

CHROM. 6600

## DÜNNSCHICHT- UND SÄULENCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG DER CAPSAICINOIDE AUS DER DROGE

### 5. MITT. STUDIEN ÜBER DIE INHALTSSTOFFE VON CAPSICUM\*

ANNELIESE MÜLLER-STOCK, R. K. JOSHI UND J. BÜCHI

*Pharmazeutisch-chemische Abteilung des Pharmazeutischen Institutes der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Clausiusstrasse 25, 8006 Zürich (Schweiz)*

(Eingegangen am 16. Januar 1973)

---

#### SUMMARY

*Thin-layer and column chromatographic separation of capsaicinoids from the drug. 5. Study on the constituents of capsicum*

A number of thin-layer and column chromatographic adsorbents with different solvent systems were tried for the separation of capsaicinoids. Detection of the two unknown vanillylamides from the plant-drug and efforts made towards their identification are shown. A successful separation of capsaicinoids into two fractions by column chromatography on silica gel and subsequent identification of the components of these fractions by gas chromatography and mass spectrometry are described.

---

#### EINLEITUNG

Als durch BENNETT UND KIRBY<sup>1</sup> bekannt wurde, dass die Capsicum-Früchte neben Capsaicin noch andere Homologe und Analoge dieser Verbindung enthalten, versuchten verschiedene Forschergruppen die einzelnen Verbindungen mit Hilfe der Dünnschicht- und Säulenchromatographie<sup>2-5</sup> zu trennen. Über die Möglichkeiten einer gaschromatographischen Trennung dieser Substanz-Gemische — genannt Capsaicinoid-Gemische — in die einzelnen Bestandteile haben wir in einer früheren Publikation<sup>6</sup> berichtet. Die dünnschichtchromatographische Trennung eines Gemisches von drei synthetischen Capsaicinoiden gelang RANGOONWALA UND SEITZ<sup>3</sup> und RANGOONWALA<sup>4</sup>, die säulenchromatographische Trennung eines natürlichen Capsaicinoid-Gemisches in zwei Komponenten dagegen JENTZSCH *et al.*<sup>5</sup>. Diese Autoren verwandten Polyamid (Woelm) als Chromatographiematerial. Bei eigenen Arbeiten mit dem gleichen Polyamid mussten wir ebenso wie RANGOONWALA UND SEITZ<sup>3</sup> feststellen, dass die Trennkraft dieses Chromatographiematerials auf die Capsaicinoide chargenabhängig ist. Deshalb konzentrierten wir uns hauptsächlich auf eine Trennmethode mit Kieselgel als Säulen (SC)- und Dünnschicht (DC)-Trennmaterial für die Capsaicinoide, über deren Erfolge wir im folgenden berichten.

---

\* 4. Mitt. siehe *Pharm. Acta Helv.*, im Druck.

## EXPERIMENTELLER TEIL

Capsaicinoid-Gemische CGF-70 und CGF-71 wurden bezogen von Fluka (Buchs, Schweiz), und synthetisches Capsaicin (CSyM-70) von Merck.

*DC-Versuchsbedingungen*

Es wurden Kieselgel F<sub>254</sub>-DC-Fertigplatten (Merck) mit einer Schichtdicke von 0.25 mm verwendet. Die mobilen Phasen werden in den Tabellen I–IV genannt. Die Kammern, mit Filterpapier ausgekleidet, wurden jeweils 1 Std. vor der Entwicklung zur Sättigung gefüllt. Die Entwicklung wurde aufsteigend durchgeführt; Start 2 cm von unteren Rand; Laufstrecke 8–15 cm. Die aufgetragenen Substanzen bestanden aus reinen Capsaicinoid-Gemischen in Methanol. Alle DC-Arbeiten wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

Das Farbreagenz war eine 0.1 %-ige, methanolische Lösung von 2,6-Dichlorchinon-4-chlorimid, anschliessend Ammoniak-Atmosphäre (Blaufärbung).

*SC-Versuchsbedingungen*

*Soxhlet-Extraktion.* 300.0 g Drogenpulver "Piper cayenense pulves" (315/200) (Siegfried AG, Zofingen, Schweiz) wurden mit 800.0 g Methanol 22½ Std. im Soxhlet-Apparat extrahiert. Von den 450.0 g Auszug dekantierten wir nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur die Flüssigkeit von dem Bodensatz ab, der nach Abdampfen des Lösungsmittels 112.0 g öligen Rückstand ergab.

*Säulenchromatographie SC-1.* In einer Säule von 60 × 5.5 cm wurden 260.0 g Kieselgel Merck für SC < 0.08 mm und darüber die Mischung von 50.0 g Kieselgel mit 50.0 g Carbo adsorbens (Siegfried AG, Zofingen, Schweiz) als Suspension in Essigester eingebracht. 40.0 g ölicher Rückstand des methanolischen Soxhlet-Auszuges von Capsicum-Pulver wurden in 100 ml Methanol gelöst und mit 35.0 g Kieselgel Merck versetzt. Unter ständigem Rühren wurde das Lösungsmittel auf dem Wasserbad abgedampft und anschliessend das Pulver 12 Std. unter Vakuum im Exsikkator getrocknet. Dieses Pulver wurde in die Flüssigkeit oberhalb der Säulenfüllung eingebracht. Elutionsmittelfolge: (1) Essigester, (2) Chloroform, (3) Methanol. Tropfengeschwindigkeit: 26 Tr./min. Aufgefangen: 67 Fraktionen zu je 400 ml (s. Fig. 1).

