

130. Beiträge zur Chemie der Carotinoide

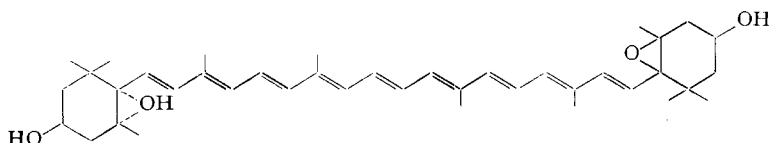
3. Mitteilung

Darstellung von 5-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotin

von E. C. Grob und W. Siekmann

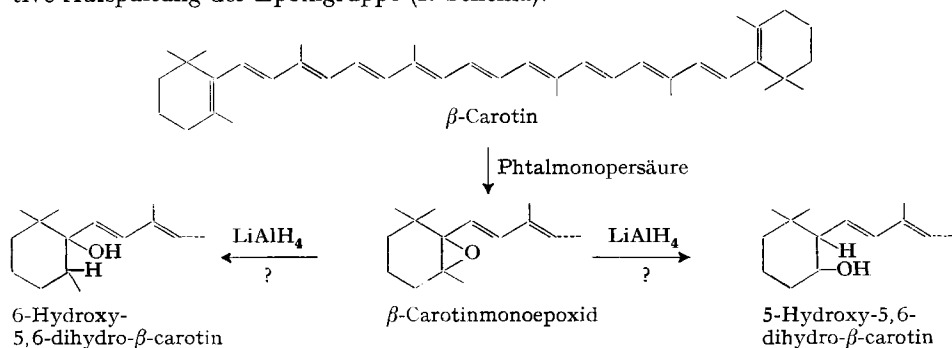
(15. V. 65)

1. *Einleitung.* Neoxanthin ist neben Lutein und Violaxanthin eines der am häufigsten vorkommenden Xanthophylle der grünen Blätter und wurde erstmals 1938 von STRAIN [1] beschrieben. GOLDSMITH & KRINSKY [2] veröffentlichten einen ersten Strukturvorschlag, der sich im wesentlichen auf die Absorptionsspektren, auf das äusserst hypophasische Verhalten und auf die Ergebnisse der Verbrennungsanalyse stützt. Neoxanthin ist hiernach ein 3,3',5 (oder 6)-Trihydroxy-5,6-dihydro-5',6'-epoxi- β -carotin:



Diese Arbeiten lieferten jedoch keine exakten Hinweise für die Stellung der dritten Hydroxylgruppe.

Wir versuchten, an Hand möglichst überschaubarer Reaktionen ein Carotinoid mit einer Hydroxylgruppe am C-5 oder C-6 darzustellen, um so Anhaltspunkte für die endgültige Konstitution des Neoxanthins zu finden. Als Reaktionsweg wählten wir die Darstellung des β -Carotinmonoepoxides aus β -Carotin und anschliessende reduktive Aufspaltung der Epoxigruppe (s. Schema).



Epoxide lassen sich nach KARRER & JUCKER [3] aus β -Carotin mit Phtalmonopersäure gewinnen. Dabei entstehen neben dem Mono- und Diepoxid auch deren furanoide Umlagerungsprodukte: Mutatochrom, Aurochrom und Luteochrom. Über weitere polare Reaktionsprodukte, die bei dieser Reaktion entstehen, haben wir früher berichtet [4]. Die Auftrennung dieser Produkte gelang durch Säulenchromatographie

an basischem Al_2O_3 mit Petroläther als Laufmittel. Die Carotinoide wurden sofort eluiert und kristallisiert. Durch Wiederholung dieser Operation erhielten wir schliesslich reines Carotinmonoepoxid.

2. *Die reduktive Aufspaltung des Epoxides.* Voraussetzung ist, dass das Reduktionsmittel ausschliesslich die Epoxigruppe, aber keine Doppelbindungen angreift. Als brauchbar erwies sich LiAlH_4 in Äther [5]. Theoretische Voraussagen über den wahrscheinlichsten Eintritt der OH-Gruppe liessen sich kaum machen, da zwei tertiäre Bindungen vorliegen, welche formal gleichwertig sind; in jedem Fall entsteht ein tertiärer Alkohol. Wenn wir allerdings die Ladungsverteilung der Elektronen in der β -Carotinmolekel betrachten, würden wir vielleicht eher einen Eintritt der OH-Gruppe in 5-Stellung erwarten [6].

