

**Synthese und Untersuchung der antioxidativen
Eigenschaften von vinylog verlängerten Flavonoiden.
Antioxidative Eigenschaften von natürlichen
Carotinoiden**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Inés Angeles Hernández Blanco

aus Salamanca / Spanien

Düsseldorf 2003

Gedruckt mit der Genehmigung der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Referent : Univ. Prof. Dr. H.-D. Martin

Korreferent : Univ. Prof. Dr. W. Stahl

Tage der mündlichen Prüfung: 20.11., 26.11. und 02.12.2003

Herrn Prof. Dr. H.-D. Martin danke ich für die Aufnahme in seinen Arbeitskreis,
für die Vergabe des Themas und den mir gewährten Freiraum bei der
Gestaltung dieser Arbeit. Seine Anregungen und seine stete
Diskussionsbereitschaft haben diese Arbeit begleitet.

Für Fritz

Teile dieser Arbeit wurden bereits in folgenden Publikationen veröffentlicht:

Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids,

S. Beutner, B. Blödorn, S. Frixel, I. Hernández Blanco, T. Hoffmann, H.-D. Martin, B. Mayer, P. Noack, C. Ruck, M. Schmidt, I. Schuelke, S. Sell, H. Bettermann, H. Ernst, S. Haremza, H. Paust, F. Prechtel, G. Seyboldt, H. Sies, W. Stahl, R. Walsh

Applications of Natural Colorants for Food, Nutraceuticals, Confectionery, Beverages, Cosmetics (INF/COL), the Hereld Organization Hamden, CT, 2000.

Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids,

S. Beutner, B. Blödorn, S. Frixel, I. Hernández Blanco, T. Hoffmann, H.-D. Martin, B. Mayer, P. Noack, C. Ruck, M. Schmidt, I. Schuelke, S. Sell, H. Bettermann, H. Ernst, S. Haremza, H. Paust, F. Prechtel, G. Seyboldt, H. Sies, W. Stahl, R. Walsh,

Colorchem, 2000, 23.

Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of β -Carotene in antioxidant function,

S. Beutner, B. Blödorn, S. Frixel, I. Hernández Blanco, T. Hoffmann, H.-D. Martin, B. Mayer, P. Noack, C. Ruck, M. Schmidt, I. Schuelke, S. Sell, H. Ernst, S. Haremza, G. Seyboldt, H. Sies, W. Stahl, R. Walsh

J. Sci. Food Agric. 2001, 81, 559-568

Modified Flavonoids as strong photoprotecting UV-absorbers and antioxidants,

S. Beutner, S. Frixel, S. Haremza, T. Hoffmann, I. Hernández Blanco, N. Kiesendahl, B. Mayer, P. Noack, R. Scherrers, I. Schuelke, H.-D. Martin, *Colorchem. 2002, 21*

Time-course of Carotenoid and Degraded Carotenoid Concentrations during Antioxidant Activity and Function,

S. Beutner, H. Ernst, S. Frixel, I. Hernández Blanco, B. Mayer, C. Ruck, M. Schmidt, S. Sell, R. Walsh, H. Sies, W. Stahl, H.-D. Martin

Free Rad. Res. **2002**, 36, Suppl. 1, 66-68

Modified Flavonoids as strong photoprotecting UV-absorbers and antioxidants,

S. Beutner, T. Hoffmann, I. Hernández Blanco, P. Noak, N. Kiesendahl, I. Schülke, S. Frixel, R. Scherrers, B. Mayer, H.-D. Martin

Advances in Colour Science and Technology **2002**, 5, 103-112

Modified Flavonoids as strong photoprotecting UV-absorbers and antioxidants,

H.-D. Martin, S. Beutner, S. Frixel, B. Blödorn, I. Hernández Blanco, B. Mayer, A. Pérez Gálvez, C. Rück, M. Schmidt, S. Sell, T. Hoffmann, P. Noak, I. Schülke, N. Kiesendahl, R. Scherrers, H. Sies, W. Stahl, H. Ernst, S. Haremza, *Strategies for Safe Food*, Ed. T. Eklund, H. De Brabader, E. Daeselerie, I.

