

157. HPLC von Carotinen mit ψ -Endgruppen und (Z)-Konfiguration an terminalen konjugierten Doppelbindungen; Isolierung von (5Z)-Lycopin aus Tomaten

von Albrecht Zumbunn¹⁾, Peter Uebelhart und Conrad Hans Eugster*

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(24.V.85)

HPLC of Carotenes with ψ -End Groups and (Z)-Configuration at Terminal Conjugated Double Bonds; Isolation of (5Z)-Lycopene from Tomatoes

Five carotenes bearing (5Z)- ψ -end groups were separated from their (all-E)-isomers by HPLC: (5Z)-lycopene (**6**), (5Z,5'Z)-lycopene (**7**), (5'Z)-neurosporene (**8**), (5'Z)- β,ψ -carotene (**12**), and (5'Z)- ϵ,ψ -carotene (**14**). Lycopene **6** was isolated from tomatoes and its structure proven by ¹H-NMR spectroscopy.

Einleitung. – In der vorangehenden Arbeit [2] haben wir die Synthese von offenkettigen Carotinen mit (Z)-Konfiguration an der terminalen konjugierten Doppelbindung, nämlich (5Z)-Lycopin (**6**)²⁾, (5Z,5'Z)-Lycopin (**7**), (5'Z)-Neurosporin (**8**), (5'Z)- β,ψ -Carotin (**12**) und (5'Z)- ϵ,ψ -Carotin (**14**) sowie von notwendigen Vergleichssubstanzen ((all-E)-Neurosporin (**9**), (5Z)-Neurosporin (**10**), (9Z)-Neurosporin (**11**), (all-E)- β,ψ -Carotin (**13**) und (all-E)- ϵ,ψ -Carotin (**15**)) beschrieben. Diese Arbeit zeigt die Trennung dieser Isomere von den Vergleichssubstanzen mittels HPLC sowie die Isolierung von **6** als einem Vertreter dieser biogenetisch wichtigen Gruppe [3] [4] aus Tomaten.

2. HPLC. – Die Trennung von (5Z)- und (5E)-Isomeren erfolgte am besten auf einer *Spherisorb-ODS*-Säule mit MeCN/THF 92:8 [5]. Alle Carotine wurden unter denselben Bedingungen chromatographiert. Im Falle des Neurosporins war die Anwendung eines

Tab. HPLC-Daten von (5Z/E)-isomeren offenkettigen Carotinen²⁾a). Relative Retentionszeiten; 1,000 = t_R für die (all-E)-Isomeren.

	Lycopine			Neurosporine			
	64 (all-E)	6 (5Z)	7 (5Z,5'Z)	9 (all-E)	8 (5'Z)	10 (5Z)	11 (9Z)
System A	1,000 (17,40 min)	1,037	1,080	1,000 (17,70 min)	1,040	0,984	1,047
System B				1,000 (15,05 min)	1,000	1,000	0,967
	β,ψ -Carotene		ϵ,ψ -Carotene				
	13 (all-E)	12 (5'Z)	15 (all-E)	14 (5'Z)			
System A	1,000 (20,55 min)	1,038	1,000 (22,67 min)	1,040			

^{a)} System A: *Spherisorb ODS-5* (250 × 4,6 mm), THF/MeCN 8:92, Fluss 1 ml/min. System B: *Spherisorb NH₂-5* (250 × 4,6 mm), Hexan/Et(i-Pr)₂N 99,9:0,1, Fluss 0,5 ml/min.

¹⁾ Teil der Dissertation von A. Z. [1].

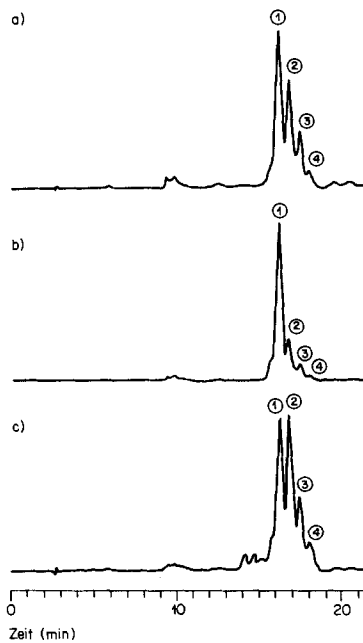
²⁾ Für Formeln und ihre Nummern siehe vorangehende Arbeit [2].

zweiten Systems erforderlich (*Spherisorb NH₂*, Hexan/Et(i-Pr)₂N 99,9:0,1), da auf der ODS-Säule (5'Z)- und (9Z)-Neurosporin (**8** bzw. **11**) praktisch zusammen eluiert wurden. Tab. 1 fasst die Resultate zusammen. Da die Retentionszeiten aus verschiedenen Gründen stark schwanken können ($\pm 10\%$), sind die Resultate in Form relativer Retentionszeiten dargestellt. Als Standard dient das jeweilige (all-*E*)-Isomer, das den Wert 1 erhält.