3. *Die Reduktionsprodukte.* Fig. 1 zeigt das Dünnschichtchromatogramm der erhaltenen Reaktionsprodukte, wobei links das β -Carotinmonoepoxid und rechts seine Reduktionsprodukte aufgetragen sind. Von den entstandenen 3 Produkten ist das eine (Fig. 1, Zone 1) weit unpolarer, die zwei anderen (Fig. 1, Zone 2 u. Zone 3) aber sind polarer als das ursprüngliche Epoxid. Zone 2 enthält das Hauptprodukt, während in Zone 3 viel kleinere Substanzmengen enthalten sind. Zone 3 tritt nur bei vollständiger Reduktion der Epoxidgruppe sichtbar auf. Aus der Lage von Zone 2 und 3 zu schliessen, handelt es sich um Hydroxycarotinoide, welche sich einzig durch die Stellung der OH-Gruppe unterscheiden könnten.

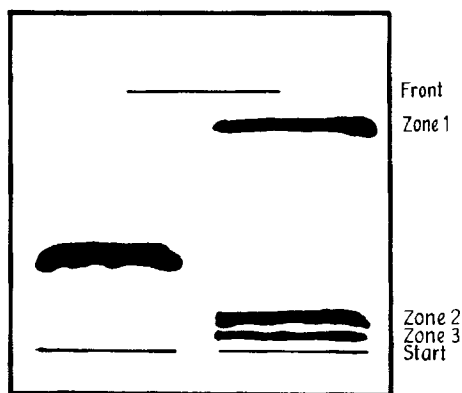


Fig. 1. Dünnschichtchromatogramm

Schichtmaterial: Kieselgel G MERCK; Laufmittel: Petroläther: Benzol 1:1
 Links: β -Carotinmonoepoxyd (auf der Platte umgelagert zu Mutatochrom)
 Rechts: Reduktionsprodukte

4. *Die Spektren.* – a) Im Sichtbaren zeigt das Produkt aus Zone 1 ein einziges Maximum bei 480 nm in CS_2 , während die Produkte aus Zonen 2 und 3 Maxima bei 503 und 473 nm aufweisen (Fig. 2). Die Spektren beider Produkte sind identisch. Ihre Maxima stimmen mit den für ein 5-(oder 6-)-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotin zu erwartenden Werten überein, da der Betrag der Violettverschiebung gegenüber dem längstwelligen Absorptions-Maximum von β -Carotin (521 nm in CS_2) dem Verlust einer konjugierten Doppelbindung entspricht.

b) *IR.-Spektren*: $O \leftrightarrow H$ -Valenzschwingung für Produkt aus Zone 2: 3610 cm^{-1} ; $O \leftrightarrow H$ -Valenzschwingung für Produkt aus Zone 3: 3570 cm^{-1} .

c) *NMR.-Spektren*: Das *NMR.-Spektrum von Zone 1* zeigt eine abnormal grosse CH_2 -Bande, was darauf schliessen lässt, dass Teilstücke der Kette hydriert wurden. Die Struktur dieser Verbindung wurde bislang nicht weiter abgeklärt. Im *NMR.-Spektrum von Zone 2* sind alle Banden mit der Struktur des 5-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotins vereinbar. Interpretation und Zuordnung der Banden gehen aus Fig. 3 hervor.

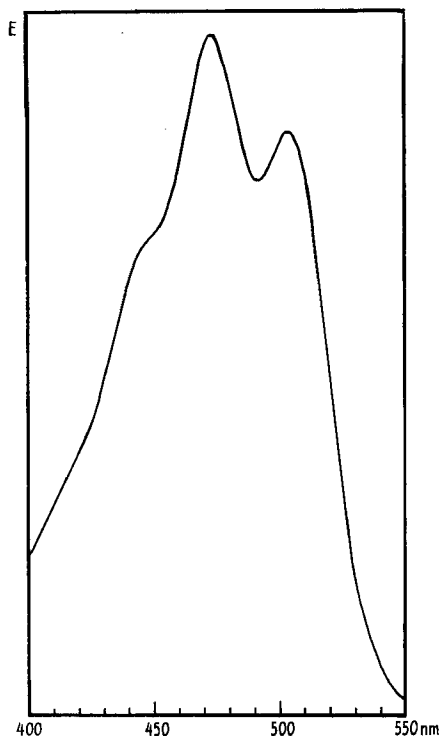


Fig. 2. Absorptionsspektrum von Zonen 2 und 3 (in CS_2)

Von dem Produkt aus Zone 3 konnte wegen zu geringer Ausbeute kein NMR.-Spektrum aufgenommen werden. Möglicherweise handelt es sich hierbei um das 6-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotin, da die R_f -Werte von Zone 2 und 3 sich nicht viel voneinander unterscheiden und die Spektren im Sichtbaren identisch sind.

