

5,6- ÉS 5,8-KAROTINOID-EPOXIDOK
OXIDÁCIÓJA ALKALIKUS KÁLIUM-
-PERMANGANÁTTAL

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

IRTA: MOLNÁR PÉTER

POTE KÉMIAI INTÉZETE

PÉCS, 1975.



B 1312

TARTALOMJEGYZÉK

	Oldal
I. BEVEZETÉS	1
II. ELMÉLETI RÉSZ	4
1./ A módszer alkalmazása néhány karotinoid-epoxid és -furanoid-oxid szemimikro méretű lebontására	4 ^x 86 ^x
a./ A β -karotin-monoepoxid oxidatív lebontásának vizsgálata	6 86
b./ A β -karotin-diepoxid oxidatív lebontásának vizsgálata	25 93
c./ Mutatokróm oxidatív lebontásának vizsgálata	28 97
d./ Aurokróm oxidatív lebontásának vizsgálata	31 98
e./ Az α -karotin-epoxid oxidatív lebontásának vizsgálata	34 101
2./ A módszer alkalmazása természetben előforduló epoxi-apo-karotinalok előállítására és szerkezetük meghatározására	40 103
a./ A természetes violaxantin oxidatív lebontása szemimikro méretben	40 103
b./ Apo-10'-violaxantal és apo-12'-violaxantal előállítása violaxan-	

	oldal
tin-diacetát preparatív méretű oxidációjával	46 105
3./ Az oxidatív lebontás alkalmazása természetben előforduló monocisz karotinoid-epoxidok térszerkezetének meghatározására	60 112
a./ A természetes violeoxantin térszerkezetének meghatározása	61 112
b./ A természetes neoxantin, valamint a neoxantin-X térszerkezetének igazolása	73 117
III. KISÉRLETI RÉSZ	82 - 127
IV. ÖSSZEFOGLALÁS	128
V. IRODALOM	130

* Az első oldalszám az adott cím által meghatározott témakör helyét mutatja az ELMÉLETI RÉSZ-ben, míg a második oldalszám a KISÉRLETI RÉSZ-ben elfoglalt helyét jelöli.

I. BEVEZETÉS

A lúgos kálium-permanganáttal történő oxidáció története; a módszer alkalmazása 5,6- és 5,8- -karotinoid epoxidokra

A karotinoidok lúgos kálium-permanganáttal történő lebontása a Karrer-iskola munkáiból már régóta ismert. 1937-ben a β -karotin oxidációjával sikerült előállítaniuk kristályos 8'-apo- β -karotin-8'-al-t, valamint 12'-apo- β -karotin-12'-al-t [1,2]. A nyert vegyületeket UV és látható spektrumuk, valamint kémiai reakcióik alapján azonosították. 1938-ban az α -karotin oxidatív lebontása 8-apo- α -karotin-8-al-t eredményezett [3]. A kutatócsoport ugyanezen évben a zeaxantin oxidációja során β -citraurint /3-hidrox-8'-apo- β -karotin-8'-al/ állított elő [4]. A vegyületet sikerült előállítaniuk lutein, majd kapszantin oxidációja útján is [5,6]. A Karrer és munkatársai által kidolgozott módszert karotinoid-epoxidokra /5,6-epoxidokra/ és -furanoid-oxidokra /5,8-epoxidokra/ eddig nem alkalmazták. Kivételként említhetjük a fukoxantin cink-permanganátos oxidációját, melynek során B.C.L. Weedon és munkatársai néhány epoxicsoportot tartalmazó lebontási terméket izoláltak [7].

Munkánk során számos modellkísérletet végezve sikerült kidolgozni a karotinoid-epoxidok és -furanoid-oxidok szemimikro méretű lebontásának módszerét. Mivel e vegyületek oxidatív hatásokra különösen érzékenyek, kísérleteinket a Karrer és munkatársai által megadott koncentrációknál higabb oldatokkal végeztük. A folyamatokat vékonyréteg- és papirkromatográfiával követtük. Megfigyeltük, hogy az oxidációs folyamatok során a reakció előrehaladása szempontjából az oldatok koncentrációján kívül döntő a reakció ideje, az oxidálni kívánt karotinoid-epoxid anyagi minősége, az oldatok össztérfogatának és az edény térfogatának aránya, az edény alakja, a rázás sebessége és excentricitása, valamint a hőmérséklet. Itt említjük meg, hogy a szabad alkoholos hidroxicsoporthot tartalmazó karotinoidok és karotinoid-epoxidok az oxidáció során tönkremennek, e vegyületeket a lebontás előtt acetilálni kell.

A karotinoid-epoxidok és -furanoid-oxidok lúgos kálium-permanganáttal történő oxidációja során értékes C_{30} -, C_{27} - és C_{25} -epoxi-apo-karotinalok nyerhetők. A kidolgozott módszer nagy előnye, hogy a reakciókat kis mennyiségű, mintegy 5 mg anyaggal végezve a lebontási termékeket olyan mennyiségben

kapjuk, mely elegendő oldatban történő azonosításukhoz. A módszer nagyobb anyagmennyiségekre történő alkalmazása lehetőséget ad az értékes epoxi-aldehidek preparatív előállítására, s ezáltal szerkezetük igazolására.

Az egyes karotinoid-epoxidok lebontása során nyert C_{30} -, C_{27} - és C_{25} -epoxi-aldehidek szerkezetéből a kiindulási vegyületek szerkezetére lehet következtetni. Így az oxidáció kis mennyiségű anyag felhasználásával előnyösen alkalmazható a természetben előforduló monocisz karotinoid-epoxidok sztereokémiai viszonyainak felderítésére.

II. ELMÉLETI RÉSZ

1./ A módszer alkalmazása néhány karotinoid-epoxid és -furanoid-oxid szemimikro méretű lebontására

Az egyes karotinoid-epoxidok és -furanoid-oxidok lúgos kálium-permanganáttal történő oxidációja során keletkező termékek vizsgálata céljából mindenkélett a legegyszerűbb karotinoid-epoxid, a β -karotin-monoepoxid /II/ oxidációját végeztük el. A lebontás során főként epoxi-csoportot tartalmazó aldehidek képződtek, de kisebb mennyiségben a molekula szubsztituálatlan β -jonon gyűrűt tartalmazó végéről is keletkeztek termékek. Az oxidáció főterméke a C_{30} -as 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ volt, melyet preparatív is izoláltunk.

A β -karotin-diepoxid /XII/ lebontásának főtermékeként az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al-t /XIII/ nyertük, mely C_{27} -epoxi-aldehid. Míg a β -karotin-monoepoxid /II/ fő lebontási terméke az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ a molekula 7'-8'szénatomjai közötti kettős kötések mentén történő oxidáció eredménye, addig a β -karotin-diepoxidból /XII/ nyert 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/ a 9-10, illetve 9'-10'

szénatomok közötti kettős kötések oxidatív felhasadása folytán képződött.

A mutatokróm /XVI/ lebontásakor a C_{30} -as 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al-t /V/ izoláltuk főtermékként. A mutatokróm /XVI/ tehát főként ugyanazon helyen oxidálódott, mint a β -karotin-monoepoxid /II/.

Az aurokróm /XVIII/ molekulájában a reagens a β -karotin-diepoxidhoz /XII/ hasonlóan a 9-10, illetve a 9'-10' szénatomok közötti kettős kötések oxidálta. A reakció során a C_{27} -es 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/ keletkezett főtermékként. E kísérletek azt mutatják, hogy a furanoid-oxidok oxidációja formailag az epoxidokéhoz hasonlóan zajlott le.

Különösen érdekes, hogy az α -karotin-epoxid /XXI/ mind az α -, mind az epoxid-oldalon oxidálódott és így 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al-t /XIII/, 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al-t /VII/, valamint 10-apo- α -karotin-10-al-t /XXII/ és 12-apo- α -karotin-12-al-t /XXIV/ eredményezett. A termékek tehát C_{27} - és C_{25} -aldehidek voltak.

a./ A β -karotin-monoepoxid /5,6-epoxi-5,6-dihidro-
- β , β -karotin; II/ oxidatív lebontásának vizs-
gálata

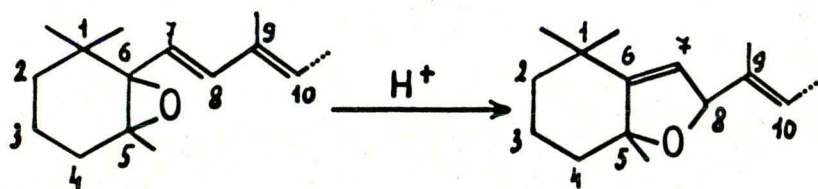
Kromatográfiásan tiszta β -karotin-monoepoxid /op.:
148-150 °C/ tiofónmentes benzollal készített oldatút
csiszolatos folyadéküvegben a benzolos oldat térfoga-
tával azonos térfogatú lúgos KMnO_4 -oldattal 60 percen
át rázattuk. A folyamatot vékonyréteg- és papirkroma-
tográfiával követtük. A reakció megszakítása után az
oxidációs elegyet feldolgoztuk, majd a nyert benzolos
oldatot kromatográfiára készítettük elő. A CaCO_3 -osz-
lopon történő kromatografálás eredményeként két egy-
mástól jól elkülöníthető zónát kaptunk, melyeket azo-
nosítottunk.

A β -karotin-monoepoxid /II/ oxidációs termékei kö-
zött az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-
-al /III/ volt a főtermék, mely 20-25 %-os termelés-
sel keletkezett. A vegyület benzolos oldatban fel-
vett UV és látható abszorpciók spektrumának /l. ábra/
alakja, valamint a jellemző λ_{max} -ok - 490, 461, /440/
nm - arra utalnak, hogy a poliénlánc nyolc konjugált
kettős kötésével karbonilcsoport van konjugációban.

A termék aldehid-természetének igazolására elvégez-

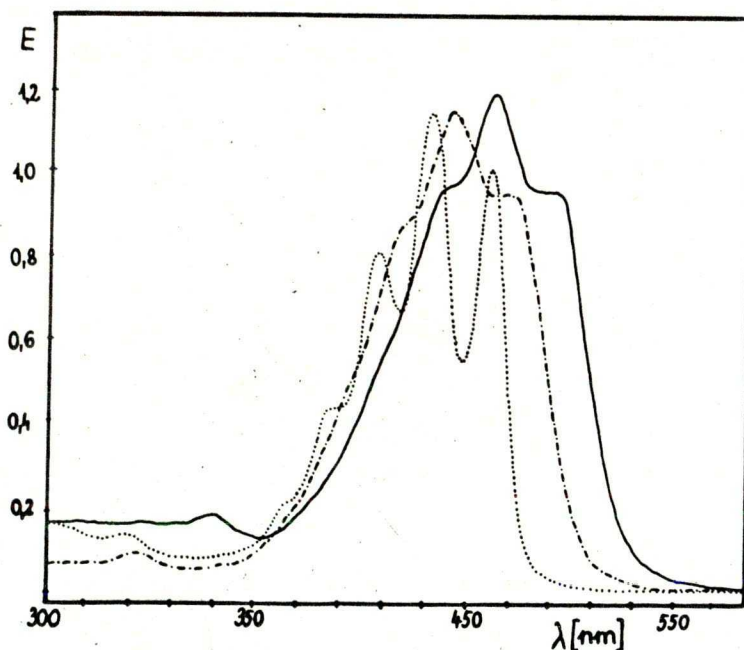
tük annak LiAlH_4 -del történő redukcióját abszolút éteres oldatban. A redukció eredményességét az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-ol /IV/ képződése igazolja, melynek benzolos oldatban felvett UV és látható spektrumában /1. ábra/ az abszorpciós maximumok élesobbak, mint a kiindulási vegyületre jellemző spektrumban. A redukciós termék spektrumában az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ abszorpciós spektrumához képest erős hipszokróm hatás észlelhető; λ_{max} : 457, 430, 405 nm.

Az epoxicsoport jelenlétét furanoid-reakcióval [8] igazoltuk oly módon, hogy a termék kis mennyiségű benzolos oldatához 1-2 csepp savat /cc. HCl : cc. CH_3COOH = 1:9/ adtunk. Az 5,6-epoxidok savnyomok jelenlétében 5,8-epoxidokká /furanoid-oxidokká/ rendeződnek át:



A furanoid-reakció során a poliénlánc konjugációban

lévő kettős kötéseinek száma csökken. Ezért a furanoid-oxidok UV és látható spektrumában az epoxidokra jellemző spektrum $\lambda_{\max}$ -aihoz képest hipszokróm hatás figyelhető meg /a furanoid-gyűrű kialakulásának a $\lambda_{\max}$ -ok mintegy 20 nm-es csökkenése felel meg benzo-los oldatban/. A termék epoxid-természetét a savas kezelés után nyert 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V/ benzo-los oldatának UV és látható spektruma /1. ábra/ bizonyítja; $\lambda_{\max}$: 464 nm 441 nm /415/ nm.



1. ábra

5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III; _____/
5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /IV;/
5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V; -.-.-.-/
UV és látható spektruma benzolban

A nyert eredmények alapján az oxidációs elegyből főtermékként izolált 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ C_{30} -epoxi-aldehid. Az oxidálószer tehát főként a 7'-8' szénatomok közötti kettős kötés mentén oxidálta a molekulát.

Sikerült kizárnunk annak lehetőségét, hogy a β -karotin-monoepoxid fő lebontási terméke esetleg az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-keto-7'-hidroxi- β -karotin /VI/. E vegyület UV és látható abszorpciós spektruma ugyanis megegyezne az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ spektrumával. Ha az említett keton keletkezett volna főtermékként, akkor a molekulában lévő hidroxicsoport miatt a vegyületnek 90 %-os vizes metanol és petroléter közötti megoszlatáskor teljesen hipofázikusnak kellett volna lennie. Az általunk nyert termék megoszlását vizsgálva viszont azt tapasztaltuk, hogy a vegyület teljesen epifázikus. Ha az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-keto-7'-hidroxi- β -karotin /VI/ keletkezett volna főtermékként, a molekulában lévő hidroxicsoport miatt különösen nagy lett volna az adszorpciós affinitása is.

A β -karotin-monoepoxid /II/ fő oxidációs termékének 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al - szerkezetét /III/ a termék preparatív előállítását köve-

tő IR-, NMR-, MS-spektroszkópiai vizsgálatok is igazolják /19-24. oldal/.

Az oxidáció során a főtermék mellett izoláltunk még két terméket, melyek ugyanonak tartalmazznak epoxicsoportot. Megjelenik az oxidációs elegyben egy C_{25} -epoxi-aldehid, az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/ melyben az epoxicsoport jelenlétét furanoid-reakcióval, az aldehidcsoportét $LiAlH_4$ -es redukcióval igazoltuk. A másik termék petroléteres oldatának λ_{max} -ai /494, 463, 438 nm/ 5-6 nm-rel alacsonyabbak a szemi- β -karotinonra /VIII/ /9/ jellemző értékeknél. A vegyület furanoidizálható és $LiAlH_4$ -del redukálható; szerkezete ezen eredmények alapján a szemi- β -karotinon-epoxid /IX/ szerkezetével azonosítható. Míg az előbbi termék a 11'-12' szénatomok közötti kettős kötés oxidációjának eredményeként keletkezett, addig az utóbbi a β -jonon gyűrűben lévő kettős kötés oxidatív felhasadása folytán jött létre.

Keletkeztek a lebontás során olyan termékek is, melyek a furanoid-reakció során nem változtak. Ezen epoxicsoportot nem tartalmazó aldehidek közül a 10-apo- β -karotin-10-al /X; C_{27} -aldehid/ és a 12-apo- β -karotin-12-al /XI; C_{25} -aldehid/ jelenlétét sikerült kimutatni az oxidációs elegyben. Míg az előbbi

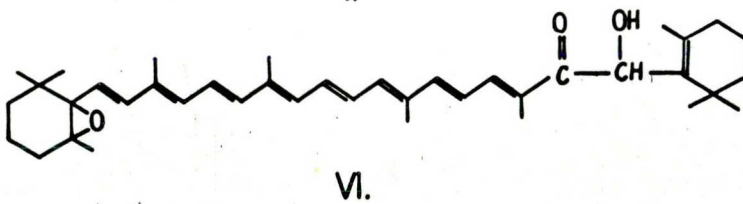
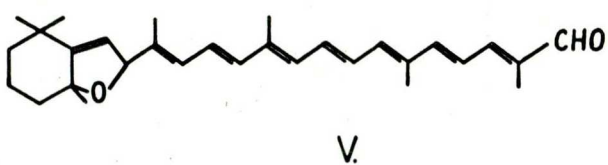
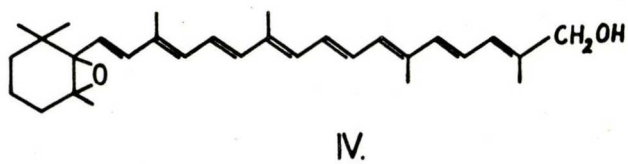
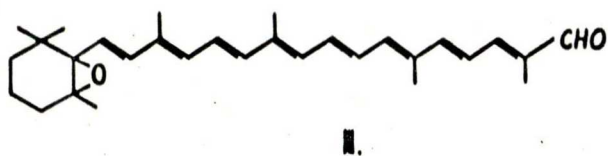
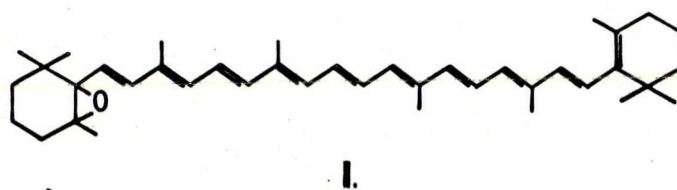
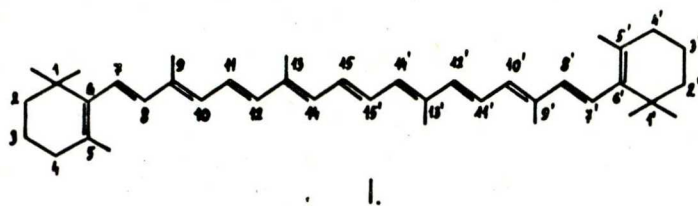
10-12 %-os termeléssel, addig az utóbbi 4-5 %-os termeléssel keletkezett.

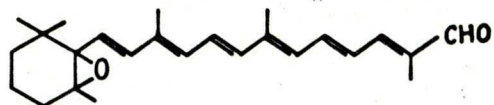
A β -karotin-monoepoxid /II/ lebontási termékeinek λ_{max} -ait petrolóteres és benzolos oldatban, valamint a lebontási termékek furanoid-reakciója és LiAlH_4 -es redukciója során nyert vegyületek λ_{max} -ait az I. táblázat foglalja össze.

I. táblázat

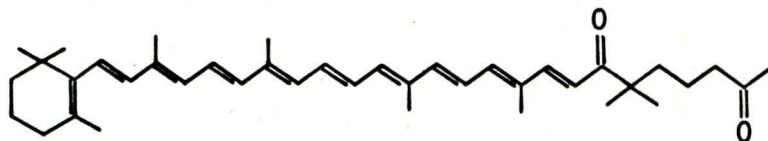
Lebontási termékek	$\lambda_{\text{max.}} / \text{nm/}$				Megosz- lás /90/
	Petroléter- ben	Benzolban	Furanoid-re- akció után benzolban	LiAlH ₄ -es red. 4 után benzolban	
5,6-epoxi-5,6-di- hidro-8'-apo- β -ka- rotin-8'-al /III/	477 447 426	490 461 /440/	464 441 /415/	458 430 405	E
5,6-epoxi-5,6-di- hidro-12'-apo- β -ka- rotin-12'-al /VII/	427 404 /382/	/437/ 414	407 390	403 379 361	E
Szemi- β -karoti- non-epoxid /IX/	494 463 438	508 478 /450/	488 460 434	481 452 429	E
10-apo- β -karo- tin-10-al /X/	/460/ 436	456	456	434 410 /387/	E
12-apo- β -karo- tin-12-al /XI/	//434// 411	429	429	401 384 //365//	E

* Megoszlás /90/ : Megoszlás 90 %-os vizes metanol és petroléter között

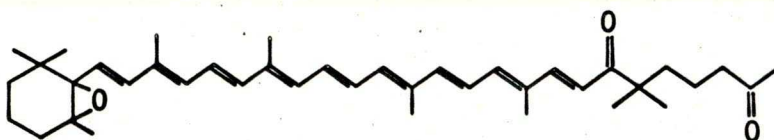




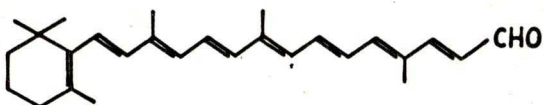
VI.



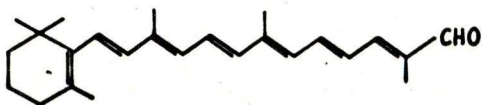
VIII.



IX.



X.

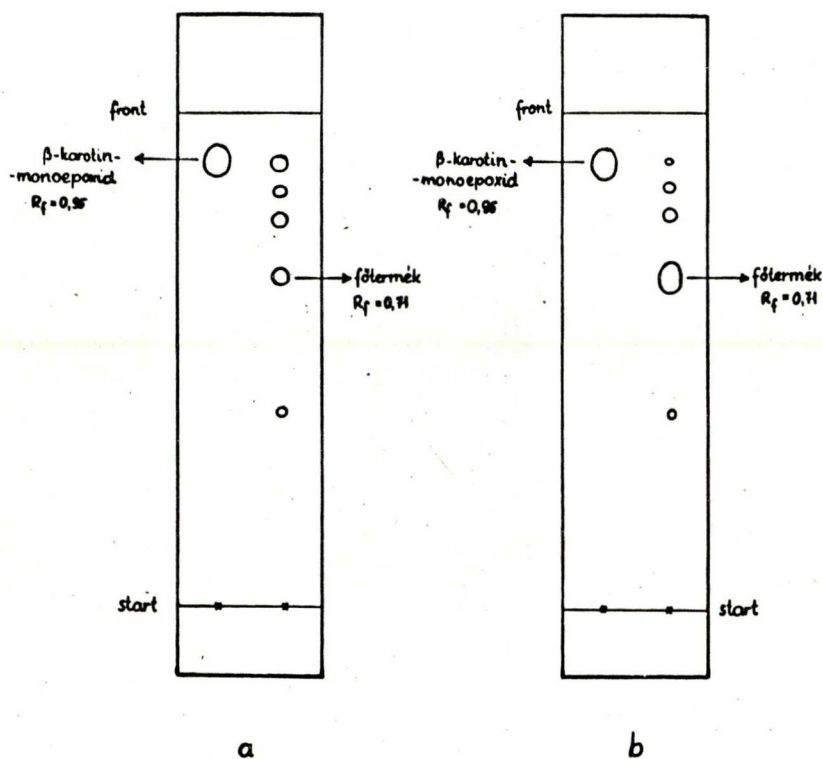


XI.

A β -karotin-monoepoxid /II/ szemimikro méretben elvégzett oxidatív lebontása során főtermékként keletkező C_{30} -epoxi-aldehydet, az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al-t /III/ preparatív is izoláltuk. Kísérletünk során a szemimikro méretű oxidációra kidolgozott arányokat és kísérleti körülményeket va-

lósítottunk meg. Az oxidációhoz 230 mg kromatográfi-
ásan tiszta β -karotin-monoepoxidot /II/ használtunk
fel, melyből tiofénmentes benzollal $6,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l
koncentrációju törzsoldatot készítettünk. Az elkéssi-
tett oldatot három egyenlő részre osztottuk, s három
részletben oxidáltuk a benzolos oldat térfogatával
egyenlő térfogatú lúgos kálium-permanganát-oldattal.
Az egyes oxidációkat papirkromatográfiával követve
azt tapasztaltuk, hogy 60 perces reakcióidő után még
elég sok változatlan β -karotin-monoepoxid /II/ volt
jelen a reakcióelegyben. A 75 perces reakcióidő után
készített papirkromatogram a várakozásnak megfelelő
mennyiségű reakcióterméket, illetve maradék kiindulá-
si anyagot jelzett /2. ábra/, ezért az egyes oxidáci-
ókat 75 percig folytattuk.

Az oszlopkromatogramok hasonlóak voltak a szemimikro
méretben végzett lebontáskor nyert kromatogramhoz.
Kromatografálás után mindenekelőtt a főterméknek meg-
felelő narancsos okker zónát dolgoztuk fel, majd az
oldat kis részletével elvégeztük az azonosításához
szükséges vizsgálatokat. A főtermék, valamint a belő-
le LiAlH_4 -es redukcióval és furanoid-reakcióval nyert
anyagok benzolos oldatának λ_{max} -ai teljesen megegyez-
tek a szemimikro méretű oxidáció főtermékének, illet-
ve megfelelő származékainak λ_{max} -aival.



