

## 86. (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthin: Synthese, Schmelzverhalten, Spektren und Konformationsberechnungen

von Andreas Baumeler, Oliver Zerbe, Roland Kunz und Conrad Hans Eugster\*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstr. 190, CH-8057 Zürich

(28.XII.93)

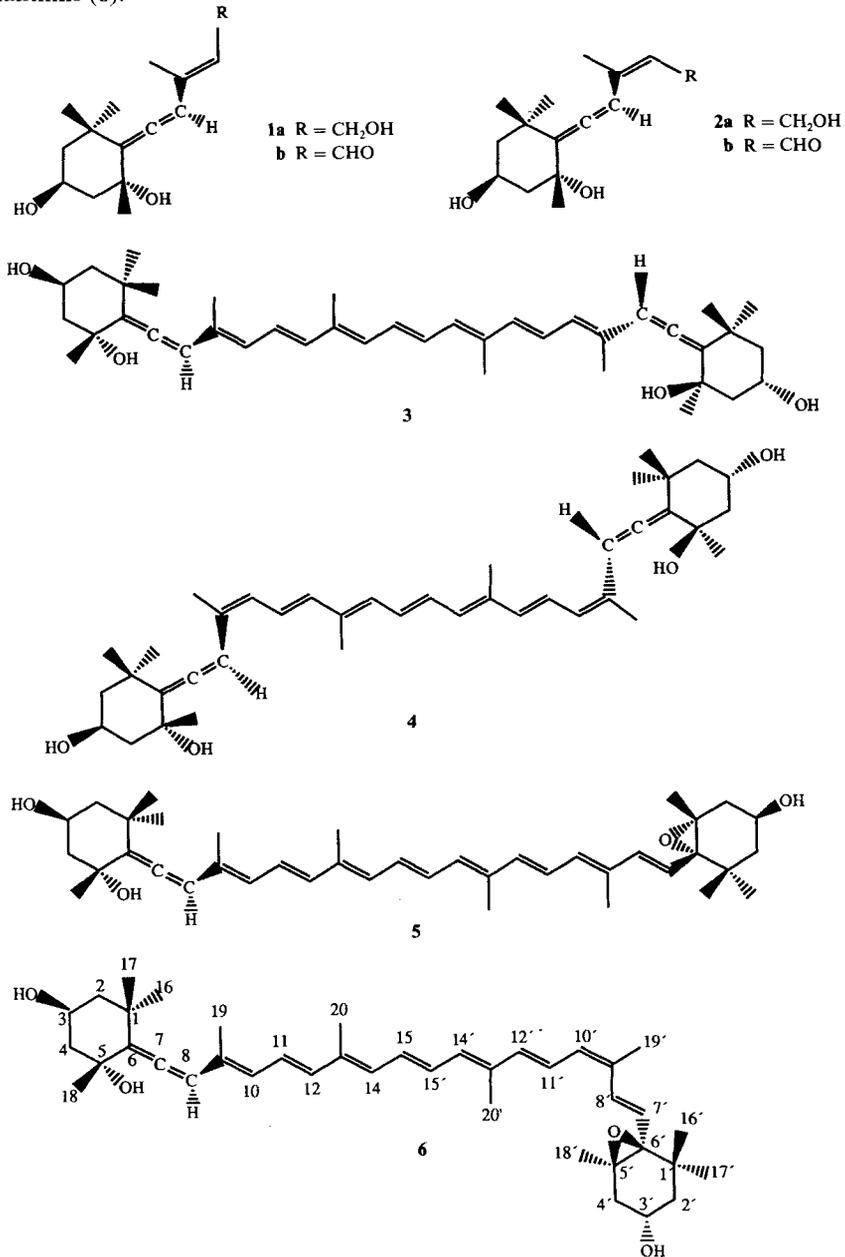
### (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthin: Synthesis, Physical Properties, Spectra, and Calculations of Its Conformation in Solution

The synthesis of pure and crystalline (9'*Z*)-neoxanthin (**6**) is described. MnO<sub>2</sub> Oxidation of (9*Z*)-C<sub>15</sub>-alcohol **7** at room temperature produces a mixture **8/9** of (9*Z*)- and (9*E*)-aldehydes. Predominant formation of the required (9*Z*)-aldehyde **8** is achieved by performing the oxidation at -10°. Condensation of **8** with the mono-Li salt of the symmetrical C<sub>10</sub>-diphosphonate **10** gave the (9*Z*)-C<sub>25</sub>-monophosphonate **11**. The Wittig-Horner condensation of **10** with the allenic C<sub>15</sub>-aldehyde **1b**, under selected conditions allows the preparation of pure and crystalline (9'*Z*)-15,15'-didehydroneoxanthin (**12**) and, after subsequent semireduction, of crystalline (15*Z*,9'*Z*)-neoxanthin (**13**). Thermal isomerisation of a AcOEt solution of **13** at 95° yields preferentially (9'*Z*)-neoxanthin (**6**). Our crystalline sample shows the highest ε-values in the UV/VIS spectra ever recorded. The CD spectra display a pronounced similarity with those of corresponding violaxanthin isomers. In contrast to the (all-*E*)-isomer **5**, (9'*Z*)-neoxanthin undergoes very little isomerisation when heated to its melting point. For comparison purposes, a crystalline probe of **6** is also isolated from lawn mowings. Extensive <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR investigations at 600 MHz of a (D<sub>6</sub>)benzene solution using 2D-experiments such as COSY, TOCSY, ROESY, HMBC, and HMQC techniques permit the unambiguous assignment of all signals. Force-field calculations of a model system of **6** indicate the presence of several interconverting conformers of the violaxanthin end group, 66% of which possess a pseudoequatorial and 34% a pseudoaxial OH-C(3'). The torsion angle (ω<sub>1</sub>) around the C(6')-C(7') bond, known to be of prime importance for the shape of the CD spectra, varies with values of 87° for 55% and 263° for 45% of the molecules. Therefore, the molecules clearly display a preference for the 'syn'-position of the C(7')=C(8') bond and the epoxy group. Unexpectedly, the double bonds of C(7')=C(8') and C(9')=C(10') are not coplanar. The deviation amounts to ± 20°, both in the 'syn'- and the 'anti'-conformation.

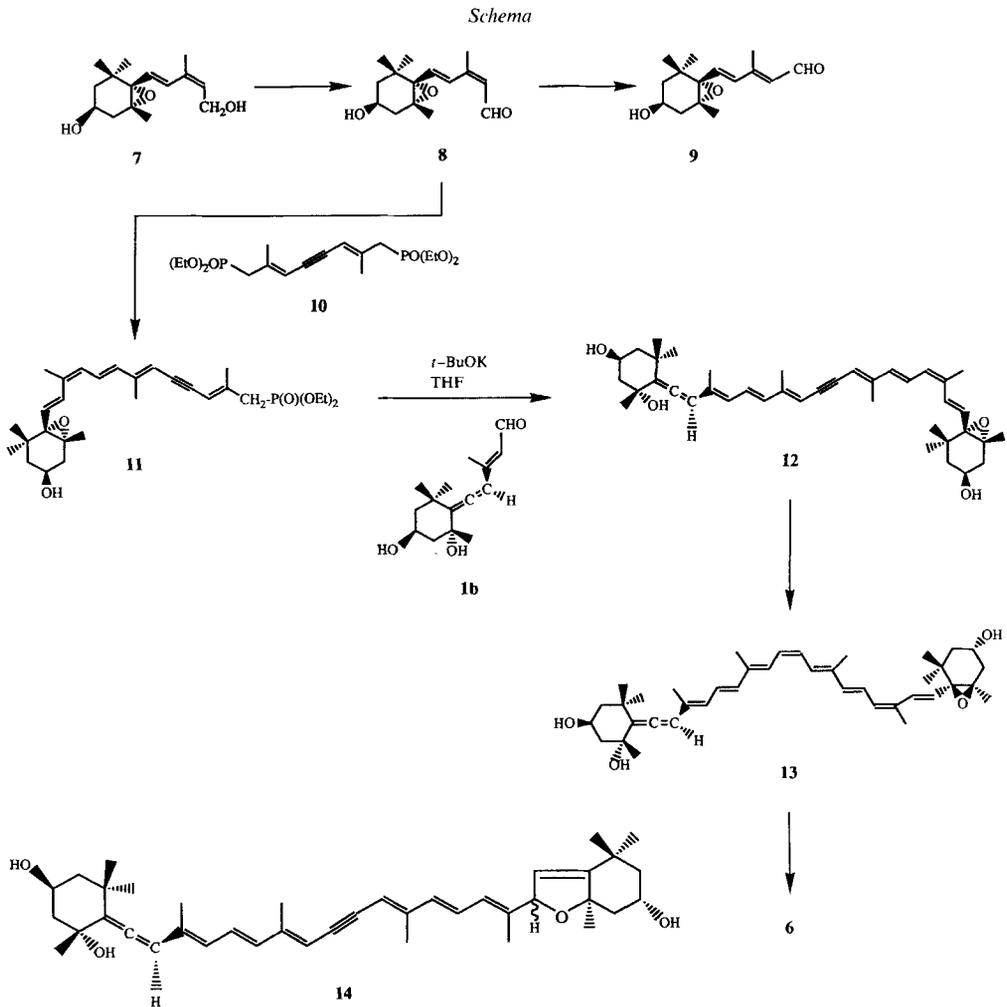
**1. Einleitung.** – Als ziemlich leicht zugängliche Ausgangsmaterialien für Synthesen von optisch aktiven und enantiomerenreinen Carotinoiden mit Allen-Endgruppen haben wir vor kurzem die (Z/E)-isomeren C<sub>15</sub>-Verbindungen **1** und **2** hergestellt [1]. Sie wurden zunächst für die Synthese der symmetrischen (6*R*,6'*R*,all-*E*)- und (6*R*,6'*R*,9*Z*,9'*Z*)-Mimulaxanthine (**3** bzw. **4**) eingesetzt [1] und anschliessend für diejenige des unsymmetrischen (6*R*,all-*E*)-Neoxanthins (**5**) [2]. Ein weiterer, in dieser Arbeit beschriebener Versuch, die Verbindungen **2a** und **2b** auch zur Synthese des biologisch anscheinend bedeutsameren<sup>1)</sup> (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthins (**6**) einzusetzen, führte unerwarteterweise zu

<sup>1)</sup> Von den seit 1967 bis Dezember 1993 in den *Chem. Abstr.* registrierten Zitaten von Publikationen über Neoxanthin und Isomeren ('registry numbers': 27780-09-2, 17708-84-8, 21888-03-9, 21888-02-8, 14660-91-4) beziehen sich 778 auf (9'*Z*)-Neoxanthin und 40 auf (all-*E*)- und weitere, strukturell nicht definierte Neoxanthin-Isomere. Neuere Untersuchungen, über die wir später zu berichten hoffen, zeigten allerdings, dass die gehäufte Entdeckung von **6** beziehungsweise die Nichtentdeckung von **5** in pflanzlichem Ausgangsmaterial im wesentlichen auf ungenügende analytische Methoden zurückzuführen ist: Wir haben bei der Untersuchung von bisher ca. 50 verschiedenen grünen Pflanzen keine einzige entdeckt, welche nur (9'*Z*)-Neoxanthin (**6**) enthält. In jedem Fall waren kleinere oder grössere Mengen an (all-*E*)-Neoxanthin (**5**) mit Leichtigkeit nachzuweisen.

einem Gemisch von Stereoisomeren, in welchem **6** zwar enthalten war, dessen Trennung jedoch grosse Schwierigkeiten bereitete. In der Folge konnten wir nun die Gründe für diesen Misserfolg ausfindig machen und die Synthese so steuern, dass der Aufbau von kristallisiertem, isomerenfreiem **6** möglich wurde. Sie wird anschliessend beschrieben, wie auch die eingehende spektroskopische Charakterisierung des erhaltenen (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthins (**6**).



**2. Synthese von (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthin (6; s. *Schema*).** – Unser erster Versuch, 6 von der Violaxanthin-Seite her nach dem Schema  $C_{15} + C_{10} \rightarrow C_{25}$  und  $C_{25} + C_{15} \rightarrow C_{40}$  aufzubauen, führte zu einem Gemisch von Stereoisomeren [2], in dem neben dem gesuchten 6 auch die (all-*E*)-Verbindung 5 sowie andere, bisher noch nicht identifizierte Isomere enthalten waren. Da die dabei verwendete  $C_{15}$ -Verbindung 7 ohne jeden Zweifel rein war (vgl. [2] [3]), konnte die Ursache für die unerwartete Isomerisation nur in einer der nachfolgenden Stufen liegen. Wir suchten sie zuerst in der Olefinierung 8→11, (s. *Schema*), da ja bekannt ist, dass die *Wittig-Horner*-Reaktion nicht nur Isomere bezüglich der neu erzeugten Doppelbindung liefert, sondern gleichzeitig auch entferntere konjugierte Doppelbindungen isomerisiert<sup>2)</sup>. Verschiedene Modifikationen in der Durch-



<sup>2)</sup> Ein neues Beispiel aus dem Carotinoid-Gebiet bietet unsere Synthese von Violaxanthin und Isomeren [4].

führung der Olefinierung zeigten jedoch rasch, dass der Hauptgrund für die Isomerisierungen nicht in der *Wittig-Horner*-Reaktion, sondern in der Oxidation von **7** zu **8** lag: wurde nämlich reines, kristallisiertes **7** mit  $\text{MnO}_2$  in AcOEt bei Raumtemperatur wie üblich oxidiert, so liessen sich gaschromatographisch 33% **9** neben ca. 65% **8** nachweisen. Ein Wechsel des Lösungsmittels gab keine wesentliche Verbesserung, jedoch konnte durch Senkung der Reaktionstemperatur die Bildung von **9** vermindert werden. Bei  $-5$  bis  $-10^\circ$  entstanden nur noch ca. 10% **9**. Allerdings musste die Reaktionszeit wesentlich verlängert werden. Damit war der Entscheid zur Benutzung der genannten Reaktionsabfolge gefallen<sup>3)</sup>4).