*Säulenchromatographie SC-2 (zur Reinigung von Fraktion I und II).* Fraktion I — 24.0 g Kieselgel für SC < 0.08 mm in einer Säule von 30.0 × 2.5 cm; 1.75 g Rückstand der Fraktionen 8–47 der SC-1 wurden mit je 2.5 ml Essigester und Methanol versetzt. In diese Lösung suspendierten wir 2.0 g Kieselgel und dampften das Lösungsmittelgemisch unter Rühren auf dem Wasserbad ab. Das 12 Std. unter Vakuum im Exsikkator getrocknete Pulver wurde in eine kleine Flüssigkeitssäule oberhalb des Kieselgels eingebracht.

Fraktion II — 10.0 g Kieselgel für SC < 0.08 mm in einer Säule von 23 × 1.5 cm; es wurde mit 1.0 g Rückstand der Fraktionen 52–56 der SC-1 plus 1.0 g Kieselgel in 5 ml Chloroform verfahren, wie für Fraktion I beschrieben.

Die folgenden Elutionsmittel wurden verwendet: (1) Chloroform–Äthanol–Ammoniak 25 % (9:2:1), untere Phase; (2) Äthanol–Chloroform–Ammoniak 25 % (6:3:0.5). Die Laufgeschwindigkeit war 2 ml/12 min. Es wurden von Fraktion I 96 Fraktionen zu 2 ml und von Fraktion II 68 Fraktionen zu 2 ml aufgefangen.

Während der gesamten Chromatographie muss darauf geachtet werden, dass in der geschlossenen Apparatur eine Ammoniak-Atmosphäre herrscht.

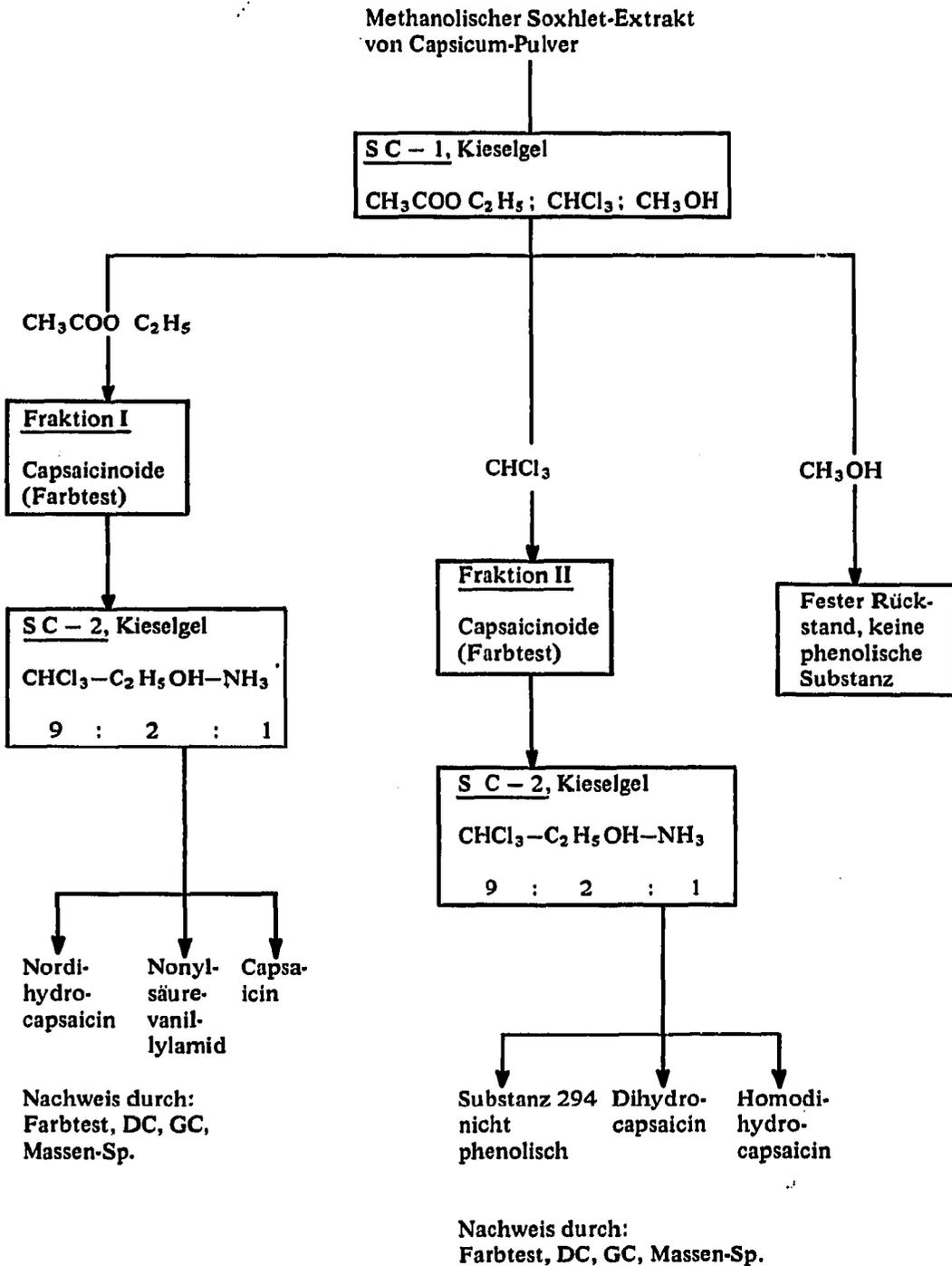


Fig. 1. Versuchsanordnung zur SC-Auftrennung eines Soxhlet-Extraktes von Capsicum-Pulver.

### Methoden des Nachweises in den Fraktionen

Die folgenden Nachweismethoden wurden angewendet: (1) Farbreaktion mit 0.1 %-iger methanolischer Lösung von 2,6-Dichlororhino-4-chlorimid; Reaktion mit phenolischer OH-Gruppe. (2) Dünnschichtchromatographie, s.o. (Kieselgel; Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25 %, 9:2:1). (3) Gaschromatographie (Perkin-Elmer, Model 881, SE-30 3 % auf Gas-Chrom P, Temp. 180–240°, 6°/min); (4) Massenspektroskopie (Bedingungen s. Lit. 6).

