

CHROM. 10,645

## Note

---

### Hochleistungsflüssigkeitschromatographische Trennung einiger Benzaldehydcyanhydringlykoside sowie ihrer Epimeren

ADOLF NAHRSTEDT

*Institut für Pharmazeutische Biologie der Technischen Universität, D-3300 Braunschweig (B.R.D.)*

(Eingegangen am 13. Oktober 1977)

Benzaldehydcyanhydringlykoside sind underivatisiert und derivatisiert in einer Reihe von dünn- schicht-, säulen- und gas-chromatographischen (GC) Systemen separiert worden<sup>1</sup>. Die meisten der verwendeten Systeme gestatten es nicht, Epimerenpaare bzw. einzelne Epimere zu erkennen, deren Zuordnung jedoch aus biogenetischen und chemotaxonomischen Gründen erwünscht ist. Epimerentrennung gelang mit dem peracetylierten Epimerenpaar Dhurrin-Taxiphyllin (3 und 4) mittels konventioneller Säulen chromatographie an SiO<sub>2</sub> (Lit. 2) und für die meisten bekannten Benzaldehydcyanhydringlykoside gaschromatographisch als Pertrimethylsilylaether an Siliconphasen<sup>3-5</sup>. Die gaschromatographischen Methoden erlauben auch eine Konfigurationszuordnung des Asymmetriezentrums im Aglykon der Glykoside, da die dort (*S*)-konfigurierten Verbindungen immer vor den (*R*)-konfigurierten eluiert werden. Die Nachteile der GC-Trennung sind Derivatisierung, relativ hoher Zeitaufwand und Verzicht auf präparativen Einsatz, da die TMS-Äther schlecht kondensierbar sind. Im folgenden wird deshalb untersucht, inwieweit hochdruckflüssigkeitschromatographische (HPLC) Systeme für diese Aufgaben geeignet sind.

#### EXPERIMENTELLES

Das verwendete HPLC-Gerät, ein Produkt der Fa. Waters (Königstein, B.R.D.) wurde mit Fertigsäulen der Fa. Waters (3.9 mm × 30 cm) betrieben. Die Eluate wurden bei 265 nm (Schöffel-Photometer) mit einem Vollausschlag bei  $E = 0.1$  registriert. Die Geschwindigkeit der mobilen Phase betrug 1.8 ml/min ( $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub>) und 1 ml/min ( $\mu$ Porasil). Eingesetzt wurden 0.1%ige Lösungen der Verbindungen 2, 3, 4, 6 und 8 in Methanol ( $\mu$ Porasil) bzw. Wasser (silanierte Phasen) sowie die nach<sup>5</sup> durch Isomerisierung erhaltenen Epimerenpaare.

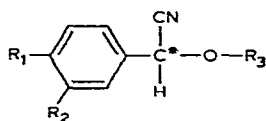
#### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

An der Trennphase  $\mu$ Bondapak NH<sub>2</sub> und unter isokratischer Arbeitsweise wurde bei Einsatz der (*R*)-konfigurierten Glykoside (2, 4, 6, 8, Tabelle I) mit verschiedenen Acetonitril-Wasser-Mischungen keine Trennung erzielt. 2 und 8 konnten an  $\mu$ Bondapak CN mit 10% MeOH in Wasser unbefriedigend (breite Signale) voneinander separiert werden. An  $\mu$ Bondapak C<sub>18</sub> dagegen ließen sich die verschiedenen

TABELLE I

## STRUKTUREN UND RETENTIONS DATEN DER EINGESETZTEN BENZALDEHYDCY-ANHYDRINGLYKOSIDE

$t_R$  = Bruttoretenzienszeit;  $C_{18}$  =  $\mu$ Bondapak  $C_{18}$ ;  $SiO_2$  =  $\mu$ Porasil.



Verbindung	Nr.	$R_1$	$R_2$	$R_3$	*	$t_R$ an $C_{18}$ (min)	$t_R$ an $SiO_2$ (min)
Sambunigrin	1	H	H	Glc	(S)	17.4	7.5
Prunasin	2				(R)		8.6
Dhurrin	3	OH	H	Glc	(S)	7.3	8.4
Taxiphyllin	4				(R)		9.9
Zierin	5	H	OH	Glc	(S)	9.6	7.5
Holocalin	6				(R)		7.5
Neoamygdalin	7	H	H	Gentiobiose	(S)	14.4	11.5
Amygdalin	8				(R)	14.6	13.7