Dirinck, W.Ooghe, **2003**, 1, 288-291

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung	1
1.1. Allgemeines	1
1.1.1. Klassifizierung der Flavonoide	1
1.1.2. Biosynthese von Flavonoiden	2
1.1.3. UV-Spektrum von Flavonoiden	5
1.1.4. Antioxidative Eigenschaften	6
1.2. Flavonoide als Antioxidantien	8
1.2.1. Allgemeines	8
1.2.2. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen	11
1.2.3. Mechanismus der antioxidativen Wirkung	13
1.2.3.1. Radikalfänger	13
1.2.3.2. Chelatbildung	16
1.2.4. Prooxidative Effekte von Flavonoiden	18
1.3. Synthetische Flavonoide	20
1.4. Resveratrol	22
1.5. Natürliche Carotinoide	25
2. Problemstellung	28
3. Hauptteil	31
3.1. Synthetischer Teil	31
3.2. Messteil	
3.2.1. Messverfahren	50
3.2.2. Messungen	57
3.2.2.1. Flavonoide und Resveratrol	57
3.2.2.1.1. Referenzmessungen	57
3.2.2.1.2. 2-Styrylchromon 24	58
3.2.2.1.3. 2-(4-Methoxystyryl)chromon 26	61
3.2.2.1.4. 5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 83	62
3.2.2.1.5. 6-Hydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 69	63

3.2.2.1.6.	2-(4-Cyanstyryl)-5-hydroxychromon 56	65
3.2.2.1.7.	5-Hydroxy-2-(4-hydroxystyryl)chromon 57	67
3.2.2.1.8.	2-(4-Hydroxystyryl)chromon 33	69
3.2.2.1.9.	2-(3,4-Dihydroxystyryl)chromon 34	71
3.2.2.1.10.	2-(4-Hydroxystyryl)-3-methylchromon 43	73
3.2.2.1.11.	6-Hydroxy-2-(3,4-dimethoxystyryl)-3-methylchromon 70	76
3.2.2.1.12.	6-Hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-3-methylchromon 71	78
3.2.2.1.13.	2-(3,4-Dihydroxystyryl)-6-hydroxy-3-methylchromon 72	80
3.2.2.1.14.	2-(4-Isopropylstyryl)-3-methylchromon 40	82
3.2.2.1.15.	2-(2-Fur-2-ylvinyl)chromon 31	84
3.2.2.1.16.	2-[3,8,12-Trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]-chromon 73	86
3.2.2.1.17.	Resveratrol 12	89
3.2.2.2.	Trolox. <i>Relative Antioxidant Activity</i>	91
3.2.2.3.	Struktur-Aktivitäts-Beziehungen synthetisierter Flavonoide	96
3.2.2.4.	Vergleich synthetisierter Flavonoide mit der natürlich vorkommenden Flavonoide	102
3.2.2.5.	Carotinoide	104
3.2.2.5.1.	Retinal	104
3.2.2.5.2.	β -Carotin	108
3.2.2.5.2.1.	β -Carotin $1 \cdot 10^{-2}$ M	108
3.2.2.5.2.2.	β -Carotin $1 \cdot 10^{-3}$ M	120
	1. Messungen mit Starter	120
	2. Messungen ohne Starter	123
3.2.2.5.3.	Prooxidative Eigenschaften von β -Carotin. Vergleich der Messergebnisse mit den Ergebnisse von Haila	132
3.2.2.5.4.	Natürliche Carotinoide	137

3.2.2.5.4.1. Capsorubin	20	137
3.2.2.5.4.2. Canthaxanthin	15	141
3.2.2.5.4.3. Zeaxanthin	93	145
3.2.2.5.4.4. Lutein	94	151
3.2.2.5.5. Vergleich der gemessenen Carotinoide		155
3.2.2.5.6. Einfluß der Abbauprodukten auf die antioxidativen Eigenschaften des β -Carotins nach Britton		161
3.2.2.5.7. Vergleich der antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden, Carotinoiden und Indigoiden gegenüber Cumolhydroperoxidbildung		162
4. Zusammenfassung		166
5. Experimenteller Teil		174
6. Literatur		230

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
abs.	absolut
AMVN	2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril)
ADP	Adenosindisphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BHT	4-Methyl-2,6-di-tert.-butylphenol
ca.	circa
CoA	Coenzym A
d	dublett
DAD	Dioden Array Detector
DMSO	Dimethylsulfoxid
DNA	Desoxyribonucleinsäure
$E_{1/2}$	Halbstufenpotential
et al.	et alii: und andere
etc.	et cetera
GC	Gaschromatographie
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathiondisulfid
GST	Glutathion S-transferase
h	Stunde
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
<i>i</i> -Pr	<i>iso</i> -Propyl
IR	Infrarot
M	Molekulargewicht
Me	Methyl
mg/d	Milligramm pro Tag
min	Minuten
MS	Massenspektroskopie
NAD ⁺	Nicotinamid-adenin-dinucleotid (oxidiert)
NADH	Nicotinamid-adenin-dinucleotid (reduziert)
NMR	kernmagnetische Resonanz