Nach dem in [2] beschriebenen Verfahren wurde demnach das Mono-Li-Salz **10** mit **8** zum  $\text{C}_{25}$ -Phosphonat **11** kondensiert (Ausbeute 65–70%). Nebenprodukte waren die (9*Z*,13*Z*)- (18–22%) und die (9*E*,13*E*)-Verbindungen (12%). Sie sind wohl auf die erwähnte Isomerisation während der *Wittig-Horner*-Reaktion sowie auf den Gehalt von **9** in **8** zurückzuführen. Durch rasche Säulenchromatographie an Kieselgel liess sich **11** bis auf einen Gehalt von 95% anreichern; der Rest war vor allem das (9*E*,13*E*)-Isomer.

Die Verknüpfung von **11** mit dem  $\text{C}_{15}$ -Allenaldehyd **1b** mittels *t*-BuOK/THF bei  $-60^\circ$  ergab das gelborange, kristallisierte (6*R*,9'*Z*)-15,15'-Didehydroneoxanthin (**12**) in 43% Ausbeute. Seine CD- und  $^1\text{H-NMR}$ -Spektren weichen nur wenig von den in [2] publizierten Werten ab (s. *Kap. 3* und *Exper. Teil*). Jedoch kommt in den quantitativen UV/VIS-Spektren die nun erreichte höhere Reinheit deutlich zum Ausdruck (s. *Kap. 3*). Die partielle Reduktion der Acetylen-Bindung in **12** mit *Lindlar*-Katalysator ergab kristallines (6*R*,15*Z*,9'*Z*)-Neoxanthin (**13**). Auch hier zeigen die Extinktionswerte die erhöhte Reinheit gegenüber der in [2] beschriebenen Verbindung deutlich an. Im  $^1\text{H-NMR}$  von **13** liegen im Vergleich zu **6** [5] die chemischen Verschiebungen von  $\text{H-C}(15,15')$  um ca. 0,2 ppm tiefer, diejenigen von  $\text{H-C}(14,14')$  um ca. 0,4 ppm höher und entsprechen damit den von *Englert* angegebenen Werten [6]. Die selektive Isomerisation von **13** zu **6** konnte weder mit  $\text{I}_2$  noch mit Licht erreicht werden (Bildung komplizierter Gemische). Beobachtungen beim Schmelzverhalten von **13** (s. *Kap. 3*) zeigten, dass die rein thermische Behandlung zu einer bevorzugten (*Z/E*)-Isomerisation der zentralen Doppelbindung führte, und dass die offenbar stabilere (9'*Z*)-Bindung dabei nur wenig berührt wurde. Gute Resultate erhielten wir durch 5 h Erhitzen von **13** in AcOEt bei  $97^\circ$  unter Schutzgas und Lichtausschluss. Als Nebenprodukte neben dem erwünschten **6** und unverändertem **13** entstanden **5** und weitere, nicht identifizierte Verbindungen. Sie wurden chromatographisch abgetrennt und das erhaltene (9'*Z*)-Neoxanthin (**6**) durch wiederholte Kristallisationen gereinigt. Es gelang uns, das **6** als hellorange kugelige Kristalle in einer bisher noch nie erreichten Reinheit zu isolieren (Eigenschaften, s. *Kap. 3*). Zum Vergleich mit dem Syntheseprodukt wurde eine ebenfalls kristallisierte Probe von **6** aus Rasenabschnitt isoliert (s. *Exper. Teil*). Sie erwies sich in allen Eigenschaften als identisch.

<sup>3)</sup> An und für sich liesse sich der Aufbau von (9'*Z*)-Neoxanthin auch von der Allen-Seite her ausführen: so sind entsprechende  $\text{C}_{15}$ -Allenaldehyde (s. 17a–c in Schema 2 in [1]) bis zur  $\text{C}_{20}$ -Stufe verlängert worden (*A. Baumeler* und *C. H. Eugster*, unpublizierte Resultate 1990).

<sup>4)</sup> Weder bei der Oxidation **1a** → **1b** noch bei **2a** → **2b** wurden wesentliche Isomerisationen an den Doppelbindungen beobachtet. Damit bleibt unsere Synthese von (9*Z*,9'*Z*)-Mimulaxanthin (**4**) [1] von der erwähnten Isomerisation unberührt. Aus welchem Grund gerade die Violaxanthin-Endgruppe so stark zu Isomerisationen neigt, ist uns nicht bekannt.

**3. Eigenschaften von (6*R*,9'*Z*)-Neoxanthin (6).** – 3.1. *Über die angebliche Alkalilabilität von 6.* Es wurden mehrere Beobachtungen publiziert, welche auf eine gewisse Empfindlichkeit der Neoxanthine gegenüber Alkali schliessen lassen. So schrieben *Cholnoky et al.* [7] bei der Isolierung von Neoxanthinen aus Ahornblättern<sup>5)</sup>: 'it was found that neoxanthin X (heute als (all-*E*)-Neoxanthin bezeichnet) constitutes the principal isomer from maple leaves, provided that the customary alkaline hydrolysis step is omitted in the isolation procedure'. In eine ähnliche Richtung zielt auch die Bemerkung von *Khachik et al.* [8], wonach die Isolierung von Xanthophyllen aus Broccoli<sup>6)</sup>, d. h. von (all-*E*)- und (9'*Z*)-Neoxanthin sowie von Violaxanthin *etc.* nach Verseifung mit Verlusten begleitet sei: 'the quantitative evaluation of these compounds showed that the saponification was accompanied by significant loss of xanthophylls ...'. Trotz diesen Warnungen wird die Isolierung der Neoxanthine auch heute noch allgemein mit einem Verseifungsschritt ausgeführt. Zur Überprüfung liessen wir deshalb unsere reinen Proben von **5** und **6** in MeOH mit 15% KOH/MeOH während längerer Zeit stehen. Dabei stellten wir weder eine Abnahme des Gehaltes noch eine Isomerisation von **5** in **6** bzw. von **6** in **5** oder in andere Isomere fest. Daraus folgt, dass reine Neoxanthine unter Normalbedingungen alkalistabil sind.

Trotzdem können wir sowohl die Beobachtung von *Cholnoky et al.* [7] als auch von *Khachik et al.* [8] bestätigen. Wenn man ein bestimmtes Pflanzenmaterial sowohl mit als auch ohne Verseifung aufarbeitet, werden sehr oft unterschiedliche (*E/Z*)-Verhältnisse durch HPLC-Analyse festgestellt. Dies lässt sich indessen am einfachsten damit erklären, dass (all-*E*)- und (9'*Z*)-Neoxanthin in unterschiedlichem Mass verestert vorliegen und damit die Verseifung eine Stereoisomerisation nur vortäuscht.

Ähnliche Beobachtungen wie *Khachik et al.* [8] machten wir auch bei der Aufarbeitung von Schnittlauch<sup>7)</sup> und anderen *Allium*-Arten. Berücksichtigt man indessen, dass sowohl Broccoli als auch *Allium* reich an S-Verbindungen sind, so liegt nahe, die Ursache der Gehaltsverminderung in einer Reaktion der S-Verbindungen mit den Allenen oder Oxirane zu vermuten. Genaueres ist noch nicht bekannt. Die Beobachtungen bedürfen indessen einer eingehenden Untersuchung. Dass auch das Trocknen des Pflanzenmaterials vor der Extraktion zu einem dramatischen Verlust an Carotinoiden führen kann, haben wir vor kurzem in [2] festgehalten.

3.2. *Schmelzisomerisation der Polyene 12, 13 und 6.* Carotinoide wurden schon früh thermisch im Pyrolysebereich behandelt<sup>8)</sup>. Die dabei abgespaltenen aromatischen Kohlenwasserstoffe trugen später zur Deutung einzelner Fragment-Ionen in EI-Massenspektren bei [11]. Dass auch im viel tieferen Schmelzbereich Reaktionen eintreten, demonstrierten in neuerer Zeit *Tsukida et al.* [12] am  $\beta\beta$ -Carotin: Nach 15 min Erhitzen der Kristalle auf 190–200° konnten im HPLC neun neue (*Z*)-Isomere identifiziert werden. Zudem stellten wir vor kurzem bei (all-*E*)-Neoxanthin (**5**) fest, dass schon bei 140° eine Umlagerung der Oxiran- in eine Dihydrofuran-Struktureinheit (Neoxanthin → Neochrom-Umlagerung) eintritt [2]. Aus diesem Grund untersuchten wir die Polyene **12**, **13** und **6** genauer auf ihr Schmelzverhalten und versuchten, eine Umlagerung von der (6*R*)-

<sup>5)</sup> Die Spezies ist nicht angegeben. Es dürfte sich um *Acer platanoides* oder *A. pseudoplatanus* handeln.

<sup>6)</sup> *Brassica oleracea* convar. *botrytis* var. *italica*; Fam. *Cruciferae*.

<sup>7)</sup> *Allium schoenoprasum*; Fam. *Liliaceae*.

<sup>8)</sup> Bixin [9],  $\beta\beta$ - und andere Carotinoide [10].

in die (6*S*)-Allen-Konfiguration, eine Isomerisation der (9*E*)- in die (9*Z*)-Doppelbindung und die eventuelle Bildung von Furanoiden (Neoxanthin-→Neochrome-Umlagerung<sup>9)</sup>) aufzufinden.

Wurde das (6*R*,9'*Z*)-15,15'-Didehydroneoxanthin (**12**) über seinen scharfen Schmp. von 125–127° hinaus langsam auf 135° erhitzt, so bildeten sich allmählich neue Kristalle, die bei 153–156° erneut schmolzen. HPLC und <sup>1</sup>H-NMR zeigten, dass **12** beim ersten Schmelzen fast unverändert blieb, mit Ausnahme der Bildung von zwei geringfügigen Nebenprodukten, deren Natur nicht aufgeklärt wurde. Nach dem zweiten Schmelzen waren indessen mehrere neue Produkte nachzuweisen, von denen die Wichtigsten gleiche UV/VIS-Spektren aufwiesen, mit einem gegenüber **12** um 14 nm hypsochrom verschobenen Hauptmaximum und kaum mehr vorhandenen *cis*-Pik bei ca. 320 nm. Der Schluss, dass eine Oxiran→Dihydrofuran-Umlagerung eingetreten war, liess sich im <sup>1</sup>H-NMR bestätigen, unter anderem durch das Auftreten einer komplexen Signalgruppe um 5,2 ppm und einer gleichzeitigen Reduktion der Intensität der Signale von H–C(7') und H–C(8'). Eine (6*R*→6*S*)-Allen-Umlagerung konnte nicht nachgewiesen werden, wie auch keine (*E*/*Z*)-Isomerisierung an C(9). Somit trat hier im wesentlichen eine Umlagerung in die 8'-epimeren 15,15'-Didehydroneochrome **14** ein<sup>10)</sup>. Eine Auftrennung in die verschiedenen Isomeren wurde nicht angestrebt.

Das (6*R*,15*Z*,9'*Z*)-Neoxanthin (**13**) mit Doppel-Schmp. bei 146–148°/182–184° zeigte nach dem ersten Schmelzen die Anwesenheit von 80% (6*R*,15*E*,9'*Z*)-Neoxanthin (**6**), 15% **13** und 5% Produkten mit kurzwelligen UV/VIS-Spektren, vermutlich Furanoiden. Nach dem zweiten Schmelzen fanden wir folgende Zusammensetzung: 50% (6*R*,15*E*,9'*Z*), 20% (6*R*,15*E*,9'*E*), 20% (6*R*,15*Z*,9'*Z*) und ca. 10% kürzerwellig absorbierende Produkte (Neochrome?). Zur präparativen Auswertung dieser Isomerisation durch Erhitzen in Lösung, s. *Kap. 2* und *Exper. Teil*.

