468 nm. - NMR. (CDCl₃): 7,26 (2 H, Protonen am C(10) resp. C(10') der Kette; CHCl₃); 6,25-6,9 (8 H, restliche Kettenprotonen); 5,81 (1 H, Proton am C(1) der Glucose); 5,0-5,4 (3 H, Protonen am C(2)-C(4) der Hexose); 3,75-4,4 (3 H, H an C(5) und C(6) des Zuckers); 1,85-2,2 (24 H, Methylprotonen der Acetoxygruppen und der Kettenmethylgruppen); 1,53 (H₂O im CDCl₃); 0,75-1,45 (Äthanol und Paraffin). - MS.: Carotinoidfragmente bei *m/e* 658 (*M*), 641 (*M*-17), 549 (*M*-92-17), 456 (*M*-59-43), 367 (*M*-73-59-59), 327 (*M*-331), 310 (*M*-331-17), 109, 91, 83, 69, 43 (100%), sowie Zuckerfragmente bei *m/e* 331, 288 (361-73), 271, 229, 211, 169, 157, 145, 115, 109, 103, 73, 60, 59, 43 (100%), 18 (H₂O) und 17 (-OH).

Qualitativer Zuckernachweis. - Für den Nachweis der Zuckerkomponenten wurden die in [1] beschriebenen Arbeitsmethoden verwendet.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. Pfander & F. Wittwer, *Helv.* 58, 1608 (1975).
 [2] V. K. Dhingra, T. R. Seshardi & S. K. Mukerjee, *Indian J. Chem.* 13, 339 (1975).

Internationale Fachtagung für Gemeinschaftsverpflegung

Convenience Food in Produktion, Verarbeitung und Verbrauch

durchgeführt vom Schweizerischen Fachverband für Gemeinschaftsverpflegung

Basel, den 17. November 1975, Auditorium der Firma Hoffmann-La Roche & Co. AG

EUCHEM Konferenz über Stereochemie

Bürgenstock (Schweiz), 9.-15. Mai 1976

Anmeldungen bis spätestens 15. Januar 1976: Prof. A. R. Battersby, F.R.S., University Chemical Laboratory, Lensfield Road, Cambridge, CB2 1EW/England.