### Oxydation von synthetischem Capsaicin (CSym-70) und eines natürlichen Capsaicinoid-Gemisches (CGF-71)

Ca. 40 mg Substanz (CSym-70 oder CGF-71), gelöst in 10 ml absolutem Äther, wurden mit 40 mg Osmiumtetroxid und zwei Tropfen Pyridin versetzt und kräftig geschüttelt, bis allmähliche Dunkelfärbung eintrat. Nach 12 Std. Stehen und anschließendem Abdampfen des Lösungsmittel wurden zu dem Rückstand 10 ml Methanol, 2 ml destilliertes Wasser und 100 mg Natriumsulfit gegeben und die Mischung 1 Std. am Rückfluss erhitzt. Dieses Gemisch konnte weder durch Filtration über Celite und Aluminiumoxid noch durch Kohle von den dunklen kolloiden Teilen befreit werden. Deshalb trugen wir die oxydierten Capsaicinoide als schwarze Suspension auf die DC-Platten.

### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Wie eingangs erwähnt, suchten wir nach einem Chromatographiematerial, dessen Trennergebnisse für die Capsaicinoide besser reproduzierbar waren, als die von Polyamid. Am aussichtsreichsten erschienen uns Versuche mit Kieselgel. Da stärker polare Lösungsmittel eine höhere Dielektrizitätskonstante haben, prüften wir zunächst, welche Abhängigkeit der  $R_F$ -Werte der Capsaicinoide von der Polarität der Laufmittel besteht und erhielten das in der graphischen Darstellung der Fig. 2 (s. Tabelle I) ausgedrückte Ergebnis, was jedoch keine Trennung brachte.

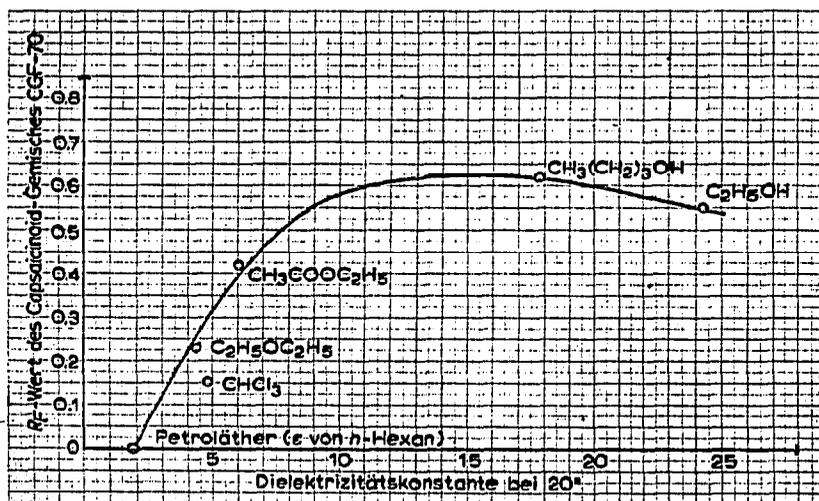


Fig. 2. Abhängigkeit des  $R_F$ -Wertes der Capsaicinoide eines natürlichen Gemisches (CGF-70) von der Polarität des Laufmittels bei der DC-Trennung auf Kieselgel.

TABELLE I

VERSUCHE FÜR EINE DC TRENNUNG DER CAPSAICINOIDE MIT REINEN LÖSUNGSMITTELEN UND LÖSUNGSMITTELGEMISCHEN ALS FLIESSMITTEL

Laufmittel	$\epsilon^a$	$R_F$ Werte von phenolischen Substanzen nach Trennung auf Kieselgel		Aufgetragene Substanz
Petroläther	1.89	0.00 <sup>b</sup>		Methanol-Soxhl.-Extrakt
Äther	4.33	0.23		Methanol-Soxhl.-Extrakt
Chloroform	4.80	0.15 <sup>b</sup>		Methanol-Soxhl.-Extrakt
Essigester	6.02	0.15	0.40	CGF-70
n-Butanol	17.1	0.62		CGF-70
		0.00	0.67 <sup>c</sup>	CGF-70
		0.00	0.71 <sup>d</sup>	CGF-70
Äthanol	24.3	0.55		CGF-70
		0.00	0.70 <sup>d</sup>	CGF-70
		0.00	0.64 <sup>c</sup>	CGF-70
Äther + Petroläther		0.03		CGF-70
Essigester +		0.00	0.47 <sup>b</sup>	CGF-70
10% Äthanol		0.00	0.04 0.51 <sup>c</sup>	CGF-70

<sup>a</sup>  $\epsilon$  = Dielektrizitätskonstante.<sup>b</sup> Auf DC-Alufolie.<sup>c</sup> Auf mit 10%-iger AgNO<sub>3</sub>-Lösung imprägnierter Platte.<sup>d</sup> Mit 0.2 N NaOH imprägnierter Platte.