(9'*Z*)-Neoxanthin (**6**) zeigte unerwarteterweise nur einen Schmp. (133,5–135,5°). Erhitzen darüber hinaus bis 170° gab keine Rekristallisation. Eine Probe, die 10 min auf 138° gehalten worden war, wies ein UV/VIS-Spektrum mit  $\lambda_{\max}$  458–460 nm ohne jede Feinstruktur auf. Die HPLC-Analyse ergab 67% Edukt **6**, 5% (all-*E*)-Neoxanthin, 8% und 15% von neuen (*Z*)-Verbindungen mit deutlich erhöhtem *cis*-Pik und  $\lambda_{\max}$  459, 432 und 408 nm sowie ca. 5% einer unbekanntten Verbindung. In den Proben, die 10 min auf 170° erhitzt worden waren, konnten keine Verbindungen identifiziert werden.

3.3. *UV/VIS-Spektren* (s. *Fig. 1–3* und *Tab. 1*). In der Literatur sind quantitative UV/VIS-Spektren von (9'*Z*)-Neoxanthin (**6**) kaum zu finden. Eine Ausnahme bildet das von *Cholnoky et al.* [7] aus Ahornblättern isolierte Präparat. Zum Vergleich isolierten wir nun auch ein kristallines Präparat aus grünem Gras. Die UV/VIS-Daten (s. *Tab. 1* und *Exper. Teil*) zeigten, dass unsere Präparate nicht nur die höchsten je gemessenen Extinktionskoeffizienten, sondern auch die ausgeprägteste Feinstruktur der langwelligen Banden, bestimmt nach [14], besitzen.

In einem weiteren Zusammenhang interessiert vor allem die spektroskopische Differenzierung der (all-*E*)- und der (9'*Z*)-Verbindung **5** bzw. **6**. Die Faltung der Polyenkette

<sup>9)</sup> Zum Einsatz kamen Mikromengen in evakuierten Glaskapillaren aus alkalischem Weichglas. Nach dem Schmelzen wurden die Kapillaren abgewischt, dann abgeschnitten und im Achatmörser unter Et<sub>2</sub>O zerrieben und die aufgenommene Lösung für HPLC und UV/VIS-Spektren verwendet.

<sup>10)</sup> Spektren der epimeren (6*R*,all-*E*)-Neochrome s. [13].

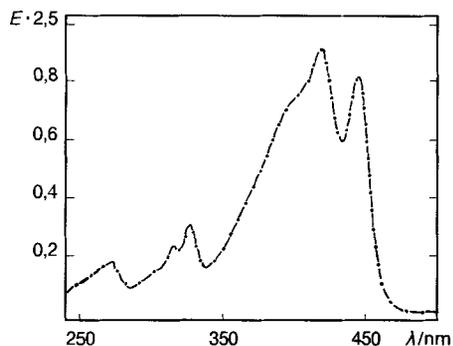


Fig. 1. UV/VIS (Et<sub>2</sub>O) von (9'Z)-15,15'-Didehydro-neoxanthin (12).  $c = 2,63 \cdot 10^{-5}$  mol.

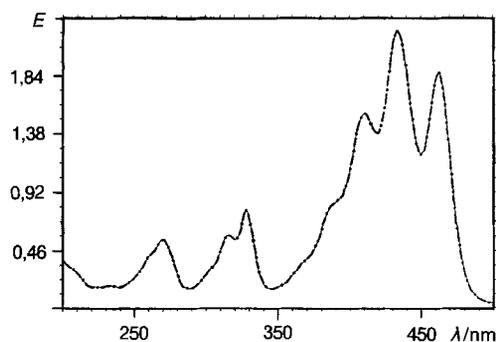


Fig. 2. UV/VIS (EtOH) von (15Z,9'Z)-Neoxanthin (13).  $c = 1,88 \cdot 10^{-5}$  mol.

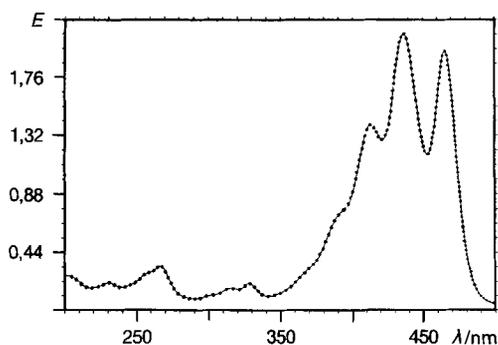


Fig. 3. UV/VIS (EtOH) von (9'Z)-Neoxanthin (6).  $c = 1,50 \cdot 10^{-5}$  mol.

Tab. 1. Quantitative UV/VIS-Daten ( $\lambda_{\max}$  in nm ( $\epsilon$ )) von Neoxanthinen

6 (Synthese) <sup>a)</sup> EtOH	6 (ex Gras) <sup>a)</sup> EtOH	6 (ex Ahorn [7]) <sup>b)</sup> <sup>c)</sup> EtOH	6 (Synthese) <sup>a)</sup> Benzol	5 (Synthese) <sup>a)</sup> <sup>d)</sup> EtOH	12 <sup>a)</sup> <sup>e)</sup> Et <sub>2</sub> O	13 <sup>a)</sup> EtOH
465,5 (131500)	466,0 (133200)	467 (121700)	477,0 (116700)	471,0 (137900)	444,9 (90400)	462,5 (99300)
437,0 (140000)	437,0 (138500)	439 (135300)	447,0 (121400)	442,2 (142800)	418,5 (101500)	434,4 (117500)
413,1 (93800)	413,0 (91000)	416 (94300)	422,0 (78200)	417,9 (96180)	326,1 (33600)	410,4 (82000)
393 (sh, 48800)	393 (sh, 45100)		400 (sh, 38000)	329 (10560)	315 (28700)	328,2 (41500)
328,0 (13800)	327,0 (9400)		334 (91000)	265,4 (33930)	272 (19800)	315,2 (31100)
315 (11500)	315,0 (7600)					269,8 (29300)
266,4 (22900)	266,0 (20700)					
230,5 (14200)	230,0 (13500)					
III/II [%]: 87	91	75	93	91		
[14]						

<sup>a)</sup> Diese Arbeit; Messgerät *Perkin-Elmer-Lambda-9*-Spektrometer.

<sup>b)</sup> Messgerät nicht angegeben.

<sup>c)</sup>  $\lambda_{\max}$  aus exper. Teil,  $\epsilon$ -Werte aus Kurve interpoliert.

<sup>d)</sup> S. [2].

<sup>e)</sup> Verbesserte Werte gegenüber [2].

an einer endständigen Doppelbindung erzeugt nur eine geringfügige hypsochrome Verschiebung von *ca.* 5 nm (4,8–5,5 nm), gemessen an den Banden im VIS. Auch die Extinktionskoeffizienten sind erniedrigt, nämlich um  $\epsilon = 2300\text{--}6400$ . Der sogenannte *cis*-Pik, ein wichtiges Indiz zur Erkennung einer Faltung im UV, ist bei **6** kaum zu erkennen. Der in der Literatur gelegentlich verwendete Quotient  $Q = E_{\text{max}}/E_{\text{cis-Pik}}$  ergibt in diesem Fall irreführende Werte, da im Bereich von 320 nm auch bei den (all-*E*)-Verbindungen eine nicht zu vernachlässigende Absorption auftritt. Bessere Resultate erhält man, wenn die Relation der Extinktion der Bande bei *ca.* 320 nm zu derjenigen bei *ca.* 270 nm (= 1 gesetzt) bestimmt wird. Sie beträgt für **5** 1:0,3, für **6** 1:0,6, für 15,15'-Didehydro-neoxanthin 1:1,0 und für **13** 1:1,7. Diese Daten zeigen, dass auch die UV/VIS-Spektren einen sicheren Schluss auf einen versteckten *cis*-Pik zulassen. Sehr eindeutig ist er durch die Messung der CD- und <sup>1</sup>H-NMR-Spektren zu erkennen. Einen ins Auge fallenden *cis*-Pik zeigen natürlich Carotinoide mit (13*Z*)- und (15*Z*)-Doppelbindungen. So liegt das Verhältnis sowohl in (9*Z*,15*Z*)-Violaxanthin als auch von **13** bei 1:1,4.

3.4. *CD-Spektren* (s. Fig. 4–8 und Tab. 2). Im folgenden wollen wir die CD-Spektren primär zur Charakterisierung der neuen Produkte verwenden, es soll im weiteren aber auch versucht werden, durch Vergleich mit verwandten Carotinoiden gewisse Regelmäßigkeiten herauszuarbeiten, welche später bei der Identifikation von neuen Neoxanthin-Isomeren von Nutzen sein können.

Alle CD-Spektren von Carotinoiden mit Allen-Endgruppen sind sehr kompliziert und lassen sich mit den bisher aufgestellten Modellen [15] [16] nicht befriedigend deuten. So zeigen die symmetrischen Mimulaxanthine **3** und **4** im Bereich von 220–550 nm komplexe und gleichzeitig sehr schwache *Cotton*-Effekte [1]. Wir haben dies qualitativ mit der weitgehenden Isolierung des  $\pi$ -Systems der Polyenkette von den Chiralitätszentren der Endgruppe durch die Allen-Funktion gedeutet. Nun zeigt aber (all-*E*)-Violaxanthin sehr viel stärkere *Cotton*-Effekte [4] [17]: So hat die Bande bei 265 nm schon bei Raumtemperatur ein  $\Delta\epsilon = 27,9$ . Man hätte deshalb erwarten können, dass die CD-Kurve von (all-*E*)-Neoxanthin (**5**) von der Violaxanthin-Endgruppe dominiert würde; vgl. die Additionsre-

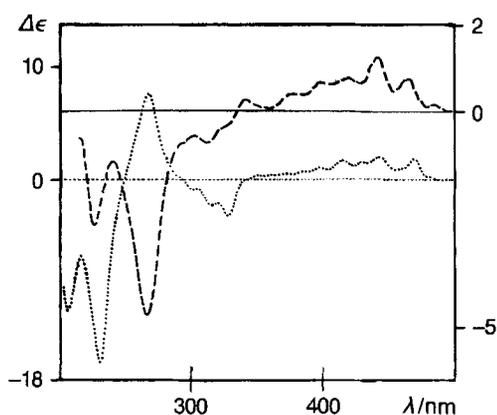


Fig. 4. *CD* (EtOH, RT.) von (all-*E*)-Neoxanthin (**5**, —;  $\Delta\epsilon$ -Skala rechts) und (9'*Z*)-Neoxanthin (**6**, ·····;  $\Delta\epsilon$ -Skala links)

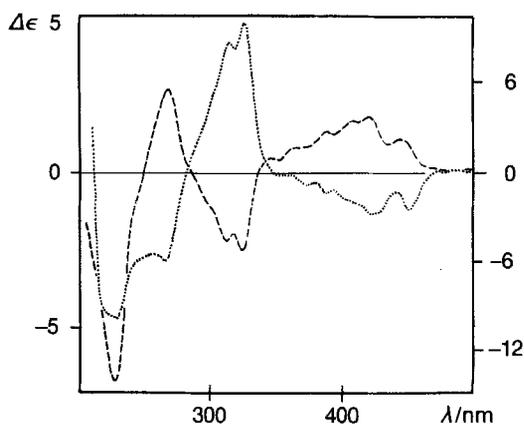


Fig. 5. *CD* (Et<sub>2</sub>O, RT.) von (all-*E*)-15,15'-Didehydro-neoxanthin (·····;  $\Delta\epsilon$ -Skala links) und (9'*Z*)-15,15'-Didehydro-neoxanthin (**12**, ----;  $\Delta\epsilon$ -Skala rechts)

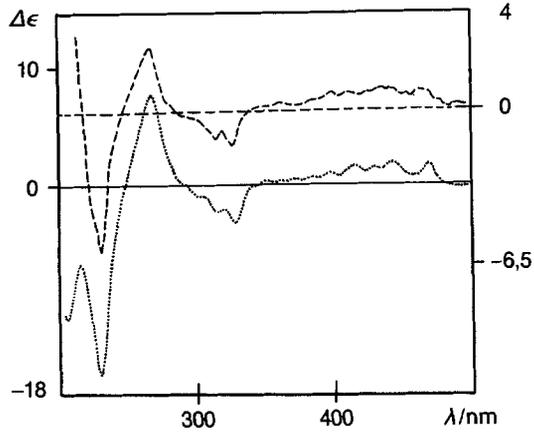


Fig. 6. CD (RT.) von (9'Z)-Neoxanthin (6) in EtOH, (·····; Δε-Skala links) und (9'Z)-Violaxanthin (in EPA, - - -; Δε-Skala rechts)

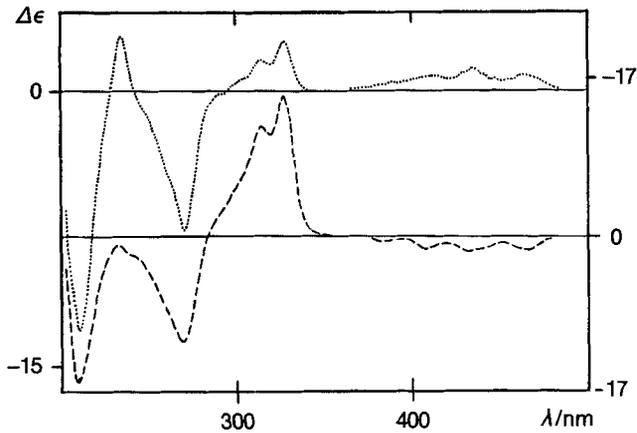


Fig. 7. CD (EtOH, RT.) von (9Z,15Z)-Violaxanthin (·····; Δε-Skala links) und von (15Z,9'Z)-Neoxanthin (13, - - -; Δε-Skala rechts)