2. ábra

Az oxidációs elegy papirkromatogramja 60 perces /a/ ill. 75 perces /b/ reakcióidő után

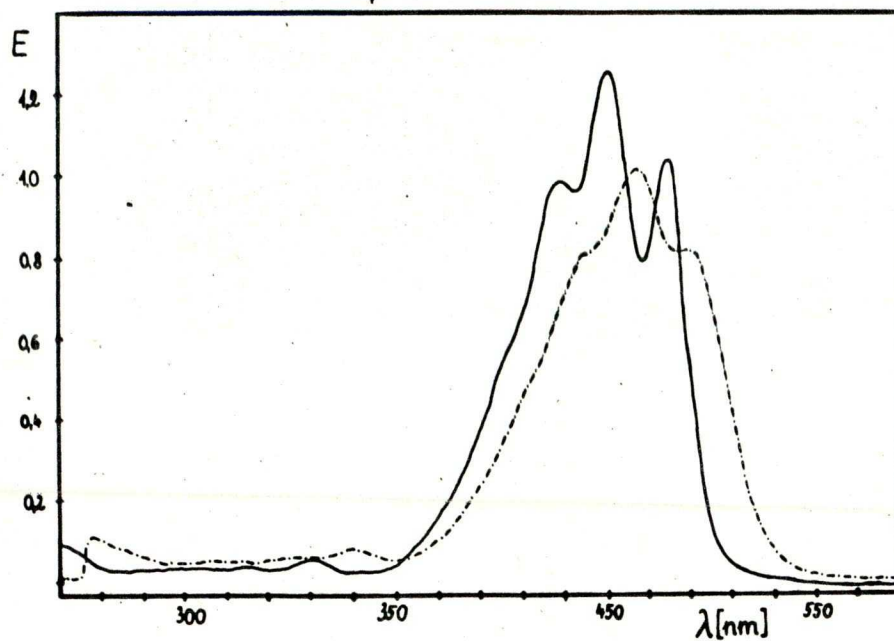
A preparatív lebontás főtermékéből és a szemimikro méretben elvégzett lebontás főtermékéből vett minták keverékkromatogramjában egyetlen egységes zónát észleltünk. Ez a tapasztalat is igazolta, hogy a le-

bontást preparatív méretekre kiterjesztve is 5,6-
-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ ke-
letkezik főtermékként. A füstök 90 %-os vizos meta-
nol és petroléter közötti megoszlását vizsgálva meg-
állapítottuk, hogy az teljesen epifázikus.

Az azonosító vizsgálatok elvégzése után a főtermék
kromatográfiás feldolgozásakor nyert viszonylag nagy
térfogatú petroléteres oldatot szárazra pároltuk,
majd a párlási maradékot forró metanolból kristályo-
sitottuk. Az első kristályosítás során kivált anyag
mennyisége 17,2 mg; op.: 124-126 °C.

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al-ra
/III/ jellemző molextinkció-értékek meghatározása
céljából felvettük a kristályos anyagból frissen ké-
szített ismert koncentrációjú n-hexános és benzolos
oldatok UV és látható abszorpciós spektrumát /3. ábra/.
Az egyes abszorpciós maximumokhoz tartozó molextink-
ció-értékeket $\epsilon_{\max}$ a II. táblázat foglalja össze.





3. ábra

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al
/III/ molextinkciós spektruma n-hexánban /—/ és benzolban /-.-.-/

II. táblázat

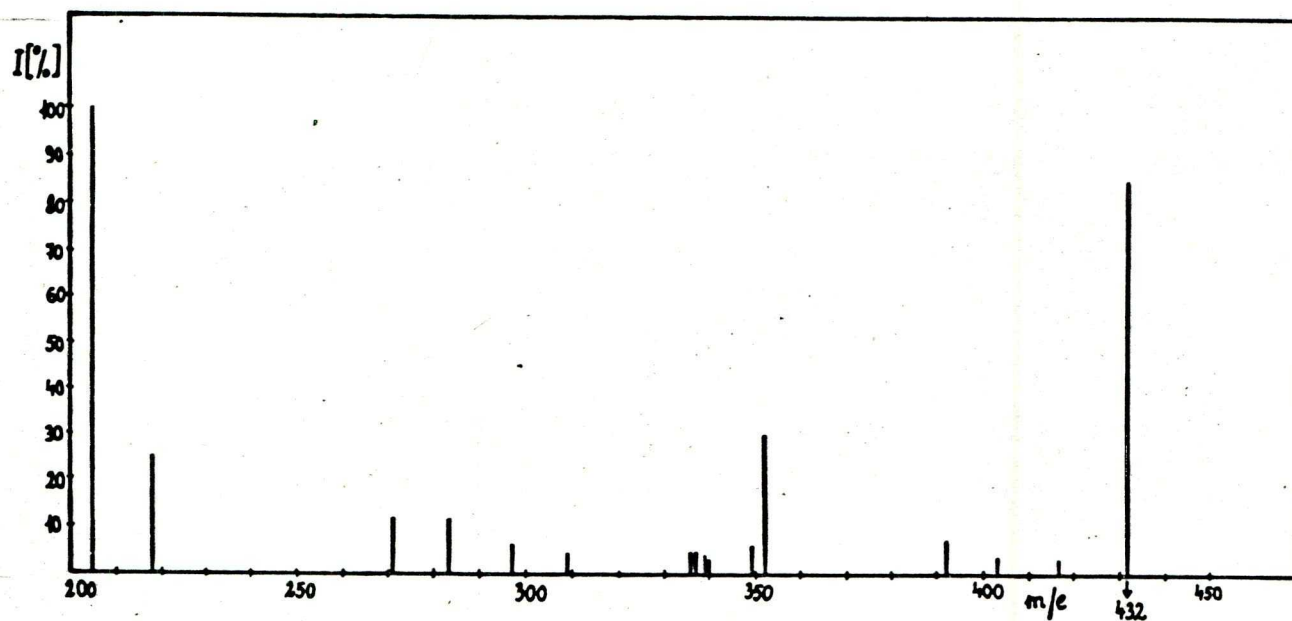
n-Hexánban		Benzolban	
$\lambda_{\text{max.}} / \text{nm} /$	$\epsilon_{\text{max.}}$	$\lambda_{\text{max.}} / \text{nm} /$	$\epsilon_{\text{max.}}$
478	101500	492	81800
448	123900	462	100800
426	97800	/440/	-

Az előállított 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ szerkezetének igazolása céljából az oldatban elvégzett azonosító vizsgálatokon kívül kristályos anyagot igénylő spektroszkópai vizsgálatokat is végeztünk.

Elkészítettük a vegyület tömegspektrumát /MS; 4. ábra/, melyben fellelhető a molekulaionra jellemző csúcs: $m/e = 432$ /85 % M^+ /. Az $m/e = 417$ /3 % $M-15$ / tömegszámnál észlelt csúcs a geminális allilhelyzetű metilcsoportok, az $m/e = 340$ /3 % $M-92$ / tömegszámú csúcs a toluol elvesztésére utal. Az $m/e = 403$ /3 % $M-29$ / tömegszámú fragmentum az aldehidcsoportot jellemzi. Az $m/e = 352$ /30 % $M-80$ /, valamint $m/e = 205$ /100 % $M-227$ / tömegszámokhoz tartozó csúcsok az epoxi-csoport jelenlétét igazolják. Az $m/e = 283$ /11 % $M-149$ / az $m/e = 271$ /11,5 % $M-161$ / és az $m/e = 218$ /25 % $M-214$ / tömegszámokhoz tartozó csúcsok a poliénláncból keletkező fragmentumoktól származnak /10, 11/.

A tömegspektrum segítségével meghatározott molekulasúly 432, mely megfelel az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al összegképletnek: $C_{30}H_{40}O_2$.

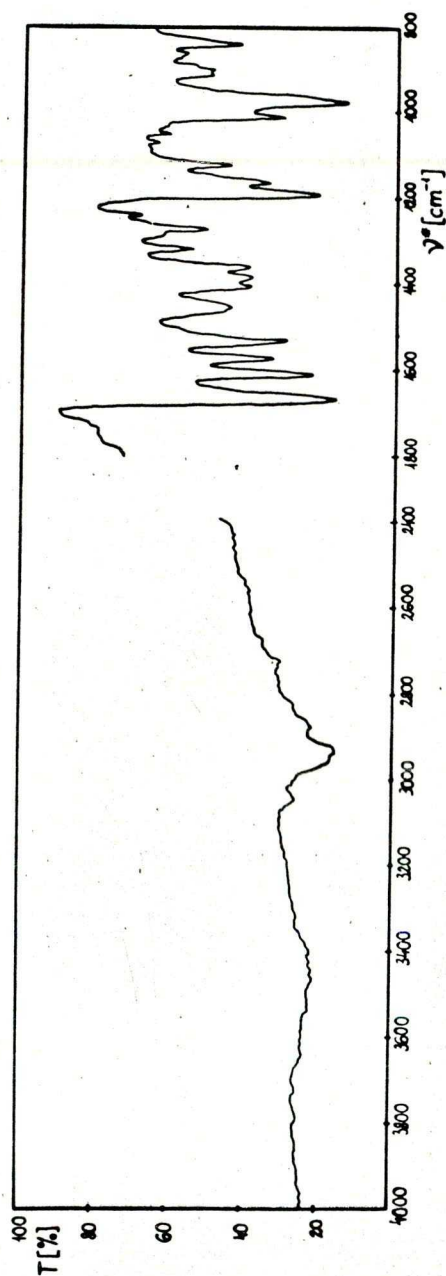
A preparált vegyület KBr pasztillában felvett IR-spektrumában /5. ábra/ $\nu_{max}^* = 1670 \text{ cm}^{-1}$ hullámszámer-



4. ábra

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ tömegspektruma

tékhez tartozó intenzív elnyelési sáv a poliénlánc kettőskötés-rendszerével konjugációban lévő aldehid-csoportot igazolja.

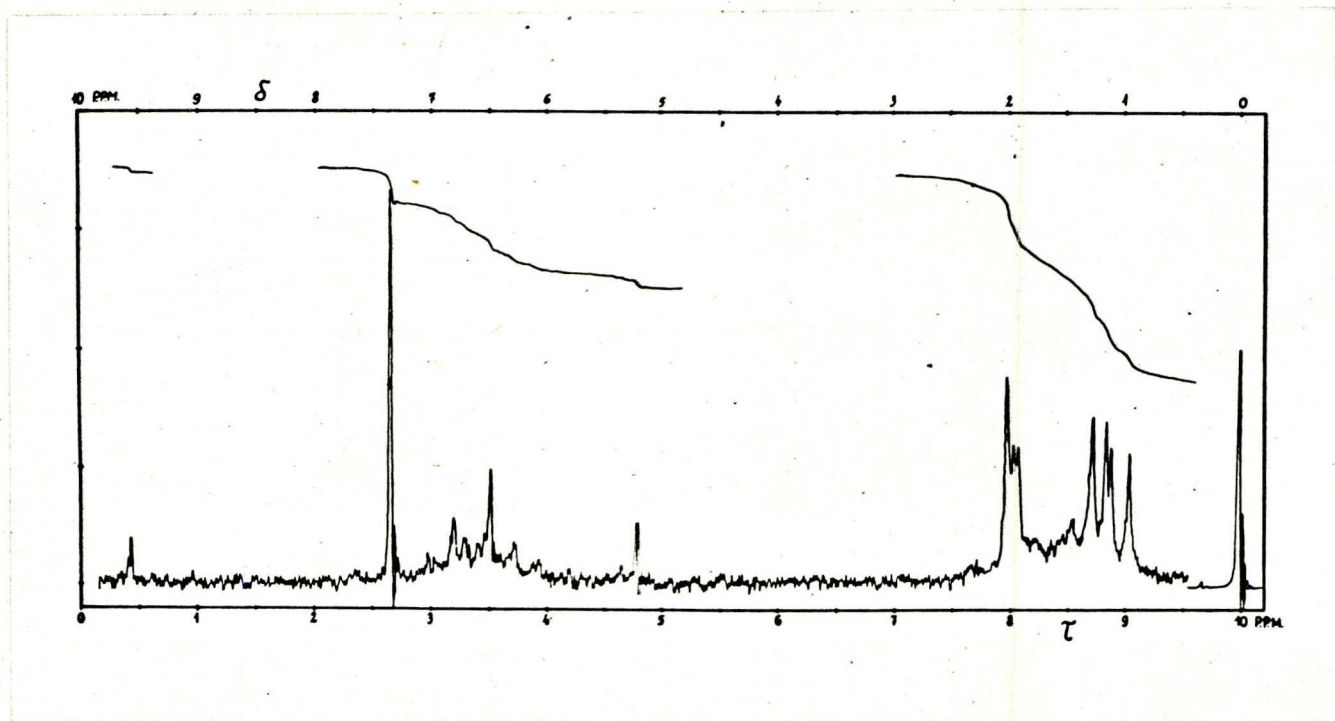


5. ábra

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo-β-karotin-
-8'-al /III/ IR-spektruma

Az előállított 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ deuterált kloroformos oldatban felvett NMR-spektruma /6. ábra/ alapján megállapítottuk a különböző helyzetű metilcsoportok protonjaira, valamint az aldehidcsoport protonjára jellemző kémiai eltolódás δ -értékeket /p.p.m./, melyeket a III. táblázatban foglaltunk össze. Összehasonlítás céljából megadtuk az epoxicsoportot nem tartalmazó 8'-apo- β -karotin-8'-al-ra vonatkozó irodalmi értékeket [29], valamint a kiindulási β -karotin-monoepoxid /II/ metilcsoportjainak δ -értékeit. Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ C-5 metilcsoportjának megfelelő alacsonyabb érték az epoxicsoport jelenlétével magyarázható.

A β -karotin-monoepoxid /II/ fő lebontási termékével oldatban elvégzett azonosító vizsgálatok, valamint a kristályos mintát igénylő műszeres vizsgálatok eredményei egyértelműen igazolják a vegyület 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ szerkezetét.



6. ábra

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karo-
tin-8'-al /III/ NMR-spektruma

III. táblázat

Vegyület	Metilcsoportok							Alde- hid- cso- port
	C - 1		C-5	C-9	C-13	C-13'	C-9'	
β -karotin-mono- epoxid /II/	0,95 1,05 [*]	1,12 1,05 [*]	1,15 1,73 ^{**}	1,95	1,99	1,99	1,95	-
8'-apo- β -karotin- -8'-al	1,02	1,02	1,73	1,99	2,01	2,01	1,90	9,44
5,6-epoxi-5,6-di- hidro-8'-apo- β -ka- rotin-8'-al /III/	0,95	1,12	1,15	1,96	2,01	2,01	1,92	9,56

* C - 1';

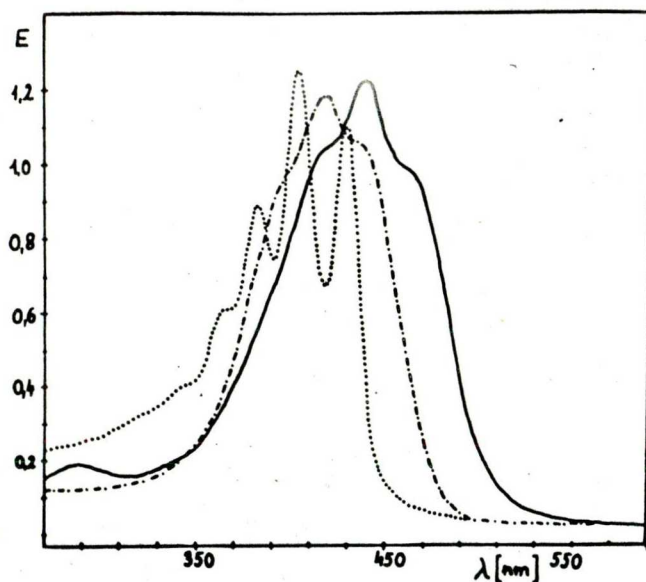
** C - 5'

b./ A β -karotin-diepoxid /5,6:5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-
-tetrahidro- β,β -karotin; XII/ oxidatív lebontásának
vizsgálata

A β -karotin-diepoxid /op.: 174-176 °C/ szemimikro méretben történő lebontását a β -karotin-monoepoxid /II/ oxidációjánál ismertetett kísérleti körülmények között végeztük el /86-87. oldal/. A reakciót vékonyréteg- és papirkromatográfiával követtük. A reakcióelegy feldolgozása után nyert oldat CaCO_3 oszlopon történő kromatografálásakor a maradék β -karotin-diepoxidnak /XII/ megfelelő zónán kívül két jól elkülöníthető zónát nyertünk.

A β -karotin-diepoxid /XII/, mivel molekulája szimmetrikus, a lebontás során kisebb számú oxidációs terméket eredményezett, mint a β -karotin-monoepoxid /II/. Az oxidációs termékek között az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/ volt a főtermék, mely a 9-10, illetve a 9'-10'szénatomok közötti kettős kötések felhasadása folytán mintegy 20 %-os termeléssel képződött. A vegyület C_{27} -epoxi-aldehyd. A termék benzolos oldatának UV és látható spektrumában /7. ábra/ a λ_{max} -ok helye /465, 439, 416 nm/ 20-25 nm-rel rövidebb hullámhossz-értékeknél van, mint az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/

spektrumában. Ebből az következik, hogy termékünk molekulájában a karbonilcsoport a kromofor hét ket-tős kötésével van konjugációban. Az előállított vegyületet az aldehidcsoport jelenlétének igazolása céljából abszolút éteres oldatban LiAlH_4 -del redukáltuk. A vegyület aldehid-természetét a redukció során nyert anyag benzolos oldatának UV és látható spektruma bizonyítja; λ_{max} : 431 nm 405 nm 383 nm. A spektrum 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol-ra /XIV/ jellemző /7. ábra/.

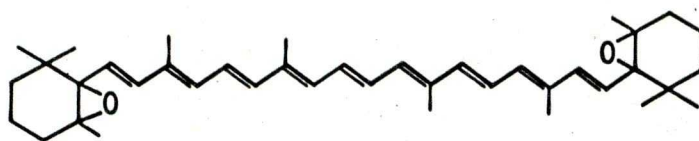


7. ábra

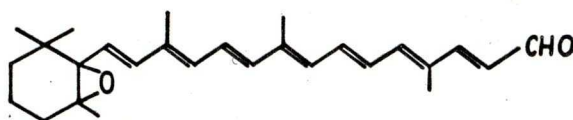
5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII; —/, 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol /XIV;/, és 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV; -.-.-/ UV és látható spektruma benzolban

Az epoxicsoport jelenlétének igazolására elvégeztük a vegyület kis mennyiségű benzolos oldatával a furanoid-reakciót. A reakció során nyert termék benzolos oldatának UV és látható spektruma 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/ képződésére utal; $\lambda_{\max.}$: 437 nm 416 nm /7. ábra/.

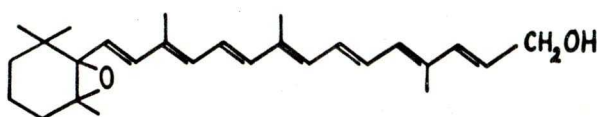
A β -karotin-diepoxid /XII/ oxidációs termékei között az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/ mellett kis mennyiségben megjelent az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/ is, melynek keletkezését a β -karotin-monoepoxid /II/ oxidációs termékeinek vizsgálatakor is megfigyeltük. A vegyület C_{25} -epoxi-aldehid, melynek petroléteres és benzolos oldatában mért $\lambda_{\max.}$ -ait, valamint a molekulában lévő aldehid- és epoxicsoport igazolása céljából előáallított termékek $\lambda_{\max.}$ -ait az I. táblázat /12. oldal/ tartalmazza. Ezen oxidációs termék a 11-12, illetve a 11'-12' szénatomok közötti kettős kötések oxidációja folytán képződött a β -karotin-diepoxidból /XII/.



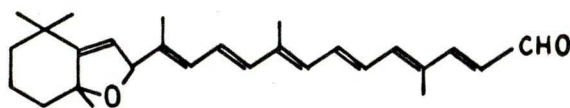
XII.



XIII.



XIV.



XV.

c./ Mutatokróm /5,8-epoxi-5,8-dihidro- β,β -karotin;
XVI/ oxidatív lebontásának vizsgálata

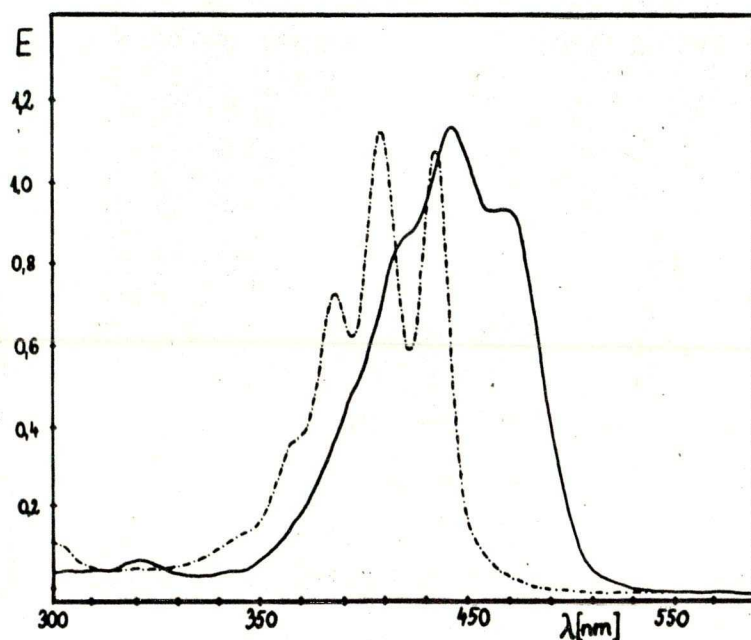
A mutatokróm /XVI; op.: 134 °C/ szemimikro méretben történő oxidációját is a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontásánál alkalmazott kísérleti körülmények között végeztük. A reakcióelegy petroléteres oldatát

CaCO_3 -os oszlopon kromatografáltuk. A kromatogramon a maradék mutatokrómnak /XVI/ megfelelő zónán kívül három egymástól jól elkülöníthető zónát figyeltünk meg.

A lebontás fő terméke az 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V/ volt, mely a mutatokróm /XVI/ 7'-8' szénatomjai közötti kettős kötés oxidációja révén keletkezett. A vegyület az oxidáció során nyert összes festék mennyiségének 30-35 %-át alkotta. A mutatokróm /XVI/ tehát főként ugyanazon kettős kötések mentén oxidálódott, mint a β -karotin-monoepoxid /II/. A főtermék benzolos oldatának UV és látható spektrumában /8. ábra/ megfigyelhető, hogy a vegyület $\lambda_{\text{max-ai}}$ - 464 nm 441 nm /415/ nm - meg-
egyeznek a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontásakor főtermékként izolált 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/ furanoid reakciója során keletkezett termék /V/ abszorpciós maximumaival /1. ábra; I. táblázat/.

A mutatokróm /XVI/ fő oxidációs termékének aldehid-természetét LiAlH_4 -es redukcióval igazoltuk. A redukció során nyert anyag benzolos oldatban felvett UV és látható spektrumának $\lambda_{\text{max-ai}}$ /8. ábra/ - 432 nm 405 nm 384 nm - az 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -

-karotin-8'-ol /XVII/ szerkezetre utalnak.



8. ábra

5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V; —/ és 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-ol /XVII; -.-.-/ UV és látható spektruma benzolban

A mutatokróm /XVI/ oxidációja során a főtermék mellett 15-20 %-ban 10-apo- β -karotin-10-al /X/ és kis mennyiségben 12-apo- β -karotin-12-al /XI/ is keletkezett, mely vegyületek képződését a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontásakor is megfigyeltük. Ezen lebontási termékek, valamint redukált származékaik

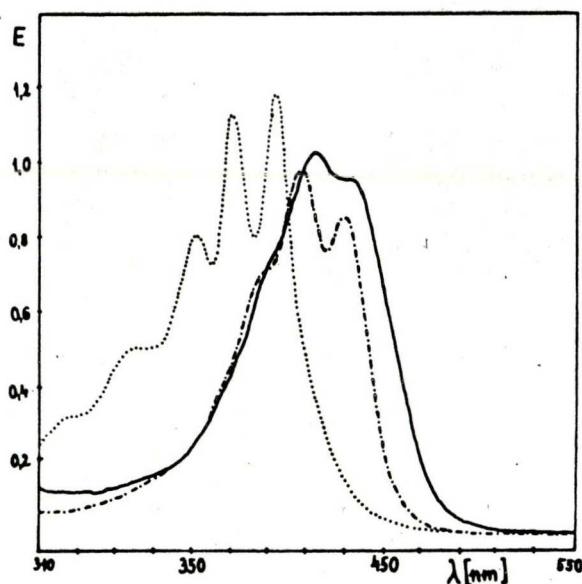
jellemző $\lambda_{\max}$ -ait az I. táblázat foglalja össze /12. oldal/.

d./ Aurokróm /5,8:5',8'-diepoxi-5,8,5',8'-tetrahidro- β,β -karotin; XVIII/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Az aurokróm szomimikro módotban történő oxidációját is a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontására kidolgozott kísérleti körülmények között végeztük. A reakcióelegy petroléteres oldatát CaCO_3 -os oszlopon kromatografáltuk. A kromatogramon a maradék aurokrómnak /XVIII/ megfelelő zónán kívül egy főzónát láttunk, melyet azonosítottunk.

Az aurokróm /XVIII/ oxidációjakor a C_{27} -es 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/ keletkezett főtermékként kb. 20 %-os termeléssel. Az aurokróm /XVIII/ molekulájában az oxidálószer a 9-10, illetve a 9'-10' szénatomok közötti kettős kötések mentén támadt, tehát ugyanazon helyeken, mint a β -karotin-diepoxidban./XII/. A termék benzolos oldatának UV és látható spektrumában /9. ábra/ a $\lambda_{\max}$ -ok - 437 nm 416 nm - megegyeztek a β -karotin-diepoxid /XII/ fő lebontási terméke, az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-

-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/ furanoid-reakciója során kapott 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/ benzolos oldatának $\lambda_{\max}$ -aival /26. és 27. oldal/.



9. ábra

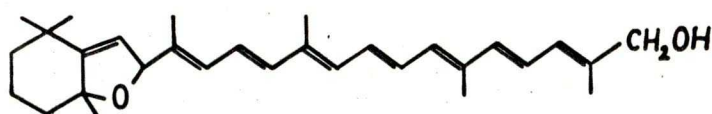
5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/ benzolos /—/ és petroléteres /-.-.-/ oldatának, valamint az 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol /XIX/ petroléteres oldatának /...../ UV és látható spektruma

Az aurokróm /XVIII/ fő lebontási termékének molekulájában az aldehidcsoport jelenlétét LiAlH_4 -es redukcióval igazoltuk. A redukció során nyert vegyület

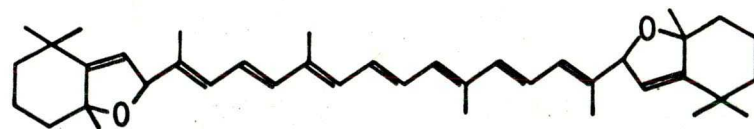
petroléteres oldatának λ_{max} -ait - 394 nm 372 nm 352 nm - összehasonlítva a kiindulási 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al-ra /XV/ petroléteres oldatban jellemző λ_{max} -okkal - 429 nm 407 nm //387// nm -, megállapítottuk, hogy azok az 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol-nak /XIX/ felenek meg.