Auf der ODS-Säule ergibt sich durchweg, dass eine (5Z)- ψ -Endgruppe eine gegenüber der (*E*)-Endgruppe um ca. 4% verlängerte Retentionszeit bewirkt. Der Effekt scheint additiv zu sein, wie das Beispiel der Lycopine zeigt. (5Z)-Neurosporin (**10**), das vor seinem (all-*E*)-Isomer **9** eluiert wird, trägt zwar auch eine (5Z)- ψ -Endgruppe, sie ist jedoch mit der Polyen-Kette nicht konjugiert.

Eine Trennung zweier Komponenten ist eindeutig sichtbar, wenn die Differenz der relativen Retentionszeiten wenigstens 0,02 beträgt. Für eine semipräparative Isolierung ist eine Differenz von 0,04 erforderlich.

3. Isolierung von (5Z)-Lycopin (6**) auf reifen roten Tomaten.** – Wir betrachten das hier beschriebene Experiment als ersten Versuch, (5Z)-isomere Lycopine in natürlichen Quellen nachzuweisen. Rote Tomaten wurden gewählt, weil sie wegen ihres Lycopin-Reichtums und ihres niedrigen Gehaltes an Carotinen mit cyclischen Endgruppen am ehesten Gewähr für die Isolierung von (Z/*E*)-isomeren Lycopinen boten.



Figur. HPLC: a) rohe Lycopinfraktion; b) Lycopinfraktion/(all-*E*)-Lycopin (**64**); c) Lycopinfraktion/(5Z)-Lycopin (**6**). Pik 1: (all-*E*)-Lycopin; Pik 2: (5Z)-Lycopin; Pike 3 und 4: unbekannte Lycopin-Isomere.

Bei der Extraktion wurde darauf geachtet, dass keine Temperaturerhöhung eintrat, um Isomerisierungen zu vermeiden. Das HPLC der rohen Lycopinfraction sowie die Cochromatogramme mit synthetischem (all-*E*)- (**64**, Pik 1) und (5*Z*)-Lycopin (**6**, Pik 2) sind in *Fig. 1* dargestellt. Die UV/VIS-Spektren der Pike 1 und 2 in a) sind mit denen der synthetischen Proben identisch.

Zum definitiven Beweis wurden die den Piken 1 und 2 entsprechenden Lycopine in mehreren Durchläufen semipräparativ isoliert und anschliessend je einer 400-MHz-H-NMR-Analyse unterworfen. Dabei zeigte sich erneut, dass Pik 1 dem (all-*E*)-Lycopin (**64**) und Pik 2 dem (5*Z*)-Lycopin (**6**) entsprechen. Mengenmässig ist also (5*Z*)-Lycopin in der untersuchten Tomate das häufigste Stereoisomer von **64**.

Mit dem erfolgreichen Nachweis des (5*Z*)-Stereoisomers **6** gewinnt unser Postulat von der Biogenese des ϵ -Ringes aus (5*Z*)-konfigurierten Vorläufern [2] [3] an Gewicht. Es wird immer deutlicher, dass Carotinoide mit (5*Z*)- oder (5'*Z*)-Konfiguration and der ψ -Endgruppe wegen ihrer ausgesprochenen Ähnlichkeit mit dem (all-*E*)-Stereoisomeren bisher übersehen worden sind. In diesem Zusammenhang muss auch auf unsere Analyse der stereoisomeren Rubixanthin verwiesen werden [6], sowie auf die stark variierenden Schmelzpunktangaben für Lycopin in der Literatur, die bisher nicht gedeutet worden sind.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. Zumbrunn, Dissertation 'Carotine mit (5*Z*)- ψ -Endgruppen', Zürich, 1985.
- [2] A. Zumbrunn, P. Uebelhart, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1519.
- [3] C. H. Eugster, *Pure Appl. Chem.* **1979**, *51*, 463.
- [4] H. P. Märki, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 1257.
- [5] P. Rüedi, *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 793.
- [6] E. Märki-Fischer, U. Marti, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 494.