TABELLE II

TRENNUNG DES NATÜRLICHEN CAPSAICINOID-GEMISCHES CGF-70 AUF KIESELGELPLATTEN UNTER VERWENDUNG VERSCHIEDENER LÖSUNGSMITTELGEMISCHE, DENEN BASEN ZUGEFÜGT WURDEN

Nr.	Laufmittelmischung	$R_F$ -Werte der erhaltenen Flecken		
1	Äther-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1)	0.07	0.74	
2	Benzol-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1)	0.02	0.29	
3	Toluol-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1)	0.28		
4	Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1)	0.00	0.11	0.60
		0.00	0.05	0.71 <sup>a</sup>
				0.71 <sup>b</sup>
5	Äthanol-Chloroform-Ammoniak 25% (7:2.5:0.5)	0.53	0.72	
	(6:3.5:0.5)	0.59	0.78	
6	Chloroform-Äthanol-Trimethylamin (7.5:2:0.5)	0.42	0.61	
7	Dimethylformamid-Ammoniak 25% (9:1)	0.69		
8	Äthanol-Ammoniak 25% (5:0.25)	0.38	0.48	
9	0.1% Trimethylamin in Chloroform	0.00	0.16	
	0.3% Trimethylamin in Chloroform	0.02	0.25	
	1.0% Trimethylamin in Chloroform	0.02	0.41	
10	Chloroform-Pyridin (1:1)	0.72		

<sup>a</sup> Kieselgelplatte, imprägniert mit 0.2 N NaOH.<sup>b</sup> Kieselgelplatte, imprägniert mit 10%-iger AgNO<sub>3</sub>-Lösung.

Ferner führten wir in der Hoffnung, dass basische Zusätze zu Laufmittelsystemen durch eine Wirkung auf die saure phenolische Gruppe der Capsaicinoide die Wandergeschwindigkeit der einzelnen Homologen und Analogen des Capsaicins unterschiedlich beeinflussen würde, Versuche mit zahlreichen Systemen durch

(s. Tabelle II). Zwei Kombinationen, Chloroform-Äthanol-Ammoniak (untere Phase) und Essigester-Äthanol-Ammoniak (obere Phase), zeigten eine gute Trennung. Deshalb steigerten wir den Gehalt an Äthanol, der die Sättigungskonzentration für Ammoniak in Chloroform bzw. Essigester erhöht (s. Tabelle III und Fig. 3).

Die eindeutig beste Trennung, nämlich in drei Flecke (s. Fig. 4), erhielten wir bei dem System Chloroform-Äthanol-Ammoniak (9:2:1) und Essigester-Äthanol-Ammoniak (9:0:1).

Zur Identifizierung dieser drei Substanzflecken entwickelten wir ein Gemisch aus den synthetischen Reinsubstanzen Capsaicin, Dihydrocapsaicin und Nonylsäure-vanillylamid unter den gleichen Bedingungen. Überraschenderweise erschienen

TABELLE III

EINFLUSS DES ÄTHANOLGEHALTES VON LAUFMITTELGEMISCHEN AUF DIE  $R_F$ -WERTE VON EINEM NATÜRLICHEN CAPSAICINOID-GEMISCH (CGF-71) BEI DER DC-TRENNUNG AUF KIESELGELPLATTEN

Nr.	Laufmittelgemisch	$R_F$ -Werte der erhaltenen Flecken		
Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25%				
1	9:1:1	0.03	0.51	
2	9:1.5:1	0.02	0.58	
3	9:2:1	0.00	0.11	0.60
4	9:2.5:1		0.12	0.69
5	9:3:1		0.16	0.74
6	9:4:1		0.28	0.78
Essigester-Äthanol-Ammoniak 25%				
7	9:0.0:1	0.00	0.25	0.46
8	9:0.1:1	0.00	0.24	0.46
9	9:0.2:1	0.00	0.33	0.50
10	9:0.3:1	0.00	0.40	0.54
11	9:0.4:1	0.00	0.36	0.52
12	9:0.5:1	0.00	0.412	0.55

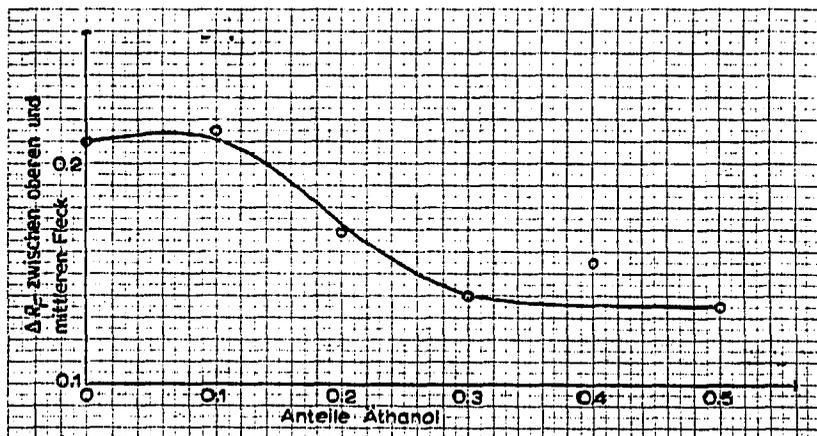


Fig. 3. Abhängigkeit der  $R_F$ -Differenz zwischen dem oberen und mittleren Fleck und dem Äthanolgehalt des Laufmittels Essigester-Äthanol-Ammoniak 25% (9:x:1, obere Phase).