Abkürzungsverzeichnis

GSH-Px	Glutathion-Peroxidase
<i>o</i>	<i>ortho</i>
O ₂	Sauerstoff
O ₂ ^{•-}	Superoxidanion
OH [•]	Hydroxyradikal
OMe	Methoxygruppe
PEP	Phosphoenolpyruvat
P _i	Orthophosphat, anorganisches Phosphat
q	Quartett
RO [•]	Alkylradikal
ROO [•]	Peroxyradikal
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
s	Sekunde
s	singulett
s.	siehe
sept	septett
s. o.	siehe oben
SOD	Superoxiddismutase
T	Temperatur
t	Zeit
t	triplett
t _{1/2}	Halbwertszeit
t-Bu	<i>tert</i> -Butyl
TMS	Tetramethylsilan
Torr	Druckeinheit, 1 atm= 760 Torr = 760 mm Hg = 101 325 Pa
u. a.	unter anderem
U-Bad	Ultraschallbad
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett-Bereich des elektromagnetischen Spektrums
V	Versuch
VIS	Sichtbarer Bereich des elektromagnetischen Spektrums

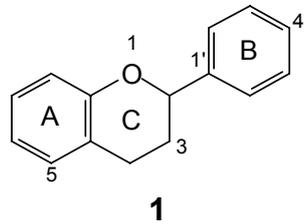
1. Einleitung

1.1. Allgemeines

1.1.1. Klassifizierung der Flavonoide

Flavonoide sind wichtige natürliche Farbstoffe die hauptsächlich in den Blüten und Früchten höherer Pflanzen auftreten.

Die Basis-Struktur ist das Flavan-Grundgerüst **1**. Die 15 Kohlenstoffatome sind in drei Ringen ($C_6-C_3-C_6$) angeordnet, die als A, B und C-Ring bezeichnet werden^[1].



Die verschiedenen Klassen der Flavonoide unterscheiden sich in ihrem Oxidationsgrad und im Substitutionsgrad des C-Rings, während jede Verbindung innerhalb einer Klasse sich in den Oxidationsgrad von A- oder B- Ring unterscheidet.