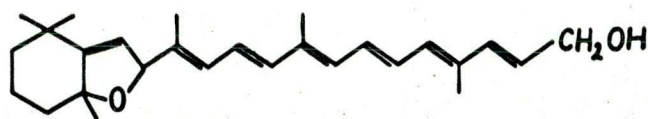
XVI.



XVII.



XVIII.



XIX.

e./ Az α -karotin-epoxid /5,6-epoxi-5,6-dihidro- β , ϵ -karotin; XXI/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Az α -karotin-epoxid /XXI/ szemimikro méretű oxidatív lebontását a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontásánál alkalmazott kísérleti körülmények között végeztük.

A reakció megszakítása és a reakcióelegy feldolgozása után annak petroléteres oldatát CaCO_3 -os oszlopon kromatografáltuk. A kromatogramon a maradék α -karotin-epoxidnak /XXI/ megfelelő zónán kívül négy egymástól jól elkülöníthető zónát figyeltünk meg, melyeket azonosítottunk.

Az oxidáció során mind az α -oldalról, mind az epoxi-csoportot tartalmazó oldalról jó termelődéssel képződtek lebontási termékek. Az epoxi-csoportot tartalmazó oldalról 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/ és 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/ keletkezett. Mennyiségük az oxidáció után jelenlévő festék össz-mennyiségére vonatkoztatva kb. 10, illetve 15 %. Ugyanezen termékek képződését figyeltük meg a β -karotin-diepoxid /XII/ lebontásakor. A vegyületek C_{27} - és C_{25} -epoxi-aldehidek, melyek a molekula 9'-10', illetve 11'-12' szén-atomjai közötti kettős kötések oxidatív felhasadása folytán jöttek létre. Az α -oldalról 10-apo- α -karotin-

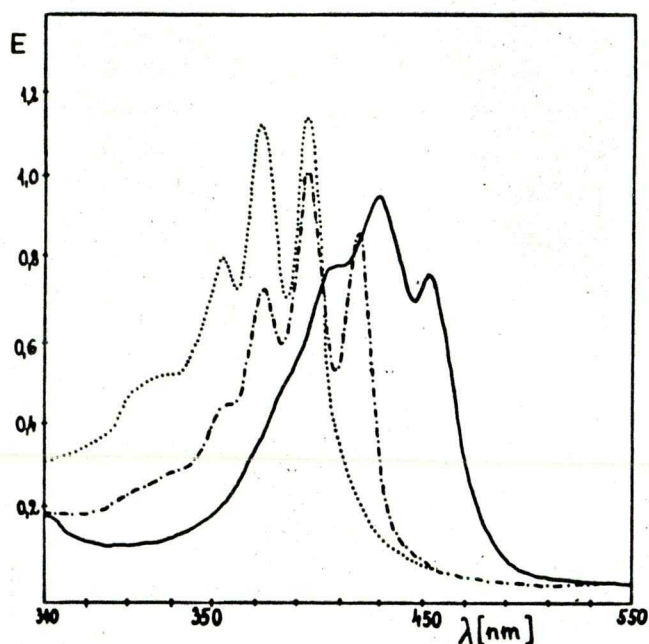
-10-al /XXIII/ és 12-apo- α -karotin-12-al /XXIV/ képződött a molekula 9-10, illetve 11-12 szénatomjai közötti kettős kötések mentén történt oxidáció folytán. Ezen α -apo-karotinalok az epoxi-aldehidekhez képest nagyobb mennyiségben, kb. 30-30 %-os termeléssel keletkeztek.

Az egyes oxidációs termékek azonosítása során először a vegyületek aldehid-természetét igazoltuk LiAlH_4 -es redukcióval. Ezután elvégeztük a nyert alkoholok furanoid-reakcióját, melynek segítségével meg tudtuk különböztetni az α -karotin-epoxid /XXI/ - molekula α -végéről, illetve az epoxicsoportot tartalmazó végéről kapott lebontási termékeket. Az α -végről kapott termékek ugyanis nem furanoidizáltak. Az egyes lebontási termékek, a belőlük LiAlH_4 -es redukcióval nyert alkoholok, majd azok furanoid-reakciója során képződött termékek petroléteres oldatban mért λ_{max} -ait a IV. táblázat foglalja össze.

Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/, valamint a termék azonosítása céljából előállított vegyületek UV és látható spektrumát petroléteres oldatban a 10. ábra mutatja.

IV. táblázat

Lebontási termékek	$\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}/$								
	Benzolban			LiAlH ₄ -es redukció után petroléterben			LiAlH ₄ -es redukció és furanoid-reakció után petroléterben		
5,6-epoxi-5,6-dihid- ro-10'-apo- β -karotin- -10'-al /XIII/	454	428	/408/	420	395	374	395	373	354
5,6-epoxi-5,6-dihid- ro-12'-apo- β -karotin- -12'-al /VII/	427	404	/385/	393	372	353	365	346	329
10-apo- α -karotin- 10-al /XXII/	456	430	/408/	420	395	374	420	395	374
12-apo- α -karotin- 12-al /XXIV/	427	405	/382/	392	370	353	392	370	353

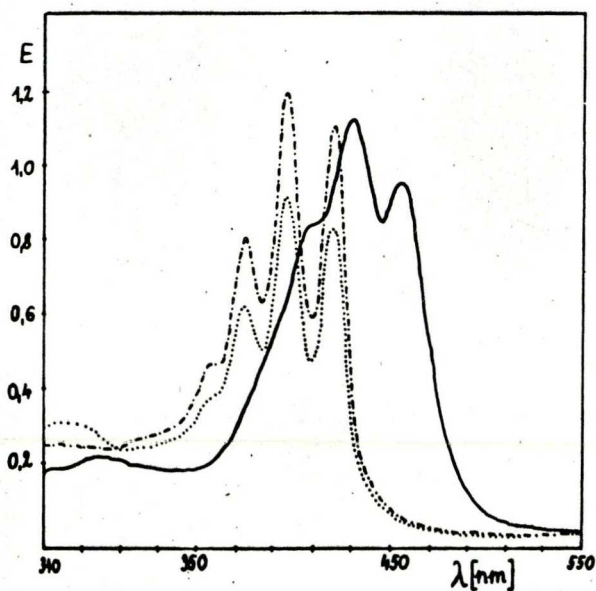


10. ábra

5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII; —/, 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol /XIV; -.-.-/ és 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-ol /XXV;...../

UV és látható spektruma petroléterben

A 10-apo- α -karotin-10-al /XXII/, a vegyület redukciós terméke, valamint annak furanoid-reakciója után a változatlan redukciós termék UV és látható spektrumát a 11. ábra szemlélteti.

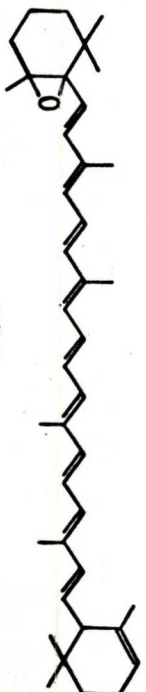


11. ábra

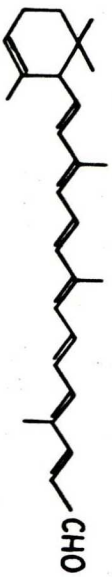
10-apo- α -karotin-10-al /XXII; —/, 10-apo- α -
-karotin-10-ol /XXIII; -.-.-/ és a furanoid-
-reakció utáni változatlan redukciós termék /.../
abszorpció spektruma petroléterben



XX.



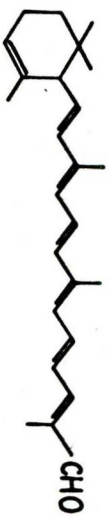
XXI.



XXII.



XXIII.



XXIV.



XXV.

2./ A módszer alkalmazása természetben előforduló
epoxi-apo-karotinalok előállítására és szerke-
zetük meghatározására

a./ A természetes violaxantin /5,6:5',6'-diepoxi-
-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin-3,3'-diol;
XXVI/ oxidatív lebontása szemimikro méretben

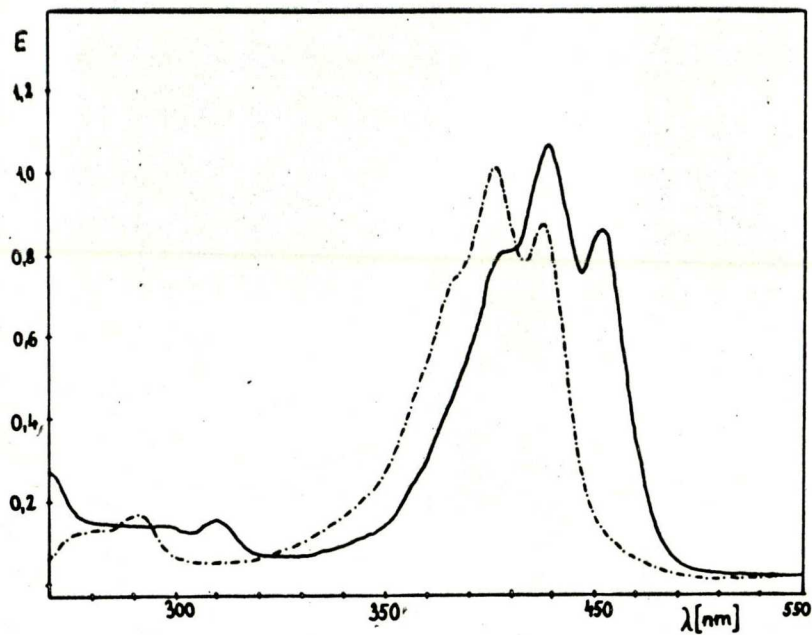
A kísérlethez felhasznált violaxantint /XXVI; ex. *Viola tricolor*; ex. *Ranunculus acer*; [12, 13, 14]/ a lebontás előtt acetiláltuk. A folyamatot sikerült úgy vezetnünk, hogy közben a violaxantin nem furanoidizált [24].

A violaxantin-diacetát /XXVII/ szemimikro méretű oxidációját a β -karotin-monoepoxid /II/ lebontására kidolgozott kísérleti körülmények között végeztük. A reakció megszakítása után a reakcióelegyet feldolgoztuk, majd elhidrolizáltuk [15]. Hidrolizis előtt ugyanis nem sikerült a termékek acetátjait oszlop-kromatográfiával tiszta állapotban elkülönítenünk. A hidrolizis befejezése után a lebontási termékeket CaCO_3 oszlopon választottuk szét. A kromatogramon a maradék violaxantinnak megfelelő zónán kívül két egymástól jól elkülöníthető zónát nyertünk, melyeket azonosítottunk.

A violaxantin-diacetát /XXVII/ lebontásakor 15-20 %-os termeléssel apo-10'-violaxantal /3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al; XXVIII/, valamint 30-40 %-os termeléssel apo-12'-violaxantal /3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al; XXXI/ keletkezett. Míg az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ a violaxantin /XXVI/ 9-10 és 9'-10' szénatomjai közötti kettős kötések oxidatív felhasadása folytán jött létre, addig az apo-12'-violaxantal /XXXI/ a 11-12 és a 11'-12' szénatomok közötti kettős kötések oxidációjának eredményeként képződött. A vegyületek C₂₇- és C₂₅-epoxi-aldehidek hidroxiszármazékai. Petroléteres oldatban felvett UV és látható spektrumukat a 12. ábra mutatja.

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és az apo-12'-violaxantal /XXXI/ aldehid-természetét LiAlH₄-es redukcióval, epoxid-természetét furanoid-reakcióval igazoltuk. A hidroxicsoport jelenlétét a vegyületek hipofázikus viselkedése bizonyította. A violaxantin /XXVI/ lebontási termékeinek, az apo-10'-violaxantalnak /XXVIII/ és az apo-12'-violaxantalnak /XXXI/ petroléteres és benzolos oldatban mért $\lambda_{\max}$ -ait, valamint a szerkezetük igazolása céljából előállított megfelelő furanoidok és alkoholok benzolos oldatban mért $\lambda_{\max}$ -ait az V. táblázat foglalja össze. A benzolos oldat-

ban felvett UV és látható spektrumokat a 13. és 14. ábra szemlélteti.

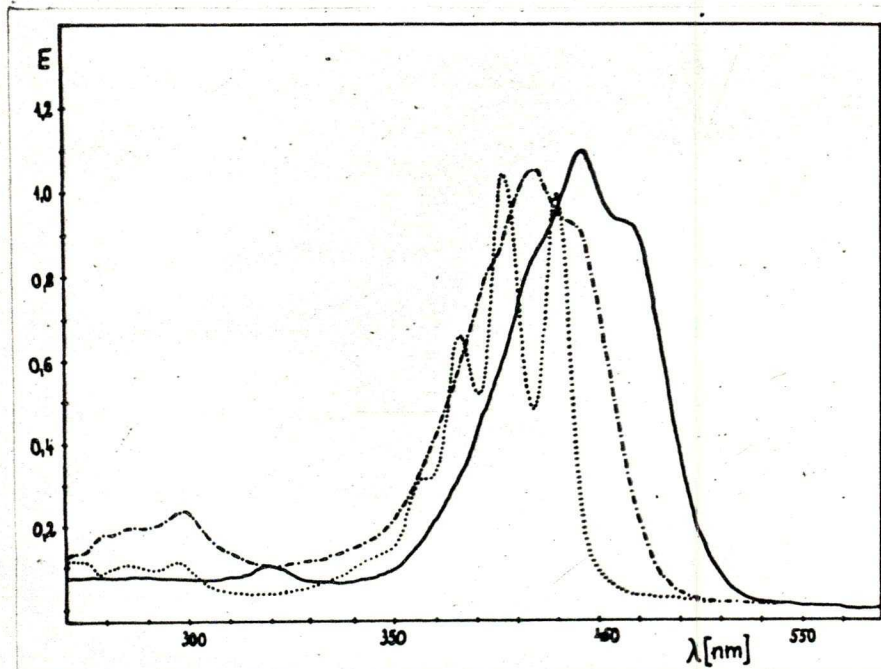


12. ábra

Apo-10'-violaxantal /XXVIII; —/ és apo-12'-violaxantal /XXXI; -.-.-/ UV és látható spektruma petroléterben

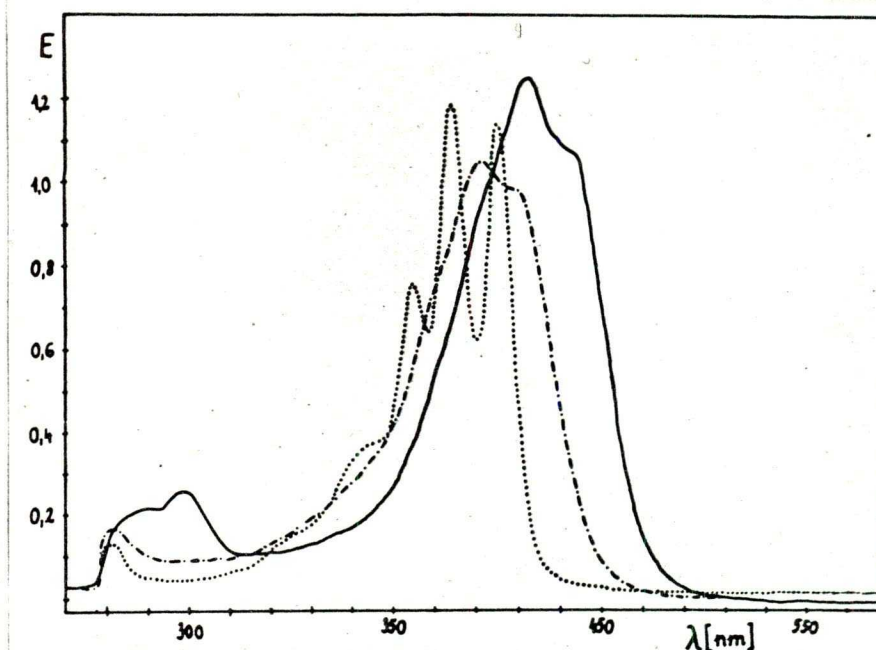
V. táblázat

Lebontási termékek	$\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}/$											
	Petroléterben			Benzolban		Furanoid-reak- ció után ben- zolban		LiAlH ₄ -es re- dukció után benzolban				
Apo-10'-viola- xantal /XXVIII/	453	427	405	/468/	442	/442/	419	430	404	382		
Apo-12'-viola- xantal /XXXI/	425	402	/380/	/440/	415	/412/	392	400	377	358		



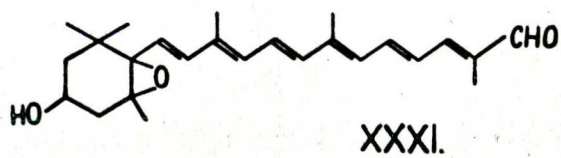
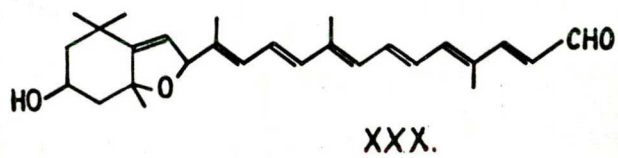
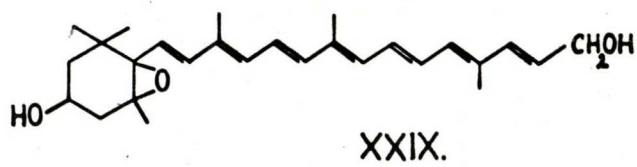
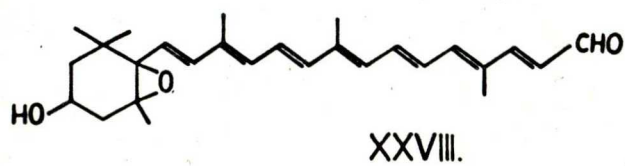
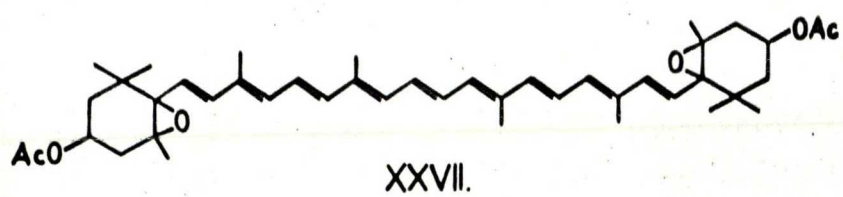
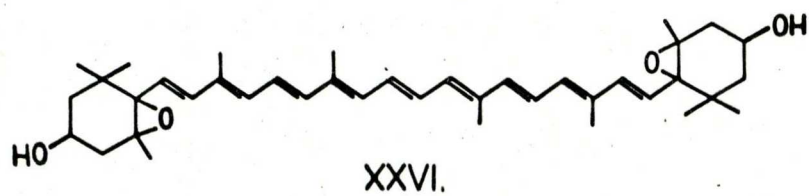
13. ábra

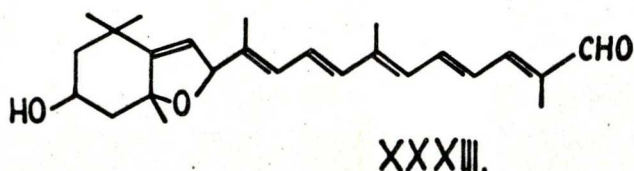
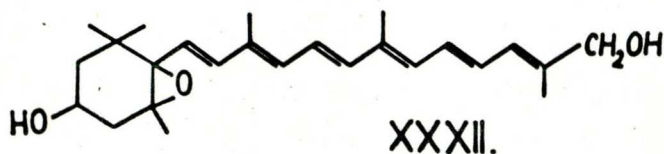
Apo-10'-violaxantal /XXVIII; —/, apo-10'-violaxantol /XXIX; / és 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo-β-karotin-10'-al /XXX; -.-./ UV és látható spektruma benzolban



14. ábra

Apo-12'-violaxantal /XXXI; —/, apo-12'-violaxantol /XXXII; / és 5,8-epoxi-5,8-dihidro-12'-apo-β-karotin-12'-al /XXXIII; -.-.-/ UV és látható spektruma benzolban





b./ Apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és apo-12'-violaxantal /XXXI/ előállítása violaxantin-diacetát /XXVII/ preparatív méretű oxidációjával

Az apo-10'-violaxantalt /XXVIII/ 1967-ben Curl [16] izolálta az ún. "valencia narancs" héjából. Az apo-12'-violaxantal mandarin héjából történő izolálása /1965/ is az ő nevéhez fűződik. [17] Az izolált vegyületeket Curl nem kristályosította, szerkezetüket UV és látható spektroszkópiai tulajdonságaik, valamint kémiai viselkedésük alapján csupán feltételezte.

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és az apo-12'-violaxantal /XXXI/ szerkezetének egyértelmű meghatározása céljából a vegyületek oldatában elvégzett, már tárgyalt azonosító vizsgálatokon kívül elvégeztük a violaxantin-diacetát /XXVII/ preparatív méretű oxidatív lebontását. A preparatív lebontás során az apo-10'-violaxantalt /XXVIII/, valamint az apo-12'-violaxantalt /XXXI/ kristályosan izoláltuk. A preparatív kísérletben a szemimikro méretű lebontásnál alkalmazott arányokat és körülményeket valósítottuk meg. 400 mg kromatográfiásan tiszta violaxantin-diacetátból /XXVII/ tiofénmentes benzollal $6,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l koncentrációjú törzsoldatot készítettünk. Az oldatot öt részletben oxidáltuk a benzosos oldat térfogatával azonos térfogatú lúgos kálium-permanganát oldattal. A nyert reakcióelegyek feldolgozása, az oldatok egyesítése után elvégeztük a hidrolizist. Az oszlopkromatogramok hasonlóak voltak a violaxantin-diacetát szemimikro méretű lebontásakor nyert kromatogramhoz. Kromatografálás után elsősorban az apo-10'-violaxantalnak /XXVIII/ megfelelő narancs-, valamint az apo-12'-violaxantalnak /XXXI/ megfelelő sárga zónát dolgoztuk fel. A feldolgozások során nyert oldatok kis részletével elvégeztük a termékek azonosításához szükséges vizsgálatokat. A preparatív méretű lebontás főtermékeinek, illetve származékainak

λ_{max} -ai megegyeztek a szemimikro méretű oxidáció főtermékeinek, illetve származékainak λ_{max} -aival. A preparatív lebontás és a szemimikro méretű lebontás főtermékeiből vett megfelelő minták keverékkromatogramjai egyetlen egységes zónát eredményeztek. Ez a tapasztalat igazolta, hogy az oxidáció preparatív méretekre történő kiterjesztésekor is apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és apo-12'-violaxantal /XXXI/ keletkezik főtermékként. A termékek 90 %-os vizes metanol és petroléter közötti megoszlatáskor hipofázikusan viselkedtek.

A lebontás főtermékeinek kromatográfiás feldolgozásakor nyert nagy térfogatú oldatokat bepároltuk, a nyert párlási maradékokat nyomnyi forró benzolban történő oldás után petroléterrel kicsaptuk. A kivált apo-10'-violaxantal /XXVIII/ mennyisége 11 mg; op.: 114-115 °C. Apo-12'-violaxantalból /XXXI/ 24 mg keletkezett; op.: 75-77 °C.

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és az apo-12'-violaxantal /XXXI/ molextinkció-értékeinek meghatározása céljából felvettük az anyagokból frissen készített ismert koncentrációjú n-hexános és benzolos oldatok UV és látható spektrumát /15. és 16. ábra/. Az egyes jellemző abszorpciós maximumokhoz tartozó molextink-

VI. táblázat

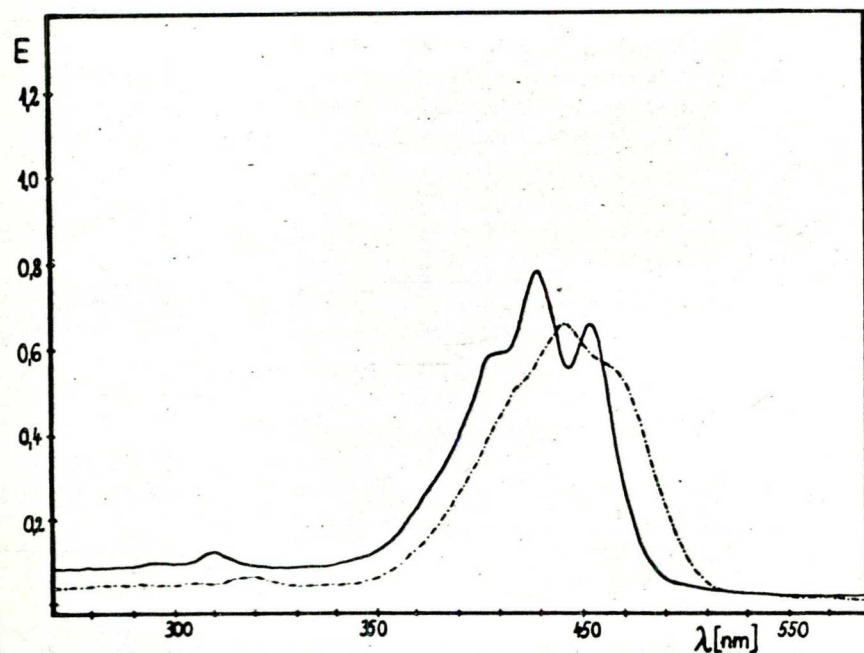
Lebontási termékek	n-Hexánban		Benzolban	
	$\lambda_{\max.}/\text{nm}/$	$\epsilon_{\max}$	$\lambda_{\max.}/\text{nm}/$	$\epsilon_{\max.}$
Apo-10'- -violaxantal /XXVIII/	454	64240	/468/	54730
	427	77300	442	65980
Apo-12'- -violaxantal /XXXI/	426	64020	/440/	45300
	403	74040	415	52900

Megjegyzés:

Az apo-12'-violaxantalra /XXXI/ nyert viszonylag alacsony értékek valószínűleg azzal magyarázhatók, hogy a vegyület oxigénre különösen érzékeny.

