

DIE GAS- UND DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG
DER STEREOISOMEREN FARNESOLE UND IHRER DERIVATEI. MITTEILUNG. *trans-trans* UND *cis-trans*-FARNESOL UND DERIVATE

E. TYIHÁK, D. VAGUJFALVI UND P. L. HÁGONY

*Institut für Heilpflanzenforschung, Budapest, und
Forschungsinstitut für Pflanzenöl und chemischen Haushaltartikel,
Budapest (Ungarn)*

(Eingegangen den 21. September 1962)

Anhand der neuesten biogenetischen Untersuchungen sind die Farnesolderivate die Prekursoren aller in der Natur vorkommenden sesqui und höheren Terpenoide, Steroide und Carotinoide¹⁻⁴.

Stereochemisch kann Farnesol mehrere Isomere haben, dies wurde zuerst durch BATES *et al.*^{5,6} bewiesen. Sie bestimmten gaschromatographisch vier stereoisomere Farnesole. Die raumstrukturellen Verhältnisse wurden mit Magnet-Kernresonanz-Spektroskopie untersucht und die Methylabsorptions τ -Werte des *trans-trans*, *cis-trans*, *cis-cis* und *trans-cis*-Farnesole bestimmt. Nach BROOKS UND OVERTON⁷ nehmen in der Natur in der Biosynthese des Squalens und Drimenols die *trans-trans*-Farnesolderivate teil. Die Wichtigkeit der Farnesolderivate wird durch die Feststellung von SCHMIALEK⁸ unterstrichen. Er isolierte aus dem Exkrement der *Tenebrio* (Mehlwurm) und aus der Hefe eine stark juvenilhormonwirkende Fraktion und stellte durch chemische und chromatographische Methoden fest, dass diese Hormonwirkung hauptsächlich auf die Anwesenheit des Farnesols und dessen Aldehyd (Farnesal) zurückzuführen ist. SCHMIALEK macht keine Erwähnung davon, welche stereoisomere Raumstruktur das von ihm isolierte und verwendete Farnesol besass. In den von WIGGLESWORTH⁹ beschriebenen, ähnlichen Untersuchungen werden die raumstrukturellen Verhältnisse des verwendeten Farnesols auch nicht erwähnt.

Das Ziel unserer Arbeit war, die Herstellung einiger *trans-trans* und *cis-trans*-Farnesolderivate und die Trennung der Ausgangsstoffe und ihrer Derivate, mittels Gas- und Dünnschichtchromatographie.

METHODISCHER TEIL*

Herstellung von Farnesolderivaten zu chromatographischen Untersuchungen

Zur Reproduktion der gaschromatographischen Untersuchungen von BATES *et al.*⁶, benutzten wir Farnesolmuster von der Firma Fluka A.G. Parallel mit diesen Mustern untersuchten wir die von der Firma Parfümerie und Kosmetik, Budapest, zu unserer Verfügung gestellten Farnesolmuster.

Bei der gaschromatographischen Trennung beider Muster erwies sich, dass sie

* Bei den Untersuchungen waren uns A. GYÖRE, E. SIMONFAI UND E. JÁRAY behilflich.

eine Mischung von *trans-trans*- und *cis-trans*-Farnesol sind, wie dies auch BATES *et al.*⁶ von den Mustern der Fluka A.G. feststellten.

Wir stellten die Esterderivate (C_1-C_4) der beiden Farnesolisomere mit Hilfe von Säureanhydriden bzw. Säuren her. Bei Acetylierung war die Ausbeute 90–95 %, während bei der Esterbildung höherer Fettsäuren das Gleichgewicht sich auf Kosten der Esterbildung verschiebt. Wurde Al_2O_3 als Katalysator benutzt, ging die Esterifikation auch bei den letzteren fast vollständig durch (90 %).

Auf die Wirkung der milden Chromsäure- und Braunstein-Oxydation bildeten wir aus Farnesolen Farnesale, welche mit Semicarbazid Farnesalsemicarbazone bildeten.

Wir stellten aus den Farnesolen die aliphatischen Sesquiterpene (Farnesene) mittels Wasserentziehung (konz. H_2SO_4) her.

