

Das allenische Carotinoid Deepoxineoxanthin

The Allenic Carotenoid Deepoxineoxanthin

Helfried Nitsche

Botanisches Institut, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule, Aachen

(Z. Naturforsch. **29 c**, 657–660 [1974]; eingegangen am 18. Juli 1974)

Allenic Carotenoid, Allene-Acetylene Transformation

Deepoxineoxanthin, the epoxide-free homologue of neoxanthin, is synthesised in the petals of *Mimulus guttatus* (Monkey flower). The pigment is esterified with various fatty acids. The free pigment has the structure of 6',7'-didehydro-5',6'-hydro- β,β -carotene-3',5'-triol. These structural conclusions were borne out by the formation of a diacetate (2-sec OH), a mono-silicate of the diacetate (1-tert OH) and a mono-ether of the diacetate and the free pigment (allylic tert OH). PMR, mass and IR spectra supported the proposed structure, which was confirmed by the transformation of deepoxineoxanthin into diatoxanthin with acidified acetone (allene-acetylene transformation) and its oxidation to neoxanthin with monoperphthalic acid.

Die Gelbe Gauklerblume (*Mimulus guttatus*) ist bisher die einzige Pflanze, in der nachweislich drei unterschiedliche Allen-Xanthophylle synthetisiert werden, die ein noch nicht aufgeklärtes Spektrum von Fettsäure-Estern bilden. Neoxanthin, Mimulaxanthin – ein diallenisches Xanthophyll¹ – und Deepoxineoxanthin. Über dessen chromatografische Eigenschaften und die seiner Derivate wurde vor einiger Zeit berichtet^{2, 3}. Diese Daten werden in der vorliegenden Arbeit durch NMR, IR und Massenspektren bestätigt.

Material und Methoden

Anzucht der Pflanzen, Pigmentisolierung, Derivatisierung und Chromatografie sind bereits ausführlich beschrieben worden^{1–4}.

Ergebnisse und Diskussion

Die für Deepoxineoxanthin, Abb. 1, **1**, postulierte Allenbindung kann dem IR-Spektrum entnommen werden, Abb. 2: ν_{max} bei 1935 und 1065 cm^{−1}. Gemäß dieser Struktur sollte Deepoxineoxanthin im NMR-Spektrum Resonanzen teils von Zeaxanthin, Abb. 1, **2**, teils von Neoxanthin, Abb. 1, **3**, aufweisen. Das ist der Fall, Abb. 3. Besonders ist auf das charakteristisch nach höherem Feld verschobene Signal der zur Allen-Bindung benachbarten Ketten-Methylgruppe (1,77 ppm) hinzuweisen, das auch

Sonderdruckanforderungen an Dr. Helfried Nitsche, Serva Feinbiochemica GmbH, D-6900 Heidelberg, Karl-Benz-Straße 7.

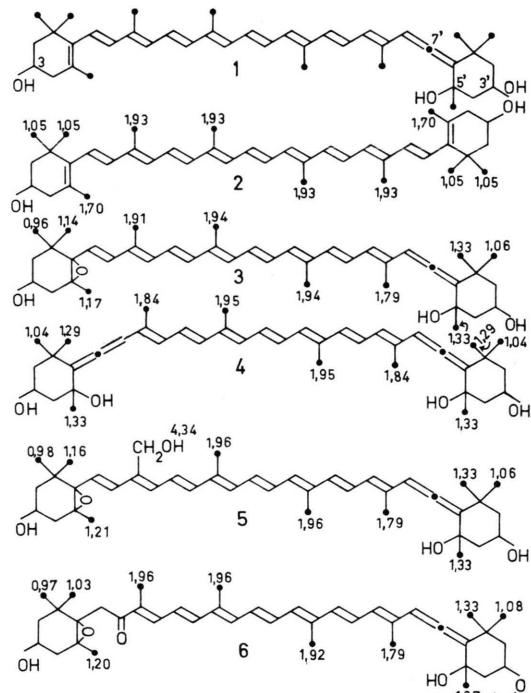


Abb. 1. Strukturen und NMR-Daten von Allen-Xanthophyllen und Zeaxanthin. 1, Deepoxineoxanthin; 2, Zeaxanthin; 3, Neoxanthin; 4, Mimulaxanthin; 5, Vaucherianthin; 6, Fucoxanthin. Die Spektren 1 bis 3 wurden bei 60 MHz in CDCl_3 , 4 und 5 bei 220 MHz in Aceton-d₆ und 6 bei 100 MHz in CDCl_3 aufgenommen.