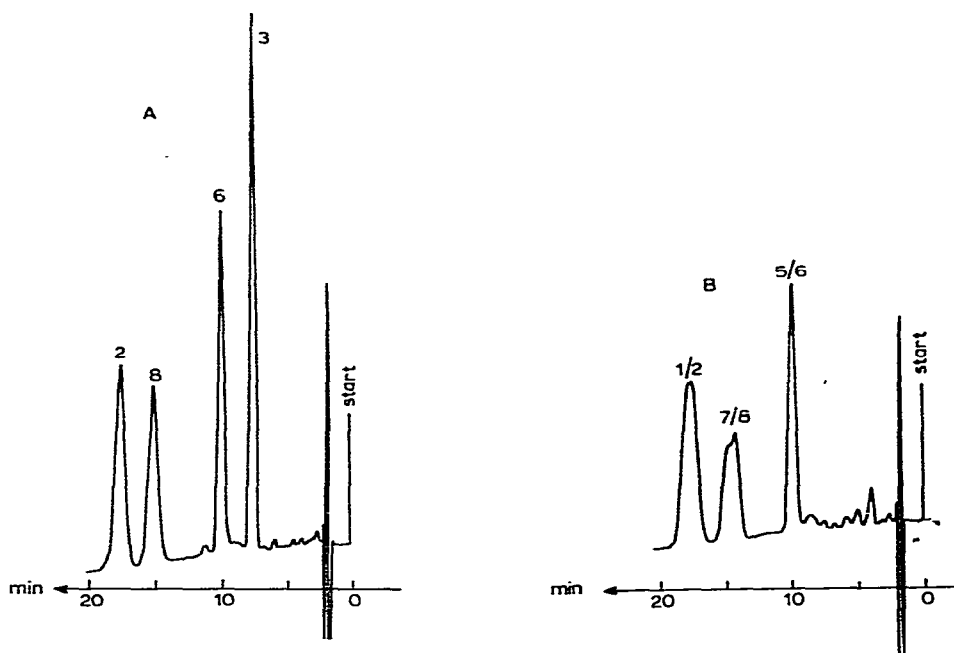


Fig. 1. A, Chromatogramm der Substanzen 2, 3, 6 und 8; B, Chromatogramm der Epimerenpaare 1/2, 5/6, 7/8. Zuordnung s. Tabelle I;  $\mu$ Bondapak  $C_{18}$ ; Wasser-Acetonitril-Essigsäure (94:5:1); 1.8 ml/min; Detektion bei 265 nm.

Epimerenpaare 1/2, 3/4, 5/6 und 7/8 mit Wasser–Acetonitril–Essigsäure (94:5:1) untereinander gut trennen. Fig. 1A zeigt ein Chromatogramm einer Mischung aus 2, 3, 6 und 8. Die unerwartet kleinen  $t_R$ -Werte der phenolischen Glucoside 3 und 6 im Vergleich zum Gentiobiosid (8) weisen auf die durch Anwesenheit und Stellung der polaren Hydroxylgruppen reduzierte Wechselwirkung zwischen silanisierter stationärer Phase und dem aromatischen Anteil der zu trennenden Substanzen hin. Bei Einsatz der Epimerenpaare 1/2, 5/6 und 7/8 (Fig. 1B) ist zwar eine Signalverbreiterung, bei 7/8 auch eine Antrennung zu erkennen; die Effekte waren jedoch nicht weiter optimierbar. Eine befriedigende Separation einzelner Epimerenpaare gelang dagegen an  $\mu$ Porasil mit Äthylacetat–Methanol (97:3) (Fig. 2A und B, Fig. 3C und D). Trotz Einsatz verschiedener Eluentien konnte eine Separation der monoglucosidierten Epi-