Die gaschromatographische Trennung des trans-trans- und cis-trans-Farnesols und einiger Derivate

Die gaschromatographische Trennung der von Fluka A.G. und der Firma Parfümerie und Kosmetik, Budapest stammenden handelsmässigen Farnesolmuster wurde mit katherometrischer Detektion mittels Griffin & George Apparat für Gaschromatographie ausgeführt. Die Trennung der beiden stereoisomeren Farnesole erfolgte auf einer SiO_2 Adsorbentsäule, die mit 20 %-iger Apiezon N imprägniert war, während die Trennung der Derivate mit Celite 545/20 %-iger Siliconelastomer Adsorbentsäule, bei 190° durchgeführt wurde. Auf Fig. 1 sieht man das Gaschromatogramm und die Untersuchungsbedingungen der handelsmässigen Farnesolmuster der Fluka A.G. Die sichtbaren und berechenbaren Mengenverhältnisse sind: *trans-trans*-Farnesol: 73.0 % (Retentionszeit 30 Min.) und *cis-trans*-Farnesol: 26.6 % (Retentionszeit 20 Min.).

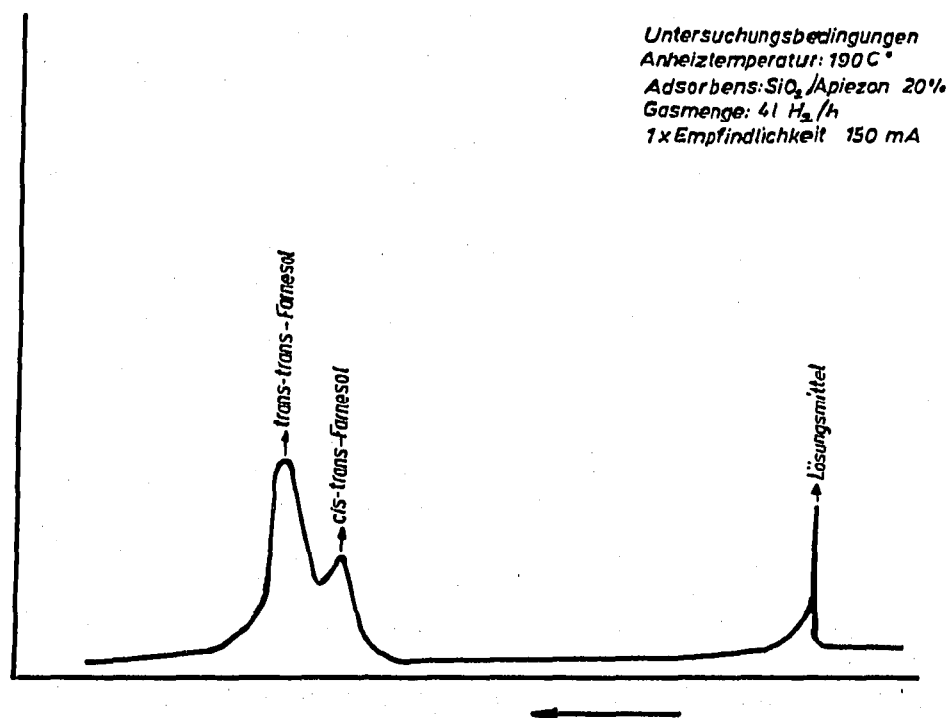


Fig. 1.

Im Falle der gewählten Adsorbentensäule und bei der Trennung des Ausgangsmaterials verwendeten Untersuchungsbedingungen, wurde eine gute Trennung der Farnesolderivate von den Farnesolen erhalten.

Mit unseren gaschromatographischen Untersuchungen ist es uns gelungen die Untersuchungen von BATES *et al.*⁹ zu reproduzieren und einen Fortschritt in der Richtung der Trennung der stereoisomeren Farnesole und ihrer Derivate zu machen

Dünnschichtchromatographische Trennung des trans-trans- und cis-trans-Farnesols und einiger Derivate

Die Trennung der zwei stereoisomeren Farnesole und ihrer Derivate ist mit dem TYIHÁK-VÁGUJFALVI-System¹⁰, das mit Erfolg für den dünn-schichtchromatographischen Nachweis der ätherischen Ölkompone-nen benutzt wurde (Laufstrecke: 16 cm; Lösungsmittel: Benzol-Äthylacetat; Reagens: Vanillin oder Anisaldehyd), gelungen.