bei Mimulaxanthin, Abb. 1, **4**, Vaucherianthin, Abb. 1, **5**, Fucoxanthin, Abb. 1, **6**, und Peridinin, einem Allen-Carotinoid aus Dinoflagellaten⁷, zu beobachten ist. Das Massenspektrum weist ein Molekulargewicht (MG) von 584 nach, was einem um



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

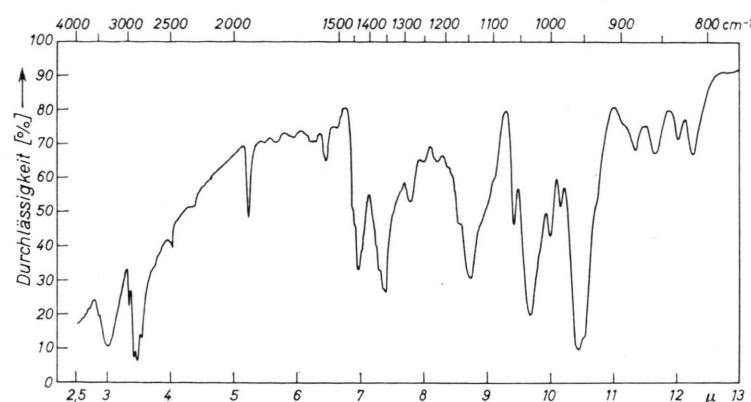


Abb. 2. IR-Spektren von Deepoxineoxanthin. 6 mg Pigment in 1 g KBr.

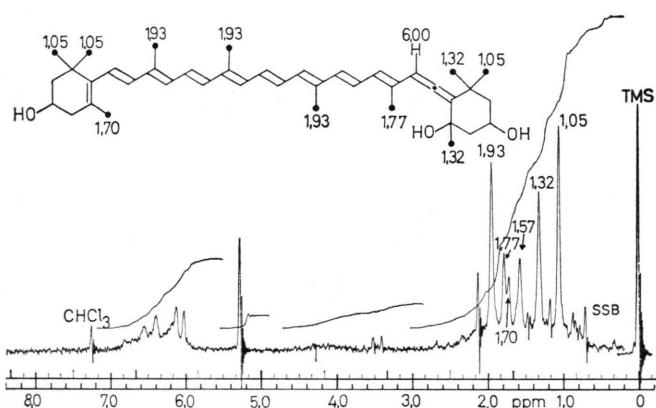


Abb. 3. NMR-Spektrum von Deepoxineoxanthin bei 60 MHz in CDCl_3 mit TMS als internem Standard.

eine Epoxidgruppe ärmeren Neoxanthin ($\text{MG} = 600$) entspricht. Die Spektren beider Pigmente ähneln sich auch in ihrem Fragmentierungsmuster. Verluste von 18 (H_2O), 36 ($2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 51 ($2 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3$), 54 ($3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 92 (Toluol), 110 (Toluol + H_2O), 128 (Toluol + $2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) und 143 (Toluol + $2 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{CH}_3$) sind hierbei besonders hervorzuheben, Abb. 4. Wie bei Mimulaxanthin und dem in der Kette substituierten Vaucherianthrin ist der Verlust von Toluol (92) stark ausgeprägt, während Xylool (106) kaum oder überhaupt nicht erscheint. Die Gründe hierfür sind bereits ausführlich erörtert worden^{1, 6, 8}. Zum Nachweis der durch den Verlust von 54 Masseneinheiten (m. u.) angezeigten drei Hydroxyle wurde Deepoxineoxanthin in der üblichen Weise mit Acetanhydrid in Pyridin bei Raumtemperatur acetyliert. Chromatografische Reinigung der Reaktionsprodukte ergab als höchste Veresterungsstufe ein Diacetat ($\text{MG} = 668$), Abb. 5, 1, das mit $(\text{CH}_3)_3\text{SiCl}$ in Pyridin silyliert wurde und noch ein

