

20. Die diastereomeren Mutatochrome. Trennung, absolute Konfiguration sowie chiroptische, spektroskopische und chromatographische Charakterisierung

von Walter Eschenmoser, Edith Märki-Fischer und Conrad Hans Eugster*

Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(12.X.83)

Diastereoisomeric Mutatochromes: Separation, Absolute Configuration, and Spectra and Chromatographic Behaviour

Summary

(5*S*, 6*R*)-5, 6-Epoxy-5, 6-dihydro- β , β -carotene (**2**), prepared from azafrinal (**1**) was rearranged in an acid-catalyzed reaction into the mixture of (5*S*, 8*S*)- and (5*S*, 8*R*)-5, 8-epoxy-5, 8-dihydro- β , β -carotenes = 'mutatochrome'. HPLC separation of the individual diastereoisomers led to the pure isomers for the first time. Their structures were assigned by analysis of the characteristic pattern of the signals of H-C(7) and H-C(8), respectively, in ¹H-NMR spectra. Although many reports of the occurrence of 'mutatochrome' exist, it is as yet not clear whether optically active or racemic forms predominate in nature. Combination of HPLC separations with UV/VIS and CD spectra should now allow an unambiguous identification of the isomer in question.

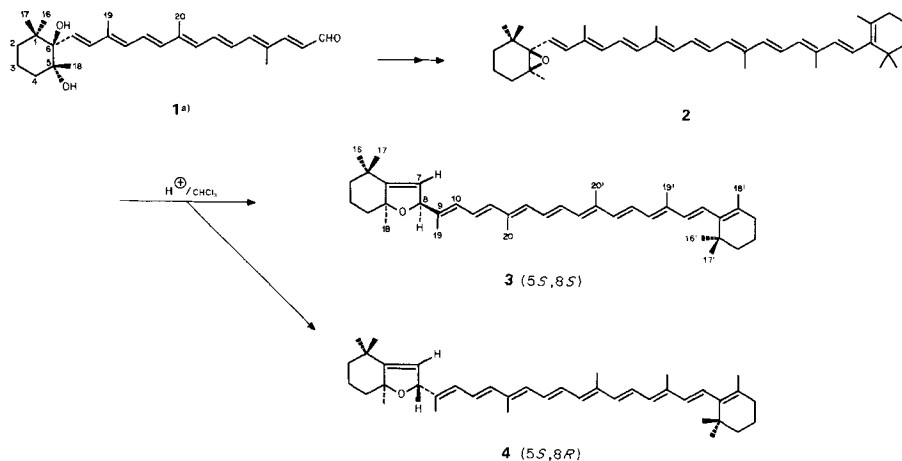
Vor einiger Zeit haben wir aus Azafrinal (**1**)¹⁾ das (5*S*, 6*R*)-5, 6-Epoxy-5, 6-dihydro- β , β -carotin (**2**) aufgebaut [4]. Es lag nun nahe, diese Verbindung in das furanoide «Mutatochrom» umzulagern und die zu erwartenden Diastereomeren zu trennen und ihre absolute Konfiguration festzulegen, wobei wir uns auf die ausführlichen spektroskopischen Befunde, die bei den Paaren Flavoxanthin/Chrysanthemaxanthin [5] beziehungsweise 5-Epiflavoxanthin/5-Epichrysanthemaxanthin [6] erarbeitet wurden, zu stützen hofften.

Seit der ersten Partialsynthese, die zu einem Gemisch der racemischen Diastereomeren geführt hatte [7] [8], ist «Mutatochrom» in der Natur oft nachgewiesen worden²⁾, leider aber nie soweit charakterisiert worden, dass eine Aussage über seine Einheitlichkeit und seine optischen Eigenschaften möglich geworden ist.

Wir haben nun **2** mit HCl/CHCl₃ in das Gemisch von **3** und **4** (und einigen (*Z/E*)-Isomeren) umgelagert, hierauf kristallisiert und dann an *Spherisorb S-5 CN* unter HPLC-Bedingungen in die Komponenten getrennt.

¹⁾ Absolute Konfiguration [1] [2]; Synthese des optisch aktiven Azafrins [3].

²⁾ Vergleiche die Listen in [9] und [10]. Zwischen 1967 und 1983 sind in Chem. Abstr. 63 Referate erschienen, die sich auf das Vorkommen von «Mutatochrom» in natürlichen Quellen beziehen.



^{a)} Die Reihenfolge der Numerierung der Methylgruppen an C(1) und C(1') ist mit den IUPAC-F-Regeln übereinstimmend. In den Arbeiten [4] [11–13] wurde eine davon abweichende Numerierung verwendet.