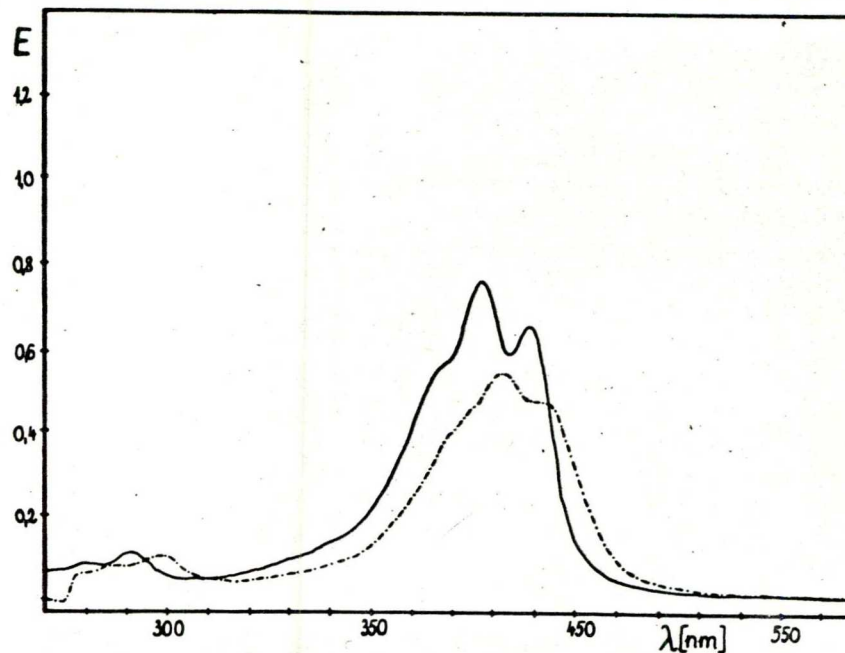
ciső értékeket / $\epsilon_{\max}$ / a VI. táblázat foglalja össze.





15. ábra

Az apo-10'-violaxantal /3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo-β-karotin-10'-al; XXVIII/ molextinkciós spektruma n-hexánban /—/ és benzolban /-.-.-/



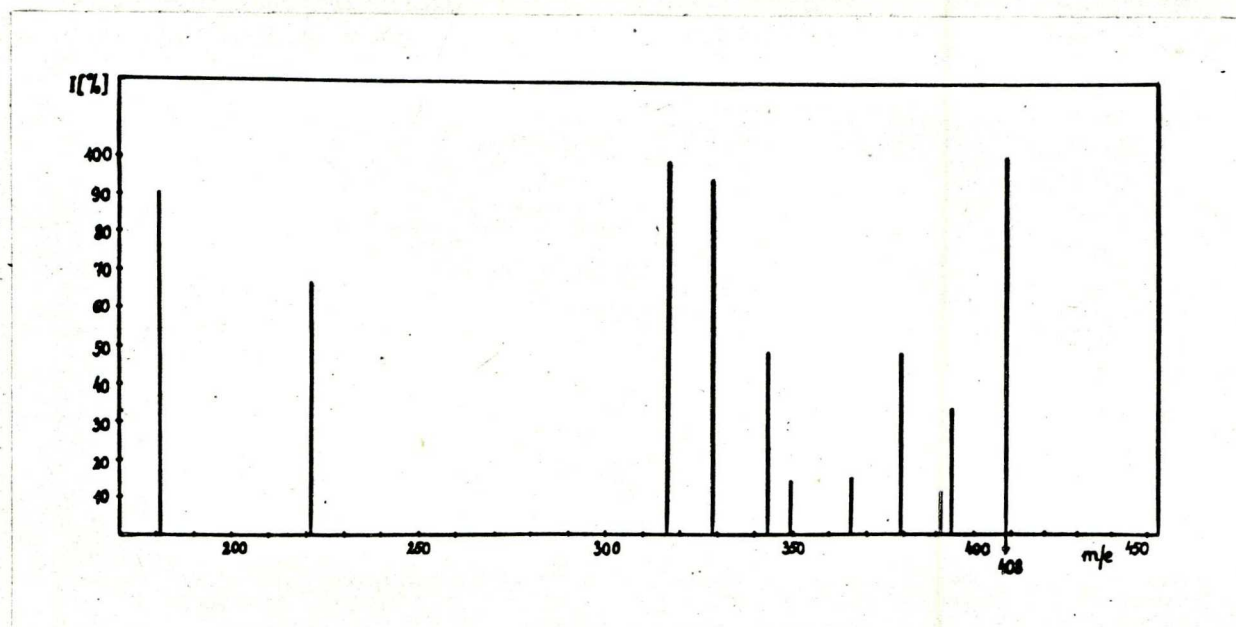
16. ábra

Az apo-12'-violaxantal /3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo-β-karotin-12'-al; XXXI/ molextinkciós spektruma n-hexánban /—/ és benzolban /-.-.-/

A preparált apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és apo-12'-violaxantal /XXXI/ szerkezetének igazolása céljából megvizsgáltuk az anyagok tömegspektrumát és IR-spektrumát. Az apo-12'-violaxantalból /XXXI/ NMR-spektrumot is készítettünk.

Az apo-10'-violaxantal tömegspektrumában az $m/e = 408$ /100 % M^+ / tömegszámú báziscsúcs a molekulaionnak felel meg. Az $m/e = 379$ /48 % M-29/ tömegszámú fragmentum az aldehidcsoport, az $m/e = 328$ /94 % M-80/, az $m/e = 221$ /66 % M-187/, valamint az $m/e = 181$ /90 % M-227/ tömegszámú fragmentumok az epoxicsoport jelenlétét igazolják. Az allil-helyzetű geminális metilcsoportok jelenlétére utal az $m/e = 393$ /34 % M-15/ tömegszámú csúcs. Az $m/e = 390$ /12 % M-18/-es csúcs az eltávozó víznek, az $m/e = 316$ /98,5 % M-92/-os a poliénlánc fragmentációja révén keletkező toluolnak felel meg [10, 11].

A tömegspektrum segítségével meghatározott molekulasúly 408, mely megfelel az apo-10'-violaxantal /3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al; XVIII/ összegképletének: $C_{27}H_{36}O_3$.

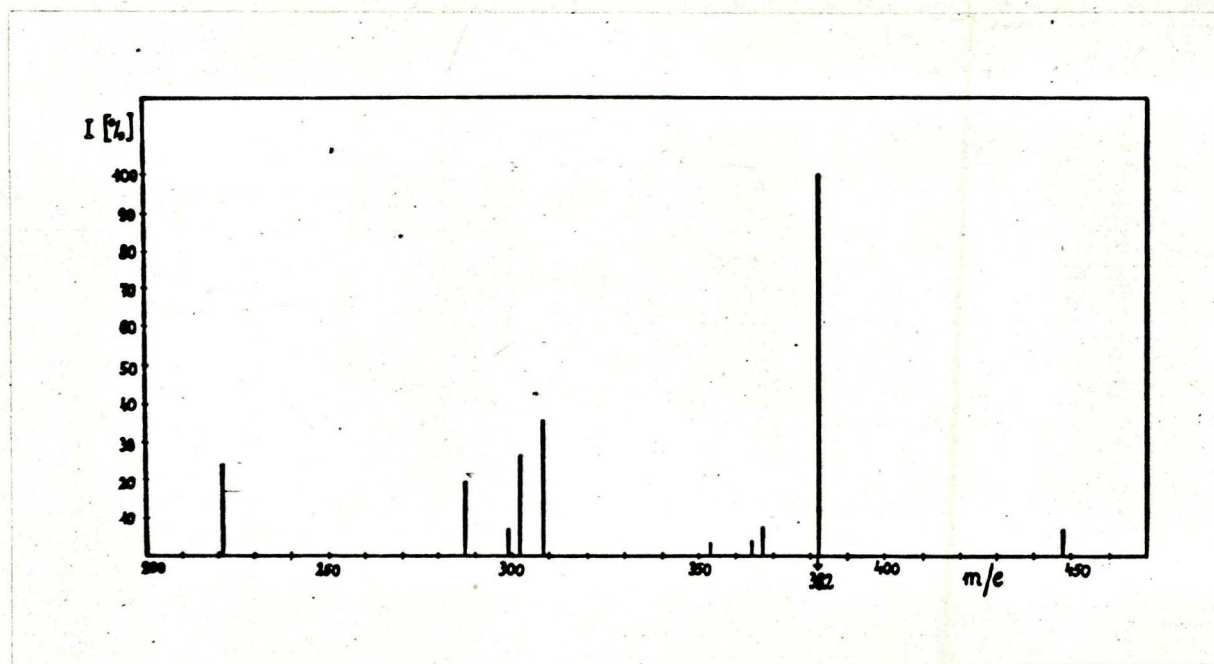


17. ábra

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ tömegspektruma

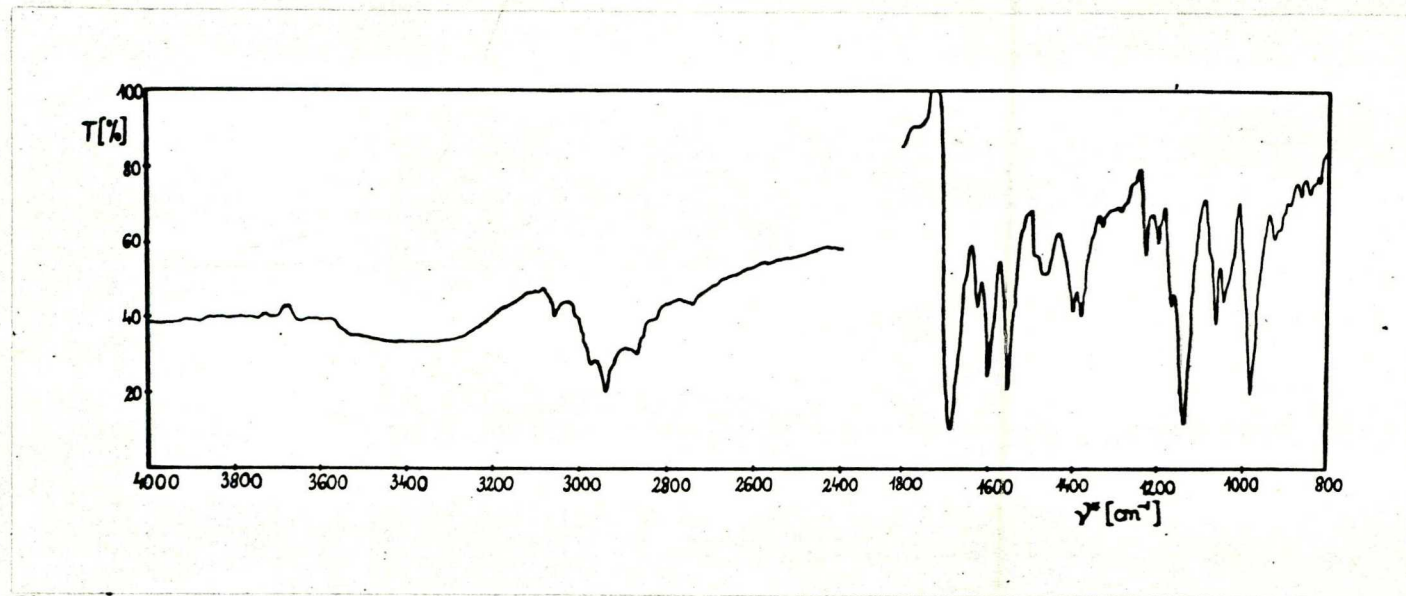
Az apo-12'-violaxantal tömegspektrumában /18. ábra/ az $m/e = 382$ /100 % M^+ / tömegszámú csúcs a bázis-csúcs, mely a molekulaiontól származik. Az $m/e = 367$ /7,5 % $M-15$ /-es csúcs a geminális metilcsoportok, az $m/e = 364$ /3,5 % $M-18$ /-es pedig a víz elvesztésére utal. A láncvégi aldehidcsoport jelenlétét magyarázza az $m/e = 353$ /3 % $M-29$ / tömegszámú csúcs. Az $m/e = 302$ /26 % $M-80$ /, valamint $m/e = 221$ /23,5 % $M-161$ / tömegszámú fragmentumok az epoxicsoprot jelenlétét igazolják szabatosan. Az $m/e = 299$ /6,5 % $M-83$ / illetve $m/e = 287$ /19,5 % $M-95$ / tömegszámhoz tartozó csúcsok a poliénláncból keletkező fragmentumoktól származnak /10, 11/. A tömegspektrum alapján meghatározott molekulasúly 382, mely a $C_{25}H_{34}O_3$ összegképletnek felel meg.

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ KBr pasztillában felvett IR-spektrumában /19. ábra/ $\nu_{\max}^* = 1685 \text{ cm}^{-1}$ hullámszámértéknél észlelt intenzív elnyelési sáv a poliénlánc kettőskötés-rendszerével konjugációban lévő aldehidcsoportra, a $\nu_{\max}^* = 3400 \text{ cm}^{-1}$ -nél jelentkező sáv a molekulában lévő hidroxicsoportra jellemző.



18. ábra

Az apo-12'-violaxantal /XXXI/ tömegspektruma



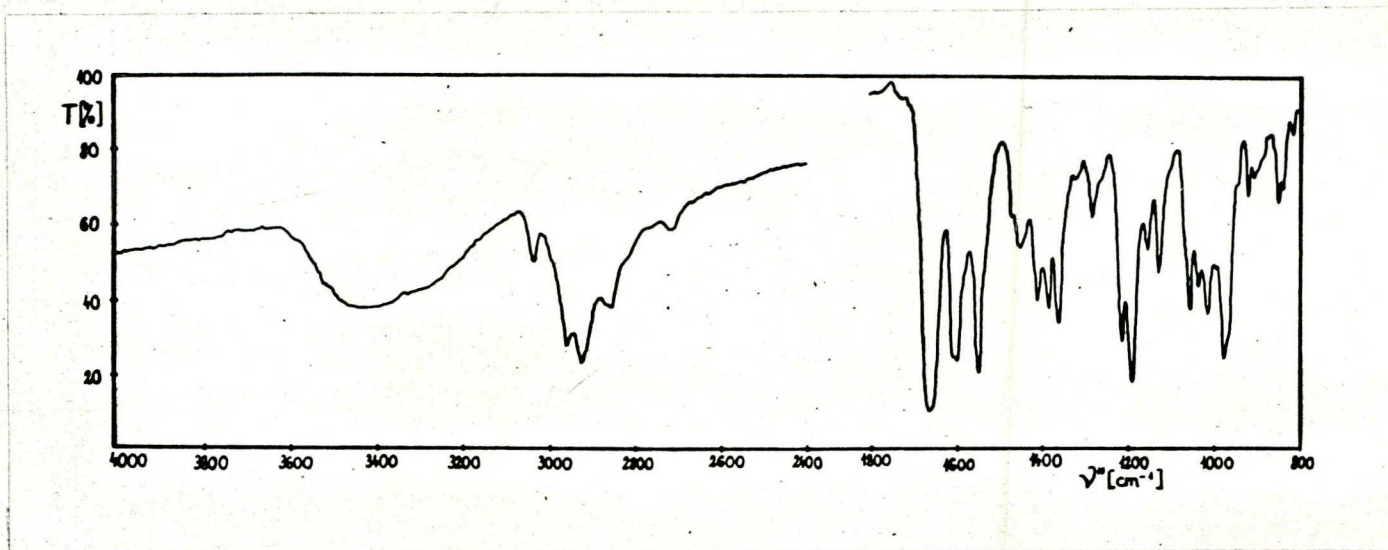
19. ábra

Az apo-10'-violaxantal /XXVIII/ IR-spektruma

Az apo-12'-violaxantal IR-spektrumában /20. ábra/ a $\nu_{\text{max.}}^* = 1665 \text{ cm}^{-1}$ -nél jelentkező sáv, a konjugált aldehidcsoport, a $\nu_{\text{max.}}^* = 3430 \text{ cm}^{-1}$ -nél észlelt sáv a hidroxicsoport jelenlétét igazolja.

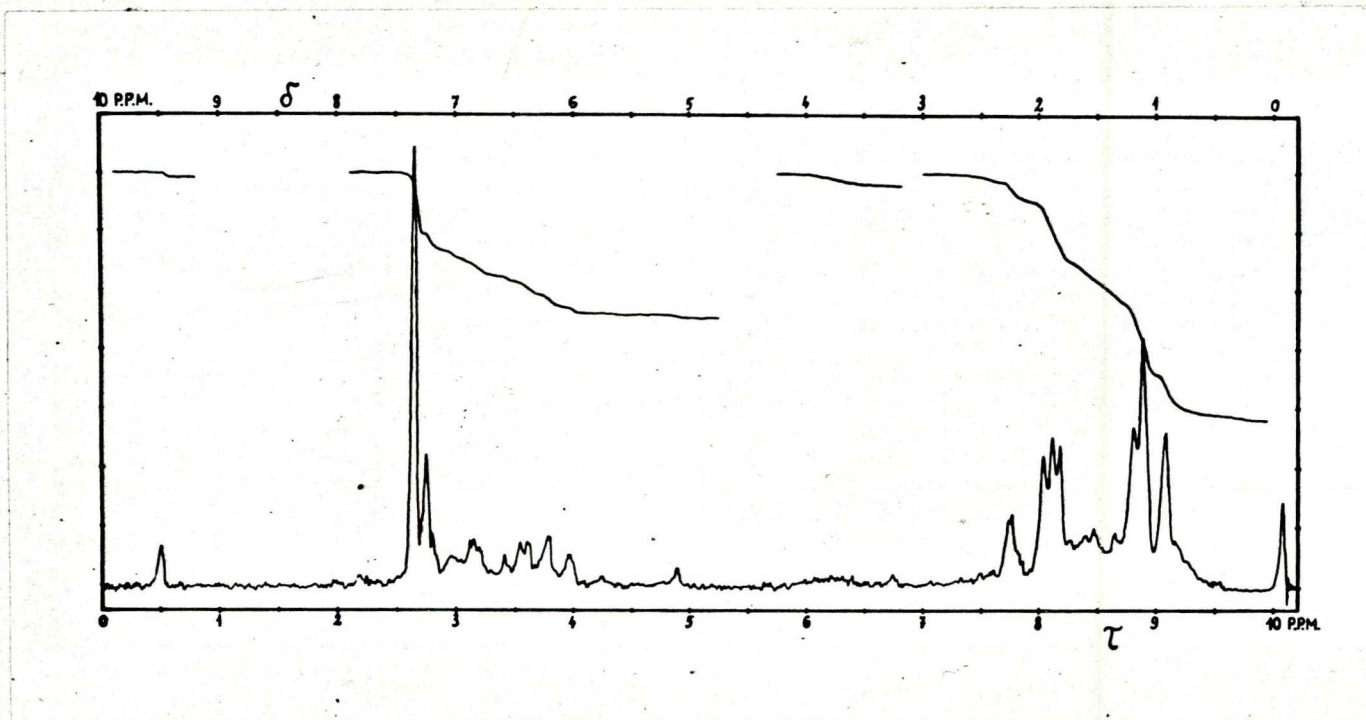
A preparált apo-12'-violaxantal /XXXI/ deuterált kloroformos oldatban felvett NMR-spektruma /21. ábra/ alapján megállapítottuk a vegyület különböző helyzetű metilcsoportjainak protonjaira, valamint az aldehidcsoport protonjára jellemző kémiai eltolódás δ -értékeket, melyeket a VII. táblázatban foglatunk össze. A táblázatban összehasonlítás céljából feltüntettük a violaxantin /XXVI/ metilcsoportjainak δ -értékeit is [24].

A violaxantin-diacetát /XXVII/ fő lebontási termékeinek az apo-10'-violaxantalnak /XXVIII/ és az apo-12'-violaxantalnak /XXXI/ oldatban elvégzett azonosító vizsgálatainak során, valamint a kristályos anyagot igénylő műszeres vizsgálatok során nyert eredmények egyértelműen igazolják a vegyületek 3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XXVIII/, illetve 3-hidroxi-5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /XXXI/ szerkezetét.



20. ábra

Az apo-12'-violaxantal /XXXI/ IR-spektruma



21. ábra

Az apo-12'-violaxantal /XXXI/ NMR-spektruma

VII. táblázat

Vegyület	Metilcsoportok							Alde- hid cso- port
	C - 1		C-5	C-9	C-13	C-13'	C-9'	
Violaxantin /XXVI/	0,95 0,95 [⌘]	1,12 1,12 [⌘]	1,16 1,16 ^{⌘⌘}	1,89	1,92	1,92	1,89	-
Apo-12'-viola- xantal /XXXI/	0,99	1,21	1,26	1,90	2,04	1,96	-	9,56

⌘ C - 1'

⌘⌘ C - 5'

Megjegyzés:

Az apo-12'-violaxantatra /XXXI/ nyert δ -értékek csak tájékoztató jellegűek, mert a spektrum kiértékelését megnehezítette a TMS-standard jelének 0,08-os eltolódása /21. ábra/.

A jelenség valószínűleg a vegyület rendkívüli érzékenységének következménye. A deutero-kloroformos oldatban ugyanis a gyors autooxidáció miatt szintelen uszadék megjelenését észleltük.

3./ Az oxidatív lebontás alkalmazása természetben előforduló monocisz karotinoid-epoxidok térszerkezetének meghatározására

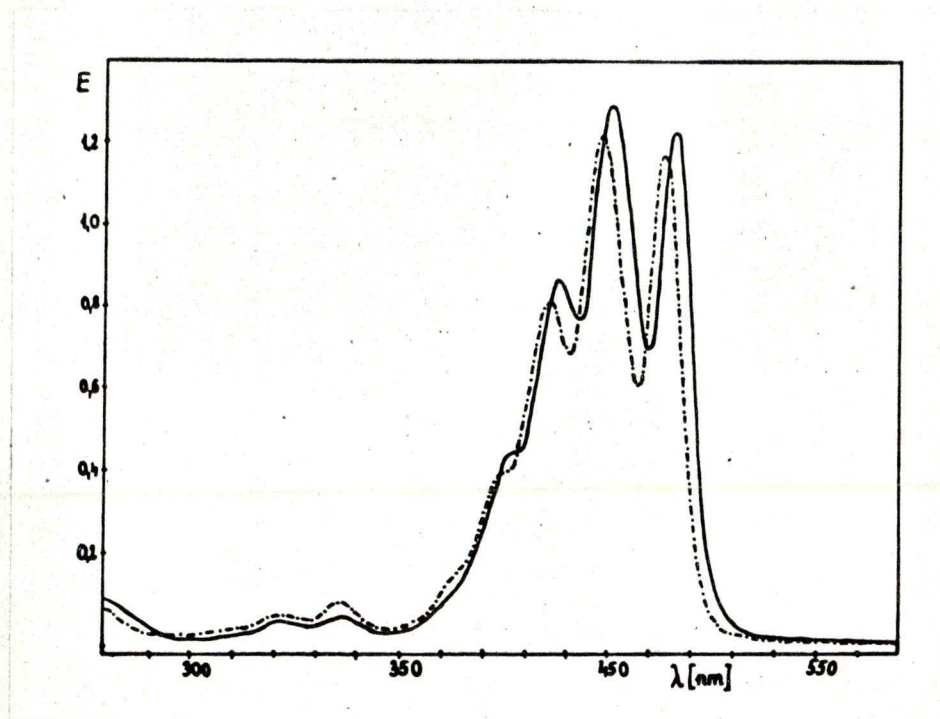
A karotinoidok poliénláncának cisz-transz izomériájával korábban főként Zechmeister és munkatársai foglalkoztak. A cisz-karotinoidok és karotinoid-epoxidok szerkezetvizsgálata hosszú ideig kizárólag kísérleti megfigyeléseiken, valamint eredményeik irodalmi összefoglalásán [18] alapult. Ujabban a 220 MHz-os NMR-spektroszkópia és a ^{13}C -NMR-spektroszkópia nyitott lehetőséget a poliénlánc olefin-protonjainak vizsgálatára [19, 20, 21].

A karotinoid-epoxidokra és -furanoid-oxidokra kidolgozott kiméletes kálium-permanganátos lebontás segítségével exakt módon, tisztán kémiai úton határozható meg a kromoforban lévő cisz kettős kötés helye. A monocisz karotinoidok, illetve karotinoid-epoxidok lebontási termékeinek térszerkezetéből vissza lehet következtetni a vizsgált vegyületek térszerkezetére, a cisz kettős kötés helyére. A módszer alkalmazhatóságát az a kísérleti tapasztalat adja, hogy a vizsgált monocisz karotinoid-epoxidok, valamint monocisz és össz-transz lebontási termékeik sem az oxidáció, sem az azt követő gyors feldol-

gozás körülményei között nem izomerizálódnak számottevő mértékben. A módszer nagy előnye, hogy az oxidatív lebontást 5-10 mg anyaggal végezve a kulcsfontosságú termékek olyan mennyiségben képződnek, hogy oldatban teljes biztonsággal azonosíthatók.

a./ A természetes violeoxantin térszerkezetének meghatározása

A violeoxantin /30. ábra/ a *Viola tricolor* /árvácska/ sárga szirmából nyert fitoxantinok egy fő komponense. A violeoxantin mellett ezen fitoxantinokból violaxantin /XXVI/ is nyerhető, melynek adszorpció affinitása kisebb, olvadáspontja /op.: 200 °C/ magasabb, mint a violeoxantiné /op.: 112 °C/. A violeoxantin izomerizációjával /jód/ össz-transz vegyület a violaxantin, a violaxantin izomerizációjával violeoxantin állítható elő [18, 22]. A fenti eredmények igazolják, hogy a violeoxantin cisz violaxantin. A két vegyület UV és látható spektrumának összehasonlításakor megállapítható, hogy a violaxantinra benzolos oldatban jellemző λ_{max} -ok /477, 447 és 421 nm/ a violaxantin λ_{max} -értékeinél /482, 452 és 426 nm/ 4-5 nm-rel alacsonyabbak. A violeoxantin spektrumában van cisz-csúcs, melynek intenzitása kicsi /22. ábra/.