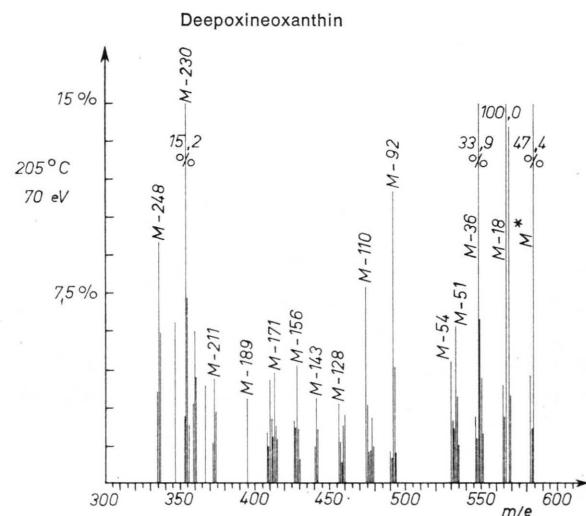
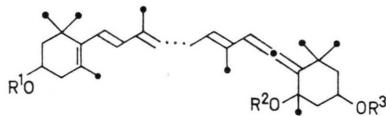


Abb. 4. Massenspektrum von Deepoxineoxanthin. Basispeak m/e 566 (M-18).



- 1 $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{CH}_3\text{CO}; \text{R}_2 = \text{H}$
- 2 $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{CH}_3\text{CO}; \text{R}_2 = (\text{CH}_3)_3\text{Si}$
- 3 $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{H}; \text{R}_2 = \text{CH}_3$
- 4 $\text{R}_1 = \text{R}_3 = \text{CH}_3\text{CO}; \text{R}_2 = \text{CH}_3$.

Abb. 5. Derivate von Deepoxineoxanthin. 1, Diacetat; 2, Diacetat-monosilanat; 3, Monomethyläther; 4, Diacetat-monomethyläther.

Monosilanat, Abb. 5, 2, erbrachte mit $\text{MG} = 740$, Tab. I. Um die auch durch das NMR-Spektrum postulierte Stellung dieses tertiären Hydroxyls zu erhärten, wurde sowohl das freie Pigment als auch sein Diacetat mit saurem Methanol (0,01 N HCl) behandelt. Dieses einfache Reagens veräthert bevorzugt allylständige (d. h. von einer Doppelbin-

Tab. I. Massenspektren von Deepoxineoxanthin-diacetat-monosilanat, MG = 740 (A) und Diatoxanthin MG = 566 (B), das aus Deepoxineoxanthin gewonnen wurde. Die Spektren wurden bei 200 °C, 10⁻⁷ Torr und 70 eV aufgenommen.

	M-	0	60	90	92	106	132	150	152
A	I. rel. [%]	9	4	52	6	2	6	100	7
A	M-	165	182	210	224	242	295		
B	I. rel. [%]	7	5	18	7	17	18		
B	M-	0	15	18	33	76	92	106	153
B	I. rel. [%]	100	6	9	2	2	13	3	5
B	M-	158		193	206	219	221	237	
B	I. rel. [%]	3		4	5	6	5	5	

dung durch eine Einfachbindung getrennte) Hydroxyle. In beiden Fällen wurde nach entsprechender präparativer Chromatografie nur ein Monoäther als Hauptreaktionsprodukt erhalten, Abb. 5, 3 und 4. Da durch die Acetylierung bereits beide nicht teritiären OH-Gruppen blockiert waren, konnte also nur das tertiäre Hydroxyl veräthert und damit allylständig sein. Das Massenspektrum dieses Produkts erbringt das erwartete und errechnete MG = 682, Abb. 6. Dabei sind Verluste von 32 (Methanol), 60 und 120 (ein bzw. zwei Acetate) und 152 m.u. (Methanol + zwei Acetate) eindeutiger Beweis für das entsprechende Derivat, dessen Fragmentierungsmuster im übrigen dem von Neoxanthin-diacetat-monomethyläther entsprach.