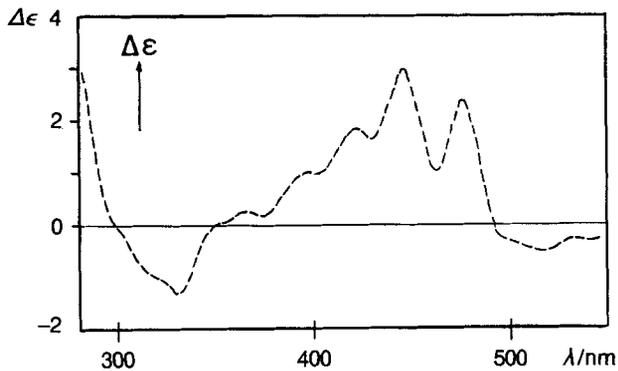


Fig. 8. CD (Benzol, RT.) von (9'Z)-Neoxanthin (6).  $\lambda_{\text{max}}$  ( $\Delta\epsilon$ ): 353 (0), 367 (0,3), 396 (1,0), 423 (1,9), 447 (3,0), 476 (2,4), 493 (0).

gel von *Bartlett et al.* [18]. Das ist aber in keiner Weise der Fall: Bei **5** hat die relativ starke Bande bei 266 nm nur  $\Delta\epsilon = -4,8$  statt der erwarteten  $-16,4$  (s. *Tab. 2*). Zudem zeigt die Kurve einen ganz anderen Verlauf, als sich aus der Additivitätshypothese hätte erwarten lassen. Der Grund für diese Nichtübereinstimmung ist uns nicht bekannt. Ähnlichkeiten treten in den CD-Kurven erst bei (9'Z)-Neoxanthin (**6**) und (9Z)-Violaxanthin sowie bei ihren entsprechenden Vorstufen in Erscheinung (s. *Fig. 5–7*).

Tab. 2. CD-Daten ( $\lambda_{\max}$  ( $\Delta\epsilon$ )) von Neoxanthinen bei Raumtemperatur

<b>5</b> (Synthese) <sup>a)</sup> EtOH	(all- <i>E</i> )-Violaxanthin <sup>b)</sup> EPA <sup>c)</sup>	<b>6</b> (Synthese) <sup>c)</sup> EtOH	(9Z)-Violaxanthin <sup>b)</sup> EPA <sup>d)</sup>	<b>12</b> <sup>c)</sup> <sup>d)</sup> EtOH	<b>13</b> <sup>c)</sup> <sup>d)</sup> EtOH
227,0 (–2,70)	212,5 (–6,2)	206,6 (–12,2)	217 (0)	228 (–13,8)	209 (–16,2)
241 (–1,28)	217,8 (0)	216 (–6,9)	231 (–34,0)	251 (0)	233 (–0,9)
265,5 (–4,77)	230 (+9,8)	230,6 (–16,4)	248 (0)	268 (+5,1)	270 (–11,5)
303 (–0,57)	240 (0)	249 (0)	267 (+15,0)	288 (0)	284 (0)
313 (–0,77)	264,5 (–27,9)	267,4 (+7,7)	285 (0)	313 (+4,4)	316 (+11,9)
335 (0)	292 (0)	293 (0)	314 (–7,1)	325 (–4,8)	328 (+15,2)
341 (+0,24)	325 (+5,0)	328 (–3,2)	319 (–5,3)	338 (0)	354 (0)
ca. 359 (0)	347 (0)	338 (0)	326 (–9,2)	415 (+3,6)	396 (0)
377 (+0,39)	} (+)	415 (+1,8)	339 (0)	428 (+3,3)	408 (–1,4)
400 (+0,68)		443 (+2,2)	344 (0)	442 (+2,7)	432 (–1,8)
419 (+0,79)		468 (+2,0)	410 (+4,3)		466 (–1,7)
441 (+1,17)		483 (0)	435 (+5,2)		480 (0)
463 (+0,71)			461 (+4,5)		
ca. 479 (0)			ca. 510 (0)		

<sup>a)</sup> Werte aus [2]. <sup>b)</sup> Aus [4]. <sup>c)</sup> Diese Arbeit. <sup>d)</sup> Verbesserte Werte gegenüber [2]. <sup>e)</sup> EPA = Et<sub>2</sub>O/Isopentan/EtOH 5:5:2.

Der wesentliche Grund liegt vor allem darin, dass die Elliptizitäten der (Z)-isomeren Violaxanthine grösser sind als die von (all-*E*)-Violaxanthin, sodass sie nun das CD-Spektrum dominieren. Um die Zusammenhänge zu verdeutlichen, sind in *Tab. 3* nur die Charakteristika der starken Banden bei ca. 230, 265 und 320 einander gegenübergestellt.

Tab. 3. CD-Daten ( $\Delta\epsilon$ ) von Neoxanthin- und Violaxanthin-Isomeren

	$\lambda$ ca. 230	$\lambda$ ca. 265	$\lambda$ ca. 320	VIS
(all- <i>E</i> )-Neoxanthin ( <b>5</b> ) (EtOH)	–3 (min)	–5 (min)	+0,8 (min)	+
Violaxanthin (EPA)	+9,8 (max)	–27,9 (min)	+5,0 (max)	+
(9'Z)-Neoxanthin ( <b>6</b> ) (EtOH)	–16,4 (min)	+7,7 (max)	–3,3 (min)	+
(9'Z)-Violaxanthin (EPA)	–34 (min)	+15 (max)	–9,7 (min)	+
(9'Z,15Z)-Neoxanthin ( <b>13</b> ) (EtOH)	–0,9 (max)	–14,1 (min)	+15,2 (max)	–
(9Z,15Z)-Violaxanthin <sup>a)</sup> (EPA)	+3 (max)	–7 (min)	+3 (max)	+

<sup>a)</sup> Verbindung erhalten von Dr. P. Molnár, Pécs, Ungarn; beschrieben in [19].

Daraus ergibt sich folgendes Bild: *a*) Die Inversion der Vorzeichen, welche in Einzelfällen sogar zu einer angenäherten Spiegelbildlichkeit der Gesamtkurve führt und die durch viele Beispiele belegt wurde [17] [15] [20], tritt im Paar **5** und **6** im UV-Bereich einigermassen in Erscheinung, nicht aber im VIS (*Fig. 4*). Noch ausgeprägter tritt die

Inversion im Fall der stereoisomeren 15,15'-Didehydronoxanthine in Erscheinung, da hier der Einfluss der Allen-Funktion durch die Acetylen-Bindung noch mehr reduziert ist (Fig. 5).

b) Grosse Ähnlichkeiten im Kurvenverlauf, nicht aber in den Elliptizitäten einzelner Banden ergeben sich im Paar (9'Z)-Neoxanthin (6)/(9Z)-Violaxanthin (Fig. 6) sowie von (15Z,9'Z)-Neoxanthin (12) und (9Z,15Z)-Violaxanthin (Fig. 7). Aus dem Rahmen der Regelmässigkeiten fällt auch hier der Bereich im VIS.

c) Die Bandengruppe im Bereich von 350–500 nm ist meist schwach, s. z. B. diejenige von (9'Z)-Neoxanthin (6) in Benzol (Fig. 8). An und für sich ist diese Bandengruppe sowohl beim (all-E)-Mimulaxanthin (3) [1] als auch bei seinem (9Z,9'Z)-Isomeren 4 [1] einheitlich positiv, allerdings mit sehr schwacher Intensität. Dasselbe gilt für Violaxanthin und seine (9Z)-, (13Z)-, (15Z)- und (9Z,15Z)-Isomeren. Weshalb sie beim (15Z,9'Z)-Neoxanthin auf die negative Seite kippt, bleibt unerklärt.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auch die unterschiedlichen Konformeren einen bedeutenden Einfluss auf die CD-Spektren der hier erwähnten Verbindungen haben, besonders diejenigen bzgl. der C(6')–C(7')- und C(8')–C(9')-Bindungen (s. Kap. 4). Um diese zu unterdrücken, dürften nur systematische Messungen bei tiefen Temperaturen [16] helfen.

3.5. *NMR-Spektren*. Die ausgesprochene Labilität von (9'Z)-Neoxanthin (6) sowie von weiteren, in der Natur nur in geringen Mengen vorkommenden Isomeren in CDCl<sub>3</sub>-Lösung veranlasste uns, (D<sub>6</sub>)Benzol als Lösungsmittel zu verwenden. Durch den Wechsel des Lösungsmittels wurden aber so grosse Änderungen der chemischen Verschiebung verursacht, dass teilweise kein Bezug mehr auf publizierte Daten möglich war. Um unabhängig von Publikationen alle <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-Resonanzen zuzuordnen sowie die Konformation um die C(6')–C(7')-Bindung festzulegen, wurden zahlreiche 2D-Experimente ausgeführt. Die Zuordnung der Polyen-Signale erfolgte mit Hilfe von COSY-, TOCSY-[21] und ROESY-Techniken [22]. Zur Verknüpfung der verschiedenen Spinsysteme der Polyenkette wurden die ROE-Effekte der Me-Gruppen benutzt. Die Zuordnung der Protonen in den cyclischen Endgruppen war schwieriger, weil insbesondere die Unterscheidung der drei Me-Gruppen jedes Ringes ohne Annahmen bezüglich Konfiguration nur unter Verwendung spezieller Experimente möglich war. Schliesslich liessen sich Me (16,17) und Me (16',17') mit Hilfe der weitreichenden <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-Korrelationsspektroskopie (HMBC [23]) zuordnen. Sowohl CH<sub>3</sub>(16) und CH<sub>3</sub>(17) bzw. CH<sub>3</sub>(16') und CH<sub>3</sub>(17') zeigten zum selben quaternären C-Atom Korrelationen und liessen sich damit von CH<sub>3</sub>(18,18') unterscheiden. H–C(3) und H–C(3') wurden anhand ihrer charakteristischen chemischen Verschiebungen von 4,3 bzw. 3,7 ppm erkannt [5] [6]. Ihre ROE-Effekte zu CH<sub>3</sub>(16) bzw. CH<sub>3</sub>(16') halfen, die Zuordnung der Signale der geminalen Me-Gruppen zu erhalten. Die geminalen Protonen an C(2) und C(4) bzw. C(2') und C(4') liessen sich am einfachsten durch die <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-Korrelationsspektren (HMQC [24]) zuordnen. Mit Hilfe von weitreichenden <sup>1</sup>H,<sup>13</sup>C-Korrelationen mit CH<sub>3</sub>(16) und CH<sub>3</sub>(17) liessen sich CH<sub>2</sub>(2) und CH<sub>2</sub>(4) unterscheiden. Ausgehend von H–C(3) und H–C(3') wurden mit Hilfe von ROE-Effekten schliesslich alle Protonen von CH<sub>3</sub>-, CH<sub>2</sub>- und CH-Ringprotonen zugeordnet (s. Tab. 4 und 5 und Fig. 9).

Zur weiteren Charakterisierung der Konfiguration wurden die vicinalen (und geminalen) <sup>1</sup>H,<sup>1</sup>H-Kopplungen ausgewertet (*J*-Werte in Tab. 5). Die Polyenkette zeigt typische Werte für vicinale *cis*- (10,9 Hz) und *trans*-Kopplungen (14,9 Hz) an den (C=C)-Bindun-

Tab. 4. Chemische Verschiebungen [ppm] im  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektrum (600 bzw. 150 MHz,  $(\text{D}_6)$ -Benzol, 300 K) von (9'Z)-Neoxanthin (6)

	C	C'	H <sub>ax</sub> <sup>a)</sup>	H <sub>eq</sub> <sup>b)</sup>	H <sub>ax'</sub>	H <sub>eq'</sub>
C(1,1')	35,94	35,27	-	-	-	-
CH <sub>2</sub> (2,2')	50,05	47,29	1,24	1,79	1,11	1,46
H-C(3,3')	63,99	63,95	4,22	-	3,75	-
CH <sub>2</sub> (4,4')	49,53	41,24	1,25	2,15	1,45	2,20
C(5,5')	72,58	66,84	-	-	-	-
C(6,6')	118,36	70,33	-	-	-	-
C(7,7') bzw. H-C(7')	202,33	126,82	-	-	5,98	-
C(8,8') bzw. H-C(8,8')	103,40	129,86	6,05	-	7,37	-
C(9,9')	132,06	132,80	-	-	-	-
C(10,10') bzw. H-C(10,10')	129,10	131,56	6,21	-	6,19	-
C(11,11') bzw. H-C(11,11')	125,25	124,16	6,68	-	7,06	-
C(12,12') bzw. H-C(12,12')	137,76	138,04	6,47	-	6,41	-
C(13,13')	136,31	136,90	-	-	-	-
C(14,14') bzw. H-C(14,14')	133,27	133,20	6,27	-	6,27	-
C(15,15') bzw. H-C(15,15')	130,42	130,76	6,63	-	6,59	-
CH <sub>2</sub> (16,16')	29,56	25,51	1,37	-	1,08	-
CH <sub>2</sub> (17,17')	32,51	29,51	1,11	-	1,05	-
CH <sub>2</sub> (18,18')	31,43	20,18	1,21	-	1,12	-
CH <sub>2</sub> (19,19')	14,08	21,13	1,80	-	1,92	-
CH <sub>2</sub> (20,20')	12,88	12,67	1,86	-	1,66	-

<sup>a)</sup> ax' = pseudoaxial, bezogen auf einen Halbsessel mit pseudoequatorialer OH-C(3).