22. ábra

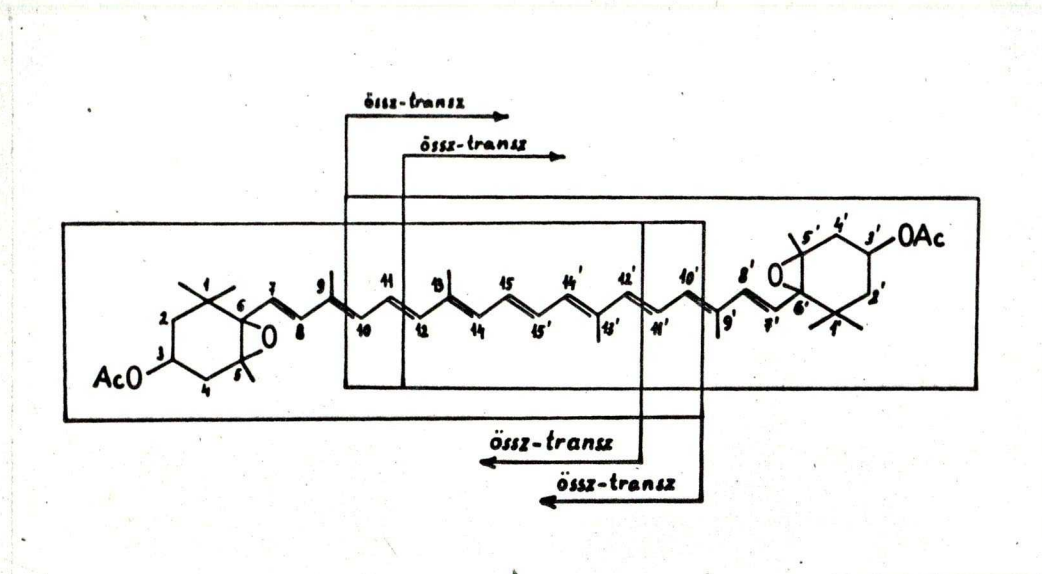
Violaxantin /—/ és violexantin /-.-.-/

UV és látható spektruma benzolban

Ezen spektroszkópiai tulajdonságok arra utalnak, hogy a violexantin kromoforjában a cisz kettős kötés periferiálisan helyezkedik el [18]. A 7-8 és 11-12 szénatomok közötti kettős kötések szterikus gátoltsága [23] miatt a cisz kettős kötés helye valószínűleg a 9-10 szénatomok között van.

A természetes violexantinból előállított violexantin-diacetát lúgos kálium-permanganáttal történő

lebontásával sikerült egyértelműen meghatározni a violeoxantin kromoforjában lévő cisz kettős kötés helyét. Kisérletünk alapgondolata az a feltételezés volt, hogy a violeoxantin-diacetát ugyanazon kettős kötések mentén oxidálódik, mint a violaxantin-diacetát, azaz a 9-10 és 11-12, valamint a 9'-10' és 11'-12' szénatomok között /23.ábra/.



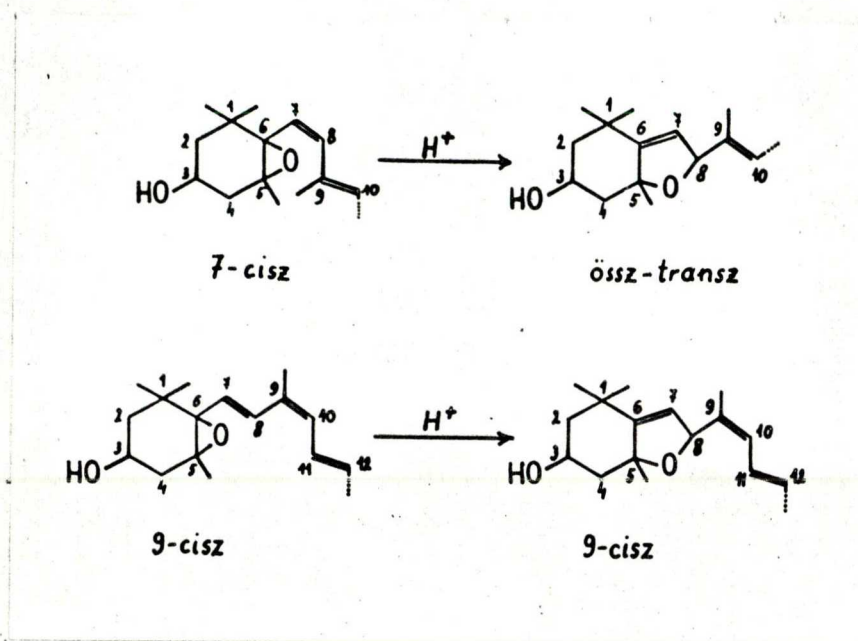
23. ábra

A violaxantin-diacetát lebontása össz-transz apo-10'-violaxantalt /C₂₇-epoxi-aldehid/ és össz-transz apo-12'-violaxantalt /C₂₅-epoxi-aldehid/ eredményezett, egyértelműen igazolja a violaxantin össz-transz térszerkezetét.

Amennyiben a violeoxantin-diacetát oxidációjára vonatkozó feltételezésünk helyes, úgy a lebontási termékek térszerkezetéből, valamint a különböző térszerkezetű termékek számából következtetni lehet a cisz kettős kötés helyére. A violaxantin kromoforjában a cisz kettős kötés elhelyezősére - figyelembe véve a gátolt helyzeteket /7; 11/ is - öt lehetőség van. Ezen lehetőségekhez tartozó lebontási termékek térszerkezetét és számát a VIII. táblázat foglalja össze. A táblázatból látható, hogy a cisz kettős kötés 11-es, 13-as és 15-ös helyét a képződő lebontási termékek száma egyértelműen meghatározza. Látható az is, hogy a 7-es és 9-es helyzet között a keletkező össz-transz és monocisz lebontási termékek száma alapján nem tudunk különbséget tenni. Sikerül különbséget tenni azonban a nyert lebontási termékek furanoid-reakciója alapján. Ha a cisz kettős kötés a 7-8 szénatomok között van, akkor a nyert monocisz lebontási termékek furanoid-reakciója során valószínűleg össz-transz vegyületekhez jutunk. Ha azonban a 9-10 szénatomok közötti kettős kötés cisz, úgy a nyert monocisz lebontási termékek furanoid-oxidjai is monociszek /24. ábra/.

VIII. táblázat

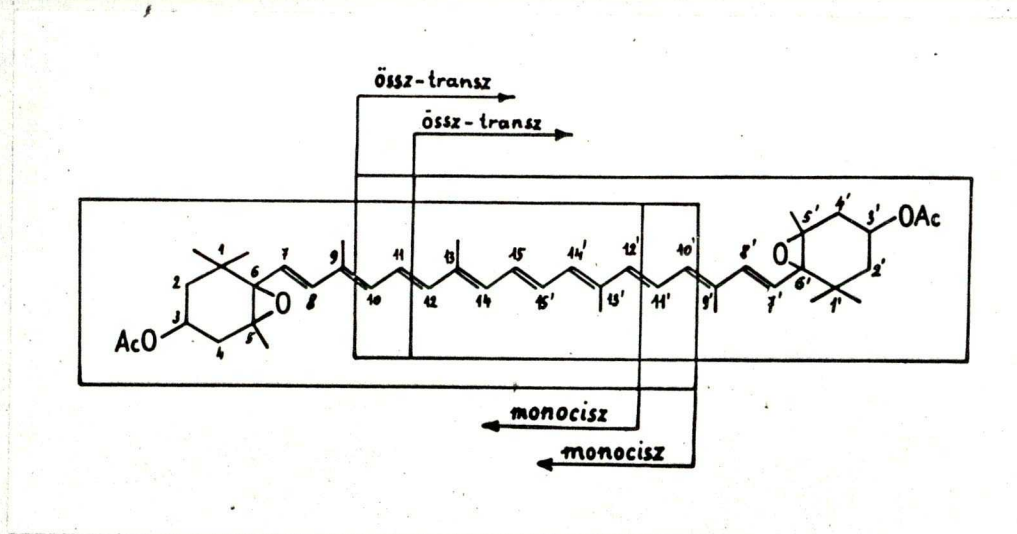
A violeoxan- tin cisz ket- tős kötésének lehetséges helye	3-hidroxi-5,6- -epoxi-5,6-di- hidro-10'-apo- - β -karotin- -10'-al	3-hidroxi-5,6- -epoxi-5,6-di- hidro-12'-apo- - β -karotin- -12'-al	3'-hidroxi- 5',6'-epoxi- 5',6'-dihidro- -10-apo- β -ka- rotin-10-al	3'-hidroxi- 5',6'-epoxi- 5',6'-dihidro- -12-apo- β -ka- rotin-12-al	Lebontási termékek száma	
					össz- -transz	mono- -cisz
7	7-cisz	7-cisz	össz-transz	össz-transz	2	2
9	9-cisz	9-cisz	össz-transz	össz-transz	2	2
11	11-cisz	11-cisz	11-cisz	össz-transz	1	3
13	13-cisz	13-cisz	13-cisz	13-cisz	0	4
15	15/15'/-cisz	15/15'/-cisz	15/15'/-cisz	15/15'/-cisz	0	2



24. ábra

A violeoxantin-diacetát /op.: 155 °C/ szemimikro méretű oxidációját a violaxantin-diacetát /XXVII/ lebontásával azonos kísérleti körülmények között végeztük el. Előkísérleteinkhez 5-5 mg anyagot használtunk, majd paralel kísérletekben 22,7-22,7 mg violeoxantin-diacetátot 50 percig oxidáltunk. A folyamatok során az előkísérleteknél alkalmazott arányokat követtük. A reakcióelegyek feldolgozása és hidrolizise után nyert anyagot $CaCO_3$ -os oszlopokon kromatografáltuk. A kromatografálás során a maradék violeoxantinnek megfelelő zónán kívül négy, egymástól élesen elváló főzónát nyertünk. Az egyes zónák azonosító vizs-

gálatainak eredményeként megállapítottuk, hogy a violeoxantin-diacetát lebontásakor monocisz- és össz-transz apo-10'-violaxantal, valamint monocisz- és össz-transz apo-12'-violaxantal keletkezett /25. ábra/. A monocisz- és az össz-transz izomerpár egyaránt jó termeléssel /15-20 %/, közel azonos mennyiségben képződött.



25. ábra

A keletkezett termékek száma és térszerkezete alapján tehát a cisz kettős kötés helye a 9-10, esetleg a 7-8 /sztérikusan gátolt helyzetű/ szénatomok között lehet. /VIII. táblázat; 65. oldal/

A nyert lebontási termékeket n-hexános és benzolos oldataikban mért $\lambda_{\max}$ -aik /IX. táblázat/, LiAlH_4 -es

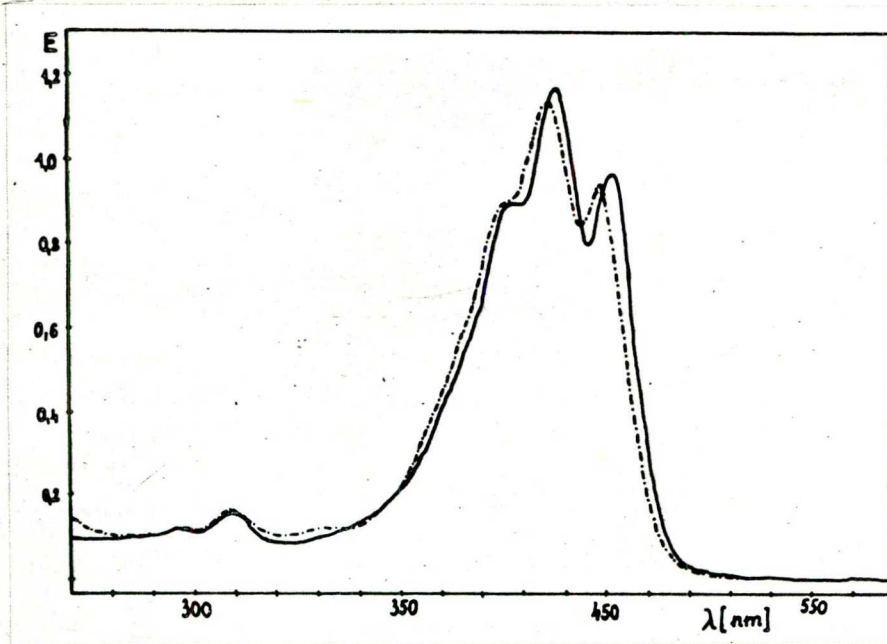
redukciójuk és furanoid-reakciójuk során keletkezett származékaik $\lambda_{\text{max-ai}}$ /IX. táblázat/, petroléter és 90 %-os vizes metanol közötti megoszlásuk /IX. táblázat/, valamint autentikus mintákkal történő összekromatografálásuk segítségével azonosítottuk. Az izolált össz-transz lebontási termékeket összekromatografálva a violaxantin-diacetát lebontásakor nyert megfelelő C_{27} - és C_{25} -epoxi-aldehidekkel, mindkét esetben egyetlen egységes zónát nyertünk. A cisz-vegyületek jódos izomerizációjával össz-transz epoxi-aldehidekhez jutottunk, melyek ugyancsak azonosak voltak a violaxantin-diacetát lebontása során izolált megfelelő epoxi-aldehidekkel.

A violeoxantin-diacetát lebontási termékeinek n-hexánban felvett UV és látható spektrumát vizsgálva megfigyeltük, hogy a monocisz vegyületek $\lambda_{\text{max-ai}}$ 3-4 nm-rel alacsonyabbak, mint a megfelelő össz-transz vegyületek $\lambda_{\text{max-ai}}$ /26. és 27. ábra; IX. táblázat/.

Megfigyeltük azt is, hogy a monocisz lebontási termékek LiAlH_4 -es redukciója során képződő megfelelő diolok ugyancsak monociszek, $\lambda_{\text{max-aik}}$ ugyanis 4 nm-rel alacsonyabbak, mint az össz-transz diolok $\lambda_{\text{max-ai}}$ /28. ábra; IX. táblázat/.

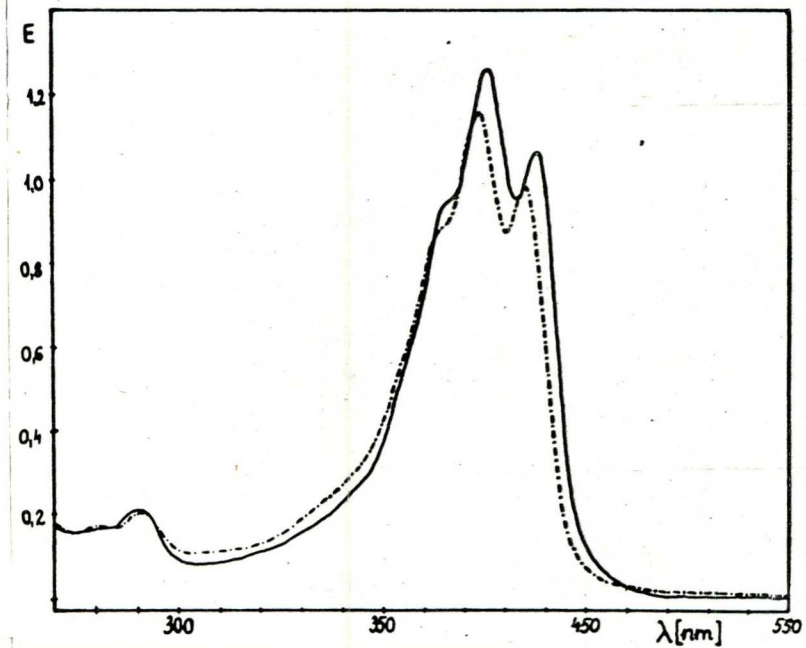
IX. táblázat

Violeo- xantin lebontási termékei	$\lambda_{\text{max.}} / \text{nm}/$					Meg- osz- lás /90/
	n-Hexánban	Benzolban	Furanoid reakció után benzolban	LiAlH ₄ -es redukció után benzolban	LiAlH ₄ -es red. és furanoid reakció után benzolban	
cisz apo- -10'-vio- laxantal	449 424 /405/	//466// 438	437 415	424 398 377	403 380 361	H
össz-transz apo-10'-vi- olaxantal	453 427 405	//466// 441	/441/ 418	428 402 381	405 381 362	H
cisz apo- -12'-vio- laxantal	422 398 /380/	/434/ 410	/410/ 390	397 375 356	372 353 337	H
össz-transz apo-12'-vi- olaxantal	425 401 //383//	/440/ 414	/410/ 392	400 377 358	373 354 339	H



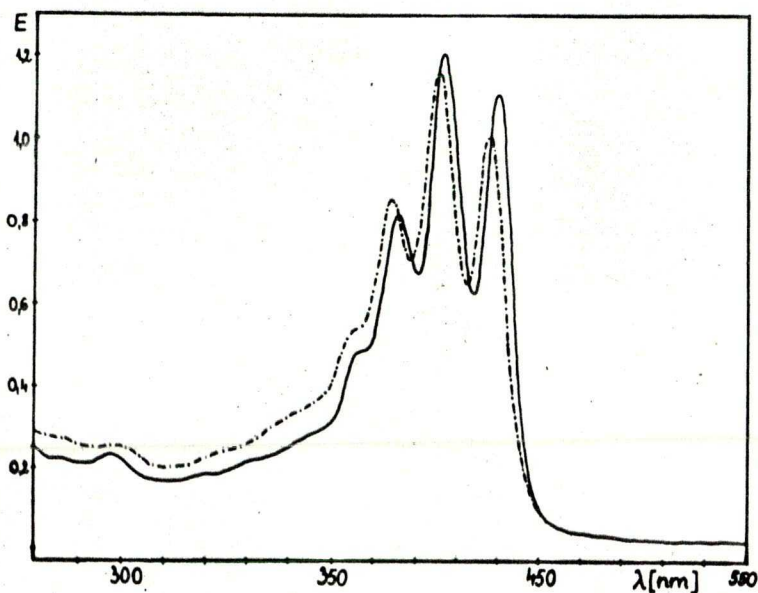
26. ábra

Össz-transz /—/ és monocisz /- - - -/ apo-
-10'-violaxantal UV és látható spektruma
n-hexánban



27. ábra

Össz-transz /—/ és monocisz /- - - -/ apo-
-12'-violaxantal UV és látható
spektruma n-hexánban

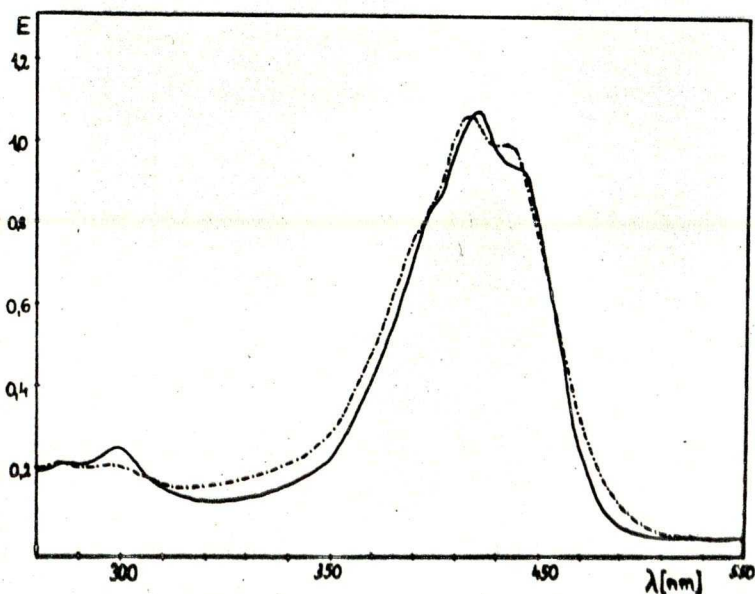


28. ábra

Össz-transz /—/ és monocisz /-.-.-/ apo-10'-
violaxantol UV és látható spektruma benzolban

Elvégezve a lebontási termékek, valamint redukált származékaik furanoid-reakcióját azt tapasztaltuk, hogy a monocisz epoxi-aldehidekből, illetve redukált származékaikból nyert furanoid-oxidok $\lambda_{\text{max-ai}}$ benzolos oldatban mintegy 2 nm-rel alacsonyabbak, mint a megfelelő össz-transz vegyületekből nyert furanoid-oxidok $\lambda_{\text{max-ai}}$ /29. ábra; IX. táblázat/. Tehát a monocisz lebontási termékek, valamint a belőlük LiAlH_4 -es redukció során képződő megfelelő alkoholok furanoid-oxidjai is monocisz vegyületek.

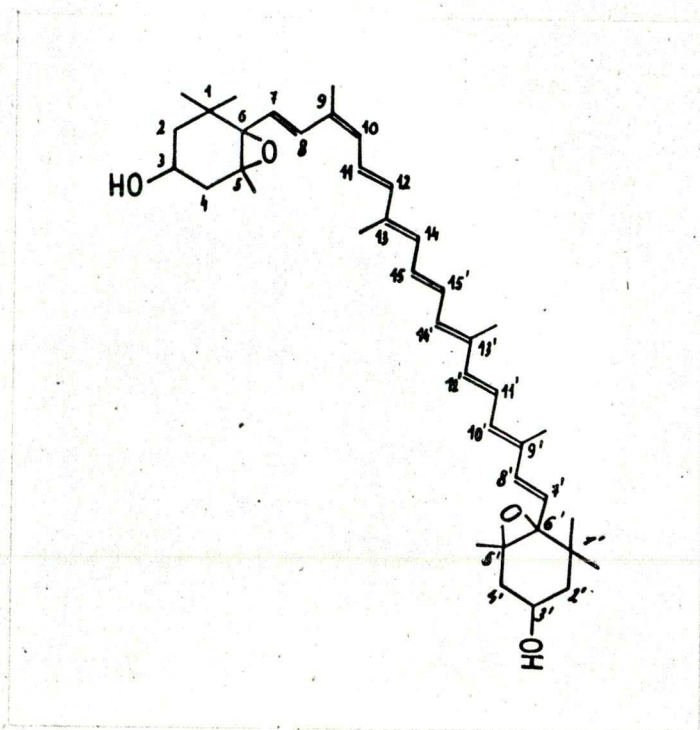
Ezek a tapasztalatok egyértelműen igazolják, hogy a természetes violeoxantin kromoforjában a cisz kettős kötés a 9-10 szénatomok között van, s kizárják a 7-8 helyzet lehetőségét /24. ábra; 66. oldal/.



29. ábra

Össz-transz /—/ és monocisz /-.-./ 3-hidroxi-
-5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo-β-karotin-10'-al
UV és látható spektruma benzolban

A violeoxantin tehát 9-monocisz violaxantin. A vegyület sztereokémiai szempontból is helyes szerkezeti képletét a 30. ábra tünteti fel.



30. ábra

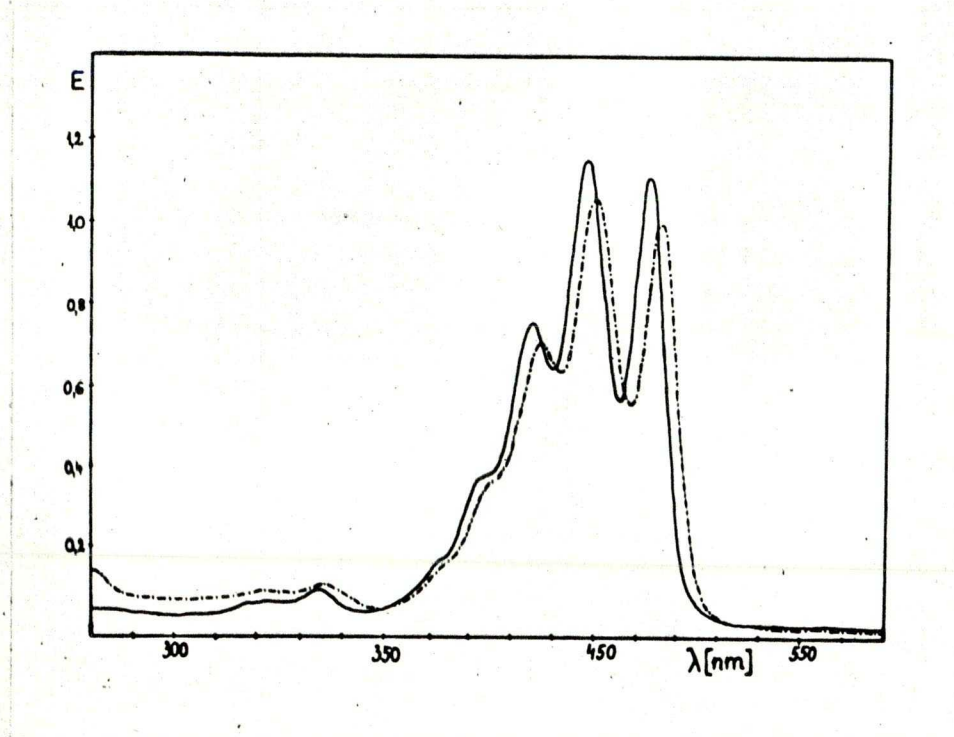
A violeroxantin szerkezete

b./ A természetes neoxantin, valamint a neoxantin-X
térszerkezetének igazolása

A neoxantin /33. ábra/ allénkötést tartalmazó karo-
tinoid-epoxid, mely a zöld levelek fitoxantinjainak
fontos komponense [24]. A vegyület két acetilálható
hidroxicsoporthat tartalmaz, a molekula tercier hid-
roxicsoportha szterikus okok miatt nem acetilálható.

