

ZUR GASVERTEILUNGSCROMATOGRAPHIE STEREOMERER MENTHOLE

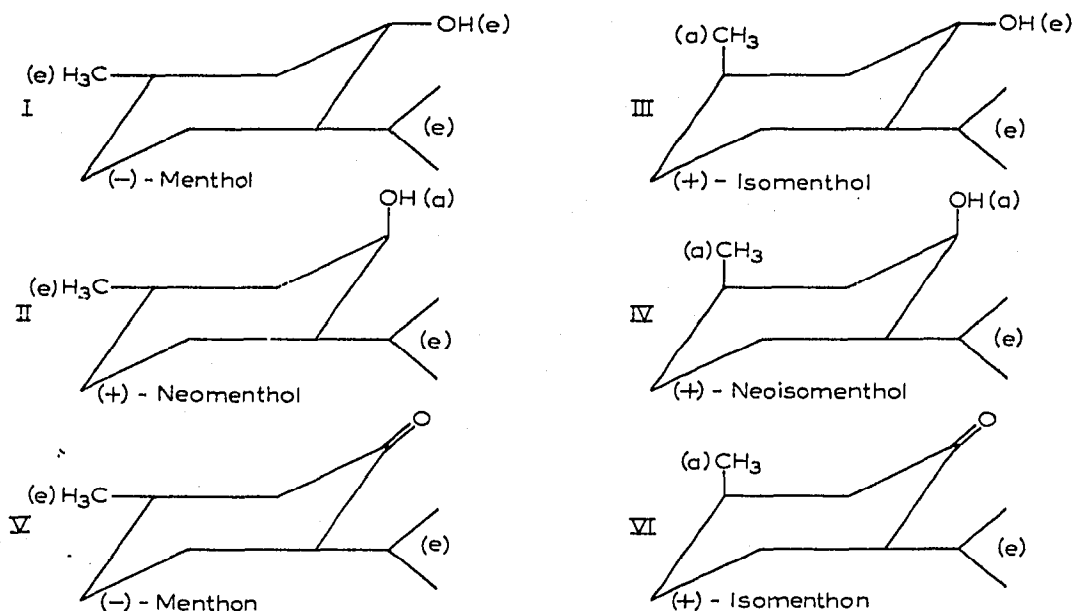
H. J. PETROWITZ, F. NERDEL UND G. OHLOFF*

*Organisch-chemisches Institut der Technischen Universität, Berlin und
Laboratorium der Firma DRAGOCO, Holzminden (Deutschland)*

(Eingegangen den 8. Juli 1959)

Die drei asymmetrischen Kohlenstoff-Atome im Menthol bedingen 8 optisch aktive Stereoisomere bzw. 4 Racemate, deren Konformationen¹, bekannt sind. Technische Bedeutung besitzt lediglich die *l*-Menthol-Reihe, der das pharmakologisch wichtige (—)-Menthol (I) angehört. Zur Darstellung von (—)-Menthol lässt man stufenweise oder in einem Reaktionsschritt verschiedene Reduktionsmittel auf optisch aktives Piperiton, Pulegon oder (—)-Menthon (V) und (+)-Isomenthon (VI) einwirken, wobei in wechselnder Menge die 4 Stereoisomeren I–IV entstehen.

Die Bestimmung der isomeren Menthole in ihren Gemischen bereitet grosse



Schwierigkeiten. KORTÜM UND BITTEL² berichten über ein Verfahren, zur Gegenstromverteilung in einer Scheibelkolonne — Lösungsmittelphasen: Heptan-Wasser/Methanol — zur Trennung der Stereoisomeren I–III. Danach gab das Gemisch aus (+)-Neomenthol(II) und (—)-Menthol(I) (1:1) bei einmaligem Durchgang eine

* Neue Anschrift: Max Planck-Institut für Kohlenforschung, Abt. Strahlenchemie, Mülheim a. d. Ruhr.