<sup>b)</sup> eq' = pseudoequatorial.

Tab. 5.  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -Kopplungskonstanten J [Hz] im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum (600 MHz,  $(\text{D}_6)$ -Benzol, 300 K) von (9'Z)-Neoxanthin (6)<sup>a)</sup>

Ring	$J(2\text{eq}', 3\text{ax}') = 2,3$	$J(2'\text{eq}', 3'\text{ax}') = 3,2$	Polyenkette	$^3J(10,11) = 10,9$
	$J(2\text{ax}', 2\text{eq}') = 10,5$	$J(2'\text{ax}', 2'\text{eq}') = 12,6$		$^3J(11,12) = 14,9$
	$J(2\text{ax}', 3\text{ax}') = 11,9$	$J(2'\text{ax}', 3'\text{ax}') = \text{n. d.}^{\text{b)}$		$^3J(14,15) = 10,9$
	$J(3\text{ax}', 4\text{eq}') = 4,2$	$J(3'\text{ax}', 4'\text{eq}') = 5,0$		$^3J(15,15') = 14,9$
	$J(3\text{ax}', 4\text{ax}') = 11,9$	$J(3'\text{ax}', 4'\text{ax}') = 8,5$		$^3J(12', 11') = 14,9$
	$J(4\text{ax}', 4\text{eq}') = 12,6$	$J(4'\text{ax}', 4'\text{eq}') = 14,2$		$^3J(11', 10') = 11,3$
				$^3J(8', 7') = 15,3$

<sup>a)</sup> ax' und eq' bedeuten pseudoaxial bzw. pseudoequatorial.

<sup>b)</sup> Im Signalfuss einer Me-Gruppe, daher nicht auswertbar.

gen. Der Ring C(1) bis C(6) weist ebenfalls Kopplungskonstanten auf, wie man sie für einen Sessel erwarten würde. Im epoxy-substituierten Ring hingegen findet eine Angleichung von  $J(\text{ax}, \text{ax})$  und  $J(\text{ax}, \text{eq})$  statt. Diese lässt sich nur durch den Übergang zu einem (verdrillten) Halbsessel erklären. Die gemessenen ROEs (s. Tab. 6) können nicht mit einer einzigen Konformation erklärt werden, sondern sprechen vielmehr für ein dynamisches Gleichgewicht mehrerer Konformerer. Im Kap. 4 werden diese Ergebnisse mit Kraftfeld-Berechnungen in Bezug gesetzt, wobei eine gute Übereinstimmung der Resultate festzustellen ist.

Damit ist unseres Wissens zum ersten Mal eine vollständige Zuordnung der  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Signale von einem Neoxanthin-Isomeren erreicht worden. Gegenüber den

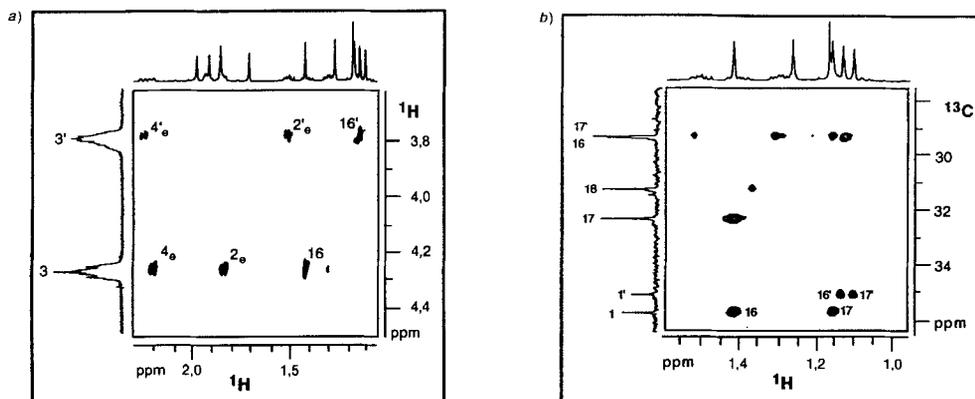


Fig. 9. a) Ausschnitt aus dem 300-ms-ROESY-Experiment und b) Ausschnitt aus der weitreichenden C,H-Korrelation (HMBC) von **6**. Die für die stereospezifische Zuordnung wichtigen Kreuzsignale sind beschriftet. e = pseudo-equatorial.

Tab. 6. Wichtige ROE-Effekte zur Bestimmung der Konfiguration der Ringe von **6**

ROE	Stärke	ROE	Stärke
H–C(7')/CH <sub>3</sub> (17)	sehr schwach	H–C(8)/CH <sub>3</sub> (16)	sehr schwach
H–C(7)/CH <sub>3</sub> (18')	sehr schwach	H–C(8)/CH <sub>3</sub> (18)	mittel
H–C(7')/CH <sub>3</sub> (19')	stark	H–C(8)/CH <sub>3</sub> (17)	sehr schwach
H–C(8')/CH <sub>3</sub> (18')	sehr schwach	CH <sub>3</sub> (19)/H–C(8)	sehr schwach
CH <sub>3</sub> (19)/CH <sub>3</sub> (16)	sehr schwach		

publizierten Werten der <sup>1</sup>H-NMR-Signale (400 MHz) in CDCl<sub>3</sub> (s. [5]) treten in (D<sub>6</sub>)Benzol Verschiebungen bis zu 0,5 ppm ein. Die genaue Untersuchung zeigte, dass es sich um lokal definierte ASIS-Effekte ('aromatic solvent induced shifts') handelt (s. Fig. 10). Wichtigste Komplexierungspartner sind nicht, wie erwartet, die OH-Gruppen, sondern die Oxiran-Gruppe. Dadurch erleiden die benachbarten H–C(8') und H–C(11') eine kräftige Tieffeld-, CH<sub>3</sub>(20') hingegen eine Hochfeld-Verschiebung. Die Assoziation an die OH-Gruppen hat unterschiedliche Wirkungen: Diejenige an OH–C(5) bewirkt eine paramagnetische Verschiebung von CH<sub>3</sub>(16). Sie liegt demnach ausserhalb des Ringstroms. Anders ist es bei OH–C(3) und OH–C(3'): Die benachbarten Protonen an C(2), C(3) und C(4) liegen im Ringstrom und werden um ca. 0,15 ppm paramagnetisch verschoben.

**4. Kraftfeld-Rechnungen der Konformation von (9'Z)-Neoxanthin (6) in Lösung.** – Die konformationellen Möglichkeiten der Violaxanthin-Endgruppe von **6** wurde mit Hilfe der Programme MacroModel und BatchMin<sup>11)</sup> untersucht. Als Kraftfeld wurde MM2\*<sup>12)</sup> verwendet. Die Berechnungen wurden mit dem in Fig. 11 abgebildeten Modellsystem durchgeführt. Kontrollrechnungen mit einem Solvationsmodell ergaben, dass sich die relativen Energien beim Übergang Gasphase→CHCl<sub>3</sub> nur wenig verändern. Die konformationellen Freiheiten des Sechsrin-

<sup>11)</sup> MacroModel V3.0 und BatchMin V3.1 von Prof. Clark Still, Box 663, Havemeyerhall, Department of Chemistry, Columbia University, New York, NY 10027, USA.

<sup>12)</sup> MacroModel-Ausführung von MM2, Parameter von 1987 von Allinger [25].

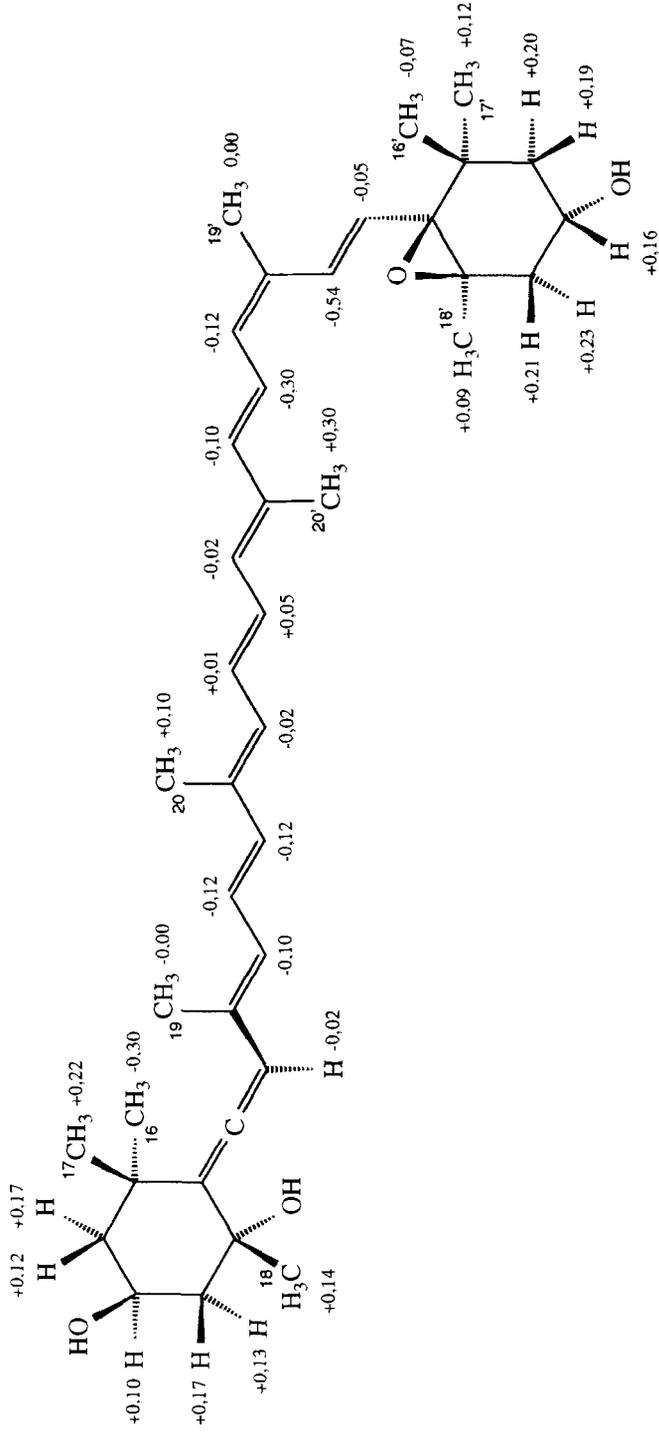


Fig. 10.  $^1\text{H}$ -Verschiebungsdifferenzen  $\Delta\delta$  ( $\text{CDCl}_3$ -( $D_6$ )Benzol) von (9Z)-Neoxanthin (6). Messwerte nach [5], teilweise ergänzt; Annahme: beide Lösungen enthalten ähnliche Konformationsgleichgewichte.

ges sind durch die Oxiran-Gruppe auf diejenigen des Cyclohexens reduziert. Von den vier möglichen Halbsesseln mit  $C(3')_{\text{oben}}$ ,  $C(3')_{\text{unten}}$ ,  $C(2')_{\text{oben}}$  und  $C(2')_{\text{unten}}$  sind in den energiegunstigsten Konformationen nur  $C(3')_{\text{oben}}$ , d. h. mit  $\text{OH}_{\text{eq}'}$ , und  $C(3')_{\text{unten}}$ , d. h. mit  $\text{OH}_{\text{ax}'}$ , realisiert. Die Geometrie des Rings wird durch die Faltung der Seitenkette kaum beeinflusst. Insgesamt sind etwa 66% der Konformation mit  $\text{OH}_{\text{eq}'}$  und 34% mit  $\text{OH}_{\text{ax}'}$  im dynamischen Gleichgewicht zu erwarten. Für die Violaxanthin-Endgruppe und für die Konformationen der Bindungen  $C(6')-C(7')$  (Torsionswinkel  $\omega_1$ ),  $C(8')-C(9')$  (Torsionswinkel  $\omega_2$ ) sowie alle übrigen formalen Einfachbindungen der Polyenkette ergaben sich 79 lokale Minima für unser Modellsystem (s. Fig. 11 und 12). Die neun günstigsten Konformationen mit ihren Populationsanteilen sind in Tab. 7 zusammengestellt.