A neoxantin /op.: 134 °C/ jódos izomerizációjával [18] a magasabb olvadáspontú neoxantin-X /35. ábra; op.: 143-145 °C/ állítható elő. A vegyület a természetben is előfordul [24], benzolos oldatban mért $\lambda_{\text{max-ai}}$ - 481 nm 450 nm 425 nm - magasabbak, mint a neoxantinra jellemző értékek: 477 nm 446 nm 420 nm. A neoxantin-X jódos izomerizációja viszont neoxantint eredményez. Az izomerizációs egyensúlyi elegy CaCO_3 -os oszlopon történő kromatografálásakor a neoxantin erősebben adszorbeálódik, mint a neoxantin-X. A neoxantin és a neoxantin-X benzolos oldatának UV és látható spektrumát összehasonlítva /31. ábra/ megfigyelhetjük, hogy a neoxantin spektrumában kis intenzitású cisz-csúcs van.

Ezen eredmények alapján a neoxantin-X össz-transz vegyület, a neoxantin pedig monocisz, melynek kromoforjában a cisz kettős kötés periferiális [18]. Ezt erősítette meg a neoxantin és a neoxantin-X NMR- és IR-spektroszkópiái vizsgálata is [24]. A lúgos kálium-permanganáttal történő lebontási módszerünkkel egyértelműen sikerült igazolni e vegyületek térszerkezetét.

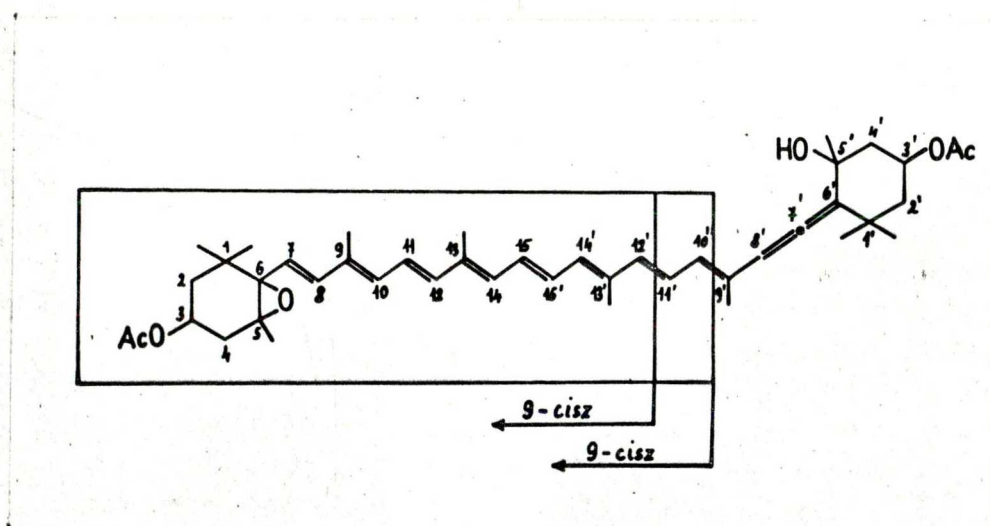


31. ábra

Neoxantin /—/ és neoxantin-X /-.-.-/ UV és
látható spektruma benzolban

A természetes neoxantinból /ex. *Acer campestra*/ elő-
állított neoxantin-diacetát /op.: 120-121 °C/ oxida-
tív lebontásának körülményeit vizsgálva előkísérle-
teink során megállapítottuk, hogy a vegyület érzéke-
nyebb az oxidációra, mint a már vizsgált karotinoid-
epoxidok és -furanoid-oxidok. Sikerült kidolgoznunk
a neoxantin-diacetát lebontására olyan kísérleti kö-
rülményeket, melyek alkalmazásával az azonosító vizs-

gálatok elvégzéséhez elegendő mennyiségben nyertünk oxidációs termékeket. Előkísérleteink után a kidolgozott arányok betartásával 22,7 mg neoxantin-diacetátot oxidáltunk. A reakcióelegy feldolgozását követő műveleteket /bepárlás, hidrolízis, stb./ a violaxantin-diacetát /XXVII/ oxidációjánál /103. oldal/ ismerttetett módon végeztük el, majd az anyagot benzol-petroléter oldószerkelegyen oldottuk. Az oldat CaCO_3 -os oszlopon történő kromatografálásakor a maradék neoxantinnak megfelelő zónán kívül négy főzónát izoláltunk. Az egyes zónák azonosító vizsgálatának eredményei igazolták, hogy a neoxantin-diacetát lebontásakor monocisz apo-10'-violaxantal és monocisz apo-12'-violaxantal keletkezett főtermékként /32. ábra/.



32. ábra

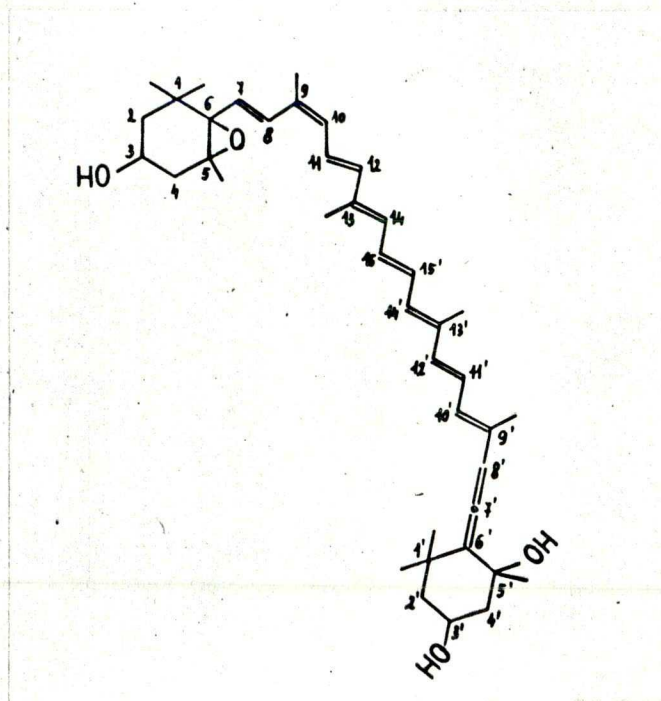
Képződtek a lebontás során allénkötést tartalmazó aldehidek is. E vegyületeket szabatosan nem azonosítottuk.

Az epoxicsoportot tartalmazó lebontási termékek azonosak voltak a violeoxantin-diacetát lebontásakor izolált megfelelő 9-monocisz epoxi-aldehidekkel. Az azonosságot az egyes termékekre n-hexános és benzo-los oldatban jellemző $\lambda_{\max}$ -ok /IX. és X. táblázat/, LiAlH_4 -es redukciójuk és furanoid-reakciójuk során keletkezett származékaik $\lambda_{\max}$ -ai /IX. és X. táblázat/, a termékek 90 %-os vizes metanol és petroléter közötti megoszlása /IX. és X. táblázat/, autentikus mintákkal történő összekromatografálása segítségével, valamint izomerizációs próbákkal igazoltuk.

A kísérlet eredményei szerint a természetes neoxantinban a cisz kettős kötés egyértelműen a 9-es és a 10-es szénatomok között van. A vegyület sztereokémiai szempontból is helyes szerkezeti képletét a 33. ábra tünteti fel.

X. táblázat

A nyert lebontási termékek		$\lambda_{\max.}/\text{nm}/$			
		n-Hexánban	Benzolban	Furanoid reakció után benzolban	LiAlH ₄ -es redukció után benzolban
Neoxan-tinból	cisz apo-10'-violaxantal	449 423 /401/	/462/ 438	/440/ 417	425 399 378
	cisz apo-12'-violaxantal	421 398 /378/	/434/ 410	/410/ 390	396 374 355
Neoxan-tin-X-ből	össz-transz-apo-10'-violaxantal	453 427 405	/466/ 441	/442/ 417	429 402 381
	össz-transz-apo-12'-violaxantal	425 401 /380/	/438/ 414	/412/ 392	399 377 358

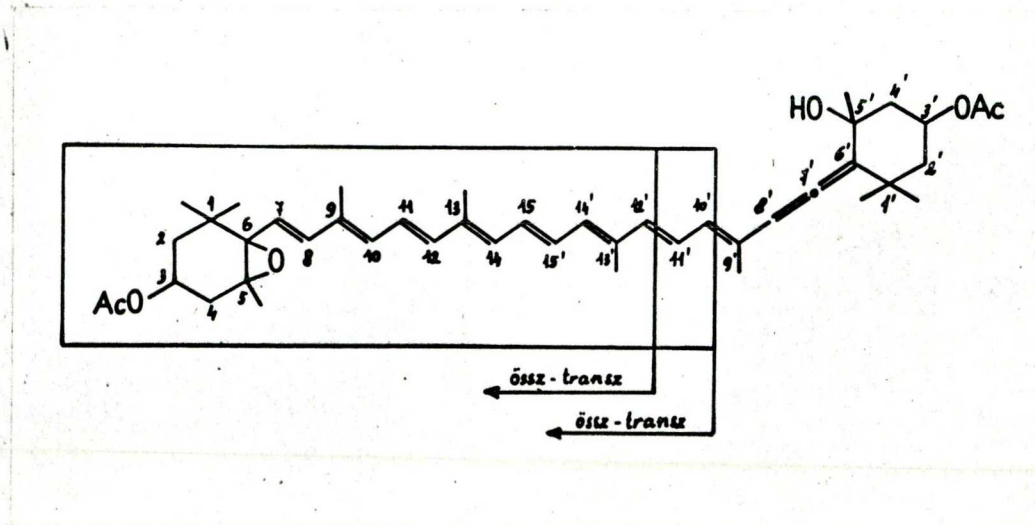


33. ábra

A neoxantin szerkezete

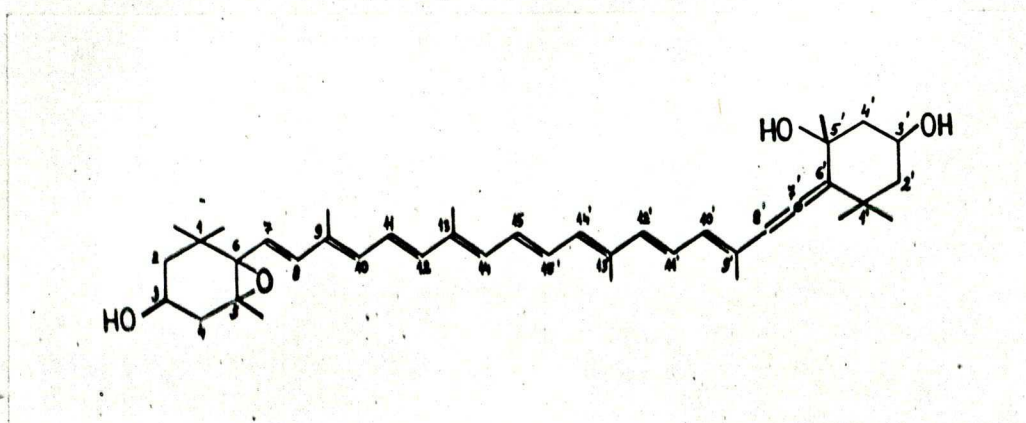
A neoxantin-diacetát jóddal katalizált izomerizációjával előállított neoxantin-X-diacetát /op.: 128-130 °C/ oxidatív lebontását a neoxantin-diacetát /32. ábra/ lebontásánál ismertett módon végeztük. A nyert főtermékek, valamint származékaik λ_{max} -ait összehasonlítva a violaxantin-diacetát /XXVII/, valamint a violeoxantin-diacetát /25. ábra/ lebontásakor keletkező össz-transz epoxi-aldehidek és származékaik λ_{max} -aival /V; IX; X. táblázat/ jó egyezést tapasztaltunk. A neoxantin-X-diacetát lebontásakor tehát

össz-transz apo-10'-violaxantal és össz-transz apo-12'-violaxantal keletkezett /34. ábra/.



34. ábra

Megállapításunkat a termékek autentikus mintákkal történő összekromatografálásával is igazoltuk. /A neoxantin-diacetát oxidációjához hasonlóan a neoxantin-X-diacetát lebontásakor is képződtek allénkötést tartalmazó termékek/. Az izolált lebontási termékek tulajdonságai bizonyítják, hogy a neoxantin-X- molekulájában a kromofor valamennyi kettős kötése transz helyzetű /35. ábra/.



35. ábra

A neoxantin-X szerkezete

III. KISÉRLETI RÉSZ

Általános megjegyzések

A kromatográfiás munka során a kromatografáló oszlopokat szárított, majd szitált adszorbenssel töltöttük. A kromatogramokat megfelelő oldószerrel fejlesztettük; az oldószer előrehaladását vákuum segítségével gyorsítottuk. Fejlesztés után az oszlopokat a nyert zónáknak megfelelően feldaraboltuk. Különböző átmérőjű, 20-30 cm hosszú oszlopokat használtunk, melyeket a szövegben átmérőjük megadásával jellemezzük. Pl. a 2 cm átmérőjű oszlopot röviden 2-esnek nevezzük. A kromatogramok felírásakor az egyes zónák szélességét mm-ben adjuk meg. A zónák közti üres részeket nem tüntetjük fel.

Adszorbensként különböző adszorpciós aktivitású kalcium-karbonát készítményeket használtunk, melyek a következők:

a./ Calcium carbonicum purissimum /Vychodoceske
Závody N.P. Pardubice-Rybitvi/

b./ Calcium carbonicum Ph. Hg. VI. /Biogal Gyógyszergyár, Debrecen/

c./ Calcium carbonicum für chrom. Zwecke /Dr. T.
Schuchardt GMBH Co. München/

Az oszlopkromatografálás során kivágott festékszónákat metanollal, illetve metanol és a fejlesztő oldószer keverékével eluáltuk, majd az oldatot választótölcsérbe öntve benzollal, petroléterrel, vagy ezek keverékével hígítottuk. Az így nyert oldatot desztillált vízzel metanolmentesre mostuk /8-10-szori mosás elegendő/, vizmentes Na_2SO_4 -tal megszáritottuk, majd szűrtük. A műveletek során ügyeltünk arra, hogy a használt oldószerek sav- és peroxidmentesek legyenek. A desztillált vizet - különösen epoxidok oldatának mosása esetén - kevés NaHCO_3 -tal enyhén meglúgosítottuk.

A festékoldatok bepárlását a karotinoidok nagy érzékenysége miatt leggyakrabban vákuumban végeztük. Légköri nyomáson dolgozva a rendszert nitrogénnel feltöltöttük. A bepárlások során a hőmérsékletet nem emeltük 45°C fölé. Magasabb hőmérsékleten ugyanis számottevő lehet a cisz-transz izomerizáció sebessége.

A festékoldatakat hosszabb ideig nitrogén-atmoszférában, -20°C -on sötétben tároltuk. Szobahőmérsékleten csak éppen a kísérletek által megkívánt ideig tartottuk oldatainkat, ekkor is ügyeltünk arra, hogy le-

hetőleg nitrogénben és sötétben legyenek. A kristályos anyagokat szűrés után vákuumexszikkátorban szilárd KOH felett szárítottuk. Az oldószergőzők megkötésére paraffinnal átitatott szűrőpapírt alkalmaztunk. Szárítás után az anyagokat száraz nitrogénnel töltött ampullákba forrasztva szobahőmérsékleten, esetenként -20°C -on sötétben tároltuk.

A vizsgált vegyületek molekulájában az epoxicsoport jelenlétét a már említett furanoid-reakcióval /7. oldal/ mutattuk ki. A reakciót leggyakrabban küvetében végeztük el oly módon, hogy a küvetében lévő kb. 3 ml benzolos oldathoz 1-2 csepp savat /cc. HCl: :cc. CH_3COOH = 1:9/ adtunk, összerázás, majd 3-5 perc várakozás után felvettük az oldat UV és látható spektrumát. Preparatív méretben dolgozva a reakciót gondosan követtük, majd a megfelelő időpontban NaHCO_3 -oldattal történő mosással megszakítottuk.

A karbonilcsoport jelenlétének kimutatására szolgáló LiAlH_4 -es redukciókat kis mennyiségű /néhány tized mg/ anyaggal végeztük. Ilyenkor a vizsgált vegyület abszolút éteres oldatához kis spatulahegynyi LiAlH_4 -et adtunk. A reakcióelegyet CaCl_2 -os csővel ellátott csiszolatos lombikban 5 percig rázogattuk. A reakció során képződő megfelelő litium-aluminium-

-alkoholátot 10 %-os vizes KOH oldattal bontottuk el, majd az oldatot desztillált vízzel lúgmontosra mostuk. Az éteres oldat szárítása és bepárlása után az anyagot megfelelő oldószerben oldottuk, majd felvettük a redukciós termék UV és látható spektrumát.

A monocisz karotinoid-epoxidok, valamint lebontási termékeik azonosításakor izomerizációs próbákat is végeztünk. Legegyszerűbb a jóddal katalizált izomerizáció /18/, melynek során a vizsgált vegyület benzolos, vagy petroléteres oldatához az oldott festék 1-2 %-ának megfelelő mennyiségű jóddal benzolos oldatát adtuk, majd a reakcióelegyet 25-30 percig szobahőmérsékleten laboratóriumi fényben állni hagytuk. Az egyensúlyra vezető reakciót az UV és látható spektrum változásának regisztrálásával követtük. Az egyensúly beállásakor az oldatot híg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal jódmentesre mostuk, megszáritottuk, majd kromatografáltuk.

A festékek polaritását [25, 26] 90 %-os vizes metanol és petroléter közötti megoszlásuk segítségével jellemeztük. Epifázikus /E/ az anyag, ha a megoszlási próba során teljes mennyisége a petroléteres fázisba megy át, hipofázikus /H/, ha a vizes metanolos fázisban helyezkedik el. Abban az esetben, ha a festék mindkét fázisban egyenlő mértékben oszlik meg,

a jelölés E/H, ha viszont valamelyik fázis töményebb, úgy a másik fázisban való megoszlásra kisbetűvel utalunk /pl. E/h/.

A kristályos anyagok op.-jának mórósót Bootius kőszülékekkel végeztük. A festékkoldatok UV és látható spektrumát Perkin-Elmer 402-es spektrofotométerrel vettük fel. Az IR-spektrumok felvétele KBr-pasztilában Zeiss UR-10 spektrofotométerrel történt. Az NMR-spektrumok Perkin-Elmer R-12 típusú spektrométerrel deuterio-kloroformos oldatban készültek. A tömegspektrumok felvételére A.E.I. MS 9, valamint A.E.I. MS 902 tömegspektrométereket használtunk.

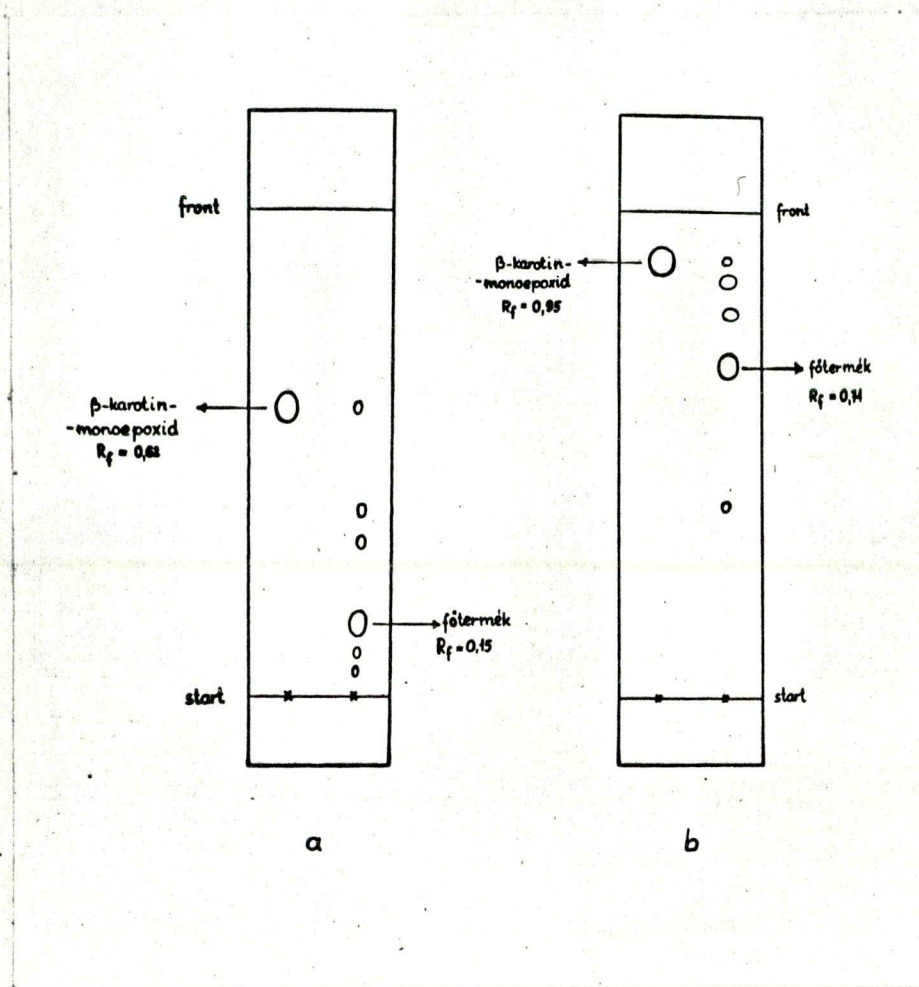
1./ A módszer alkalmazása néhány karotinoid-epoxid és -furanoid-oxid szemimikro méretű lebontására

a./ A β -karotin-monoepoxid /5,6-epoxi-5,6-dihidro- β , β -karotin; II/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Szintetikus β -karotinból /I/ ftálmonopersavval történő reakcióval /27/ előállított kromatográfiásan tiszta β -karotin-monoepoxidból /op.: 148-150 °C/ 5 mg-ot 15 ml tiofénmentes benzolban oldottunk /6,2 $\cdot 10^{-4}$ mol/l/. Az oldathoz 15 ml lúgos kálium-permanganát-

-oldatot adtunk, melynek koncentrációja KMnO_4 -ra $1,9 \cdot 10^{-2}$ mol/l, Na_2CO_3 -ra $3,1 \cdot 10^{-2}$ mol/l volt. Így az 1 mol β -karotin-monoepoxidra jutó KMnO_4 -mennyiség 46 ,0'-nek felel meg. A kétfázisú rendszert 75 ml-es csiszolatos üvegben rázógép segítségével rázattuk. E vizsgálatok eredményei szerint 60 perc elteltével az oxidációs elegyben csak nagyon kevés változatlan β -karotin-monoepoxid maradt /36. ábra/.

A vékonyrétegkromatográfiás vizsgálatokat Silicagel G lemezen 1 % acetontartalmú benzollal, a papirkromatográfiás vizsgálatokat Whatman AH 81-es papíron 0,6% metanoltartalmú petroléterrel végeztük. A β -karotin-monoepoxid vékonyrétegkromatográfiás R_f -értéke 0,62, az oxidációs termékek foltjainak R_f -értékei 0,38, 0,30, 0,15, 0,09 és 0,04. Papirkromatográfiával a β -karotin-monoepoxidnak megfelelő R_f -érték 0,95, a lebontási termékekhez tartozó R_f -értékek 0,89, 0,81, 0,71, 0,42.



36. ábra

Vékonyrétegkromatogram /a/ és papirkromatogram /b/
60 perces reakcióidő után

A reakciót 60 perc elteltével megszakítottuk, Az oxidáció során kivált MnO_2 -ot szűrővel távolítottuk el. A benzolos oldatot a vizes lúgos kálium-permanganát-oldattal választótölcsérben választottuk el,

majd desztillált vízzel permanganát- és lúgmentesre mostuk. Mosás, vízmentes Na_2SO_4 -on történő szárítás után az oldatot szárazra pároltuk. A desztillációs maradékot petroléterben oldottuk, majd a nyert oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon petroléterrel kromatografálva a következő kromatogramot kaptuk:

	λ_{max} -ok /nm/ petroléterben		
/1/ 2 piros	494	463	438
/2/ 2 halványsárga	447	422	400
/3/ 12 narancssárga	477	447	426
1 halványsárga			
/4/ 10 diffúz halványsárga	427	404	/382/
/5/ 10 halvány narancssárga	//460/	436	
/6/ 10 nagyon halvány sárga	400	//383/	
/7/ 8 sárga	//434/	411	

A reakció során a /3/-as festék volt a főtermék. A petroléteres oldatban közvetlenül a kromatográfiás feldolgozás után felvett UV és látható spektrumból azonban arra következtettünk, hogy termékünk nem egységes. Az azonosító vizsgálatok szabatos elvégzése céljából a két utóbbi kísérlet során nyert /3/-as festéket egyesítettük, majd 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon újrakromatografáltuk. A kromatogramot 1-4 % benzolt tartalmazó petroléterrel fejlesztettük, s a

következő zónákat nyertük:

Absz. max-ok /nm/ petroléterben /rácsspektroszkóppal mérve/			
/31/	15 diffúz sárga	460	431
/32/	15 diffúz sárga	458	427
/33/	30 narancssárga	479	450

Az egyes komponensek természetének felderítése céljából megvizsgáltuk azok abszorpciós maximumait benzolos oldatban, majd az oldatok savazása után is:

Absz. max-ok /nm/				
Festék	benzolban		HCl-benzolban	
/31/	474	441	474	441
/32/	474	441	457-től elnyelés	
/33/	491	461	474	441

A nyert eredmények szerint a /31/-es festék a /33/-as furanoid-oxidja, melyet megerősít az a kísérleti tapasztalat, hogy a /33/-as festék furanoid-reakciója során nyert anyag a /31/-estől keverék-kromatogramon nem válik el. A /32/-es festék valószínűleg a /31/-es cisz izomerje. Az újrakromatografálás után nyert /33/-as festék UV és látható spektruma /8. ábra/ a-

lapján egységes anyagnak bizonyult. Elvégezve a vegyület furanoid-reakcióját, LiAlH_4 -es redukcióját, megállapítottuk, hogy a vegyület 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/. Elvégeztük a többi lebontási termék azonosító vizsgálatát is [a /2/-es és /6/-os festékek anyaghiány miatt nem foglalkoztunk]. A vizsgálatok eredményei /I. táblázat; 12. oldal/ szerint az /1/-es festék szemi- β -karotinon-epoxid /IX/, a /4/-es 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/, az /5/-ös 10-apo- β -karotin-10-al /X/, a /7/-es 12-apo- β -karotin-12-al /XI/.