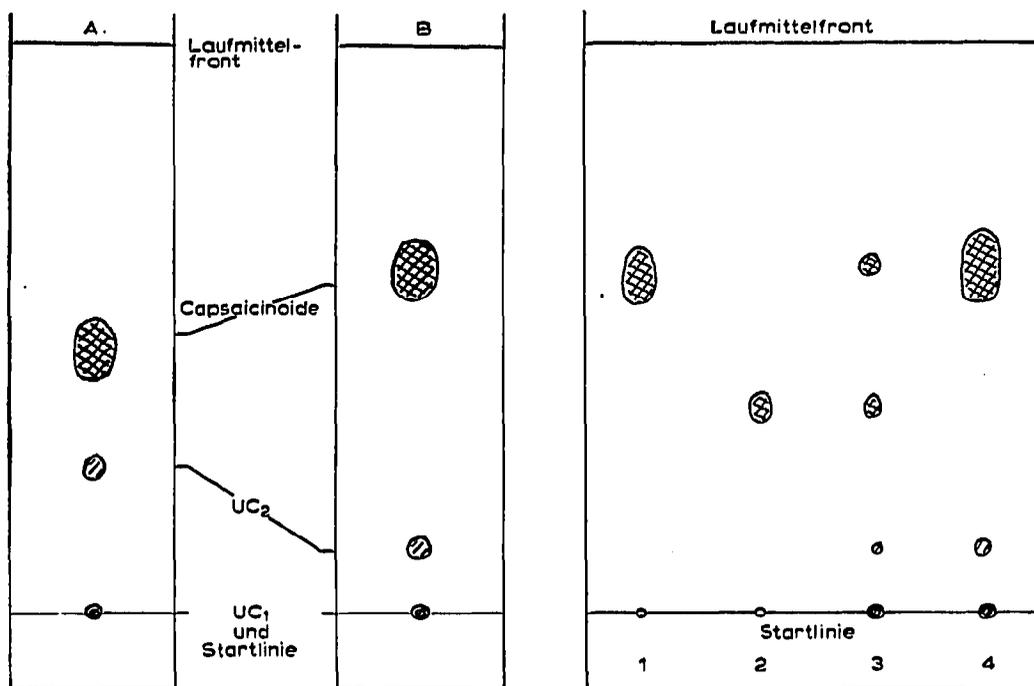


Fig. 4. DC-Auftrennung des natürlichen Capsaicinoid-Gemisches CGF-70 auf Kieselgel. Laufmittel: (A) Essigester-Ammoniak 25% (9:1, obere Phase); (B) Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1, untere Phase).

Fig. 5. Dünnschichtchromatogramm von synthetischem Capsaicin (CSyM-70) und eines natürlichen Capsaicinoid-Gemisches (CGF-71) und deren Oxydationsprodukten. Schicht: Kieselgel; Laufmittel: Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1, untere Phase). 1 = CSyM-70; 2 = oxydiertes CSyM-70; 3 = oxydiertes CGF-71; 4 = CGF-71.

alle drei synthetischen Substanzen in einem Fleck. So müssen die zwei Flecken mit den niedrigeren  $R_F$ -Werten in Fig. 4 von zwei unbekanntem Vanillylamiden herrühren. Die Möglichkeit, dass ein Teil der ungesättigten Capsaicinoide durch einen Oxidationsvorgang an der Doppelbindung angegriffen war und sich über das Epoxid eine Glykolkonstitution ausgebildet hatte, mussten wir ausschließen, da die  $R_F$ -Werte der Oxydationsprodukte von uns oxydierten Capsaicinoiden höher liegen als die der unbekanntem phenolischen Verbindungen (s. Fig. 5).

Eine quantitative Isolierung dieser unbekanntem Substanzen und ihre Identifizierung mit Hilfe der Spektroskopie war uns wegen des so geringen Gehaltes der Extrakte an diesen Verbindungen nicht möglich. Wir vermuten aber, dass es sich bei diesen Substanzen um Oxydationsprodukte glykolischer Struktur oder um andere hochmolekulare Verbindungen, evtl. Vanillylamide einer langkettigen Säure handelt. Obwohl ein zweidimensionales Dünnschichtchromatogramm eines natürlichen Capsaicinoid-Gemisches (CGF-70), bei Verwendung von Ammoniak-gesättigtem Chloroform als Laufmittel, die Tendenz zu einer Auftrennung der bekannten Capsaicinoide zeigt (s. Fig. 6), konnten wir keine deutlichere Trennung dieser Capsaicinoide erzielen. Bei Verwendung des Fließmittels Chloroform-Äthanol-Ammoniak

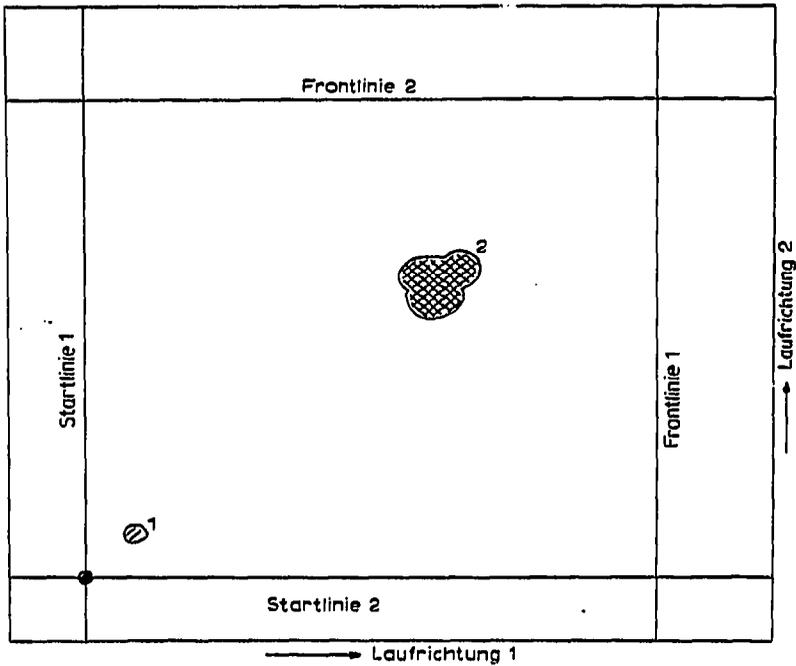


Fig. 6. Auftrennung des Capsaicinoid-Gemisches CGF-70 nach zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel. Laufmittel: Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1, untere Phase). 1 = Unbekannte Vanillylamide; 2 = Capsaicinoide.