5. Diskussion. Bei der Reduktion von β -Carotinmonoepoxid sind 2 Monohydroxycarotinoide zu erwarten, die unter unseren Versuchsbedingungen tatsächlich entstanden sind. Dem in grösserer Menge entstandenen wurde die Struktur des 5-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotins zugeschrieben. Möglicherweise ist das zweite Produkt das 6-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotin. Die OH-Gruppe scheint also bevorzugt in 5-Stellung einzutreten.

Aus Carotinoiden mit C-5-ständigen OH-Gruppen können durch Wasserabspaltung Carotinoide mit α - oder β -Jononringen entstehen. So würden sich aus Neoxanthin

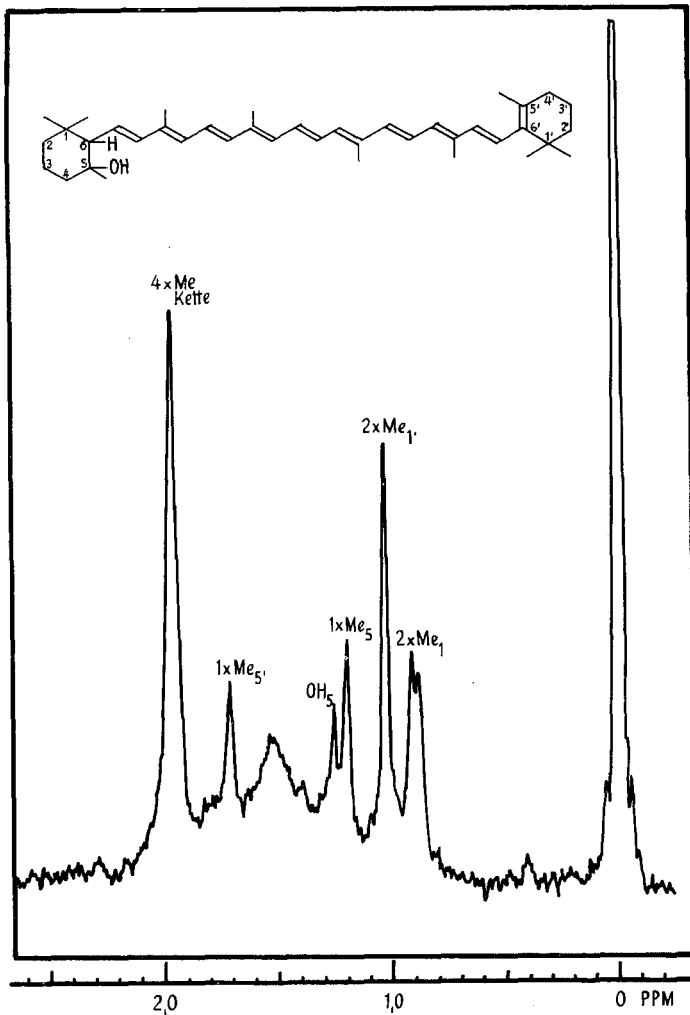


Fig. 3. NMR.-Spektrum von 5-Hydroxy-6- β -Carotin
Lösungsmittel: CS₂

durch H₂O-Abspaltung entweder Antheraxanthin (β -Struktur) oder Luteinepoxid (α -Struktur) bilden. Die Tatsache, dass in grünen Blättern Luteinepoxid, in grünen Algen aber vorwiegend Antheraxanthin vorkommt, wäre mit einer derartigen Biogenese vereinbar. Die reduktive Aufspaltung der Epoxigruppe des Antheraxanthins müsste als Reduktionsprodukt das 3,3',5-Trihydroxy-5,6-dihydro- β -carotin liefern. Ein solches Pigment, das Trollein, wurde von CURL & BAILEY [7] aus Orangen isoliert. KRINSKY u. Mitarb. wiesen Trollein kürzlich in *Euglena gracilis* nach [8] [9]. Auch beim Trollein wurde die Stellung der dritten OH-Gruppe bislang nicht exakt bestimmt. Unser Ziel ist, Trollein aus Antheraxanthin zu synthetisieren. Durch Epoxidierung von Trollein hoffen wir, zum Neoxanthin zu gelangen.