Milde Oxidation von Deepoxineoxanthin mit Monoperphthalsäure (MPS) in Äther erbrachte ein in Verteilungs-DC und Spektrum völlig mit Neoxanthin identisches Pigment, das, wie furanoide Neoxanthin nach kurzzeitiger Behandlung mit saurem Äthanol 22 nm kurzwelliger absorbierte, Abb. 7. Adsorptions-DC auf basischen Mg₂(OH)₂CO₃-

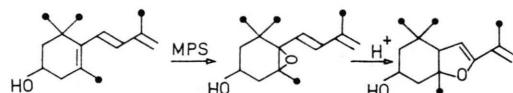


Abb. 7. Oxidation von Deepoxineoxanthin zu Neoxanthin mit Monoperphthalsäure (MPS) in Diäthyläther und furanoide Umlagerung des Reaktionsproduktes (Neoxanthin).

Schichten mit Petroläther-Aceton: 50:10, die *cis-trans* isomere Xanthophylle zu trennen gestatten⁹, zeigte eine Aufspaltung des Oxidationsproduktes in zwei Banden (*hR_F* 63 und 65) im Verhältnis 2:1. Nur die Bande bei *hR_F* 65 war mit authentischem all-*trans* Neoxanthin identisch. Dieses Verhalten zeigten auch die Oxidationsprodukte von Zeaxanthin (Antheraxanthin und Violaxanthin) und Lutein (Taraxanthin): Nur die jeweils schwächere Bande ist mit der all-*trans* Form des natürlichen Pigments identisch. Dies ist mit der räumlichen Stellung des eingeführten Sauerstoffs zu erklären: Bei den „natürlichen“ Pigmenten steht er *trans* zur Hydroxylfunktion^{10, 11}. Behandlung dieses Isomerengemisches mit saurem Aceton (0,01 N HCl) überführte – nach einem Mechanismus, wie er im folgenden beschrieben ist – das partialsynthetische Neoxanthin in die Isomeren des Acetyl-Xanthophylls Diadinochrom, die mit aus „natürlichem“ Neoxanthin gewonnenen völlig identisch waren.

Behandelt man Deepoxineoxanthin in der gleichen Weise, so erhält man mehrere definierte Entwässerungsprodukte aus Endo- und Exoeliminationen^{2, 3}, wobei die Allen-Bindung unbeeinflusst bleibt. Ein Reaktionsprodukt entsteht jedoch unter Allen-Acetylen-Umlagerung: Diatoxanthin, Abb. 8. Sein Massenspektrum lieferte MG = 566 und Bruch-

Deepoxineoxanthindiacetatmonomethyläther

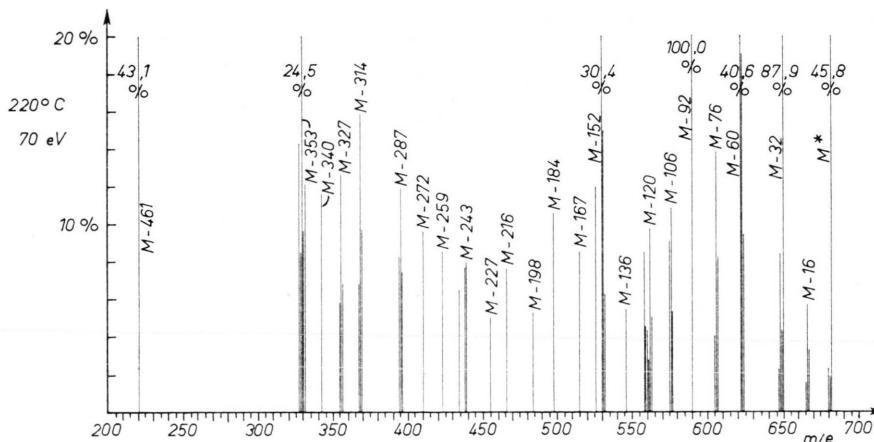


Abb. 6. Massenspektrum von Deepoxineoxanthin-diacetat-monomethyläther. Basispeak bei *m/e* 590 (M-92).