Methode: Auf dem Adsorbent "Szialgel 47"* bzw. "Szialgel V"* wurde 150 γ Farnesoltest in Äther aufgebracht und in Benzol-5 % Äthylacetat chromatographiert. Entwickler: 1 % Vanillin in 96 %-iger H_2SO_4 , oder 0.5 g Anisaldehyd in 96 %-iger H_2SO_4 . Entwicklungstemperatur 105°; Entwicklungszeit: 5 Min. Die Resultate der Untersuchungen sind in Tabelle I, angegeben. Die Flecken der getrennten Farnesole und Derivate sind in der Fig. 2 zu sehen.

TABELLE I

No.	Substanz	R_F -Werte*	Vanillin-Reagens	
			U.V.	Sonnenlicht
1	Farnesal	0.08	—	rötlich
2	Farnesal	0.14	—	rötlich
3	<i>trans-trans</i> -Farnesol	0.27	rötlich	dunkelviolett
4	<i>cis-trans</i> -Farnesol	0.36	rötlich	dunkelviolett
5	Farnesalsemicarbazon	0.45	—	gelblich braun
6	Farnesalsemicarbazon	0.53	—	gelblich braun
7	Farnesen	0.90	rötlich	dunkelviolett
8	Farnesen	0.95	rötlich	dunkelviolett
9	" <i>trans-trans</i> "-Farnesylacetat	0.66	rötlich	dunkelviolett
10	" <i>cis-trans</i> "-Farnesylacetat	0.76	rötlich	dunkelviolett
11	" <i>trans-trans</i> "-Farnesylpropionat	0.79	rötlich	dunkelviolett
12	" <i>cis-trans</i> "-Farnesylpropionat	0.84	rötlich	dunkelviolett
13	" <i>trans-trans</i> "-Farnesylbutyrat	0.82	rötlich	dunkelviolett
14	" <i>cis-trans</i> "-Farnesylbutyrat	0.87	rötlich	dunkelviolett
15	" <i>trans-trans</i> "-Farnesylvalerianat	0.90	rötlich	dunkelviolett
16	" <i>cis-trans</i> "-Farnesylvalerianat	0.90	rötlich	dunkelviolett

* Die R_F -Werte beziehen sich auf "Szialgel V"-Platten.

Aus den Angaben der Tabelle sieht man, dass die beiden stereoisomeren Farnesole bei den angegebenen Bedingungen gut trennbar sind und dass das Verhältnis der Isomere ungefähr mit den gaschromatographischen Werten identisch ist. Während die Farbe der Ausgangsalkohole und ihrer Ester keine Abweichung zeigt, ist die Farbe der übrigen Derivate mit der Vanillinreaktion charakteristisch verschieden. Dies ermöglicht eine Differenzierung auch bei kleinen R_F -Differenzen.

* Unter Herstellung bei der Firma Reanal, Budapest.

Die Bezeichnung " " in der Tabelle, bei den Farnesolestern, weist auf die raumstrukturellen Verhältnisse der Ausgangsalkohole.

Mit dieser dünnschichtchromatographischen Methode ist es uns gelungen den Farnesol und einige Derivate etlicher Pflanzen (*Matricaria chamomilla* L., *Solanum laciniatum* Ait., *Beta vulgaris* var. *conditiva*) nebeneinander nachzuweisen¹¹⁻¹³. Sie