A β -karotin-monoepoxid preparatív méretű lebontását az előkísérletoknél alkalmazott kísérleti körülmények között vezettük. Az elkészített 690 ml térfogatú $6,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l koncentrációjú β -karotin-monoepoxid törzsoldatot 230 ml-es részletekben 1100 ml-es folyadéküvegekben oxidáltuk a festékkoldat térfogatával azonos térfogatú KMnO_4 -törzsoldattal. A reakciót papirkromatográfiával követve 75 percig folytattuk. A reakcióelegyek feldolgozása után a nyert benzolos oldatokat egyesítettük, majd bepároltuk. A száraz maradékot 300 ml petroléterben oldottuk, az oldatot 11 db 6-os CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon petroléterrel fejlesztve kromatografáltuk. A nyert kromatogram:

λ_{max} -ok /nm/ petroléterben

/1/ 15 pirosas rózsaszín 494 463 438

2 halványsárga

8 sárga

/2/ 80 narancssárga 477 447 426

2 sárga

30 igen halvány sárga

25 halvány narancssárga

/3/

15 halványsárga

25 narancssárga

20 halvány narancssárga

Feldolgozás után elvégeztük az /1/-es és /2/-es festékek azonosító vizsgálatait LiAlH_4 -es redukcióval, furanoidpróbával és megoszlási próbával /85. oldal/. Megállapítottuk, hogy az /1/-es festék szemi- β -karotinon-epoxid /IX/, a /2/-es festék 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/. A főterméket, valamint a szemi- β -karotinon-epoxidot forró metanolból, a /3/-as festéket - mely a további oxidációs termékeket és a maradék β -karotin-monoepoxidot tartalmazza - nyomnyi benzolból kristályosítottuk. Az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al oldatából piros polarizáló mikrokristályok alakjában 17,2 mg anyag vált ki; op.: 124-126 °C. Az anyalúgból - melyet kris-

tályosítás előtt tisztára kromatografáltunk - 3,7 mg festéket nyertünk; op.: 114-116 °C. A szemi- β -karotinon-epoxid szép piros tűalakú polarizáló kristályok alakjában vált ki, mennyisége 7,3 mg; op.: 134-136 °C. Az anyalúgból további 1 mg anyag kristályosodott ki; op.: 130-131 °C.

A főtermékként keletkező 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al szerkezetének szabatos igazolása céljából elkészítettük az anyag IR-, NMR- és MS-spektrumát. Meghatároztuk a termék abszorpciós maximumaihoz tartozó molextinkció-értékeket is /II. táblázat/.

b./ A β -karotin-diepoxid /5,6:5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin; XII/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Szintetikus β -karotinból /I/ ftálmonopersav segítségével előállított [27] β -karotin-diepoxidból 5 mg-ot /op.: 174-176 °C/ 15 ml tiofénmentes benzolban feloldtunk, majd az oldatot a β -karotin-monoepoxid oxidációjával azonos kísérleti körülmények között 15 ml KMnO_4 -oldattal 60 percig rázattuk. Az 1 % acetontartalmú benzollal fejlesztett vékonyrétegkromatogramon a kiindulási anyagnak megfelelő R_F -érték 0,30, az oxidációs

termékeké 0,07 és 0,02. Whatman AH 81-es papíron 0,5% metanoltartalmú petroléterrel történő futtatáskor a kiindulási anyag R_F -értéke 0,95, a lebontási terméké 0,77 és 0,59. A reakcióelegy szokásos feldolgozása után a benzolos oldatot bepároltuk, a maradékot 4-5 % benzolt tartalmazó petroléterben oldottuk, majd az oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon kromatografáltuk. Petroléterrel fejlesztve a következő kromatogramot kaptuk:

Absz. max-ok /nm/ petroléterben
/rácsspektroszkóppal mérve/

3 piszkossárga	-	-
/1/ 20 narancssárga	457	427
/2/ 18 sárga	//450//	427
/3/ 70 halványsárga /nem egységes/	449	423

A festékek feldolgozása után elvégzett furanoid-reakció és LiAlH_4 -es redukció eredménye szerint az /1/-es festék 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/, a /2/-es festék 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/ volt. Mivel a /3/-as festék nem volt egységes, 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon újrakromatografáltuk. A petroléteres fejlesztéssel nyert kromatogram:

- 2 piszkos okker
- /31/ 10 halvány diffúz sárga
- /32/ 7 halványsárga
- /33/ 6 diffúz sárga
- /34/ 2 sárga

A feldolgozás után felvett UV és látható spektrumok λ_{max} -ai arra utalnak, hogy az újrakromatografálás során sem nyertünk tiszta anyagokat /XI. táblázat/. Az egyes komponensek λ_{max} -ai a LiAlH_4 -es redukció során nem változtak, a furanoid-reakció eredményeként valamennyi festékre azonos λ_{max} -értékeket nyertünk /XI. táblázat/. Ezen eredmények szerint a /3/-as festék a maradék β -karotin-diepoxid, valamint a β -karotin-diepoxid izomerjeinek keveréke volt.

XI. táblázat

Termék	$\lambda_{\max.}$ /nm/				
	Petroléterben	Benzolban	Furanoid-reakció után benzolban	LiAlH ₄ -es redukció után benzolban	Megoszlás /90/
/1/	454 428 405	465 439 410	/437/ 417	431 405 383	E
/2/	427 403 /385/	434 410 /391/	409 388	403 380 /362/	E
/3/	469 447 423 400	483 458 433 /410/	436 410 388 /369/	/482/ 458 433 /411/	E
/31/	/446/ 425 400 379	461 436 410 388	436 410 388 /368/	459 434 409 /388/	E
/32/	447 423 399 379	461 436 410 388	436 410 388 /368/	459 434 409 /388/	E/h
/33/	446 422 399 /380/	457 433 408 /388/	436 410 388 /370/	457 432 407 /388/	E
/34/	/468/ 446 422 400	/483/ 458 433 410	436 410 388 /368/	/481/ 457 432 /409/	E

c./ Mutatokróm /5,8-epoxi-5,8-dihidro- β , β -karotin;
XVI/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Az oxidációhoz β -karotin-monoepoxidből furanoid-reakcióval [8] előállított mutatokrómot /op.: 134 °C/ használtunk. Öt mg festék 15 ml tiofénmentes benzollal készült oldatához 15 ml KMnO_4 -törzsoldatot adtunk, s a kétfázisú rendszert 50 percen át rázattuk a β -karotin-monoepoxid oxidációjánál ismertetett körülmények között. A reakcióelegy feldolgozása után a benzolos oldatot bepároltuk, a maradékot petroléterben vettük fel, majd az oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon kromatografáltuk. Petroléteres fejlesztést alkalmazva a következő zónákat izoláltuk:

$\lambda_{\text{max-}}\text{ok /nm/ petroléterben}$				
/1/ 2 narancssárga /nem egységes/	//474/	425	408	/385/
1 halvány narancssárga	-	-	-	-
/2/ 2 halvány narancssárga	/452/	427	402	382
/3/ 7 narancssárga		458	431	408
/4/ 5 narancssárga		/460/		438
/5/ 2 sárga		//406//		384
/6/ 3 sárga		//434//		414
/7/ 6 sárga		453	427	405

Feldolgozás után elvégeztük a /3/-as, /4/-es, /6/-os és /7/-es festékek azonosító vizsgálatát. Az /1/-es, a /2/-es és az /5/-ös festékeket kis mennyiségük miatt nem sikerült azonosítani. A reakció főterméke a /3/-as festék volt, mely a petroléteres és benzolos oldatban észlelt $\lambda_{\max}$ -ok, valamint a LiAlH_4 -es redukció eredménye alapján 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V/; a /4/-es festék megfelelő $\lambda_{\max}$ -ai 10-apo- β -karotin-10-al /X/-ra, a /6/-os festék $\lambda_{\max}$ -ai 12-apo- β -karotin-12-al /XI/-ra, a /7/-es festék $\lambda_{\max}$ -ai a maradék mutatókromra jellemzőek /XII. táblázat/.

d./ Aurokróm /5,8:5',8'-diepoxi-5,8,5',8'-tetrahidro- β , β -karotin; XVIII/ oxidatív lebontásának vizsgálata

Miután a kísérlethez szükséges aurokrómot /op.: 169-170 °C/ β -karotin-diepoxidból előállítottuk [8], 5 mg festék 15 ml tiofénmentes benzollal készült oldatát 15 ml KMnO_4 -oldattal a szokott körülmények között 50 percig oxidáltuk. A feldolgozás után nyert benzolos oldatot bepároltuk, a maradékot petroléterben vettük fel. Az így nyert oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon petroléterrel kromatografálva a

következő kromatogramot kaptuk:

		λ_{max} -ok /nm/ petroléterben			
/1/	3 citromsárga /nem egységes/	/426/	401	380	360
/2/	3 citromsárga		449	423	402
/3/	14 sárga		429	407	//387//
/4/	30 diffúz citromsárga		426	401	381
/5/	15 halvány citromsárga		427	401	380

A nyert termékeket feldolgozás után LiAlH_4 -del redukáltuk. Az /1/-es festékek kis mennyisége, valamint szennyezett volta miatt nem foglalkoztunk. A LiAlH_4 -es redukció után petroléteres oldatban mért λ_{max} -ok rendre a következők:

Festék	λ_{max} /nm/			
/2/	421	398	376	
/3/	394	372	352	
/4/	426	400	379	
/5/	427	400	380	

Ezen eredmények szerint a /2/-es és a /3/-as festék aldehidtermészetű. A /2/-es festék feltehetően 5,8-epoxi-5,8-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /V/. A terméket azonban kis mennyisége miatt nem tudtuk szabatosan azonosítani. A lebontás főterméke



XIII. táblázat

Termékek	$\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}/$			
	Petroléterben	Benzolban	LiAlH ₄ -es redukció után petroléterben	LiAlH ₄ -es redukció után benzolban
3	458 431 408	/464/ 440	421 397 375	432 405 384
4	/460/ 438	451	423 401 382	434 410 390
6	//434// 414	430	395 375	403 384
7	453 427 405	465 438 415	453 427 405	465 438 415

a /3/-as festék, melynek $\lambda_{\max}$ -ai az 5,8-epoxi-5,8-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XV/-nak felelnek meg. A /4/-es és az /5/-ös festék változatlan aurokróm, illetve aurokróm izomer.

e./ Az α -karotin-epoxid /5,6-epoxi-5,6-dihidro- β , ϵ -karotin; XXI/ oxidatív lebontásának vizsgálata

α -karotinból /XX/ ftálmonopersavval történő reakcióval [27] α -karotin-epoxidot /op.: 171-172 °C/ állítottunk elő. A kromatográfiásan tiszta anyagból 5 mg-ot 15 ml tiofénmentes benzolban oldottunk. Az oldatot 15 ml KMnO_4 -oldattal a szokott körülmények között 50 percig oxidáltuk. Az oxidációs elegy feldolgozása és a benzolos oldat bepárlása után a maradékot petroléterben oldottuk, az oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon petroléterrel fejlesztve kromatografáltuk. A nyert kromatogram:

		$\lambda_{\max}$ -ok /nm/ petroléterben		
	1 halványlila	-	-	-
/1/	5 narancs	454	428	/408/
/2/	2 halványlila	477	448	427
/3/	8 halványsárga	427	404	//384//
/4/	12 narancs	456	430	/408/

	$\lambda_{\text{max.}}$ -ok /nm/ petroléterben		
/5/ 20 halványsárga	427	405	/382/
/6/ 25 sárga	469	439	416

Feldolgozás után először a termékek LiAlH_4 -es redukcióját végeztük el, majd ezt követően mindegyik anyagot megsavaztuk, s petroléteres oldatban hasonlítottuk össze az egyes termékek eredeti, LiAlH_4 -es redukciója után nyert, valamint a redukált termékek furanoid-reakciója után nyert $\lambda_{\text{max.}}$ -ait /IV. táblázat; 36. oldal/. Az összehasonlítás alapján különböztettük meg az epoxi-csoportot tartalmazó oldalról, valamint az α -oldalról keletkező lebontási termékeket. A kísérletek eredményei alapján az /1/-es festék 5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al /XIII/, a /3/-as festék 5,6-epoxi-5,6-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-al /VII/. A /4/-es és az /5/-ös festékek a furanoid-reakció során nem változtak, molekulájuk tehát α -jonon gyűrűt tartalmaz. A /4/-es festék 10-apo- α -karotin-10-al /XXII/, az /5/-ös festék 12-apo- α -karotin-12-al /XXIV/. A /2/-es komponens petroléteres oldatának $\lambda_{\text{max.}}$ -ai 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al /III/-ra jellemzőek, mennyisége azonban olyan kevés volt, hogy nem tudtuk azonosítani. A /6/-os festék $\lambda_{\text{max.}}$ -ai a változatlan α -karotin-epoxidnak felelnek meg.

2./ A módszer alkalmazása természetben előforduló
epoxi-apo-karotinalok előállítására és szerke-
zetük meghatározására

a./ A természetes violaxantin /5,6:5',6'-diepoxi-
-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin-3,3'-diol;
XXVI/ oxidatív lebontása szemimikro méretben

Öt mg violaxantin-diacetátot /violaxantin ex. *Viola tricolor*/ 15 ml tiofénmentes benzolban oldottunk, 15 ml KMnO_4 -oldatot adtunk hozzá, majd a keveréket a szokásos körülmények között 50 percig rázattuk. A reakcióidő letelte után készített vékonyrétegkromatogram csak kevés maradék violaxantin-diacetátot jelzett. Silicagel G lemezen 4 % metanoltartalmú petroléterrel futtatva a violaxantin-diacetátra 0,41, a reakciótermékekre 0,33, 0,31 és 0,21 R_f -értékeket nyertünk. Az oxidációs elegy feldolgozása után a benzolos oldatot bepároltuk, a maradékot 30 ml peroxidmentes éterben oldottuk. Az éteres oldatot vízzel történő telítés /4 csepp/ után 30 %-os KOH-os metanol és 85 %-os vizes metanol 1:2 arányú elegyének 8 ml-ével elhidrolizáltuk. A hidrolizist megoszlási vizsgálatokkal követtük, majd 12 óra elteltével az oldat lúgmentesre mosásával megszakítottuk. Az éter lepárlása után nyert maradékot 50 %-os benzol-

-petroléterben oldtuk fel. Az oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon a fenti összetételű oldószer-eleggyel fejlesztve kromatografáltuk, s a következő kromatogramot kaptuk:

λ_{max} -ok /nm/ petroléterben

2 halvány narancssárga

1 citromsárga

/1/	25 sárga	470	439	417
/2/	20 narancssárga	453	427	405
/3/	25 sárga	425	402	/380/

2 halvány narancssárga

lement az oszlopról egy 3 mm halványsárga zóna

Feldolgozás után elvégeztük mindhárom komponens furanoid-reakcióját, LiAlH_4 -es redukcióját és megoszlási próbáját. Az /1/-es festék λ_{max} -ai a maradék violaxantinnak /XXVI/ felelnek meg. Ezen értékek a LiAlH_4 -es redukció során nem változtak. Az anyag *Viola tricolor*-ból izolált violaxantintól koverókkromatogramon nem vált el. Az azonosító vizsgálatok további eredményei /V. táblázat; 43. oldal/ alapján a /2/-es festék apo-10'-violaxantal /5,6-epoxi-5,6-dihidro-10'-apo- β -karotin-10'-al; XXVIII/, a /3/-es festék apo-12'-violaxantal; XXXI/. 90 %-os vizes

metanol és petroléter közötti megoszlatáskor mindhárom komponens hipofázikusan viselkedett.

b./ Apo-10'-violaxantal /XXVIII/ és apo-12'-violaxantal /XXXI/ előállítása violaxantin-diacetát /XXVII/ preparatív méretű oxidációjával

Violaxantin /5,6:5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro-
- β , β -karotin-3,3'-diol; XXVI/ izolálása

A preparatív munkához szükséges, mintegy 740 mg violaxantint juharlevélből /Ranunculus acer/, valamint sárga árvácska /Viola tricolor/ szirmából izolált fitoxantinokból állítottuk elő a komponensek oszlop-kromatográfiás szétválasztásával.

A juharlevélből izolált nyers fitoxantinok kromatografálását a következőképpen végeztük: 1140 mg anyagot 750 ml benzolban oldottunk, majd az oldatot 15 db 6-os CaCO_3 -os /cseh/ oszlopon benzollal fejlesztve kromatografáltuk. A nyert kromatogram:

		Absz. max-ok /nm/ rác- spektroszkóppal mérve			
		Benzolban		Benzolban HCl után	
	5 piszkossárga	-	-	-	-
	1 halvány citromsárga	-	-	-	-
/1/	6 narancssárga	478	448	460	431
	2 halvány citromsárga	-	-	-	-
/2/	6 halvány okkersárga /nem egységes/	/482/	/450/	485	455
	4 halvány citromsárga	-	-	-	-
	3 halvány citromsárga	-	-	-	-
/3/	15 okkersárga	484	453		437
/4/	8 narancssárga	487	455	460	434
/5/	20 narancssárga	489	457	489	457

Az egyes komponenseket a feldolgozás után nyert benzolos oldatban, valamint az oldatban savazás után mért abszorpciós maximumaik alapján azonosítottuk. Vizsgálataink szerint az /1/-es festék neoxantin /9-monocisz 5,6-epoxi-6',7'-didehidro-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin-3,3',5'-triol/, a /2/-es festék keverék, a /3/-as violaxantin /5,6:5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin-3,3'-diol/, a /4/-es festék anteraxantin /5,6-epoxi-5,6-dihidro- β,β -karotin-3,3'-diol/, az /5/-ös festék lutein / β,ϵ -karotin-3,3'-diol/. Azonosítás után a festékoldatokat kis

térfogatúra pároltuk, majd az /1/ - /4/ festékeket kevés forró benzolból petroléterrel kicsaptuk, a luteint forró metanolból kristályosítottuk. A kivált anyagok súlya:

/1/ Neoxantin:	93,6 mg
/2/ Keverék:	22,4 mg
/3/ Violaxantin:	72,3 mg
/4/ Anteraxantin:	6,7 mg
/5/ Lutein:	265,1 mg

Jobb termelőssel sikerült izolálnunk violaxantint árvécska-fitoxantinokból. 490 mg anyagot 400 ml benzolban oldottunk, az oldatot 8 db CaCO_3 -os /cseh/ oszlopon benzollal kromatografálva az alábbi kromatogramot nyertük:

	Absz. max.-ok /nm/ rácsspektroszkóppal mérve			
	Benzolban		Benzolban HCl után	
5 piszkossárga	-	-	-	-
/1/ 50 okkersárga	480	450	437	
/2/ 25 okkersárga	484	453	437	
/3/ 5 narancssárga /nem egységes/	486	455	464	435
/4/ 4 narancssárga /nem egységes/	488	457	488	457

A feldolgozás után elvégzett azonosító vizsgálatok eredményei alapján az /1/-es festék violeoxantin /9-monocisz violaxantin/, a /2/-es festék violaxantin, a /3/-as festék főkomponense anteraxantin, a /4/-es festéké lutein. Az /1/-es és /2/-es festékeket kevés forró benzolból petroléterrel kicsaptuk. A kivált anyagok súlya:

/1/ Violeoxantin: 109 mg

/2/ Violaxantin: 76 mg

Violaxantin acetilálása

737 mg violaxantint 15 ml abszolút piridinben oldotunk, majd 30 ml abszolút benzolt adtunk hozzá. Külön lombikban elegyítettünk 2 ml acetilkloridot, 15 ml abszolút piridint és 30 ml abszolút benzolt /fehér csapadékként N-acil-piridinium-klorid vált ki/. A violaxantin-oldathoz hozzáöntöttük a csapadékot tartalmazó oldatot, majd a keveréket csiszolatos gömblombikban nitrogénatmoszférában sötétben 90 percig rázattuk. Redős szűrőn át történő szűrés után az oldatot kb. 400 ml petroléterbe öntöttük, választótölcsérben híg NaHCO_3 -oldattal piridinmentesre mostuk /20-szori mosás/. Mosás, vizments Na_2SO_4 -tal tör-

ténő szárítás után az oldatot bepároltuk, a száraz maradékot kevés forró benzolban oldottuk, majd a violaxantin-diacetátot metanollal kicsaptuk. A kivált anyag mennyisége 450 mg; op.: 169-171 °C.

Violaxantin-diacetát /3,3'-diacetoxi-5,6:5',6'-di-
epoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- β,β -karotin; XXVII/ pre-
parativ méretű lebontása

400 mg violaxantin-diacetátból /op.: 169-171 °C/ 1200 ml tiofénmentes benzollal $6,2 \cdot 10^{-4}$ mol/l koncentrációjú oldatot készítettünk. Az oldatot 240 ml-es részletekre osztva 1100 ml-es csiszolatos folyadékuvegekben a szemimikro méretben végzett oxidációk arányainak és kísérleti körülményeinek betartásával 50 percig oxidáltuk. Feldolgozás, majd a benzolos oldatok egyesítése után az oldatot szárazra pároltuk. A desztillációs maradékot 750 ml peroxidmentes éterben oldottuk, az oldathoz 1 ml desztillált vizet, majd 180 ml lúgot /60 ml 30 %-os KOH-os metanol és 120 ml 85 %-os vizes metanol, elegye/ adva elhidrolizáltuk. 12 órai reakcióidő után a kivett minta 95 %-os vizes metanol és petroléter között teljesen hipofázikusan oszlott meg, a hidrolizis tehát befejeződött. Az éteres oldatot desztillált vízzel lúgmentesre mostuk,

vizmentes Na_2SO_4 -tal megszárítottuk, bepároltuk. A maradékot 300 ml 50 %-os benzol-petroléter elegyben vettük fel, s az oldatot 3 db 6-os CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon kromatografáltuk. Fejlesztő oldószerként 50 %-os, majd 55 %-os benzol-petrolétert alkalmazva a következő kromatogramot nyertük:

λ_{max} -ok petroléterben			
3 piszkos okkersárga	-	-	-
2 sárga	-	-	-
/1/ 3 narancssárga	-	-	-
/2/ 50 sárga	470	439	417
/3/ 15 narancssárga	453	427	405
/4/ 60 sárga	425	402	/380/
/5/ 10 halvány narancssárga	-	-	-
le mosódott az oszlopról egy 10 mm-es halványsárga zóna			

Feldolgozás után a /2/-es, /3/-as és /4/-es festékek oldatainak kis mennyiségével elvégeztük a furanoid-próbát és a LiAlH_4 -es redukciót. A reakciók eredményei alapján megállapítottuk, hogy a /2/-es festék maradék violaxantin, a /3/-as festék apo-10'-violaxantal /XXVIII/, a /4/-es festék apo-12'-violaxantal /XXXI/.

Az azonosító vizsgálatok elvégzése után az oldatokat bepároltuk, a violaxantint forró metanolból kristályosítottuk, az oxidációs termékeket nyomnyi forró benzolból petroléterrel csaptuk ki. A violaxantin-oldatból 66 mg anyag kristályosodott ki. Az anyalúgból további 20 mg-ot nyertünk. Az apo-10'-violaxantal oldatából 11 mg anyag vált ki; op.: 114-115 °C. A tisztára kromatografált anyalúgból 3,5 mg anyagot nyertünk; op.: 94-95 °C. Apo-12'-violaxantalból az első kicsapás során 4,3 mg keletkezett; op.: 75-77 °C. Mivel sok festék maradt az anyalúgban, a műveletet megismételtük. Ezúttal 20 mg anyag vált ki; op.: 71-73 °C.

Az apo-10'-violaxantal és az apo-12'-violaxantal szerkezetének szabatos igazolására elkészítettük az anyagok IR- és MS-spektrumát. Benzolos és n-hexános oldatban meghatároztuk a vegyületek molextinkcióértékeit is /VI. táblázat; 49. oldal/.

3./ Az oxidatív lebontás alkalmazása természetben előforduló monocisz karotinoid-epoxidok térszerkezetének meghatározására

a./ A természetes violeoxantin térszerkezetének meghatározása

Violeoxantin acetilálása

A Viola tricolor fitoxantinjaiból főkomponensként izolált violeoxantinból 400 mg-ot 8 ml abszolút piridinben oldottunk. Az oldatot 16 ml abszolút benzollal hígítottuk, majd 1,2 ml acetilkloridot adtunk hozzá, melyet 8 ml abszolút piridin és 16 ml abszolút benzol elegyével jól összeráztunk. A reakcióelegyet csiszolatos gömblombikban nitrogénatmoszférában sötétben rázógéppel 90 percen át rázattuk. Az oldatot redős szűrőpapíron át kb. 300 ml petroléterbe szűrtük, választótölcsérben híg NaHCO_3 -oldattal piridinmentesre mostuk, vízmentes Na_2SO_4 -tal megszárítottuk, majd szárazra pároltuk. A maradékot kevés forró benzolban oldottuk és metanol hozzáadásával kristályosítottuk. 198 mg anyag vált ki; op.: 152-155 °C. Kristályosítás után megvizsgáltuk az előállított violeoxantin tisztaságát. Az anyag kis mennyiségének petroléteres oldatát 2-es CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon

kromatografálva egyetlen egységes zónát nyertünk. A vegyület petroléteres oldatának λ_{max} -ai /465, 435 és 412 nm/ azonosak voltak a kiindulási anyag λ_{max} -aival. Ezen eredmények alapján kizártuk a violaxantin-diacetáttá történő részleges átizomerizálódás lehetőségét.