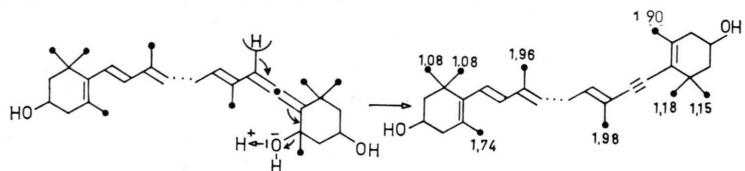


Abb. 8. Reaktionsmechanismus der Umwandlung von Deepoxineoxanthin in Diatoxanthin. Am Acetylen-Pigment sind die NMR-Daten der Methylprotonen angegeben.

stücke, die denen authentischen Diatoxanthins aus *Vaucheria sessilis* und *Euglena gracilis*^{12–14} völlig entsprachen, Tab. I. Das traf auch für das NMR-Spektrum zu: Die Resonanzen der Methyl-Protonen bei 1,08, 1,74 und 1,96 ppm entsprechen denen von Zeaxanthin, Abb. 1, 2, wobei die Verschiebung nach tieferem Feld noch deutlicher auf der Acetyleneite wird, dessen Resonanzen (1,15, 1,18 und 1,90 ppm) mit denen des di-acetylenischen Carotinoids Alloxanthin übereinstimmen, das auch aus dem di-allenischen Pigment Mimulaxanthin zugänglich ist^{1, 15, 16}. Besonders deutlich und anschaulich ist die Übereinstimmung der Reaktionsfolge für Neoxanthin und Deepoxineoxanthin unter dem Einfluß einer sauren Katalyse aus Abb. 9 * zu entnehmen: So, wie sich Neoxanthin und Deepoxineoxanthin in ihren *R_F*-Werten unterscheiden, so tun dies in gleicher Weise ihre jeweiligen Entwässerungsprodukte aus Endo- und Exoelimination (Endo und Exo) sowie Diadinochrom und Diatoxanthin. Das gilt auch für die Monohydroxystufe (Mono-OH), die, wie zu

erwarten, die gleichen *R_F*-Werte wie Kryptoxanthin und Kryptoxanthinepoxid hat.

Es ist bemerkenswert, daß Deepoxineoxanthin und Mimulaxanthin bisher nur in den Blüten von *Mimulus guttatus* gefunden werden konnten, wo sie in verhältnismäßig hohen Konzentrationen vorliegen. Es ist möglich, daß bei Aufarbeitung größerer Mengen von Pflanzenmaterial auch in anderen Objekten diese Allen-Xanthophylle nachgewiesen werden können. Da über den Bildungsmechanismus der Allen-Bindung *in vivo* noch nichts bekannt ist – mittels Bengalrosa als Sensibilisator unter Belichtung gebildete Allen-Carotinoide haben entgegengesetzte Konfiguration^{17–20} – böte sich in *Mimulus* ein leicht in beliebiger Menge im Gewächshaus unter definierten Bedingungen zu züchtendes Objekt, an dem der Allen-Bildungsvorgang studiert werden könnte. Dabei ist Deepoxineoxanthin vielleicht die Vorstufe und Mimulaxanthin das Folge(End)produkt des Neoxanthin-Stoffwechsels.

* Abb. 9 siehe Tafel auf Seite 660 a.

¹ H. Nitsche, Z. Naturforsch. **28 c**, 481 [1973].

² H. Nitsche, K. Egger u. A. Dabbagh, Tetrahedron Lett. **35**, 2999 [1969].

³ K. Egger, A. Dabbagh u. H. Nitsche, Tetrahedron Lett. **35**, 2995 [1969].

⁴ H. Nitsche, Phytochemistry **11**, 401 [1972].

⁵ H. Nitsche u. K. Egger, Tetrahedron Lett. **17**, 1435 [1970].

⁶ H. Nitsche, Z. Naturforsch. **28 c**, 641 [1973].