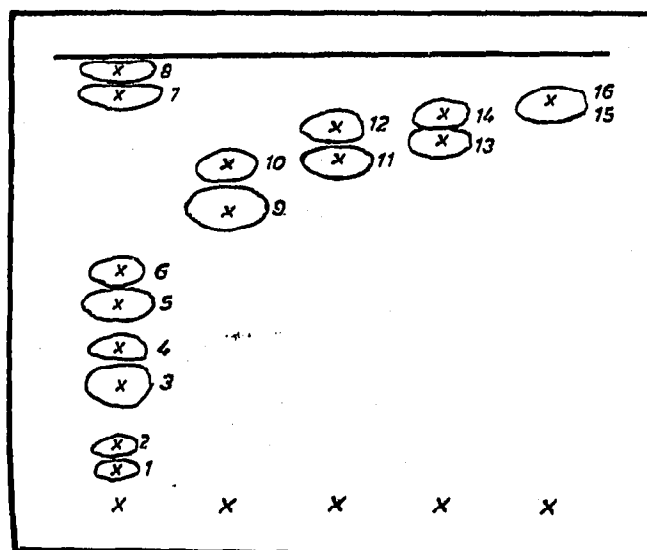


Fig. 2.

ist im allgemeinen gut für die Identifizierung dieser Verbindungen bei physiologischen, genetischen, pflanzenchemischen und botanischen Untersuchungen verwendbar.

ZUSAMMENFASSUNG

Wir stellten für gas- und dünnschichtchromatographische Untersuchungen einige Derivate des *trans-trans* und *cis-trans*-Farnesols her. Die zwei Farnesole wurden auf einer SiO_2 /Apiezon N 20 % Adsorbentensäule, ihre Derivate auf Celite 545/Siliconelastomer 20 % Adsorbentensäule gaschromatographisch getrennt. Der verwendete Apparat war vom Typ Griffin & George. Es ist uns auch gelungen die Ausgangsmaterialien und Derivate auf Adsorbenten "Szialgel V" und "Szialgel 47" in Benzol mit 5 %-iger Äthylacetat mit Dünnschichtchromatographie zu trennen. Für den Nachweis erwies sich 1 %-iger Vanillin in H_2SO_4 geeignet.

SUMMARY

Some derivatives of *trans-trans* and *cis-trans*-farnesol were prepared for investigation by gas chromatography and thin-layer chromatography. The two farnesols were separated by gas chromatography on a SiO_2 /Apiezon N 20 % column, while a Celite 545/Silicone elastomer 20 % column was used for the derivatives. The apparatus used was Griffin & George type. It was also possible to separate the farnesols and their derivatives by thin-layer chromatography, using "Szialgel V" and "Szialgel 47" as adsorbents and benzene-5 % ethyl acetate as solvent system. For the detection of these substances 1 % vanillin in H_2SO_4 proved suitable.

LITERATUR

- ¹ F. LYNEN, H. EGGER UND U. HENNING, *Angew. Chem.*, 70 (1958) 738.
- ² L. RUZICZKA, A. ESCHENMOSEER UND H. HEUSSER, *Experientia*, 9 (1953) 362.
- ³ O. ISLER, R. RÜEGG UND A. LANGEMANN, *Chem. Weekblad*, 56 (1960) 613.
- ⁴ I. R. NAVES, *Bull. Soc. Chim. France*, (1960) 1517.
- ⁵ R. B. BATES UND D. M. GALE, *J. Am. Chem. Soc.*, 82 (1960) 5749.
- ⁶ R. B. BATES, D. M. GALE UND B. J. GRUNER, *Chem. Ind. (London)*, (1961) 1907.
- ⁷ C. J. W. BROOKS UND K. H. OVERTON, *Proc. Chem. Soc.*, (1957) 322.
- ⁸ P. SCHMIALEK, *Z. Naturforsch.*, 16b (1961) 461.
- ⁹ V. B. WIGGLESWORTH, *J. Insect Physiol.*, 7 (1961) 73.
- ¹⁰ E. TYIHÁK UND D. VÁGUJFALVI, *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, V. *Suppl.* (im Druck).
- ¹¹ E. TYIHÁK UND D. VÁGUJFALVI, *Herba Hung.*, 1 (1962) 97.
- ¹² E. TYIHÁK UND D. FÖLDESI, *Naturwiss.*, 49 (1962) 469.
- ¹³ E. TYIHÁK, *Sci. Pharm.*, 30 (1962) 185.

J. Chromatog., 11 (1963) 45-49