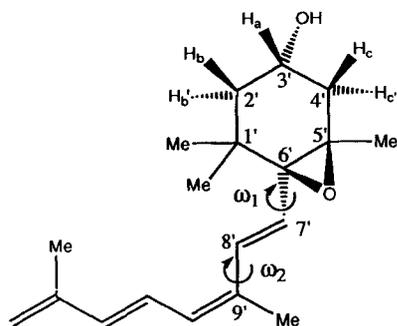


Fig. 11. Violaxanthin-Endgruppe mit Torsionswinkeln  $\omega_1$  und  $\omega_2$

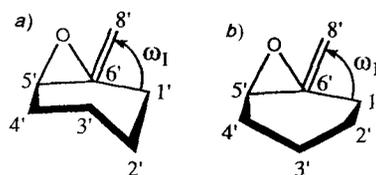


Fig. 12. Halbsesselkonformationen a) 1–4 und b) 5–9 der Violaxanthin-Endgruppe (vgl. Tab. 7)

Tab. 7. Günstigste Konformationen der Violaxanthin-Endgruppe mit Populationsanteilen<sup>a)</sup>

Konformation	$C(2')^b)$	OH	$\omega_1$ (°)	$E^d)$	% Population	$\Sigma$ Population
1	unten	eq'	84°	0	21,6	eq' = 66%
2	unten	eq'	87°	0,2	16,2	
3	unten	eq'	260°	0,2	15,7	
4	unten	eq'	265°	0,4	11,8	
5	in	ax'	87°	0,5	9,6	ax' = 34%
6	in	ax'	260°	0,5	9,3	
7	in	ax'	266°	0,6	8,3	
8	in	ax'	91°	0,7	7,0	
9	in	eq'	82°	2,1	0,5	

a) ax' und eq' bedeuten pseudoaxial bzw. pseudoequatorial.

b) S. Fig. 12.

c) Torsionswinkel zwischen den Ebenen  $C(1')-C(6')$  und  $C(7')-C(8')$  (s. Fig. 11 und 13).

d)  $E_{\text{sterisch}}$  in kcal · mol<sup>-1</sup> in Gasphase relativ zur Konformation 1.

Daraus ergeben sich folgende Schlüsse: Die Ringebene, definiert durch  $C(2')-C(1')-C(6')-C(5')$ , und die Ebene der Polyenkette stehen nahezu senkrecht aufeinander. In den Konformationen 1, 2, 5 und 8 liegen  $\text{H}-C(7')$  und das Oxiran-O-Atom auf entgegengesetzten Seiten der Ringebene. Somit liegt  $C(8')$  im Quadrant  $Q_1$ <sup>13)</sup>. In den Konformationen 3, 4, 6 und 7 hingegen stehen  $\text{H}-C(7')$  und das Oxiran-O-Atom auf derselben Seite und  $C(8')$  liegt somit im Quadrant  $Q_3$  (s. Fig. 13). Die bevorzugte 'syn'-

<sup>13)</sup> Bezeichnung analog [16a].

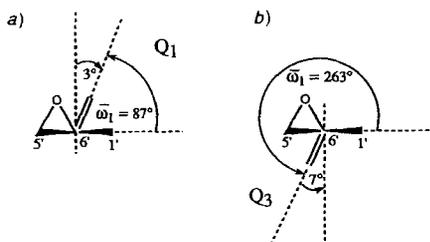


Fig. 13. Orientierung der Polyenkette bezüglich der Ringebene in der Violaxanthin-Endgruppe: a) Konformationen 1, 2, 5 und 8 mit  $\bar{\omega}_1 = 87^\circ$  und b) Konformationen 3, 4, 6 und 7 mit  $\bar{\omega}_1 = 263^\circ$

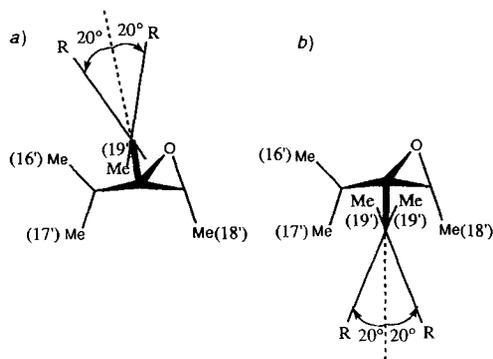


Fig. 14. Konformationen der Polyenkette: a) Konformationen 1, 2, 5 und 8 mit  $\bar{\omega}_2 = \pm 20^\circ$  (totale Population 55%) und b) Konformationen 3, 4, 6 und 7 mit  $\bar{\omega}_2 = \pm 20^\circ$  (totale Population 45%)

Stellung von Oxiran-O-Atom und H–C(8'), d. h. mit der grössten räumlichen Annäherung von O-Atom und C(7')=C(8') ist auch mit elektronischen Argumenten verträglich, sollten doch in dieser Konformation die nichtbindenden Orbitale am O-Atom zu einer besseren Überlappung mit den  $\pi$ -Orbitalen der Doppelbindung befähigt sein.

Recht unerwartet ergibt die Rechnung auch, dass die  $sp^2$ -Atome der Polyenkette in den 8 günstigsten Konformationen nicht koplanar liegen. Der Winkel  $\omega_2$  weicht jeweils um *ca.*  $\pm 20^\circ$  von der Koplanaritätsebene ab. Somit treten 2 Paare mit  $\omega_1 = \pm 160^\circ$  auf (s. Fig. 14).

Um die Existenz mehrerer 6-Ring-Konformationen im Gleichgewicht zu belegen, haben wir die  $^3J(\text{H,H})$ -Kopplungskonstanten im Sechsring mit Hilfe eines parametrisierten Verfahrens [26] aus den Geometrien berechnet. Die Genauigkeit erreichte dabei erfahrungsgemäss etwa 1 Hz (s. Tab. 8). Die Übereinstimmung der gewichteten Mittelwerte der berechneten Kopplungskonstanten mit den experimentell gemessenen ist sehr gut und legt nahe, dass in Lösung tatsächlich mehr als eine Konformation im Gleichgewicht vorkommt. Das Resultat ist auch konsistent mit den Resultaten der ROE-Messungen, welche sich ebenfalls nicht durch eine einzelne Konformation erklären lassen (s. Tab. 6).

Tab. 8. Berechnete und gefundene  $^3J(\text{H,H})$ -Kopplungskonstanten [Hz] im Ring der Violaxanthin-Endgruppe<sup>a)</sup>

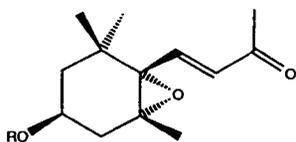
	$J_{\text{ber.}}$			$J_{\text{exper.}}$ (s. Tab. 5)	
	Konform. mit OH <sub>eq'</sub>	Konform. mit OH <sub>ax'</sub>	gewichtetes Mittel <sup>b)</sup>		
$J(\text{H}_a, \text{H}_b)^c$	3,4	1,8	2,9	$J(3'ax', 2'eq')$	3,2
$J(\text{H}_a, \text{H}_b)^c$	11,5	4,9	9,3	$J(3'ax', 2'ax')$	?
$J(\text{H}_a, \text{H}_c)^c$	5,8	3,4	5,0	$J(3'ax', 4'eq')$	5,0
$J(\text{H}_a, \text{H}_c)^c$	10,6	2,8	8,0	$J(3'ax', 4'ax')$	8,5

<sup>a)</sup> ax' und eq' bedeuten pseudoaxial bzw. pseudoequatorial.

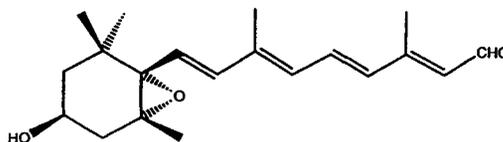
<sup>b)</sup> Gewichtetes Mittel aus  $2/3$  des Wertes der Konformation mit OH<sub>eq'</sub> und  $1/3$  des Wertes der Konformation mit OH<sub>ax'</sub>.

<sup>c)</sup> H<sub>a</sub> entspricht H–C(3'), H<sub>b</sub> und H<sub>b</sub> den 2 H–C(2') und H<sub>c</sub> und H<sub>c</sub> den 2 H–C(4') (s. Fig. 1).

Röntgen-Strukturanalysen von Violaxanthin-Derivaten, so von Verbindungen **15** [27] und **16**<sup>14)</sup> belegen, dass im Kristall lediglich die energiegunstigste Konformation mit 'syn'-Stellung von Oxiran-Gruppe und C(7')=C(8')-Bindung vorliegt. Stereoisomere Violaxanthine weisen sehr starke Cotton-Effekte in CD-Spektren auf (s. Kap. 3, 4). Die wenigen bisher ausgeführten Messungen bei tiefen Temperaturen [4] zeigen eine ausgesprochen starke Zunahme der Elliptizitäten. Diese Tatsache steht unserer Ansicht nach im Zusammenhang mit der Temperaturabhängigkeit der Population der Konformationen bezüglich C(6')–C(7'). Wir erwarten, dass die Konformationen 1, 2, 5 und 8 mit  $\bar{\omega}_1$ , 87° mit fallender Temperatur stärker populiert werden. Inwieweit sich eine mögliche Temperaturabhängigkeit von  $\bar{\omega}_2$  auf die CD-Spektren auswirkt, kann nicht belegt werden.



**15** R = (2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)



**16**

**5. Diskussion der Resultate.** – Die bisher beschriebenen Untersuchungen an (9'Z)-Neoxanthin (**6**) betreffen ein in mancher Hinsicht bemerkenswertes Carotinoid, bemerkenswert wegen seiner Stellung in der Biogenese der Carotinoide (als wahrscheinlicher Abkömmling von Violaxanthin steht es auf einer späten Stufe), der strukturell eigentümlichen (R)-chiralen Allen-Gruppe, der Prädominanz der (9'Z)-Struktur über die übrigen Isomeren, wegen seiner universellen Verbreitung in grünen Pflanzen und schliesslich wegen seiner bis heute nicht geklärten eigentlichen Rolle in der Photosynthese. Die in der vorliegenden Arbeit wiedergegebene Synthese von reinem (9'Z)-Neoxanthin (**6**) stellt eine Fortsetzung der in [2] beschriebenen Methodik dar. Der entscheidende Fortschritt gelang, als wir erkannten, dass die MnO<sub>2</sub>-Oxidation von **7** zu einem Gemisch von Strukturisomeren führte. Durch Senkung der Reaktionstemperatur konnte dies weitgehend vermieden werden. Da die (15Z)-Bindung thermisch viel labiler ist als die (9'Z)-Bindung, gelang unter kontrollierten Bedingungen auch eine gute Umwandlung der (15Z,9'Z)-Verbindung **12** in **6**.

Das reine **6** zeigt die bisher ausgeprägteste Feinstruktur im VIS und gleichzeitig die höchsten je gemessenen Extinktionskoeffizienten. Reines **6** ist unter Normalbedingungen alkalistabil. Die in der Literatur erhobenen anderslautenden Befunde können auf andere Faktoren zurückgeführt werden. Der im UV/VIS kaum erkennbare *cis*-Pik von **6** kann deutlich gemacht werden, wenn die Relationen der Bande um 320 nm zu der bei 265 nm sowohl bei **6** als auch bei **5** gemessen werden.

Völlig eindeutig ergibt sich die (9'Z)-Konfiguration von **6** aus den CD- und <sup>1</sup>H-NMR-Spektren. Die sehr komplizierten CD-Spektren der Neoxanthin-Isomeren können relativ befriedigend in Beziehung zu den entsprechenden Isomeren von Violaxanthin gebracht werden. Unerklärt bleibt der Einfluss der allenischen Endgruppe auf die Ellipti-

<sup>14)</sup> Synthese [28], Röntgen-Strukturanalyse [29].

zitäten einzelner Banden sowie auf das Vorzeichen der Bandengruppe im VIS. Die hier herausgearbeiteten Zusammenhänge dürften nützlich für die Strukturbestimmung von weiteren, in der Natur nur in kleinen Mengen vorkommenden Neoxanthin-Isomeren sein. Bei Ausschluss von Licht und O<sub>2</sub> sind Lösungen von **6** in (D<sub>6</sub>)Benzol wesentlich stabiler als in CDCl<sub>3</sub>. Das Lösungsmittel verursacht im <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum jedoch ASIS-Effekte, wobei die Oxiran-Gruppe ein bevorzugter Ort für die Assoziation mit dem Lösungsmittel ist. Spektren bei 600 bzw. 150 MHz verbunden mit der Anwendung von modernen Zuordnungstechniken erlauben eine lückenlose Bestimmung aller <sup>1</sup>H- und <sup>13</sup>C-NMR-Signale und ihrer Kopplungskonstanten.