Experimentelles. – a) *Epoxidierung von β -Carotin.* 2,0 g β -Carotin werden in Äther gelöst und mit ätherischer Monoperphthalsäure, die verglichen mit der Molarität des β -Carotins den 1,7fachen Gehalt an aktivem Sauerstoff hat, 22 Std. bei Zimmertemperatur im Dunkeln belassen. Dann wird die Lösung 3mal mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung und 3mal mit H_2O gewaschen und darauf einige Stunden über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels im Rotationsverdampfer wird der Rückstand in möglichst wenig Petroläther gelöst. Chromatographische Auftrennung erfolgt an basischem Al_2O_3 (MERCK) der Aktivitätsstufe III-IV und mit Petroläther. Es ergeben sich folgende Fraktionen (nach zunehmender Polarität geordnet):

Bezeichnung	Länge der Zone cm	Farbe	Absorptionsmaxima in nm (CS_2)				
Eluat 1			(β -Carotin)				
Fraktion 2	3	bräunlich-gelb	499	470			
Fraktion 3	2	bräunlich-gelb	505	475			
Fraktion 4 ₁	7,5	bräunlich-gelb	483	455			
Fraktion 4 ₂		bräunlich-gelb	483	455			
Fraktion 4 ₃		braun-gelb	499	468	443		
Fraktion 5	2	braun-gelb	477	448	423		
Fraktion 6	1	orange-braun	452	426			
Fraktion 7	0,3	braun-rot	444	448	423	395	381

Nach erfolgter chromatographischer Auftrennung werden die Produkte sofort mit Aceton eluiert. Fraktion 3 enthält hauptsächlich β -Carotinmonoepoxid. Nach Umkristallisation des Rohproduktes aus Methanol-Benzol wird β -Carotinmonoepoxid durch erneutes Chromatographieren weiter gereinigt. Ausbeute ca. 60 mg.

b) *Reduktion des Epoxids.* Die wasserfreie ätherische Lösung des β -Carotinmonoepoxids wird mit dem 4–5-fachen molaren Überschuss von fein gepulvertem LiAlH_4 18 Std. unter Rückfluss gekocht. Danach wird das überschüssige LiAlH_4 durch tropfenweise Zugabe von Wasser vernichtet. Die Reaktionsprodukte haften zum grossen Teil an dem entstandenen $\text{Al}(\text{OH})_3$ -LiOH und werden durch öfter zu wiederholende Extraktion mit Äther/Aceton eluiert. Nach Eindengen werden die Reduktionsprodukte mittels Dünnschichtchromatographie getrennt. Sorptionsmittel: Kieselgel G MERCK, Laufmittel: Petroläther: Benzol 1:1. Ausbeute an 5-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotin: aus 60 mg β -Carotinmonoepoxid ca. 17 mg.

Wir danken der FIRMA HOFFMANN-LA ROCHE, Basel, für weitgehende Unterstützung dieser Arbeit. Herrn Dr. R. RÜEGG danken wir für die Anfertigung der NMR.-Spektren.

SUMMARY

By reduction of β -Carotene-monoepoxide with LiAlH_4 we have obtained a product with the probable structure of 5-Hydroxy-5,6-dihydro- β -carotene, as deduced from visible, IR. and NMR. spectra, as well as from thinlayer-chromatography data.

Organisch-Chemisches Institut
der Universität Bern

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] H. H. STRAIN, «Xanthophylls of Leafs», Carnegie Inst., Washington 1938.
- [2] T. H. GOLDSMITH & N. J. KRINSKY, *Nature* 497, 188 (1960).
- [3] P. KARRER & E. JUCKER, *Helv.* 28, 427 (1945).
- [4] E. C. GROB & W. SIEKMANN, *Chimia* 18, 103 (1964).
- [5] *Organic Reactions* 6, 476 (1951).
- [6] B. PULLMAN & A. PULLMAN, *Quantum Biochemistry*, Interscience Publishers, 1963, S. 730.
- [7] A. F. CURL & G. BAILEY, *J. Agr. Food Chemistry* 2, 685 (1954).
- [8] N. J. KRINSKY, A. GORDON & A. I. STERN, *Plant Physiol.* 39, 441 (1964).
- [9] N. J. KRINSKY & R. P. LEVINE, *Plant Physiol.* 39, 680 (1964).