Tabelle. *Spektraldaten von 3 und 4*

| | | UV/VIS (EPA ^a), Raumtemperatur | | | | | | | | |
|------------------------|--|--|---|--|-----------------------|----------------------|-----------------------|--|--------|--------|
| 3 | | 250 (18 600), | 312 (5200), | 402 (93 600), | 425 (136 300), | 451 (123 900) | | | | |
| 4 | | 250 (22 100), | 312 (9400), | 402 (95 200), | 425 (139 900), | 451 (126 800) | | | | |
| rac. 3/4 ^{b)} | | | | 416 (sh, 77 000), | 437 (113 000), | 463 (101 000) | | | | |
| | | CD (EPA ^a), Raumtemperatur | | | | | | | | |
| 3 | | 251 (–5,45), | 314 (+1,85); | praktisch keine Änderung beim Kühlen auf –180° | | | | | | |
| 4 | | 248 (+3,7), | 315 (–1); | geringe Verstärkung beim Kühlen auf –180° | | | | | | |
| | | ¹ H-NMR (200 MHz, CDCl ₃) | | | | | | | | |
| | | CH ₃ (16')/ CH ₃ (17') | CH ₃ (16)/ CH ₃ (17) | CH ₃ (18) | CH ₃ (18') | CH ₃ (19) | CH ₃ (19') | CH ₃ (20)/ CH ₃ (20') | H–C(8) | H–C(7) |
| 3 | | 1,025 | 1,102/1,15 | 1,42 | 1,71 | 1,73 | 1,94 | 1,964 | 5,147 | 5,164 |
| 4 | | 1,028 | 1,112/1,177 | 1,459 | 1,71 | 1,79 | 1,94 | 1,967 | 5,064 | 5,23 |

^{a)} Et₂O/Isopentan/EtOH 5:5:2.

^{b)} Messwerte von [14] in Benzol.

(5S, 8S)-Mutatochrom (3). – Aus der weniger polaren Fraktion (s. *Fig. 1*) wurde ein reines Stereoisomer, Schmp. 156°, erhalten; UV/VIS- und CD-Daten, s. *Tab.* sowie *Fig. 2* und 3. Im ¹H-NMR-Spektrum fallen die Signale von H–C(7) und H–C(8) fast zusammen, zudem ist H–C(7) kaum aufgespalten und erscheint als breites S, so dass nach den Kriterien von [5] [6] eine *trans-Substitution am Dihydrofuran-Ring vorliegt*. Da die absolute Konfiguration von **1** und **2** bekannt ist und die säurekatalysierte Epoxyd-Umlagerung unter Erhalt der Konfiguration an C(5) erfolgt, kann diesem Diastereomer die (5S, 8S)-Chiralität im Sinne von **3** zugeordnet werden.

(5S, 8R)-Mutatochrom (4). – Aus der etwas polaren Fraktion (s. *Fig. 1*) wurden Kristalle, Schmp. 161°, erhalten. Spektraldaten, s. *Tab.* sowie *Fig. 2* und 3. Hier nun beträgt $\Delta\delta$ von H–C(7)/H–C(8) 0,17 ppm und H–C(7) erscheint als *d* mit $J = 1,4$ Hz.

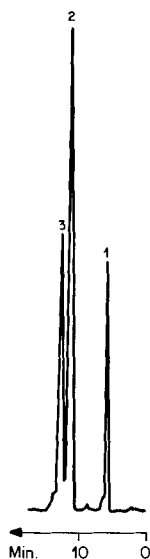


Fig. 1. HPLC-Trennung von rohem (kristallisiertem!) «Mutatochrom» an Spherisorb S-5 CN. Fluss 1,5 ml/Min.; Detektion bei 425 nm; Pik 1 = 2, Pik 2 = 3, Pik 3 = 4.