Die Kraftfeld-Berechnung der Konformationen der Violaxanthin-Endgruppe in **6** zeigt, dass auch Konformationen mit pseudoaxialem OH–C(3') zu etwa 33% populiert sind. An der Einfachbindung zwischen Endgruppe und Seitenkette ist die Konformation mit dem Torsionswinkel  $\omega_1 = 87^\circ$  zu 55% und diejenige mit  $\omega_1 = 263^\circ$  zu 45% populiert. In der bevorzugten Konformation nehmen demnach das Oxiran-O-Atom und die erste konjugierte Doppelbindung der Polyenkette 'syn'-Stellung ein. Es ist dies auch die alleinige Konformation, welche bisher in Kristallen von Violaxanthin-Derivaten durch Röntgen-Strukturanalyse festgestellt worden ist. Wir nehmen an, dass die Bevorzugung der 'syn'-Konformation in Lösung durch eine elektronische Interaktion zwischen dem O-Atom und den  $\pi$ -Orbitalen der Doppelbindung unterstützt wird. Die Konformation der C(6')–C(7')-Bindung hat einen bedeutenden Einfluss auf die CD-Spektren. Ein unerwartetes Ergebnis der Rechnung ist, dass die Polyenkette nahe der Violaxanthin-Endgruppe nicht koplanar angeordnet ist. Der Torsionswinkel  $\omega_2$  beträgt in beiden Konformationen mit  $\omega_1 = 87^\circ$  und  $263^\circ$  etwa  $\pm 20^\circ$ . Rechnungen und experimentelle Ergebnisse im NMR stehen damit in Übereinstimmung und zeigen, dass das (9'Z)-Neoxanthin eine relativ grosse konformationelle Beweglichkeit besitzt.

Wir danken der Direktion des Organisch-Chemischen Institutes für ihre Unterstützung dieser Arbeit, Herrn Prof. H.-J. Hansen für die Überlassung von Arbeitsplätzen, Herrn P. Uebelhart für die bereitwillige Messung von genauen UV/VIS- und CD-Spektren sowie Herrn Dr. P. Molnár, Universität Pécs, Ungarn, für die Zusendung einer kristallinen Probe von (9Z,15Z)-Violaxanthin.

### Experimenteller Teil

1. *Allgemeines*. S. [28]. Zusätzlich: UV/VIS-Spektren: Perkin-Elmer-Lambda-9-Spektrometer. HPLC: Spherisorb ODS (5  $\mu$ , 4,6  $\times$  250 mm) mit A/B in jeweils spezifizierten Verhältnissen; A = Hexan +0,1% Et(i-Pr)<sub>2</sub>N, B = CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:5. NMR: Bruker-AMX-600-Spektrometer, Messtemp. 300 K; besternte Signale, Zuordnung austauschbar. SC = Säulenchromatographie; DMPU = N,N'-Dimethylpropylenharnstoff;  $t_R$  = Retentionszeit in min.

2. (1'S,2'R,4'S,2Z,4E)-(1',2'-Epoxy-4'-hydroxy-2',6',6'-trimethylcyclohexyl)-3-methylpenta-2,4-dienal (**8**). Eine Lsg. von 465 mg **7** in 50 ml AcOEt wurde unter N<sub>2</sub> auf  $-10^\circ$  gekühlt und hierauf mit 4,5 g MnO<sub>2</sub> (Merck 805958) unter Rühren in kleinen Portionen versetzt. Dann wurde 6 h bei  $-10^\circ$  kräftig gerührt (GC-Kontrolle (180°, 1,1 atm H<sub>2</sub>, 50-m-Kapillarsäule SE22): 4,19 min (**8**), 4,53 min (**9**); Reaktionsende: **8**/**9** 9:1). Nach rascher Filtration und Eindampfen wurden 426 mg (95%) farbloses Öl erhalten, welches ohne weitere Reinigung sofort zu **11** umgesetzt wurde.

3. (9Z)-Diethyl-12'-apo-15,15'-didehydroviolaxanthin-12'-phosphonat (= Diethyl-[(1'S,2'R,4'S,2E,6E,8E,10Z,12E)-13-(1',2'-Epoxy-4'-hydroxy-2',6',6'-trimethylcyclohexyl)-2,7,11-trimethyltrideca-2,6,8,10,12-pentaen-4-ynyl]phosphonat: **11**). Eine Lsg. von 1,44 g C<sub>10</sub>-Diphosphonat **10** in 60 ml trockenem THF und 15 ml DMPU wurde unter N<sub>2</sub> auf  $-100^\circ$  gekühlt und dann unter Rühren mit 4 ml 1,4M BuLi in Hexan versetzt. Dann liessen wir innert 15 min auf  $0^\circ$  kommen, wobei bei  $-80^\circ$  die Deprotonierung einsetzte ( $\rightarrow$  grünlichblau, dann schwarz). Nach 45 min

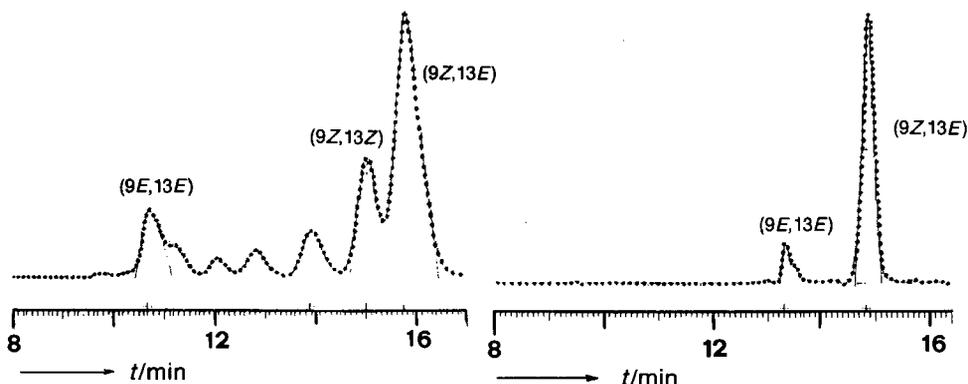


Fig. 15. HPLC von rohem **11**. Flow 1 ml/min,  $A/B = 8,5:1,5$ .

Fig. 16. HPLC von gereinigtem **11**

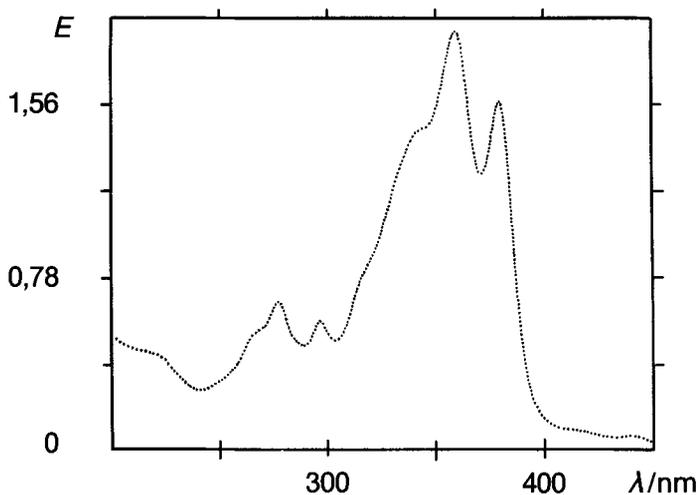


Fig. 17. UV/VIS ( $\text{Et}_2\text{O}$ ) von gereinigtem **11**

bei  $0^\circ$  wurde erneut auf  $-55^\circ$  gekühlt, mit 425 mg frisch hergestelltem **8** versetzt und nach Entfernen der Kühlung 3 h bei  $0^\circ$  weitergerührt. Nach Zugabe von  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{Et}_2\text{O}$  wurde der Extrakt nacheinander mit ges. wässr.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lsg.,  $\text{H}_2\text{O}$  und ges.  $\text{NaCl}$ -Lsg. gewaschen, dann getrocknet ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) und eingedampft: bräunlich gelbes Öl. HPLC ( $A/B$  85:15) ergab 70% (**9Z,13E**), 18% (**9Z,13Z**), 12% (**9E,13E**); s. Fig. 15. Ausbeute in verschiedenen Ansätzen: 65–70%. Eine Reinigung gelang durch rasche SC (**11** zersetzte sich leicht an Kieselgel; Kieselgel 60 (Merck, 0,015–0,040  $\mu$ ), Aceton/Hexan 1:1 + 0,1%  $\text{Et}(i\text{-Pr})_2\text{N}$ , dann  $\text{AcOEt}/\text{Hexan}/\text{MeOH}$  4:5:1). HPLC: s. Fig. 16; (**9Z,13E**)/(**9E,13E**) 95:5. Ausbeute 45%. Verbesserte Daten zu [2]: UV/VIS ( $\text{Et}_2\text{O}$ ): 277 (19900), 269 (17400), 359 (55600), 379 (46100); s. Fig. 17.  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,00 (Me(16)); 1,18 (Me(17)); 1,21 (Me(18)); 1,33 (6 Linien,  $\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ); 1,93 (Me(19)); 2,07 (*m*, Me(20,20')); ca. 2,67 (*dd*,  $J = 23$ ,  $\text{CH}_2(12')$ ); 4,11 (*m*,  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OP}$ ); 5,64 (*s*, H-C(14,14')); 5,97 (*d*,  $J = 15,3$ , H-C(7)); 6,04 (*d*,  $J = 11,2$ , H-C(10)); 6,27 (*d*,  $J = 14,9$ , H-C(12)); 6,80 (*dd*, überlagert, H-C(11)); 6,82 (*d*,  $J = 15,2$ , H-C(8)).

4. (**9'Z**)-15,15'-Didehydroneoxanthin (**12**). Eine Suspension von 198 mg *t*-BuOK in 30 ml trockenem THF wurde unter Ar auf  $-60^\circ$  gekühlt. Nun wurde eine Lsg. von 440 mg **11** in 2 ml THF unter Rühren langsam eingespritzt. Nach 30 min bei  $-60^\circ$  wurde zur blauschwarzen Lsg. langsam eine frisch zubereitete Lsg. von 200 mg **1b** in 2 ml THF getropft und dann 20 min bei  $-60^\circ$  gerührt. Innert 1 h liess man auf  $0^\circ$  kommen. Nach weiteren 30

min bei 0° (UV/VIS: keine Abnahme der Bande bei 360 nm mehr) wurde wässr. NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. zugegeben, mit Et<sub>2</sub>O extrahiert, mit NH<sub>4</sub>Cl-Lsg. und H<sub>2</sub>O gewaschen, getrocknet (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) und eingedampft: 480 mg blasiger, braun-oranger Festkörper. SC (Kieselgel 60 (Merck, 0,015–0,040 μ), Aceton/Hexan 1:1 + 0,1% Et(i-Pr)<sub>2</sub>N, dann AcOEt/Hexan/MeOH 4:5:1 + 0,1% Et(i-Pr)<sub>2</sub>N) ergab ein kristallines Produkt, das aus AcOEt umkristallisiert wurde. Die anfallenden Mutterlaugen wurden an MgO/Celite 3:1 mit ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl/i-PrOH 95:5 erneut chromatographiert und dann aus AcOEt kristallisiert. Gesamtausbeute an orangefarbenem **12** 230 mg (43%). Doppelschmp. 125–127°/153–156° (s. Kap. 3). Spektraldaten verbessert gegenüber [2]: UV/VIS (Et<sub>2</sub>O): 270 (21000), 314 (25000), 327 (32000), 419 (98600), 445 (88400). CD (EtOH, RT.): Tab. 2. CD (Et<sub>2</sub>O): Fig. 5; 228 (–14,3), 251 (0), 269 (+5,5), 286 (0), 313 (–4,6), 325 (–5,3), 337 (0), 347 (+0,9), 368 (+1,6), 390 (+2,7), 412 (+3,3), 422 (+3,7) 444 (+2,2), 499 (+0,3). <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 1,013 (Me(16'')); 1,074 (Me(17)); 1,171 (Me(17'')); 1,217 (Me(18'')); 1,338 (Me(18)\*); 1,354 (Me(16)\*); 1,581 (OH); 1,818 (Me(19)); 1,944 (Me(19'')); 2,101 (Me(20,20'')); 3,93 (m, H–C(3'')); 4,33 (m, H–C(3)); 5,716 (s, H–C(14,14'')); 5,974 (d, J = 15,4, H–C(7'')); 6,032 (s, H–C(8)); 6,054 (d, J = 12,1 H–C(10'')); 6,093 (dd, J = 0,64, 11,5, H–C(10)); 6,297 (d, J = 15,2, H–C(12'')); 6,339 (d, J = 15,3, H–C(12)); 6,616 (dd, J = 11,3, 14,9, H–C(11)); 6,814 (dd, J = 11,7, 14,9, H–C(11'')); 6,829 (d, J = 15,2, H–C(8'')).