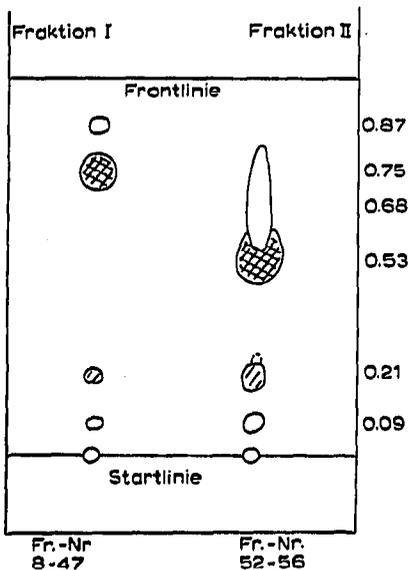


Fig. 7. Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Fraktionen I und II der Säulenchromatographie SC-1 (s. Tabelle V). Die karierten Flecken sind stark blau angefärbt; die schraffierten Flecken sind leicht blau angefärbt.

(9:2:1, untere Phase) gehört zu Capsaicin der  $R_F$ -Wert 0.59, zu Dihydrocapsaicin 0.61 und zu Nonylsäure-vanillylamid 0.58.

Im Gegensatz zur DC erzielten wir säulenchromatographisch (s. Tabelle IV und V) eine Trennung der Capsaicinoide in zwei deutlich voneinander abgegrenzte

TABELLE IV

ÜBERSICHT DER VERSUCHE EINER SÄULENCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG DES METHANOLISCHEN ROHEXTRAKTES<sup>d</sup>

<i>Sorptionsmittel</i>	<i>Elutionsmittel</i>	<i>Eluat mit Capsaicinoiden</i>
Cellulose für SC Merck	Chloroform	<sup>a</sup>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , neutral, Akt.-Stufe I, Woelm	(1) Petroläther	Chloroform <sup>c</sup>
	(2) Chloroform	Methanol
	(1) Petroläther (2) Methanol (1) Petroläther (2) Methanol (3) Äther	Äther <sup>b</sup>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , neutral, Akt.-Stufe I, Woelm, gemischt mit 1% Carbo adsorbens	Methanol	<sup>b</sup>
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , neutral, Akt.-Stufe I, Woelm, beschichtet mit Mischung aus Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> und 8% Carbo adsorbens	(1) Petroläther (2) Methanol (3) Chloroform	Methanol <sup>b</sup>
Kieselgel HF <sub>254</sub> , nach Stahl für DC, Merck	Chloroform	<sup>a</sup>
Kieselgel HF <sub>254</sub> , nach Stahl für DC, Merck, beschichtet mit Mischung aus Kieselgel und Carbo adsorbens (1:2)	(1) Petroläther (2) Chloroform (3) Methanol	Chloroform <sup>b</sup>
Kieselgel <0.08 mm für SC, Merck, beschichtet mit Kieselgel und Carbo adsorbens (4:3)	(1) Petroläther (2) <i>n</i> -Hexan (3) Essigester (4) Chloroform (5) Methanol	Essigester, Fr. I <sup>b</sup> Essigester-Chloroform, Fr. II <sup>a</sup>
Kieselgel <0.08 mm für SC, Merck, beschichtet mit Kieselgel und Carbo adsorbens (1:1)	(1) Essigester (2) Chloroform (3) Methanol	Essigester Fr. I <sup>b</sup> Essigester-Chloroform, Fr. II <sup>a</sup>
Kieselgel <0.08 mm für SC, Merck	(1) Chloroform-Äthanol-Ammoniak 25% (9:2:1) (2) Chloroform-Äthanol-Ammoniak (3.5:6:0.5)	1. Elutionsmittel

<sup>a</sup> Schmale Bande.

<sup>b</sup> Breite Bande.

<sup>c</sup> Sehr breite Bande.

<sup>d</sup> Aufgetragen: vorgereinigter und aufgetrennter Extrakt.

TABELLE V

VERTEILUNG DER ZWEI CAPSAICINOID-HALTIGEN FRAKTIONEN BEI DER SÄULENCHROMATOGRAPHIE SC-1

Lösungsmittel	Fraktion Nr. (je 400 ml)	Farbreaktion (2,6-Dichlor- chinon-4- chlorimid)	Rückstand (g)	Beschaffenheit	Weiterver- arbeitung mit SC-2
Essigester	1-3	—	7.1	ölig, gelb	
	4-5	—	1.4	fest, wachsartig	
	6-7	—	0.7	fest	
Chloroform	8-47	+	3.5	fest →	Fraktion I
	48-51	—	0.2	fest	
	52-56	+	2.0	fest →	Fraktion II
Methanol	57-63	—	0.2	fest	
	64-67	—	5.4	fest	