TABELLE I
RETENTIONSZEITEN STEREOISOMERER MENTHOLE

	Spalte 1		Spalte 2		Spalte 3
	Säule A, 2 m 180°		Säule A, 4 m 180°		Säule A, 4 m 160°
	Substanz ungelöst	Substanz ungelöst	Substanz in Aceton gelöst	Substanz ungelöst	Substanz ungelöst
Neomenthol	25'50"	54'20"	54'10"	72'0"	80'30"
Neoisomenthol	—	—	57'20"	—	—
Menthol	27'30"	59'30"	57'30"	—	—
Isomenthol	29'10"	62'50"	60'30"	—	82'50"

praktisch quantitative Trennung, während (—)-Menthol (I) und (+)-Isomenthol (III) in beiden Lösungsmittelphasen nur bis zu einem gewissen Grade angereichert werden. Die Verteilung der epimeren Menthole hängt hierbei im wesentlichen von ihrer Polarität ab. Neoisomenthol (IV) wurde in diese Untersuchungen nicht einbezogen.

Eine teilweise Auftrennung der Stereoisomeren Menthole gelang HÜCKEL und Mitarb.^{3,4} durch Adsorptionschromatographie entsprechender Gemische an Al₂O₃ (Woelm, Aktivität 4). Eine Trennung wurde hier lediglich bei Gemischen aus Isomenthol und Neoisomenthol erreicht. Menthol und Isomenthol sind nach diesem Verfahren praktisch nicht trennbar. Demnach scheint es so, dass hierbei nur die epimeren Menthole mit axialer Stellung der Hydroxylgruppe, (+)-Neomenthol(II) und Neoisomenthol(IV) von denen mit äquatorialer Stellung der Hydroxylgruppe, (—)-Menthol(I) und (+)-Isomenthol(III) getrennt werden können. Nach den Beobachtungen von HÜCKEL besitzt die erste Gruppe eine höhere Elutionsgeschwindigkeit als die zweite. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits früher an 3-Hydroxysteroiden⁵ gemacht.

In der vorliegenden Arbeit wird über die Ergebnisse der Trennung stereoisomerer Menthole durch Anwendung der Gasverteilungschromatographie nach JAMES UND MARTIN⁶ berichtet. Da die einzelnen Isomeren zwar keine grossen aber immerhin deutlich feststellbare Dampfdruckunterschiede* aufweisen, und da ihre Verteilungskoeffizienten auf Grund ihrer konformationellen Unterschiede ebenfalls differieren, war zu erwarten, dass mit dieser Technik eine Schnellmethode zur Analyse des stereoisomeren Gemisches entwickelt werden könnte.

VERFAHREN UND ERGEBNISSE

Die Untersuchungen wurden mit einem Fraktometer der Firma Perkin-Elmer, Bodenseewerk Überlingen (Modell 116) durchgeführt. Die Wahl der stationären Phase wurde in Anlehnung an die Vorschläge von RAUPP¹² vorgenommen. Danach erschien uns Di-*n*-decylphthalat (Säule A von Perkin-Elmer) als stationäre Phase zur Lösung

* Neomenthol, K.p. 211.5–212.5^{07,8}; Neoisomenthol, K.p. 214–215^{09,10}; Menthol, K.p. 216.5⁰¹¹; Isomenthol, K.p. 218.6⁰¹¹.

unseres Problems geeignet. Tatsächlich erzielten wir mit dieser Säule bessere Ergebnisse als mit Diäthyl-hexylsebacinat (Säule B), Siliconöl (Säule C) und Polyäthylglykol (Säule K). Als günstigste Arbeitstemperatur wurde 180° ermittelt.