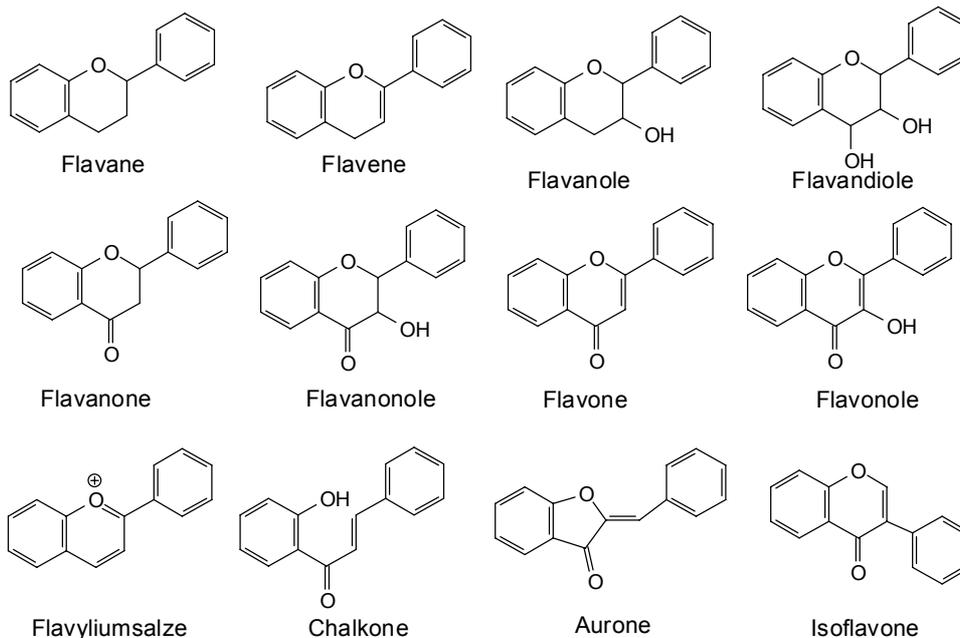


Abbildung 1: Flavonoidklassen

1.1.2. Biosynthese

Der 1937 mit dem Nobelpreis gekrönte Szent-Györgyi gibt den Flavonoiden Vitamincharakter. Wie die Vitamine werden die Flavonoide in der Nahrung als non-nutrient bezeichnet. Die Aufnahme der Flavonoide über frisches Obst und Gemüse ermöglicht einen Schutzeffekt gegenüber Krebs, Herzerkrankungen oder Schlaganfall^{[2],[3],[4]}. Im Vergleich mit Vitaminen ist der Prozentsatz der empfohlenen Tagesdosis viel höher (80-800 mg/d im Vergleich zu 70 mg/d Vitamin C, 7-10 mg/d von Vitamin E oder 2-3 mg/d von β -Carotin)^[5].

Flavonoide kommen in vielen Pflanzen vor. Sie sind reichlich in den Blütenblättern der Pflanzen enthalten und bedingen deren gelbe oder weißgelbe (Flavone) bzw. purpurrote bis blaue (Anthocyanine = Flavyliumsalze) Farben. Im europäischen Obst und Gemüse sind besonders Flavonole, aber auch Anthocyanine vorhanden. Flavonoide befinden sich auch in Saat, Nüssen, Korn, Getreide und verschiedenen Gewürzen. Auch einige Getränke wie Wein (insbesondere Rotwein), Tee und Bier enthalten Flavonoide^[1].

Junge Organe von Pflanzen wie junge Blätter, Blütenknospen und unreife Früchte enthalten besonders viele Flavonoide. Ihr prozentualer Anteil in den einzelnen Pflanzenanteilen unterliegt im Verlauf der Vegetationsperiode größeren Schwankungen. Im toten Holz finden sich bevorzugt Catechine (o-Dihydroxybenzol)^[1].

In den Pflanzen kommen die Flavonoide nur selten in freier Form vor, meistens trifft man sie glycosidisch an Zucker gebunden an. Die Pflanzenfamilien, die Holz bilden, enthalten vorwiegend Flavonole und Proanthocyanine. Die Kräuter enthalten überwiegend Flavone und Flavanone.

Als höchstoxidierte Vertreter der Flavonoide können Flavone als Wasserstoffakzeptoren auftreten^[1].

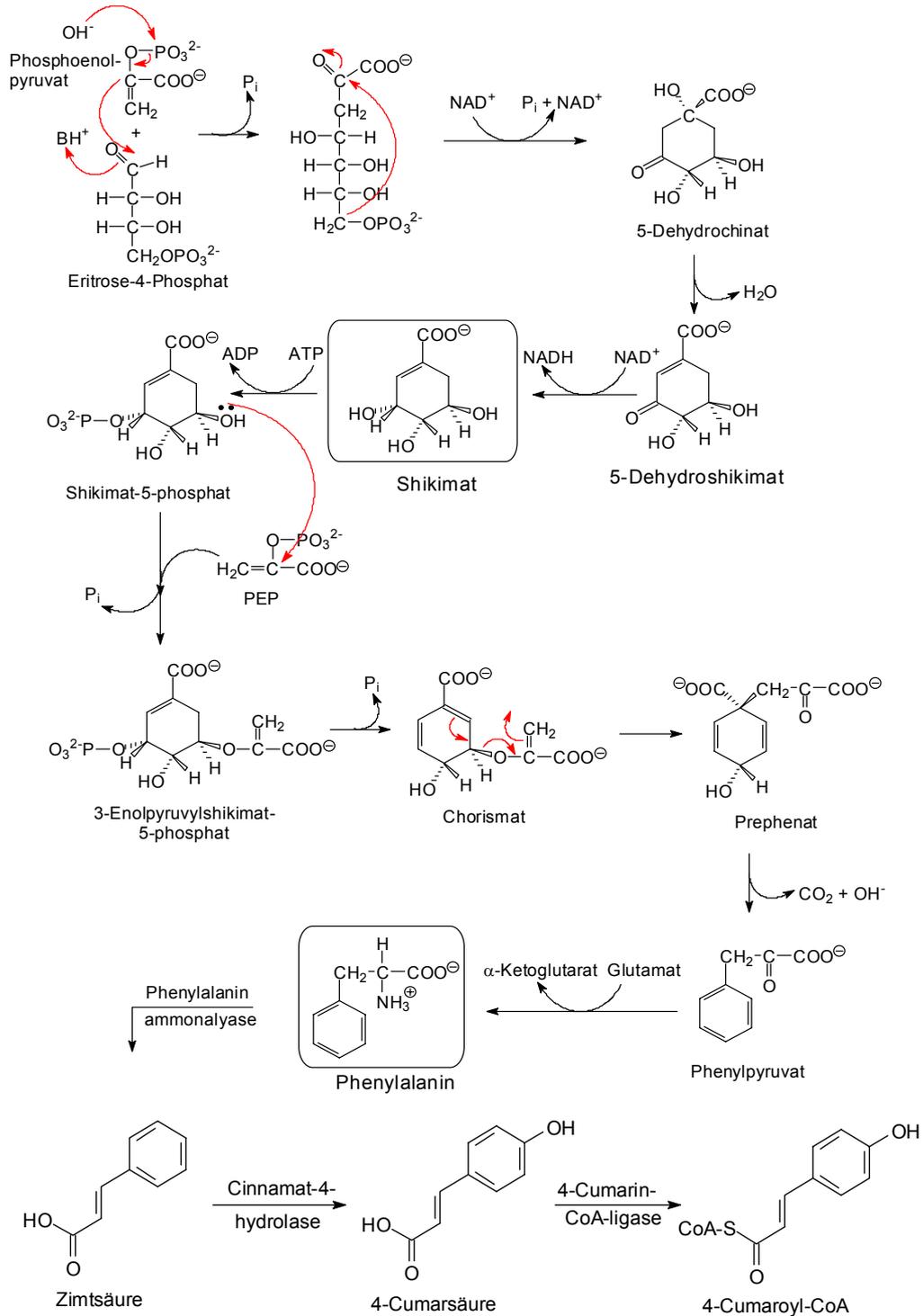
Blumen enthalten eine reiche Quelle von Enzymen für die Biosynthese von Flavonoiden^[1].