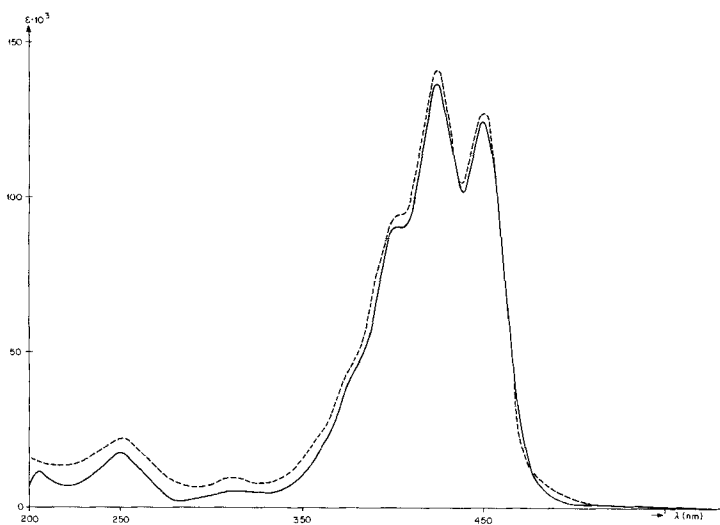


Fig. 2. UV/VIS-Spektren von 3 (—) und 4 (---) in EPA (s. Tab.). $c = 8,22 \cdot 10^{-6}$ mol/l bzw. $8,079 \cdot 10^{-6}$ mol/l.

Obschon die Unterschiede zwischen den Diastereomeren 3 und 4 gegenüber den an C(3) hydroxylierten Verbindungen [5] [6] geringer sind, kann, besonders auch im Vergleich mit den Aurochromen [15], diesem Stereoisomer Struktur 4 mit Sicherheit zugeordnet werden.

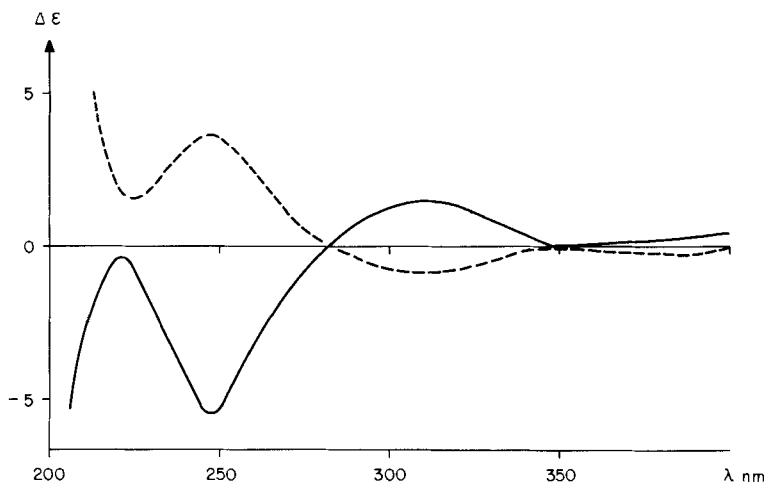


Fig. 3. CD-Spektren von **3** (—) und **4** (---) in EPA (s. Tab.).

Man wird in Zukunft aufgrund der hier angegebenen Daten leicht feststellen können, welches der Mutatochrome in der Natur vorkommt (voraussichtlich beide) und ob sie optisch aktiv oder racemisch sind. Für die durch Epoxydierung von β , β -Carotin hergestellten Diastereomere sind in der Literatur Schmelzpunkte zwischen 134° und 167° angegeben³⁾. Offensichtlich liegen Gemische von racemischen *cis*- und *trans*-Isomeren vor. Interessanter ist der Vergleich mit den wenigen Schmelzpunktangaben von aus natürlichen Quellen isoliertem Mutatochrom: Das von *Karrer & Jucker* [24] aus Orangenschalen isolierte «Citroxanthin», in [17] als identisch mit Mutatochrom erkannte Carotinoid, hatte Schmp. 167° . Der Vergleich mit den hier beschriebenen optisch aktiven Isomeren macht es wahrscheinlich, dass kein optisch aktives Diastereomer vorgelegen hat. Hingegen kann vermutet werden, dass das Carotinoid «Flavacin», welches von *Tischer* 1938 aus der Alge *Aphanizomenon flos-aquae* isoliert worden war [25], ein einheitliches Stereoisomer darstellte⁴⁾ und zwar aufgrund des Schmelzpunktes, der zur Zeit das einzige Vergleichskriterium ist, das (*5S*, *8S*)-Isomere **3** beziehungsweise sein Enantiomeres *ent*-**3** (*5R*, *8R*).

Bei neueren HPLC-Trennungen von natürlichen Carotinoidgemischen, s. z. B. [13], haben wir bisher Mutatochrome nur in so geringen Mengen nachweisen können, dass eine Bestimmung der Struktur nicht möglich war. Dabei erwiesen sich sehr verdünnte Lösungen als ungewöhnlich instabil.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die Unterstützung dieser Arbeit und den analytischen Abteilungen unseres Instituts für Spektraldaten.

³⁾ Schmp. 161° [7], 163 – 164° [8], 158° [16], 167° [17], 165 – 166° [18], 159 – 160° [14], 162° [19], 165 – 166° [20], 147° [21], 155° [22], 134° [23].