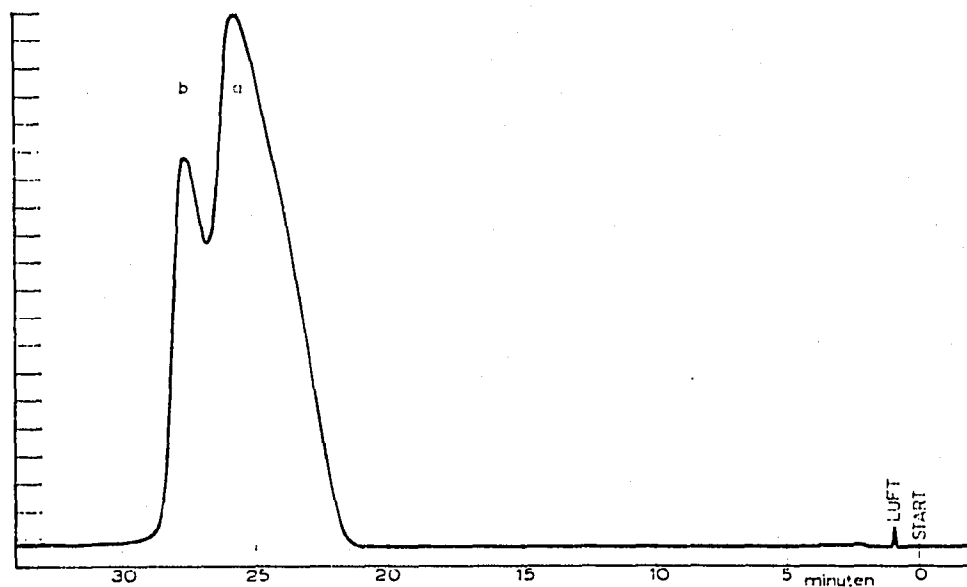


Fig. 1. (a) Neomenthol; (b) Menthol. Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C), 2 m; Arbeitstemperatur 180° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

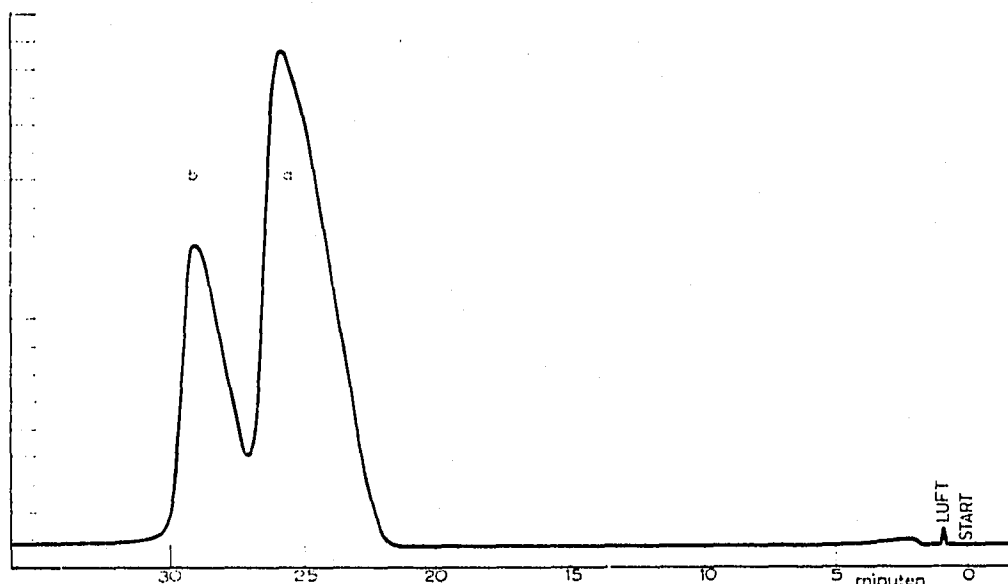


Fig. 2. (a) Neomenthol; (b) Isomenthol. Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C), 2 m; Arbeitstemperatur 180° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

Qualitative Aussagen über die Zusammensetzung von Mentholgemischen erreicht man bereits mit einer A-Säule von 2 m Länge. So erhält man nach Fig. 1 eine Trennung des Menthols vom Neomenthol und nach Fig. 2 eine Trennung des Neomenthols vom Isomenthol (siehe auch Tabelle I, Spalte 1). Hat man jedoch ein Gemisch der drei