Das Flavonoidskelett entsteht aus zwei Grundbausteinen^[6]:

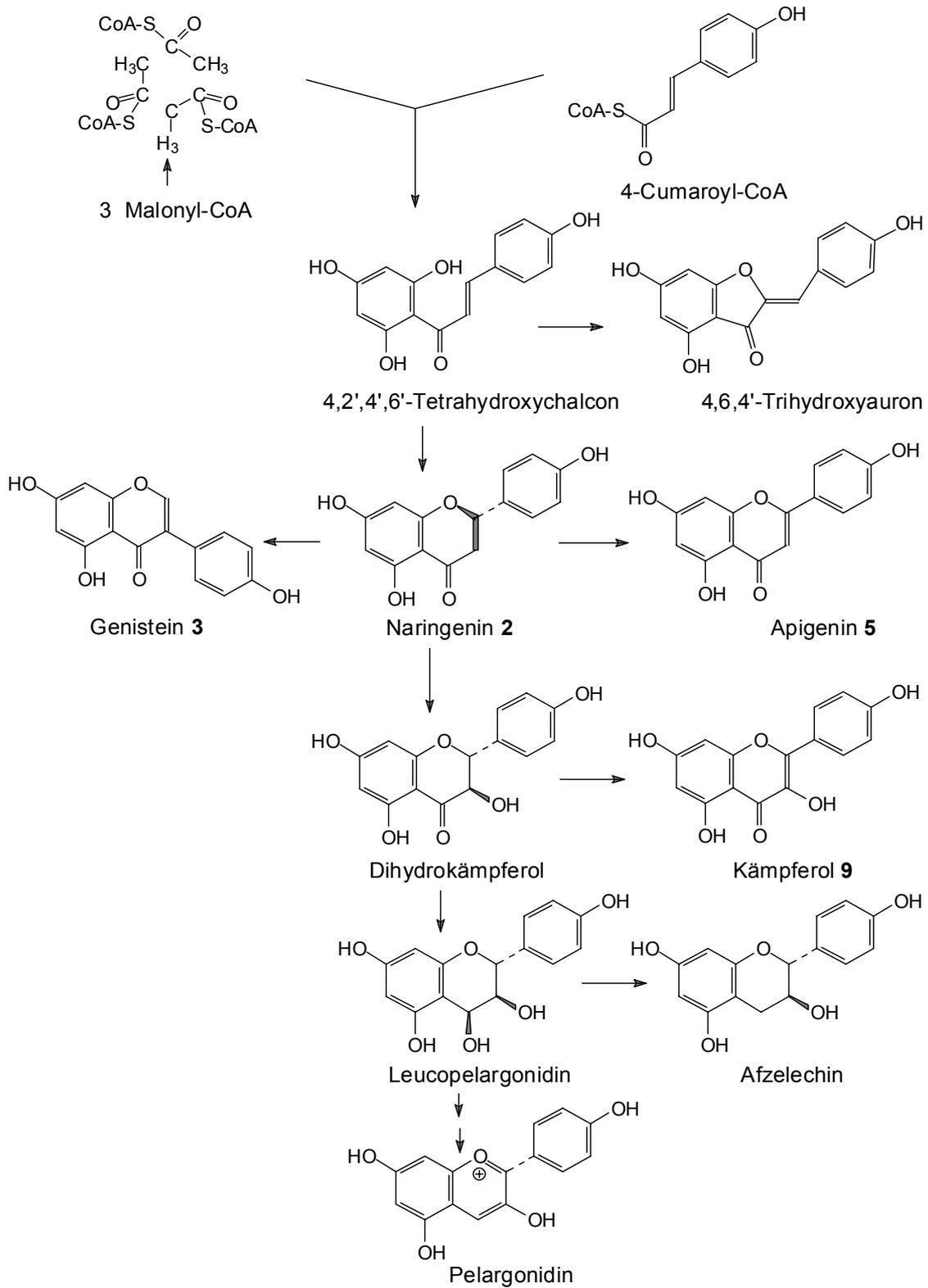
- Der A-Ring entsteht aus drei Molekülen Malonyl-Co A aus dem Glucose-Metabolismus.