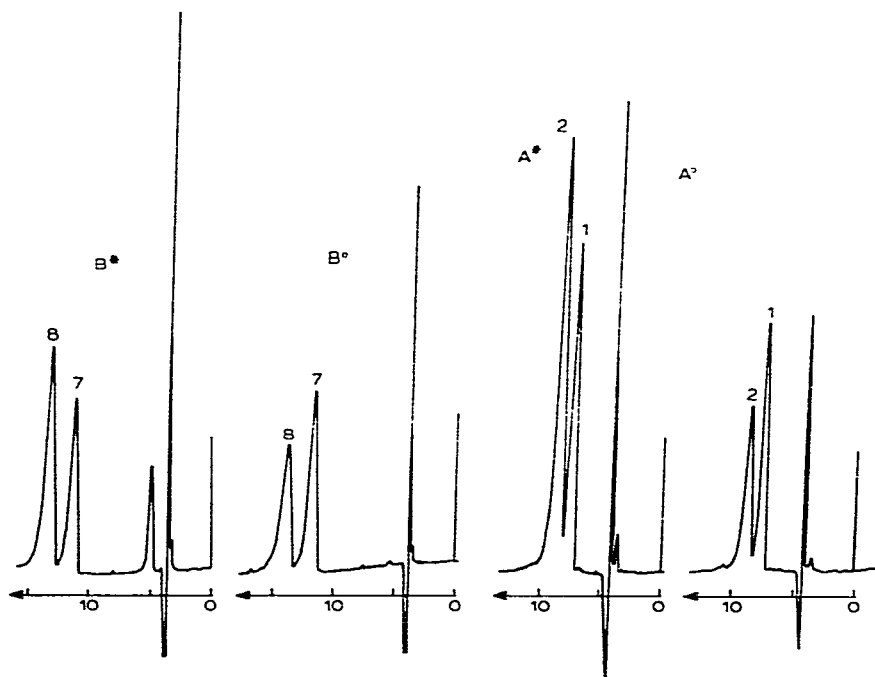


Fig. 2. Chromatogramme der Epimerenpaare 1/2 und 7/8 an  $\mu$ Porasil mit Äthylacetat–Methanol (97:3), 1 ml/min, 265 nm. A° und B°, im Isomerisierungsgleichgewicht; A\* und B\*, nach Addition des (*R*)-konfigurierten Epimeren.

merenpaare voneinander an dieser Phase jedoch nicht erreicht werden; sämtliche eingesetzten Monoglucoside erscheinen im Bereich von  $t_R = 7.5$ –9.9 min. An  $\mu$ Porasil wurden dieselben Gesetzmäßigkeiten beobachtet wie in den gaschromatographischen Systemen: (*S*)-konfigurierte Verbindungen (1,3,5, 7) weisen kürzere Retentionszeiten auf als (*R*)-konfigurierte (2, 4, 6, 8, Fig. 2A und B, Fig. 3C). Damit sind auch mit dieser Methode ohne Derivatisierung ebenfalls einfache und schnelle Konfigurationszuordnungen möglich, insbesondere in Verbindung mit dem Isomerisierungsverhalten dieser Substanzen unter Alkali<sup>5,6</sup>. Ein Ausbau des Systems zu präparativen Zwecken ist ohne Schwierigkeit möglich.

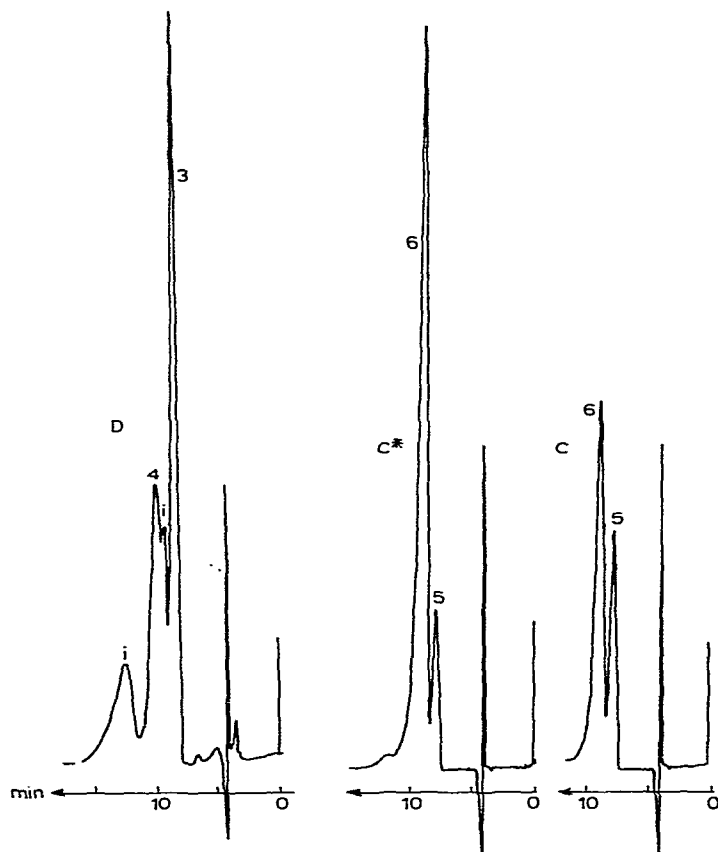


Fig. 3. Chromatogramme der Epimerenpaare 3/4 und 5/6 an  $\mu$ Porasil. C\*, nach Addition von 6; i, Verunreinigung aus 4.

#### DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. H. Rimpler, Universität Freiburg, danke ich herzlich für die Bereitstellung des HPLC-Gerätes.

#### LITERATUR

- 1 D. S. Seigler, *Phytochemistry*, 14 (1975) 9.
- 2 U. Schwarzmaier, *Chem. Ber.*, 109 (1976) 3379.
- 3 A. Nahrstedt, *J. Chromatogr.*, 50 (1970) 518.
- 4 A. Nahrstedt, *Planta Med.*, 24 (1973) 83.
- 5 A. Nahrstedt, *Phytochemistry*, 12 (1973) 2799.
- 6 A. Nahrstedt, *Arch. Pharm. (Weinheim)*, 308 (1975) 903.