Komponenten Menthol-Neomenthol-Isomenthol, so ist es erforderlich, die Säulenlänge auf 4 m zu erhöhen (Fig. 3). Unter diesen Bedingungen erzielt man aber keine eindeutige Trennung des Gemisches Neomenthol-Neoisomenthol-Isomenthol. Erst

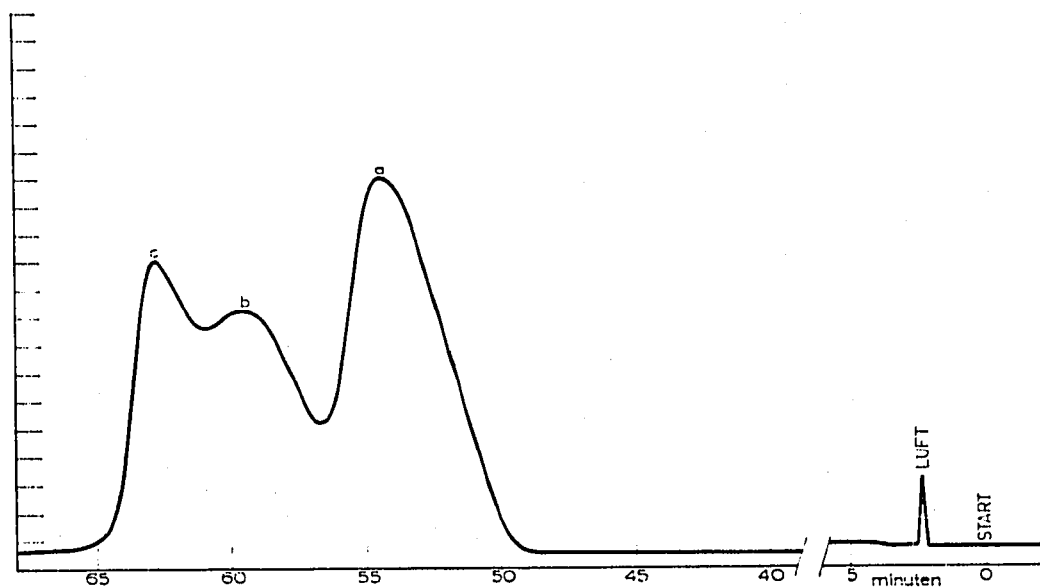


Fig. 3. (a) Neomenthol; (b) Menthol; (c) Isomenthol. Stationäre Phase: Silikonöl (Säule C), 4 m; Arbeitstemperatur 180° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