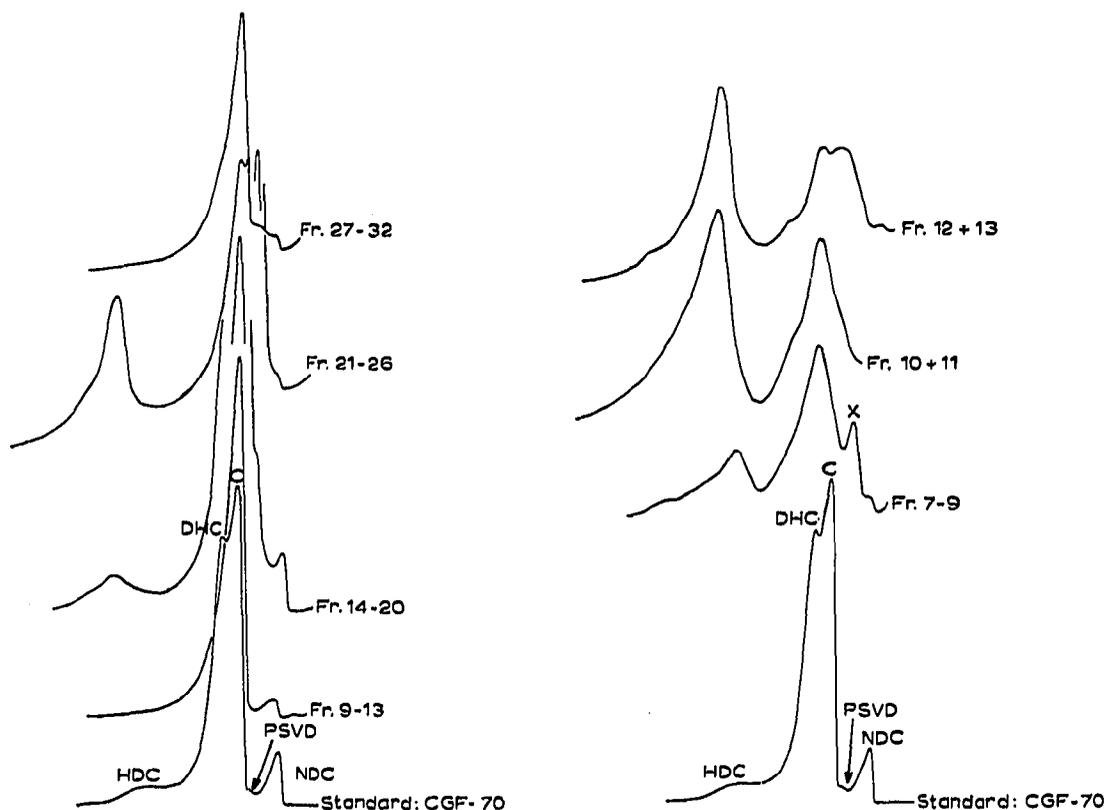


Fig. 8. Zusammenfassende Darstellung der Gaschromatogramme der Fraktionen 9-32 von Fraktion I (SC-1) nach Säulenchromatographie SC-2. C = Capsaicin; DHC = Dihydrocapsaicin; HDC = Homodihydrocapsaicin; NDC = Nordihydrocapsaicin; PSVD = Nonylsäure-vanillylamid.

Fig. 9. Zusammenfassende Darstellung der Gaschromatogramme der Fraktionen 7-13 von Fraktion II (SC-1) nach Säulenchromatographie SC-2. C = Capsaicin; DHC = Dihydrocapsaicin; HDC = Homodihydrocapsaicin; NDC = Nordihydrocapsaicin; PSVD = Nonylsäure-vanillylamid; X = Substanz 294.

Fraktionen (s. Fig. 1 und Tabelle V). Eine zweimalige Wiederholung mit verschiedenen Säulengrößen beweist die Reproduzierbarkeit dieser Trennung.

Aus den Angaben der Tabelle V geht hervor, dass die Fraktionen I und II ungefähr das 30- bis 50-fache der Capsaicinoide an Verunreinigungen enthalten (s. Fig. 7). Diese Verunreinigungen können Fettsäuren, Fettsäureester und Verbindungen mit aromatischem Ring sein. Wegen dieser Verunreinigungen unterzogen wir zur Zerlegung in einzelne Bestandteile beide Fraktionen getrennt einer weiteren Säulenchromatographie mit Chloroform-Äthanol-Ammoniak (9:2:1) als Elutionsmittel (SC-2).

Die DC-Überprüfung der einzelnen Fraktionen von SC-2 und die anschließende Gaschromatographie der Fraktionen mit gleicher DC-Trennung (s. Fig. 8 und 9) liessen die Tendenz zur weiteren Auftrennung der Fraktion I und II (von SC-1) erkennen. Sehr deutlich ist die Tendenz allerdings nicht. Den zusammenfassenden graphischen Darstellungen der Gaschromatogramme (s. Fig. 8 und 9) ist zu entnehmen, dass in der Fraktion I (SC-1) ausschliesslich Capsaicin, Nordihydrocapsaicin und Nonylsäure-vanillylamid vorhanden sind. Es liegt hier eine trennende Tendenz vor in der Reihenfolge Nordihydrocapsaicin, Capsaicin und Nonylsäure-vanillylamid. In der Fraktion II nach der SC-2 liessen die Gaschromatogramme dagegen Dihydrocapsaicin und Homodihydrocapsaicin erkennen (s. Fig. 9).

Dieses Ergebnis der Trennung des natürlichen Capsaicinoid-Gemisches in zwei Fraktionen I und II (Fig. 1) mit Capsaicin, Nordihydrocapsaicin und Nonylsäure-vanillylamid einerseits und Dihydrocapsaicin und Homodihydrocapsaicin andererseits wird bestätigt durch die Massenspektren von Fraktion I nach ihrer weiteren Reinigung zu SC-2 und Fraktion II, welche noch durch die Äther-Alkali-Ausschüttelung nach