⁷ H. Strain, W. Svec, K. Aitzetmüller, M. Grandolfo, J. Katz, H. Kjøsen, S. Norgard, S. Jensen, F. Haxo, P. Wegfahrt u. H. Rapoport, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 1823 [1971].

⁸ H. Nitsche, Arch. Mikrobiol. **95**, 79 [1974].

⁹ H. Nitsche u. K. Egger, Phytochemistry **8**, 1577 [1969].

¹⁰ L. Bartlett, W. Klyne, W. Mose, P. Scopes, G. Galasko, A. Mallams, B. Weedon, J. Scabols u. G. Toth, J. Chem. Soc., C **1969**, 2572.

¹¹ L. Cholnoky, K. Györgyfy, A. Ronai, G. Toth, G. Galasko, A. Mallams, E. Waight u. B. Weedon, J. Chem. Soc., C **1969**, 1256.

¹² H. Strain, F. Benton, M. Grandolfo, K. Aitzetmüller, W. Svec u. J. Katz, Phytochemistry **9**, 2561 [1970].

¹³ B. Johannes, H. Brzezinka u. H. Budzikiewicz, Z. Naturforsch. **26 b**, 377 [1971].

¹⁴ K. Egger, H. Nitsche u. H. Kleinig, Phytochemistry **8**, 1583 [1969].

¹⁵ A. Mallams, E. Waight, B. Weedon, D. Chapman, F. Haxo, T. Goodwin u. D. Thomas, Chem. Commun. **1967**, 301.

¹⁶ B. Weedon, Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe **27**, 81 [1969].

¹⁷ M. Mousseron-Canet, J. Dali u. J. Mani, Tetrahedron Lett. **57**, 6037 [1968].

¹⁸ B. Weedon, Pure Appl. Chem. **20**, 531 [1969].

¹⁹ C. Foote u. M. Brenner, Tetrahedron Lett. **57**, 6041 [1968].

²⁰ B. Weedon, Rev. Pure Appl. Chem. **20**, 51 [1970].

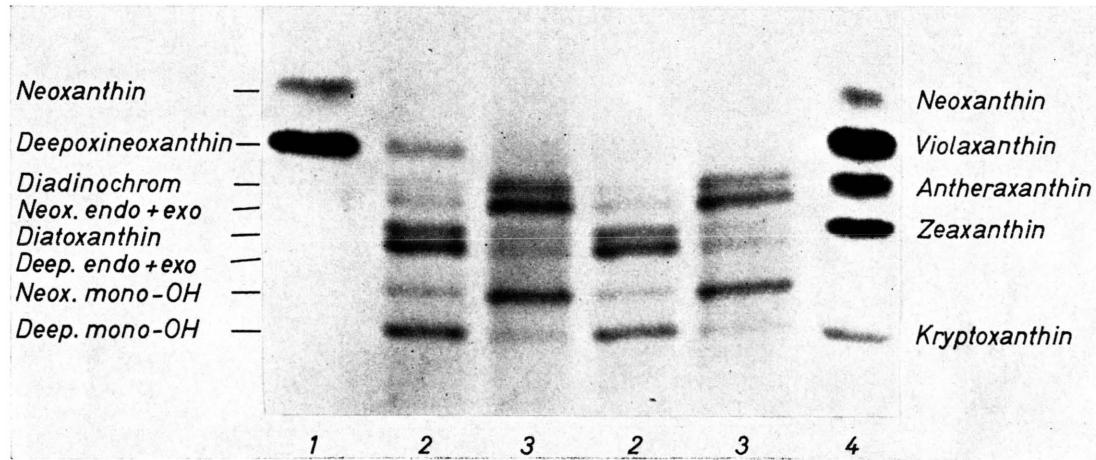


Abb. 9. DC der Reaktionsprodukte von Deepoxineoxanthin (2) und Neoxanthin (3). Vergleich: Verseifter Gesamtextract von *Forsythia intermedia* (4). Schicht: Cellulose mit Triglyceriden teilimprägniert. Laufmittel: Methanol : Aceton : Wasser = 40 : 10 : 3.