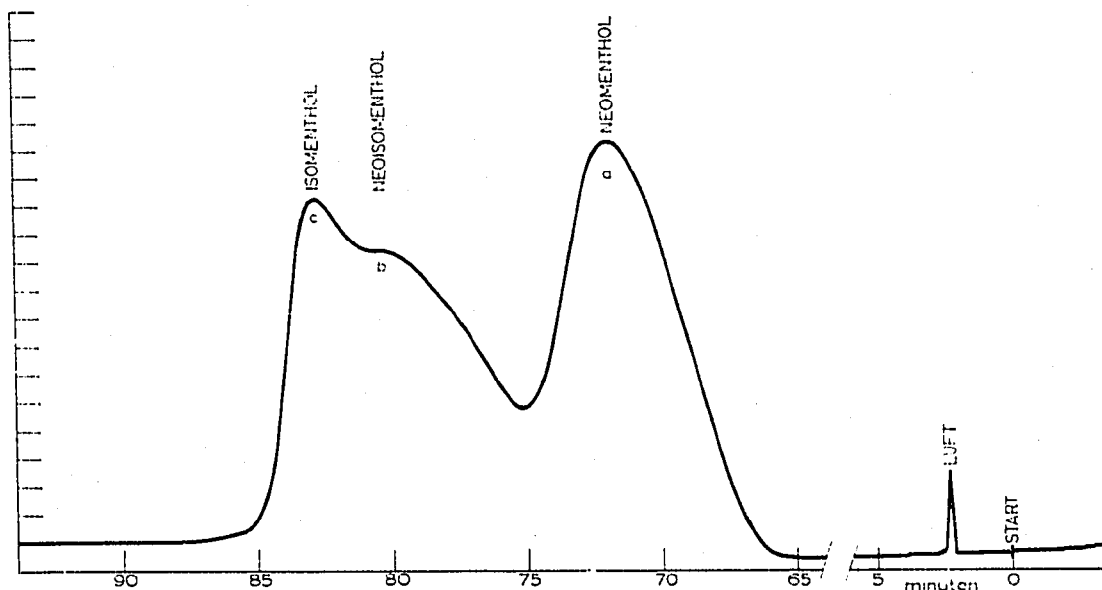


Fig. 4. (a) Neomenthol; (b) Neoisomenthol; (c) Isomenthol. Stationäre Phase: Silikonöl (Säule C), 4 m; Arbeitstemperatur 160° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 45 ml/min.

nachdem die Säulentemperatur auf 160° herabgesetzt worden ist, kann man die drei Substanzen erkennen (Fig. 4, Tabelle I, Spalte 3). Überraschenderweise fallen trotz der bestehenden Dampfdruckdifferenzen die Retentionszeiten von Menthol und Neoisomenthol zusammen, sodass bei gleichzeitiger Anwesenheit in der Mischung

diese beiden Stoffe nicht aufgetrennt werden können. Die Retentionszeiten aus den Chromatogrammen der Einzelkomponenten in Aceton-Lösung (eine solche Auflösung war erforderlich, da Menthol und Isomenthol kristalline Verbindungen

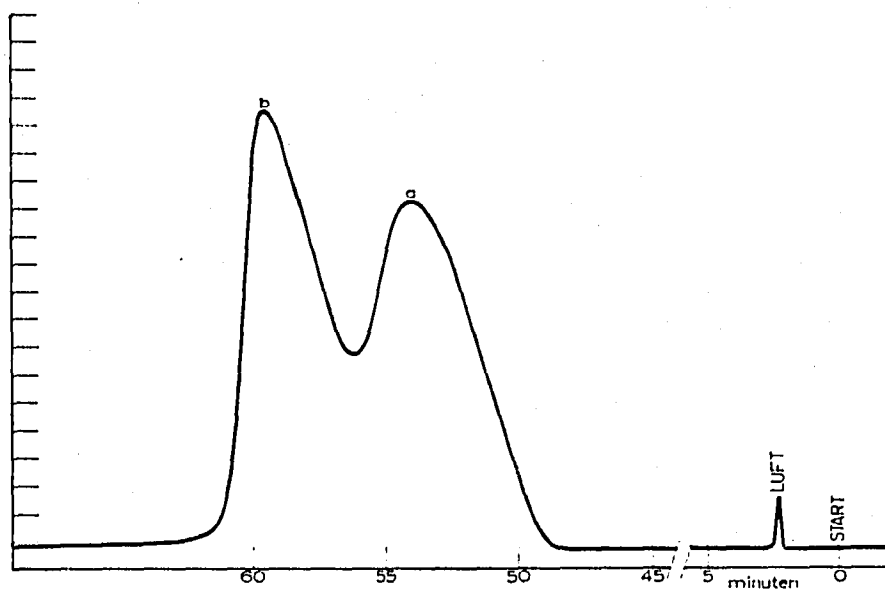


Fig. 5. (a) Neomenthol; (b) Menthol. Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C), 4 m; Arbeitstemperatur 180° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