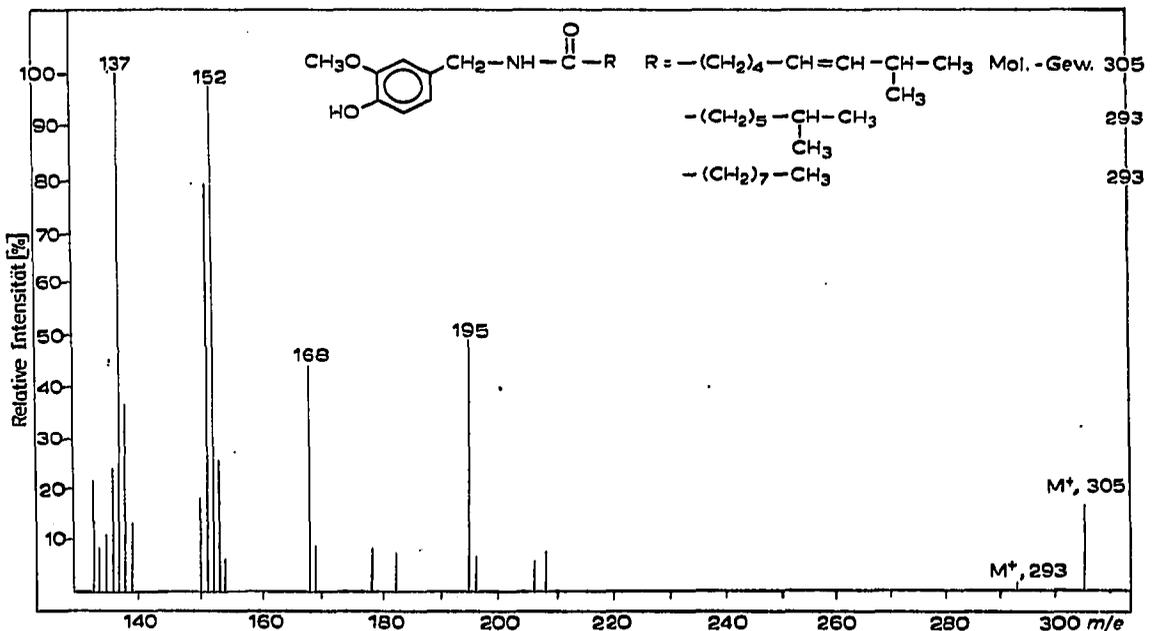


Fig. 10. Massenspektrum der Fraktion I (SC-1).

Ph. Helv. VI gereinigt wurde (s. Fig. 10 und 11). Das Massenspektrum der Fraktion I zeigt die erwarteten Molekülspitzen bei  $m/e$  305 für Capsaicin,  $m/e$  293 für Nordihydrocapsaicin und Nonylsäure-vanillylamid, während das Massenspektrum der Fraktion II die Molekülspitzen bei  $m/e$  307 für Dihydrocapsaicin und bei  $m/e$  321 für Homodihydrocapsaicin zeigt.

Die Resultate zeigten, dass Kieselgel als chromatographisches Material zur Trennung der Capsaicinoide brauchbar ist und zwar mit grösserer Reproduzierbarkeit als Polyamid.

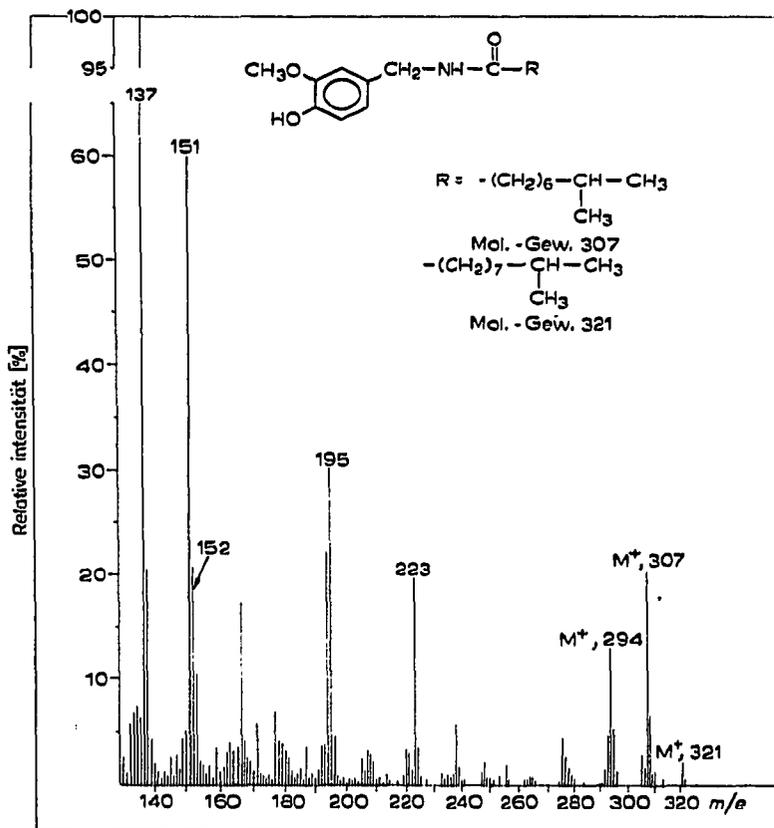


Fig. 11. Massenspektrum der Fraktion II (SC-1).

#### ZUSAMMENFASSUNG

Bei dem Versuch, ein reines natürliches Capsaicinoid-Gemisch dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel in die Bestandteile zu zerlegen, wurde trotz Verwendung von polaren Laufmitteln, Laufmittelkombinationen oder basischen Laufmittelsystemen keine Auftrennung der bekannten Capsaicinoide erzielt, wohl aber die Abtrennung zweier unbekannter Substanzen mit phenolischer Struktur. Dass es sich nicht um Oxydationsprodukte der Capsaicinoide handelt, konnte abgesichert werden. Dagegen gelang uns eine säulenchromatographische Trennung der

Capsaicinoide mit Kieselgel in zwei deutlich von einander abgegrenzter Fraktionen, deren Bestandteile nach einer weiteren Säulenchromatographie gaschromatographisch und massenspektroskopisch identifiziert werden konnten.

## LITERATUR

- 1 D. J. BENNETT UND G. W. KIRBY, *J. Chem. Soc., C*, (1968) 442.
- 2 S. KOSUGE UND M. FURUTA, *Agr. Biol. Chem.*, 34 (1970) 248.
- 3 R. RANGOONWALA UND G. SEITZ, *Deut. Apoth.-Ztg.*, 110 (1970) 1946.
- 4 R. RANGOONWALA, *J. Chromatogr.*, 41 (1969) 265.
- 5 K. JENTZSCH, H. POCK, W. KUBELKA UND O. SAIKO, *Monatsh. Chem.*, 99 (1968) 661.
- 6 A. MÜLLER-STOCK, R. K. JOSHI UND J. BÜCHI, *Pharm. Acta Helv.*, 47 (1972) 7.