⁴⁾ Vgl. auch [26] und [21] [27].

Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [13].

Die Umlagerung von 35 mg **2** wurde in verdünnter CHCl_3 -Lösung mit etwas gas-förmigem HCl ausgeführt. Nach Ausschütteln mit NaHCO_3 -Lösung, Trocknen, Eindampfen und Umkristallisation aus Benzol/MeOH wurden 29,5 mg rote Kristalle, Schmp. 155–156°, erhalten; die Mutterlauge enthielt vor allem (*Z/E*)-Isomere. Die analytische Trennung an *Spherisorb S-5 CN* (250 × 4,6 mm) mit Lösungsmittel A/B 97:3 (A = Hexan + 0,1% *N*-Äthyl-diisopropylamin; B = CH_2Cl_2 + 0,25% MeOH; Fluss 1,5 ml/Min. und Detektion bei 425 nm) ergab, dass ein Gemisch der Diastereomeren Mutatochrome mit unverändertem **2** von 2:1 vorlag. Zur präparativen Trennung wurden die Mischkristalle in CH_2Cl_2 /Hexan 97:3 gelöst und in kleinen Portionen an einer Säule *Spherisorb S-5 CN* (250 × 22,5 mm) mit A/B 98:2 (Fluss 20 ml/Min., Druck 59 bar) getrennt. Alle Fraktionen, die sich in der anal. HPLC als einheitlich erwiesen, wurden vereinigt, die Lösungen eingedampft und die beiden Diastereomeren aus Et_2O /MeOH kristallisiert: 10,5 mg rohes **3** (rein 2,5 mg) 6,9 mg; rohes **4** (rein 2 mg) und 8,5 mg **2**. Daten s. *Tab.* und *Fig. 1–5*.

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *W. Eschenmoser & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 58, 1722 (1975).
- [2] *U. Vögeli, W. Eschenmoser & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 58, 2044 (1975).
- [3] *W. Eschenmoser, P. Uebelhart & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 65, 353 (1982).
- [4] *W. Eschenmoser & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 61, 822 (1978).
- [5] *H. Cadosch, U. Vögeli, P. Rüedi & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 61, 783 (1978).
- [6] *H. Cadosch, U. Vögeli, P. Rüedi & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 61, 1511 (1978).
- [7] *H. v. Euler, P. Karrer & O. Walker*, *Helv. Chim. Acta* 15, 1507 (1932).
- [8] *P. Karrer & E. Jucker*, *Helv. Chim. Acta* 28, 427 (1945).
- [9] *O. Straub*, 'Key to Carotenoids', Birkhäuser, Basel, 1976.
- [10] *T. W. Goodwin*, 'The Biochemistry of the Carotenoids', Chapman & Hall, London, 1980.
- [11] *W. Eschenmoser, P. Uebelhart & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 62, 2534 (1979).
- [12] *H. P. Märki & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 64, 1257 (1981).
- [13] *E. Märki-Fischer, U. Marti, R. Buchecker & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 66, 494 (1983).
- [14] *M. S. Barber, J. B. Davis, L. M. Jackman & B. C. L. Weedon*, *J. Chem. Soc.* 1960, 2870.
- [15] *M. Acemoglu & C. H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 67, 184 (1984).
- [16] *N. T. Gridgeman, R. F. Hunter & N. E. Williams*, *J. Chem. Soc.* 1947, 131.
- [17] *P. Karrer & E. Jucker*, *Helv. Chim. Acta* 30, 536 (1947).
- [18] *K. Tsukida & L. Zechmeister*, *Arch. Biochem. Biophys.* 74, 408 (1958).
- [19] *C. Bodea, E. Nicoara & T. Salontai*, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 648, 147 (1961).
- [20] *N. Suzuki*, *Chem. Pharm. Bull.* 9, 257 (1961).
- [21] *S. Hertzberg & S. Liaaen-Jensen*, *Phytochemistry* 6, 1119 (1967).
- [22] *L. Cholnoky, J. Szabolcs & G. Tóth*, *Justus Liebigs Ann. Chem.* 708, 218 (1967).
- [23] *P. Molnár & J. Szabolcs*, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 99, 155 (1979).
- [24] *P. Karrer & E. Jucker*, *Helv. Chim. Acta* 27, 1695 (1944).
- [25] *J. Tischer*, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 251, 109 (1938).
- [26] *P. Karrer & E. Jucker*, 'Carotinoide', Birkhäuser, Basel, 1948.
- [27] *S. Hertzberg, S. Liaaen-Jensen & H. W. Siegelman*, *Phytochemistry* 10, 3121 (1971).