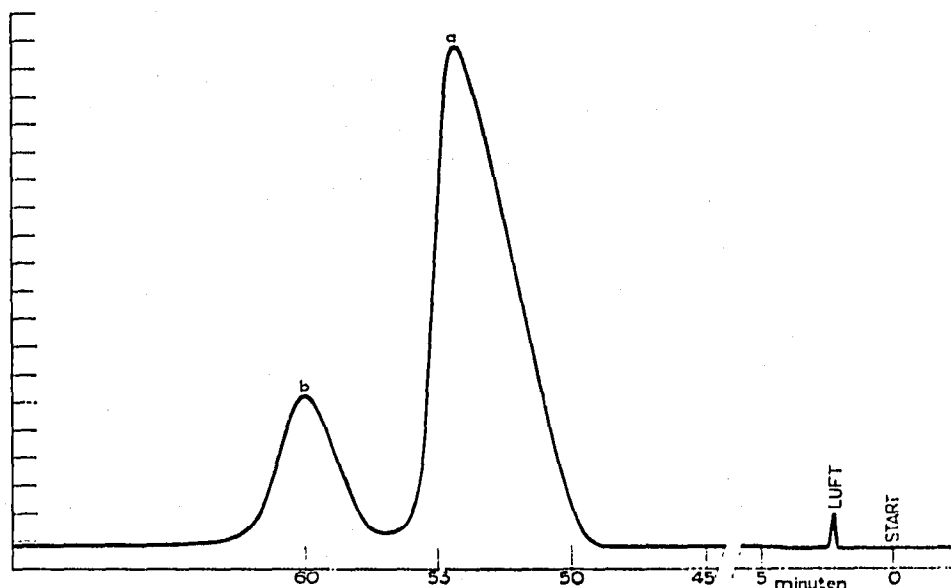


Fig. 6. (a) Neomenthol; (b) Isomenthol. Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C), 4 m; Arbeitstemperatur 180° ; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

sind) weichen von denen ihrer Gemische geringfügig ab und zwar nach niedrigeren Zeiten (Der Neomentholgehalt der Mischungen wurde so hoch gewählt, dass diese flüssig sind.) Ausserdem wurde im Verlaufe der Untersuchungen eine merkliche Beanspruchung der stationären Phase beobachtet, die sich in einer Verkürzung der

Retentionszeiten zu erkennen gab. Dieser Effekt hat auf die Trennwirkung kaum einen Einfluss. Nach längerer Benutzung einer Säule ist es bei unbekanntem Mentholgemischen aber zweckmässig, eine Testanalyse mit einem reinen Isomeren vorzunehmen. Durch die Festlegung der Lage des Test-Peak kann man die einwandfreie Zuordnung der übrigen Isomeren vornehmen, zumal die stereoisomeren Menthole im Chromatogramm in der Reihenfolge ihrer Dampfdrucke erscheinen. Tabelle I enthält die Retentionszeiten (Maximum) bei verschiedenen Bedingungen.

Um die Methode auf ihre Brauchbarkeit zur quantitativen Bestimmung von Mentholgemischen zu prüfen, wurden eine Anzahl Chromatogramme von Gemischen