A violeoxantin-diacetát lebontása lúgos kálium-permanganáttal

45 mg violeoxantin-diacetátot 136 ml tiofénmentes benzolban oldottunk, az oldatot két egyenlő részre osztva 330 ml-es csiszolatos folyadékküvegekben a szokásos körülmények között 50 percig oxidáltuk. Az alkalmazott kísérleti körülmények helyességéről előzőleg két 5 mg-os oxidáció útján győződünk meg. A reakciólogya feldolgozása után nyert benzolos oldatot szárazra pároltuk. A szilárd maradékot 250 ml peroxidmentes éterben oldottuk, 10 csepp vízzel történő telítés után 72 ml lúg /24 ml 30 %-os KOH-os metanol és 48 ml 85 %-os vizes metanol elegye/ felhasználásával elhidrolizáltuk. A hidrolízis befejezése után az éteres oldatot bepároltuk. A kapott anyagot 30 %-os benzol-petroléterben oldottuk, majd 2 db 5-ös CaCO_3 -os /Biogal : Schuhardt = 3 : 1/ osz-

lopon a fenti összetételű oldószereleggyel kromatografáltuk. Ekkor a következő kromatogramot nyertük:

		λ_{max} -ok /nm/ n-hexánban		
	2 liláspiros	-	-	-
/1/	4 sárga	465	435	412
/2/	8 narancssárga	449	424	/405/
/3/	12 citromsárga	422	398	/380/
	8 halvány narancssárga /nem egységes/	-	-	-
/4/	8 narancssárga	453	427	405
/5/	25 citromsárga	425	401	//383//

A kromatográfiás feldolgozás után a nyert termékeket LiAlH_4 -es redukcióval, furanoid-reakcióval, megoszlási próbákkal, izomerizációs próbákkal és autentikus mintákkal történő összekromatografálás útján azonosítottuk. A LiAlH_4 -es redukciók, a furanoid-reakciók és a megoszlási próbák eredményeit a IX. táblázat /69. oldal/ foglalja össze. A táblázat adatai alapján arra következtettünk, hogy a /4/-es festék össz-transz apo-10'-violaxantal, az /5/-ös festék össz-transz apo-12'-violaxantal, a /2/-es festék monocisz apo-10'-violaxantal, a /3/-as festék monocisz apo-12'-violaxantal. Az /1/-es festék λ_{max} -ai alapján változatlan violeoxantin. A /4/-es és /5/-ös fes-

tékek kis mennyiségét az össz-transz violaxantin-di-acetát lebontásakor nyert apo-10'-violaxantal, illetve apo-12'-violaxantal kis mennyiségével kromatografáltuk össze 2-es CaCO_3 -os oszlopon. Mindkét esetben egyetlen egységes zónát kaptunk.

A /2/-es és /3/-as festékek szabatos azonosítása céljából izomerizációs próbákat végeztünk. A /2/-es festék jódoz izomerizációja, majd az izomerizációs elegy feldolgozása után nyert oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal : Schuchardt = 3 : 1/ oszlopon 30 %-os benzol-petroléterrel kromatografálva a következő kromatogramot nyertük:

		λ_{max} -ok /nm/ n-hexánban		
	1/2 sárga	-	-	-
/21/	1 sárga	466	436	413
/22/	8 narancssárga	449	424	/402/
/23/	6 sárga	471	439	418
/24/	20 diffúz halvány narancssárga	452	427	/405/
/25/	20 narancssárga	453	427	/405/

Az egyes zónák feldolgozása után elvégzett azonosító vizsgálatok / LiAlH_4 -es redukció, furanoid-reakció/ eredményei szerint az izomerizációs elegy főkomponen-

so a /25/-ös festék, mely össz-transz apo-10'-violaxantal. Ezt megerősítette az a kísérleti tapasztalat is, hogy a /25/-ös festék a violaxantin-diacetát lebontásakor nyert apo-10'-violaxantaltól keverékkromatogramon nem vált el. A /22/-es festék azonos a kiindulási anyaggal, mely monocisz apo-10'-violaxantal.

A /3/-as festék jódos izomerizációjának termékeit ugyancsak 3-as CaCO_3 -os /Biogal : Schuchardt = 3 : 1/ oszlopon kromatografáltuk. A 30 %-os benzol-petroléterrel történő fejlesztéskor nyert kromatogram:

		λ_{max} -ok /nm/ n-hexánban		
/31/	1 sárga	464	434	410
/32/	5 sárga	423	400	/380/
/33/	15 sárga	426	401	/382/
/34/	5 diffúz sárga	422	399	/380/

Feldolgozás után elvégezve az egyes komponensek LiAlH_4 -es redukcióját, furanoid-reakcióját, arra következtettünk, hogy az izomerizációs elegyben főként megkönt jelenlevő /33/-as festék össz-transz apo-12'-violaxantal. A festék kis mennyiségét 2-es CaCO_3 -os /Biogal : Schuchardt = 3 : 1/ oszlopon 30 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve összekromatografáltuk az össz-transz violaxantin-diacetát lebontásakor izolált

össz-transz apo-12'-violaxantal kis mennyiségével, a kromatogram egységes volt. A /32/-es festék λ_{max} -ai a kiindulási monocisz apo-12'-violaxantálnak felelnek meg.

b./ A természetes neoxantin és a neoxantin-X térszerkezetének igazolása

Neoxantin acetilálása

Juharlevél fitoxantinjaiból izolált neoxantinból 290 mg-ot /op.: 131-132 °C/ 6 ml abszolút piridinben oldottunk, majd az oldatot 15 ml abszolút benzollal higitottuk. 0,8 ml acetilkloridot 6 ml abszolút piridin és 15 ml abszolút benzol elegyével jól összeráztunk, majd a keletkező csapadékos oldatot a neoxantin oldatához öntöttük. A reakcióelegyet csiszolatos gömblombikban nitrogénatmoszférában sötétben 150 percig ráztattuk. A reakcióidő letelte után a lombik tartalmát redős szűrőn át kb. 250 ml, kevés benzolt is tartalmazó petroléterbe szűrtük. Az oldatot választótölcsérben desztillált vízzel piridinmentesre mostuk /20-szori mosás/, vizmentes Na_2SO_4 -tal megszáritottuk, majd vákuumban szárazra pároltuk. A neoxantin-diacetátot tiszta petroléterből kristályosítva



220 mg anyagot nyertünk; op.: 118-120 °C. Az anyalúg bepárlása után újra kristályosítottuk a neoxantin-diacetátot éter-petroléter elegyből. Szép tű alakú kristályok formájában újabb 83 mg anyag vált ki; op.: 120-121 °C. A permanganátos lebontáshoz az anyalúgból nyert 83 mg anyag egy részét használtuk fel, melynek tisztaságát oszlopkromatográfiával ellenőriztük. Az anyag kis mennyiségét /0,1 - 0,2 mg/ 4-5 ml 30 %-os benzol-petroléterben oldottuk, majd 2-es CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon kromatografáltuk; a kromatogram egységes volt. A festék benzolos oldatának $\lambda_{\text{max-ai}}$ /479, 448 és 422 nm/ megegyeztek a kiindulási neoxantin $\lambda_{\text{max-ai}}$ -al. Ezen eredmények igazolják, hogy az előállított neoxantin-diacetát tiszta, az acetilálás során tehát nem történt izomerizáció.

A neoxantin-diacetát oxidatív lebontása

Az oxidáció körülményeinek megállapítása céljából elvégzett előkísérletekből arra következtettünk, hogy a vegyület érzékenyebb az oxidációra, mint az eddig vizsgált karotinoid-epoxidok és -furanoid-oxidok. Az említett vegyületek oxidációjához használt $1,9 \cdot 10^{-2}$ mol/l koncentrációjú lúgos KMnO_4 -oldat / Na_2CO_3 -ra $3,1 \cdot 10^{-2}$ molos/ a neoxantin-diacetát lebontására

töménynek bizonyult, hatására 50 perces reakcióidő alatt a festék nagy része elpusztult. A nagymérvű pusztulás megakadályozása céljából csökkentettük a reakcióidőt, valamint a KMnO_4 -oldat koncentrációját; az eredeti $1,9 \cdot 10^{-2}$ mol/l koncentrációjú KMnO_4 -oldatot $1,3 \cdot 10^{-2}$ mol/l koncentrációjúra higitottuk $3,1 \cdot 10^{-2}$ mol/l koncentrációjú Na_2CO_3 -oldattal. Az így nyert KMnO_4 -oldatot használtuk fel a további kísérletekhez. A neoxantin térszerkezetének megállapítása céljából elvégzett kísérletünkben 22,7 mg neoxantin-diacetátot 68 ml tiofénmentes benzolban feloldtunk, az oldathoz 68 ml frissen higitott lúgos KMnO_4 -oldatot adtunk. A kétfázisú rendszert 328 ml-es csiszolatos folyadéküvegben a szokott körülmények között 30 percig rázattuk. A reakcióelegy feldolgozása után a benzolos oldatot bepároltuk, a száraz maradékot 120 ml peroxidmentes éterben oldottuk. Az oldatot 10 csepp vízzel telítettük, majd 30 ml lúg /10 ml 30 %-os KOH-os metanol és 20 ml 85 %-os vizes metanol/ felhasználásával elhidrolizáltuk. A hidrolizist 20 óra elteltével az oldat lúgmentesre mosásával szakítottuk meg. Vizmentes Na_2SO_4 -tal történő szárítás után az oldatot szárazra pároltuk, a maradékot 40 %-os benzol-petroléterben oldottuk. Az oldatot 5-ös CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon 40 %-os benzol-petroléterrel kromatografálva az alábbi kromatogramot nyertük:

		$\lambda_{\text{max-ok}} / \text{nm} / \text{benzolban}$		
/1/	7 sárga	479	448	422
	4 halványsárga			
	8 halványsárga			
/2/	15 narancssárga	-	-	-
	10 halványsárga			
/3/	15 narancssárga	/462/	437	
/4/	15 sárga	/434/	410	

Feldolgozás után elvégeztük az /1/-es, a /3/-as és a /4/-es festékek LiAlH_4 -es redukcióját és furanoid-reakcióját. E vizsgálatok eredményei /XIII. táblázat/ alapján arra következtettünk, hogy az /1/-es festék maradék neoxantin, a /3/-as festék monocisz apo-10'-violaxantal, a /4/-es festék monocisz apo-12'-violaxantal. A /3/-as és /4/-es festékek szabatos azonosítására keverékkromatográfiás vizsgálatokat végeztünk. Autentikus minták a violeoxantin-diacetát monocisz lebontási termékei voltak. A /3/-as festéket a 9-cisz apo-10'-violaxantallal, a /4/-es festéket a 9-cisz apo-12'-violaxantallal kromatografáltuk össze 2-es CaCO_3 -os /Biogal :Schuchardt = 3 : 1/ oszlopokon. A kromatogramokat 30 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve mindkét esetben egységes zónákat kaptunk.

XIII. táblázat

Neoxantin lebontási termékei	$\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}/$								
	Benzolban			Furanoid-reakció u- tán benzolban			LiAlH ₄ -es redukció után benzolban		
/1/	479	448	422	460	430	407	479	448	422
/21/	/440/	417		/440/	417		400	378	358
/22/	///470///	440	/417/	///470///	440	/417/	400	377	358
/23/	437	/417/		/440/	417		424	398	376 /358/
/24/	434	414		414	/392/		424	398	376 /358/
/3/	/462/	437		/440/	417		425	399	378
/4/	/434/	410		/410/	390		396	374	355

A /2/-os festők üszenótólónok vizsgálataira az oldatot 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon újrakromatografáltuk. A kromatogramot 40-50 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve a következő zónákat figyeltük meg:

		λ_{max} -ok /nm/ benzolban		
/21/	5 narancssárga	/440/	417	
/22/	8 pirosas rózsaszín	//470//	440	/417/
/23/	20 okkersárga /nem egységes/	437	/417/	
/24/	40 halvány citromsárga /nem egységes/	434	414	

A feldolgozást követően elvégeztük a festékkoldatok furanoid-reakcióját és LiAlH_4 -es redukcióját. A /21/-es és /22/-es festékek nem furanoidizáltak, viszont redukálódtak /XIII. táblázat/. Ezek a tapasztalatok arra utalnak, hogy a /21/-es és /22/-es festékek al-lénkötést tartalmazó apo-karotinalok. A /23/-as és /24/-es festékeket nem sikerült azonosítanunk, mivel nem voltak egységesek.

Neoxantin-X-diacetát előállítása neoxantin-diacetát
jódos izomerizációjával

49 mg neoxantin-diacetátot /op.: 120-121 °C/ 200 ml benzolban oldottunk. Az oldathoz 1 ml 1mg/ml koncentrációjú benzolos jóddoldatot adtunk /a jódnemnyisége a festék mennyiségének kb. 2 %-a/. Az izomerizációs elegyet laboratóriumi fényben 30 percig állni hagytuk, majd híg $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ -oldattal jódméntesre mostuk, vizmentes Na_2SO_4 -tal megszárítottuk és bepároltuk. A maradékot 100 ml 30 %-os benzol-petroléterben oldottuk, az oldatot 2 db 6-os CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon kromatografáltuk. 30 %-os, majd később 50 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve az izomerizációs elegy a következő komponensekre vált szét:

	$\lambda_{\text{max-ok}} / \text{nm} / \text{benzolban}$		
1 halványsárga	-	-	-
/1/ 20 sárga	478	448	422
/2/ 30 halványabb sárga	476	445	420
/3/ 120 sárga	483	452	426

Feldolgozás után a termékeket benzolos oldataikban felvett UV és látható spektrumuk $\lambda_{\text{max-ai}}$, valamint a spektrumok finomszerkezete alapján azonosítottuk. Az /1/-es festék $\lambda_{\text{max-ai}}$ a kiindulási neoxantin-di-

acetátra jellemzőek, a /3/-as festék λ_{max} -ai a neoxantin-X-diacetátnak felelnek meg. A /2/-es festék a neoxantin-diacetát valamelyik cisz izomerje. Azonosítás után mindenekelőtt a neoxantin-X-diacetátot kristályosítottuk nyomnyi éter segítségével petroléterből. Piros színű polarizáló kristályok formájában 22,4 mg neoxantin-X-diacetát keletkezett; op.: 128-130 °C. A vegyület tisztaságát oszlopkromatográfiával ellenőriztük, a kromatogram egységes volt.

A neoxantin-X-diacetát oxidatív lebontása

22,4 mg neoxantin-X-diacetátot /op.: 128-130 °C/ 68 ml tiofénmentes benzolban oldottunk. Az oldathoz 68 ml $1,3 \cdot 10^{-2}$ mol/l koncentrációjú lúgos KMnO_4 -oldatot adtunk. A reakcióelegyet 328 ml-es csiszolatos folyadéküvegben ugyanolyan körülmények között ráztuk, mint a neoxantin-diacetát oxidációs elegyét. A feldolgozást és a hidrolizist is a neoxantin-diacetát lebontásánál ismertetett módon végeztük /118. oldal/. Hidrolizis után az éteres oldatot bepároltuk, a maradékot 40 %-os benzol-petroléterben oldtottuk. Az oldatot 5-ös CaCO_3 -os /Biogal : Schuchardt = 3 : 1/ oszlopon a fenti oldószereleggyel kromatografálva a következő kromatogramot kaptuk:

		λ_{max} -ok /nm/ benzolban		
/1/	5 narancssárga	482	451	426
	1 pirosas rózsaszín			
	,3 sárga			
/2/	5 narancssárga	-	-	-
	3 sárga			
	2 halvány pirosas rózsaszín			
/3/	15 narancssárga	/466/	441	
/4/	20 sárga	/438/	414	

Az egyes zónák festékeinek feldolgozása után az /1/-es, a /3/-as és a /4/-es festékeket LiAlH_4 -del redukáltuk, majd elvégeztük e komponensek furanoid-reakcióját is. A reakciók eredményei / XIV. táblázat/ arra utaltak, hogy az /1/-es festék a kiindulási neoxantin-X-diacetáttal, a /3/-as festék az össz-transz apo-10'-violaxantallal, a /4/-es festék az össz-transz apo-12'-violaxantallal azonos. Azt, hogy a /3/-as festék valóban össz-transz apo-10'-violaxantal, a /4/-es festék pedig össz-transz apo-12'-violaxantal, keverékromatográfiás vizsgálatokkal igazoltuk. Autentikus minták a violeoxantin-diacetát össz-transz lebontási termékei voltak. A /3/-as festéknek az össz-transz apo-10'-violaxantallal, a /4/-es festéknek az össz-

-transz apo-12'-violaxantallal történő összekromatografálása egységes zónát eredményezett. Az összekromatografálásokat 2-es CaCO_3 -os /Biogal : Scuchar dt = = 3 : 1/ oszlopokon 30 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve végeztük.

A /2/-es festéket alkotó termékek vizsgálata céljából 3-as CaCO_3 -os /Biogal/ oszlopon újrakromatografáltuk a festék oldatát. A kromatogramot 50-55 %-os benzol-petroléterrel fejlesztve a következő zónákat kaptuk:

λ_{max} -ok /nm/ benzolban				
/21/	25 halvány narancssárga	/440/	416	
	2 halvány pirosas rózsaszín	-	-	-
/22/	8 pirosas rózsaszín	//470//	440	//415//
/23/	8 sárga	/435/	415	
/24/	60 halvány narancssárga /nem egységes/	/439/	/415/	

Az oldatok feldolgozása után mindegyik festéket LiAlH_4 -del redukáltuk, majd elvégeztük a furanoid-reakciókat is. A nyert eredmények /XIV. táblázat/ szerint a /21/-es, /22/-es és /23/-as festékek allénkötést tartalmazó lebontási termékek. A /24/-es festékkel keverék volta miatt nem foglalkoztunk.

XIV. táblázat

Neoxantin-X lebontási termékei	$\lambda_{\text{max.}}/\text{nm}/$								
	Benzolban			Furanoid-reakció u- tán benzolban			LiAlH ₄ -es redukció után benzolban		
/1/	482	451	426	460	430	407	482	451	426
/21/	/440/	416		//435//	416		399	377	358
/22/	//470//	440	//415//	//470//	440	//415//	428	402	380
/23/	/435/	415		//435//	413		398	376	356
/24/	439	415		414	390		-	-	-
/3/	/466/	441		/422/	419		429	402	381
/4/	/438/	414		/412/	392		399	377	358

IV. ÖSSZEFOGLALÁS

Karrer és munkatársainak a karotinoidok lúgos kálium-permanganáttal történő lebontására vonatkozó kísérletei alapján munkánk során sikerült kidolgoznunk az 5,6- és 5,8-karotinoid-epoxidok szemimikro méretű lebontásának módszerét.

A vizsgált vegyületekből e módszerrel történő lebontással C_{30} -, C_{27} -, és C_{25} -epoxi-apo-karotinalok keletkeztek, melyeket különböző oldószerekben felvett UV és látható spektrumaik, furanoid-reakciójuk és $LiAlH_4$ -es redukciójuk után nyert megfelelő származékaik UV és látható spektrumai, valamint megoszlásuk alapján azonosítottuk.

A lebontást preparatív méretekre is kiterjesztettük. Így a β -karotin-monoepoxid lebontásakor kristályosan izoláltuk az oxidáció főtermékét, az 5,6-epoxi-5,6-dihidro-8'-apo- β -karotin-8'-al-t, melynek szerkezetét kémiai viselkedése alapján, valamint a tárgyalt fizikai-kémiai módszerekkel /UV-, IR-, NMR-, MS-spektrumok vizsgálata/ igazoltuk.

A természetes violaxantinból előállított violaxantin-diacetát preparatív méretű lebontásával előállítottuk

a reakció főtermékeit az apo-10'-violaxantalt és az apo-12'-violaxantalt, majd a vegyületek kémiai reakciói, valamint az elvégzett műszeres vizsgálatok /UV-, IR-, NMR-, MS-spektrumuk felvétele/ eredményei alapján igazoltuk szerkezetüket is.

A szemimikro méretű lebontást felhasználtuk a természetben előforduló monocisz karotinoid-epoxidok sztereokémiai viszonyainak vizsgálatára is. A természetes violeoxantin-diacetátból, valamint neoxantin-diacetátból nyert lebontási termékek /apo-10'-violaxantal és apo-12'-violaxantal/ száma, térszerkezete és kémiai viselkedése alapján igazoltuk, hogy e vegyületek 9-monocisz karotinoid-epoxidok. A violaxantinból és a neoxantin-X-ből nyert össz-transz lebontási termékek e vegyületek össz-transz térszerkezetét bizonyították.

V. IRODALOM

- [1] P. KARRER - U. SOLMSEN, *Helv. chim. Acta* 20, 682. /1937/
- [2] P. KARRER - U. SOLMSEN - W. GUGELMANN, *Helv. chim. Acta* 20, 1020 /1937/
- [3] H. v. EULER - P. KARRER - U. SOLMSEN, *Helv. chim. Acta* 21, 211 /1938/
- [4] P. KARRER und Mitarbeiter, *Helv. chim. Acta* 21, 448 /1938/
- [5] P. KARRER - H. KÖNIG - U. SOLMSEN, *Helv. chim. Acta* 21, 445 /1938/
- [6] H. KÖNIG, *Diss. Universität Zürich*, 1940.
- [7] BONNETT, R. - MALLAMS, A.K. - SPARK, A.A. - TEE, J.L. - WEEDON, B.C.L.: *J. Chem. Soc. /C/* 1969, 429.
- [8] P. KARRER, *Helv. chim. Acta* 28, 474 /1945/
- [9] R. KUHN - H. BROCKMANN, *Ber.* 66, 1319 /1933/
- [10] ENZELL, C.R. - FRANCIS G.W. - S. LIAAEN-JENSEN, *Acta Chem. Scand.* 23, 727 /1969/
- [11] BALDAS, J. - PORTER, Q.N. - CHOLNOKY, L. - SZABOLCS, J. - WEEDON, B.C.L. *Chem. Commun.* 1966. 852.
- [12] R. KUHN - WINTERSTEIN, A. *Ber.* 64, 326 /1931/
- [13] P. KARRER - J. RUTSCHMANN, *Helv. chim. Acta* 25, 1624 /1942/
- [14] R. KUHN - H. BROCKMANN, *H.* 213, 192 /1932/

- [15] SZABOLCS, J. - TIMÁR L. Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 78, 315 /1973/
- [16] CURL, A.L.: J. Food Sci. 32, 141 /1967/
- [17] CURL, A.L.: J. Food Sci. 30, 13 /1965/
- [18] ZECHMEISTER, L.: Cis-trans Isomeric Caratenoids, Vitamins A and Arylpolyenes /Springer Verlag, Wien, 1962/
- [19] D.J. PATEL, Nature 221, 825 /1969/
- [20] U. SCHWIETER - G. ENGLERT - N. RIGASSI - W. VETTER, Pure Appl. Chem. 20, 365 /1969/
- [21] J. SZABOLCS: Some Studies on the Stereochemistry of Carotinoids /Fourth International Symposium on Carotinoids, August 25-29, 1975 Berne Switzerland/
- [22] SZABOLCS J. - TÓTH Gy., Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 66, 229 /1970/
- [23] L. PAULING, Fortschr. Chem. Org. Naturst. 3, 203 /1939/
- [24] CHOLNOKY, L. - GYÖRGYFY, K. - RÓNAI, Á. - SZABOLCS, J. - TÓTH, Gy. - GALASKO, G. - MALLAMS, A.K. - WRIGHT, E.S. - WEEDON, B.C.L.: J. Chem. Soc. /C/, 1969, 1256.
- [25] R. WILLSTÄTTER - A. STOLL, Untersuchungen über Chlorophyll, Methoden und Ergebnisse /Springer Verlag, Berlin, 1913/
- [26] N.I. KRINSKY: Analytical Biochemistry 6, 293 /1963/
- [27] P. KARRER - E. JUCKER, Helv. chim. Acta 28, 427/1945/

- [28] P. KARRER - E. JUCKER: Carotinoide, Birkhäuser Verlag, Basel, 1948.
- [29] O. ISLER: Carotenoids, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1971.
- [30] SZABOLCS József: Vizsgálatok a karotinoidok körében. Doktori értekezés, Pécs, 1974.
- [31] P. MOLNÁR - J. SZABOLCS, Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 72, 465 /1973/
- [32] BRUCKNER Győző: Szerves kémia I-II. Tankönyvkiadó, Budapest, 1961.
- [33] CSÁNYI L. - FARSANG Gy. - SZAKÁCS O.: Müszeres analízis. Tankönyvkiadó, Budapest, 1969.
- [34] J.C.P. SCHWARZ: Fizikai módszerek a szerves kémiában. Műszaki Könyvkiadó, Budapest, 1968.
- [35] I.M. HAIS - K. MACEK: A papirkromatográfia kézikönyve. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1961.
- [36] E. STAHL: Dünnschicht-chromatographie. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1962.

Köszönetet mondok Dr. Szabolcs József egyetemi docens úrnak, hogy megismertetett a karotinoidkémia alapjaival, valamint a karotinoidokkal kapcsolatos laboratóriumi munka módszereivel.

A kromatográfiás munkában nyújtott szakszerű technikai segítségért Steiler Antalnénak és Vidákovics Vincénének mondok köszönetet.