5. (15Z,9'Z)-Neoxanthin (**13**). Eine Lsg. von 150 mg **12** in 15 ml MeOH + 0,1% Et(i-Pr)<sub>2</sub>N wurde unter H<sub>2</sub> mit 150 mg vorhydriertem Lindlar-Katalysator versetzt und dann intensiv gerührt (VIS-Kontrolle: Zunahme des Piks bei 462 nm; HPLC-Kontrolle (Fluss 1 ml/min, B/A 1:3; t<sub>R</sub> 9,44 (**12**), 8,03 (**13**)). Nach Beendigung der Reaktion wurde filtriert, eingedampft und der kristalline Rückstand aus AcOEt umkristallisiert: 80 mg **13** als orangeförlige Kristalle. Die in den Mutterlaugen enthaltenen 50 mg wurden durch SC (MgO/Celite 3:1, ClCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Cl/i-PrOH 95:5) gereinigt. Nach Kristallisation wurden weitere 30 mg **13** erhalten. Ausbeute 75%. Doppelschmp. 146–148°/182–184° (s. Kap. 3). Spektraldaten verbessert gegenüber [2]: UV/VIS (EtOH): 269,8 (27500), 315,2 (31100), 328,2 (41500), 411,4 (81900), 434,4 (117500), 462,5 (99300); Tab. 1, Fig. 2. CD (EtOH, RT.): Tab. 2, Fig. 7. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 1,015 (Me(16'')); 1,078 (Me(17)); 1,173 (Me(17'')); 1,221 (Me(18'')); 1,341 (Me(18)\*); 1,358 (Me(16)\*); 1,812 (Me(19)); 1,949 (Me(19'')); 1,963 (Me(20)\*); 1,969 (Me(20'')); 3,93 (m, H–C(3'')); 4,32 (m, H–C(3)); 5,949 (d, J = 15,4, H–C(7'')); 6,045 (s, H–C(8)); 6,090 (d, J = 11,6, H–C(10)); 6,126 (d, J = 11,6, H–C(10'')); 6,363 (d, J = 15,1, H–C(12'')); 6,395 (br. d, H–C(15,15'')); 6,401 (d, J = 15,2, H–C(12)); 6,585 (dd, J = 11,2, 14,9, H–C(11)); 6,653 (br. d, J = 8,7, H–C(14,14'')); 6,796 (dd, J = 11,4, 15,0, H–C(11'')); 6,846 (d, J = 15,2, H–C(8'')).

6. Thermische Isomerisation von **13** zu (15E,9'Z)-Neoxanthin (**6**). Wegen Schwerlöslichkeit von **13** in Kohlenwasserstoffen wurde AcOEt verwendet. Unter 80° trat keine Isomerisation ein; als optimal erwies sich eine Temp. von 97°: Unter Lichtabschluss und Ar wurde eine Lsg. von 50 mg **13** in 100 ml AcOEt + 0,1% Et(i-Pr)<sub>2</sub>N im verschlossenen Kolben auf 97° erhitzt. Analyse durch HPLC (Fluss 1 ml/min, B/A 1:4), Verlauf der Isomerisation in Fig. 18. Nach 4 h wurde die Isomerisation abgebrochen und das Gemisch eingedampft. SC (CaCO<sub>3</sub> (Merck 2066), trockengestopfte Säule 4,0 × 30 cm, Benzol/i-PrOH 95:5) ergab folgende Zonen: oben, bräunlichorange, breit (**6**); darunter schmal, scharf ((all-E)-Neoxanthin (**5**)); darunter scharf (**13**); darunter diffus (unbekanntes Nebenprodukt). Nach üblicher Isolierung wurden 35 mg kristallines **6** erhalten, das in Et<sub>2</sub>O bei –78° zur Abtren-

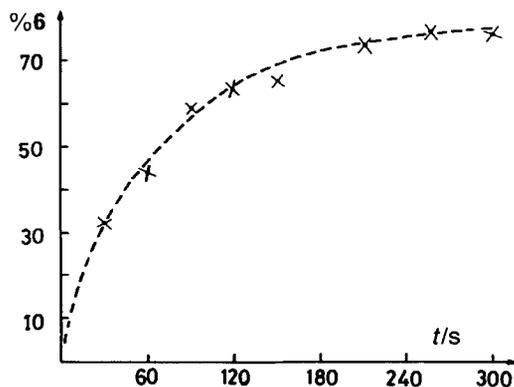


Fig. 18. Zeitlicher Ablauf der thermischen Isomerisation (97°) von **13** zu **6**.  
HPLC-Bestimmung des prozentualen Verhältnisses **13/6**.

nung eines Nebenproduktes behandelt wurde und dann mehrmals aus AcOEt/Hexan bei RT. kristallisiert wurde: hellorange, kugelige Kristalle. Schmp. 133,5–135,5° ( $[\eta]$ : 134°). UV/VIS: Tab. 1, Fig. 3. CD: Tab. 2, Fig. 4. NMR: Kap. 3.5.

7. Isolierung von 6 aus Gras. 7.1. Vorversuch: Bei RT. wurden 50 g frischer Rasenschnitt mit 1 l MeOH/Et<sub>2</sub>O/konz. NH<sub>3</sub>-Lsg. 8:2:0,25 l Tag stehen gelassen. Nach Abgiessen (14,2 g trockener Rückstand) wurde eingedampft. Zum Eindampfrückstand wurden Seesand, 100 ml MeOH, 50 ml Et<sub>2</sub>O und unter Rühren 10 ml 15% KOH/MeOH gegeben und nach Rühren über Nacht noch 100 ml H<sub>2</sub>O und 100 ml Et<sub>2</sub>O. Ausschütteln des Extraktes mit H<sub>2</sub>O und NaCl-Lsg. Trocknen (MgSO<sub>4</sub>), Eindampfen und SC (50 g MgO/Celite 3:1, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/i-PrOH 98:2, Säule 3 × 13 cm, als Brei gefüllt) ergaben aus der am stärksten haftenden gelben Zone (direkt unter den grünen und blaugrünen Chlorophyll-Derivaten) 13,1 mg Gemisch von Neoxanthin-Isomeren, (E)/(Z) 1:3,3.

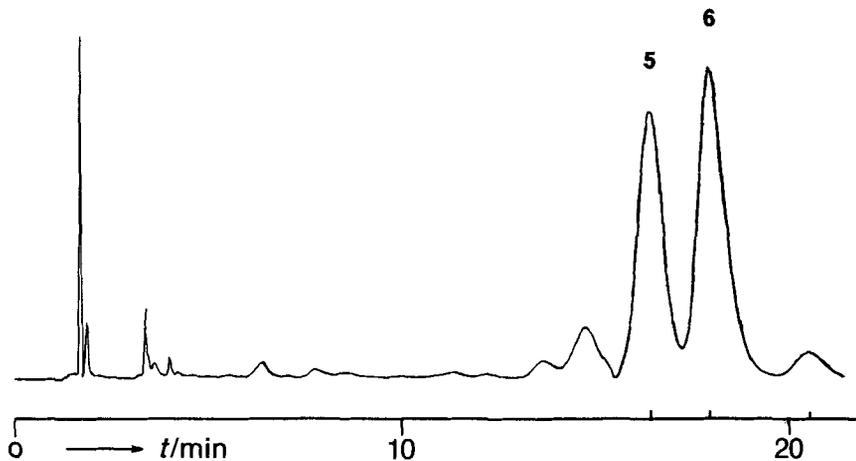


Fig. 19. HPLC einer Zwischenfraktion von Neoxanthinen aus Gras.  $t_R$  16,40 (5) und 17,94 min (6).

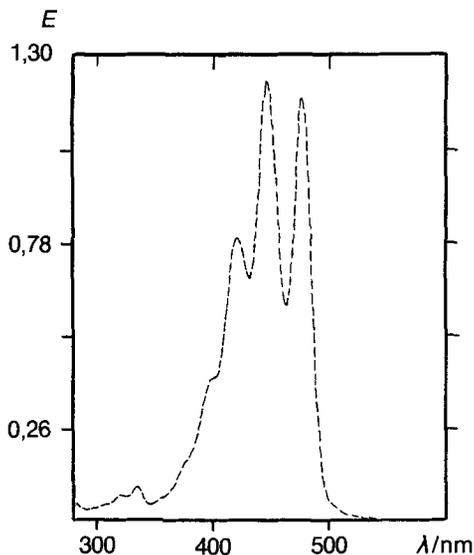


Fig. 20. UV/VIS (Benzol) von kristallinem (9'Z)-Neoxanthin (6) aus Gras.  $c = 1,02 \cdot 10^{-5}$  mol.

7.2. Hauptversuch: Wie im Vorversuch wurden 1,1 kg frischer Rasenschnitt vom 13.9.93 mit 4 l MeOH/Et<sub>2</sub>O/konz. NH<sub>3</sub>-Lsg. 8:2:0,25 extrahiert und aufgearbeitet. Nach SC (500 g MgO/Celite, trocken gestopft wie oben) wurden die Neoxanthin-Fractionen an CaCO<sub>3</sub> (Merck 2066; trockengestopfte Säule 4,6 × 30 cm) mit Benzol/Hexan/Aceton 70:28:2 getrennt (HPLC (Fluss 1,5 ml/min, B/A 1:3): 5 ist weniger polar als 6 bei der SC und im HPLC (Fig. 17)). Nach üblicher Isolierung und Kristallisation aus Benzol/Hexan und AcOEt/Hexan erwiesen sich die Naturprodukte mit den Syntheseprodukten im Schmp., Spektren und HPLC als identisch. 6: UV/VIS (EtOH): Fig. 18, Tab. 1. UV/VIS (Benzol): Fig. 19; 334 (9060), 400 (sh, 37800), 422 (78200), 447 (121350), 477 (116720); III/II 93% [14].

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] A. Baumeler, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 469.
- [2] A. Baumeler, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1992**, *75*, 773.
- [3] F. Kienzle, H. Mayer, R. E. Minder, H. Thommen, *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61*, 2616.
- [4] M. Acemoglu, P. Uebelhart, M. Rey, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 931.
- [5] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1990**, *73*, 1637.
- [6] G. Englert, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Ed. G. Britton and T. W. Goodwin, Pergamon Press, London, 1982.
- [7] L. Cholnoky, K. Györgyfy, A. Rónai, J. Szabolcs, Gy. Tóth, G. Galasko, A. K. Mallams, E. S. Waight, B. C. L. Weedon, *J. Chem. Soc. (C)* **1969**, 1256.
- [8] F. Khachik, G. R. Beecher, N. F. Wittacker, *J. Agric. Food Chem.* **1986**, *34*, 603.
- [9] J. F. B. van Hasselt, *Chem. Weekbl.* **1909**, *6*, 480; J. Herzig, F. Faltis, *Monatsh. Chem.* **1914**, *35*, 997.
- [10] L. v. Cholnoky, L. Zechmeister, *Justus Liebigs Ann. Chem.* **1930**, *478*, 95; R. Kuhn, A. Winterstein, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1933**, *66*, 429, 1733.
- [11] W. Vetter, G. Englert, N. Rigassi, U. Schwieter, in 'Carotenoids', Ed. O. Isler, H. Gutmann und U. Solms, Birkhäuser, Basel, 1971.
- [12] K. Tsukida, K. Saiki, T. Takii, Y. Koyama, *J. Chromatogr.* **1982**, *245*, 359; K. Tsukida, K. Saiki, *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **1983**, *29*, 111.
- [13] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 461.
- [14] B. Ke, F. Imsgard, H. Kjösen, S. Liaaen-Jensen, *Biochim. Biophys. Acta* **1970**, *210*, 139.
- [15] V. Sturzenegger, R. Buchecker, G. Wagnière, *Helv. Chim. Acta* **1980**, *63*, 1074.
- [16] a) K. Noack, A. J. Thomson, *Helv. Chim. Acta* **1979**, *62*, 1902; b) K. Noack, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Ed. G. Britton and T. W. Goodwin, Pergamon Press, London, 1982.
- [17] G. P. Moss, J. Szabolcs, Gy. Tóth, B. C. L. Weedon, *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1975**, *87*, 301.
- [18] L. Bartlett, W. Klyne, W. P. Mose, P. M. Scopes, G. Galasko, A. K. Mallams, B. C. L. Weedon, J. Szabolcs, Gy. Tóth, *J. Chem. Soc. (C)* **1969**, 2527.
- [19] P. Molnár, J. Szabolcs, L. Radics, *Phytochemistry* **1986**, *25*, 195.
- [20] S. Herzberg, G. Borch, S. Liaaen-Jensen, *Acta Chem. Scand., Ser. B* **1979**, *33*, 42.
- [21] L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1988**, *53*, 521; A. Bax, D. G. Davis, *ibid.* **1985**, *65*, 355.
- [22] A. A. Bothner-By, R. L. Stephens, J. Lee, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 811; A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *64*, 533.
- [23] A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093.
- [24] L. Müller, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 4481; A. Bax, R. H. Griffey, B. L. Hawkins, *J. Magn. Reson.* **1983**, *55*, 301.
- [25] N. L. Allinger, *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, *99*, 8127.
- [26] C. A. G. Haasnoot, A. A. M. de Leeuw, C. Altona, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 2783.
- [27] F. Pavelčík, K. Havetta, V. Suchý, *Acta Crystallogr., Sect. C* **1985**, *41*, 1272.
- [28] P. Uebelhart, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1983.
- [29] A. Linden, C. H. Eugster, in Vorbereitung.