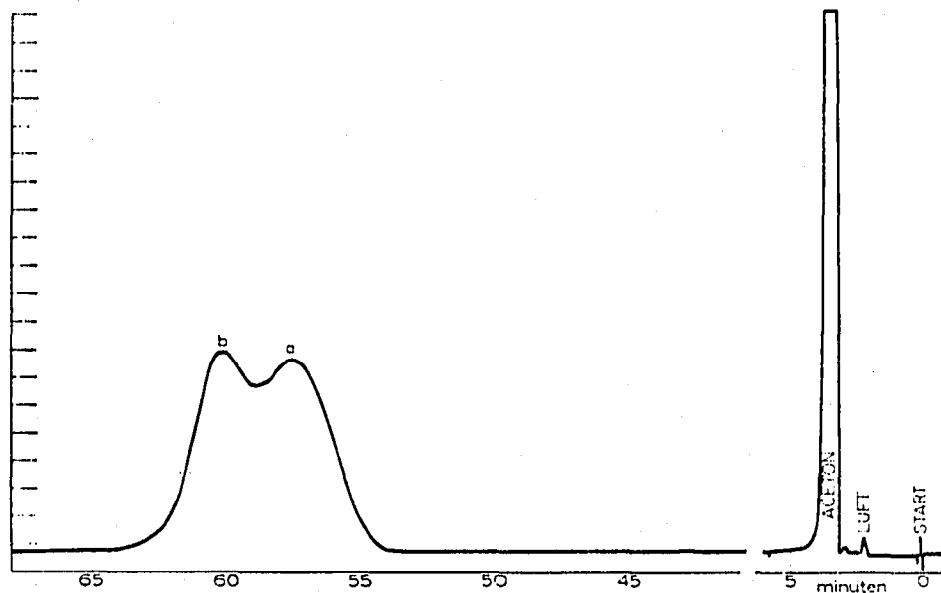


Fig. 7. (a) Menthol; (b) Isomenthol; Gemisch in Aceton gelöst. Stationäre Phase: Siliconöl (Säule C), 4 m; Arbeitstemperatur 180°; Trägergas Helium; Strömungsgeschwindigkeit 40 ml/min.

bekannter Zusammensetzung ausgewertet. Zur Ermittlung der prozentualen Zusammensetzung wurden die Flächen der Peaks nach zwei Verfahren bestimmt:

(a) Wägung der Peaks, die aus dem Chromatogramm ausgeschnitten worden sind¹³.

(b) Berechnung nach der Näherungsformel: Peakhöhe \times Halbwertsbreite nach CREMER UND MÜLLER¹⁴.

In den Tabellen II, III und IV sind die Ergebnisse zusammengefasst. Soweit es sich um kristalline Gemische handelte, wurden ihre Aceton-Lösungen untersucht. Es konnte gezeigt werden (Tabelle II, vgl. Fig. 5), dass ein Gemisch aus Menthol-Neomenthol bereits im Verhältnis 80:20 übereinstimmend nach beiden Methoden mit einer Genauigkeit von $\pm 1\%$ quantitativ bestimmt werden kann. Die quantitative Zusammensetzung von Neomenthol-Isomenthol-Gemischen kann in jedem beliebigen Mischungsverhältnis aus ihren Chromatogrammen (z.B. Fig. 6) errechnet werden (Tabelle III). Eine quantitative Auswertung der Chromatogramme von Menthol-Isomenthol-Gemischen (Fig. 7) ist nur in begrenztem Umfang nach der Methode (b) möglich (Tabelle IV).

TABELLE II

Verhältnis Menthol/Neomenthol	Analysergebnis	
	nach Verfahren (a)	nach Verfahren (b)
90/10	nicht auswertbar	nicht auswertbar
80/20	79.1/20.8	79.5/20.3
70/30	70.6/29.3	70.1/30.7
60/40	59.2/40.8	59.5/40.5
50/50	51.1/48.8	51.3/48.6
40/60	39.6/60.3	39.5/60.5
30/70	30.9/69.0	30.5/69.5
20/80	20.5/79.4	21.0/79.0
10/90	10.5/89.5	10.2/89.8

TABELLE III

Verhältnis Neomenthol/Isomenthol	Analysergebnis	
	nach Verfahren (a)	nach Verfahren (b)
90/10	89.1/10.9	89.9/10.4
80/20	80.8/19.2	81.7/18.2
70/30	70.6/29.3	70.4/29.7
60/40	61.6/38.3	60.6/39.4
50/50	50.9/49.0	51.2/48.8
40/60	41.0/59.0	41.2/58.8
30/70	30.0/70.0	29.8/70.1
20/80	19.5/80.4	20.0/80.0
10/90	8.9/91.1	9.3/90.7

TABELLE IV

Verhältnis Menthol/Isomenthol	Analysergebnis	
	nach Verfahren (a)	nach Verfahren (b)
90/10	nicht auswertbar	nicht auswertbar
80/20	nicht auswertbar	nicht auswertbar
70/30	nicht auswertbar	69.4/30.5
60/40	nicht auswertbar	59.9/40.1
50/50	nicht auswertbar	49.3/50.6
40/60	nicht auswertbar	nicht auswertbar
30/70	nicht auswertbar	nicht auswertbar
20/80	nicht auswertbar	nicht auswertbar
10/90	nicht auswertbar	nicht auswertbar

Die für die Versuche verwendeten stereoisomeren Menthole enthielten keine Verunreinigungen, wie auch aus ihren Chromatogrammen ersichtlich war. Im übrigen hatten sie folgende Konstanten: *d*-Neomenthol, D_4^{20} 0.8992, n_D^{20} 1.4617, $[\alpha]_D^{20} + 17.4^\circ$; *l*-Menthol, F. 42° ; *d*-Isomenthol, F. 82° . Das Neoisomenthol wurde nach HÜCKEL u. Mitarb.⁴ durch LiAlH_4 -Reduktion bei $+20^\circ$ von Isomenthon $[\alpha]_D^{20} + 85^\circ$ in 90%-iger Ausbeute dargestellt. Nach der Drehbanddestillation (K.p.₅ 84°) hatte es folgende Konstanten: D_4^{20} 0.9098, n_D^{20} 1.4668, $[\alpha]_D + 0.1^\circ$.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Analyse stereoisomerer Menthole in ihren Mischungen durch Gasverteilungs-chromatographie gelingt bei Verwendung von Di-*n*-decylphthalat als stationäre Phase und Helium als Trägergas. In vielen Fällen ist es möglich, die Chromatogramme für quantitative Bestimmungen heranzuziehen.

SUMMARY

Mixtures of stereoisomeric menthols can be analysed by means of gas partition chromatography, di-*n*-decyl phthalate being used as the stationary phase and helium as carrier gas. In many cases it is possible to use the chromatograms for quantitative determinations.

LITERATUR

- ¹ H. D. ORLOFF, *Chem. Revs.*, 54 (1954) 347, dort weitere Literatur;
H. SCHMIDT, *Ber. Schimmel & Co., Akt. Ges.*, (1954) 129.
- ² G. KORTÜM UND A. BITTEL, *Chem. Ing. Techn.*, 30 (1958) 95.
- ³ W. HÜCKEL, M. MAIER, E. JORDAN UND W. SEEGER, *Ann.*, 616 (1958) 78.
- ⁴ W. HÜCKEL UND CHAUDRI ZAFARULLAH KHAN CHEEMA, *Ber.*, 91 (1958) 311.
- ⁵ R. NEHER, *Chromatographie von Sterinen, Steroiden und verwandten Verbindungen*, Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1958, S. 31.
- ⁶ A. T. JAMES UND A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.*, 50 (1952) 679.
- ⁷ A. HALLER UND C. MARTINE, *Compt. rend.*, 140 (1905) 1301.
- ⁸ O. ZEITSCHEL UND H. SCHMIDT, *Ber.*, 59 (1926) 2298.
- ⁹ J. READ UND W. J. GRUBB, *J. Chem. Soc.*, (1934) 315.
- ¹⁰ H. SCHMIDT UND L. SCHULZ, *Ber. Schimmel & Co. Akt. Ges.*, (1934) 97.
- ¹¹ W. E. HUGGETT, *Quart. J. Pharm. and Pharmacol.*, 15 (1942) 218.
- ¹² G. RAUPP, *Z. anal. Chem.*, 164 (1958) 135.
- ¹³ M. DIMBAT, P. E. PORTER UND F. H. STROSS, *Anal. Chem.*, 28 (1956) 290.
- ¹⁴ E. CREMER UND R. MÜLLER, *Z. Elektrochem.*, 55 (1951) 217.

J. Chromatog., 3 (1960) 351-358