- Der C-Ring und der B-Ring leiten sich aus der Glucose via Shikimisäure und Zimtsäure/Cumarsäure ab.

Der Mechanismus für die Biosynthese kann wie folgt dargestellt werden:



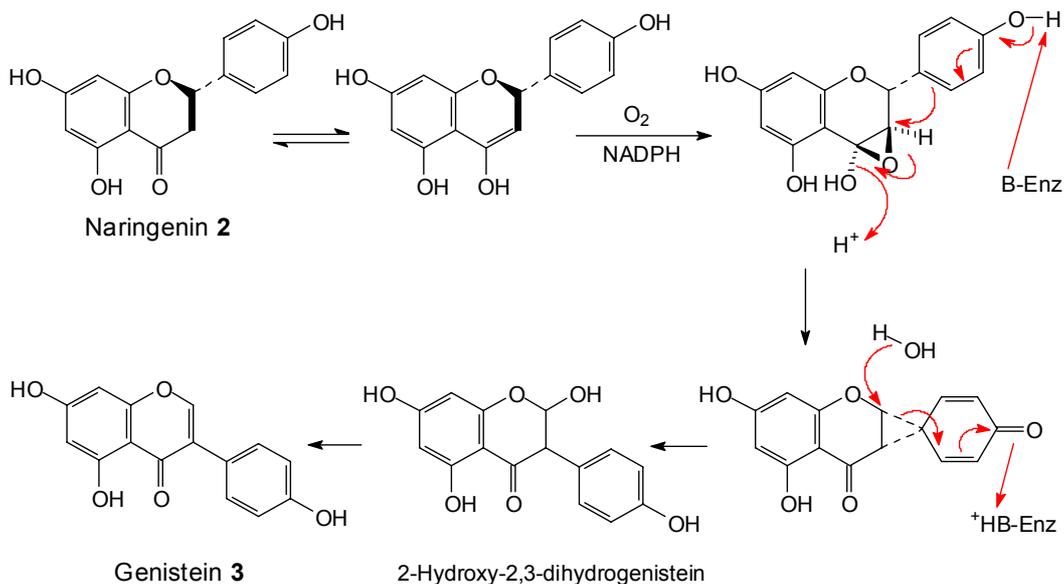
Schema 1: Biosynthese für B, C – Ring



Schema 2 : Entstehung der verschiedenen Flavonoidklassen

Für alle Flavonoide ist das 4,2',4',6'-Tetrahydroxychalcon die wichtigste C₁₅-Zwischenstufe. Die Chalconsynthese wird als der Enzymschlüssel der Flavonoidsynthese bezeichnet.

Der Hauptschritt in der Isoflavonbildung ist die Wanderung der Arylgruppe der Chalconzwischenstufe. Zwei enzymatische Schritte sind für die Umwandlung von Naringenin **2** in Genistein **3** verantwortlich^[6]:



Schema 3: Isoflavonbildung

1.1.3. UV-Spektren der Flavonoide

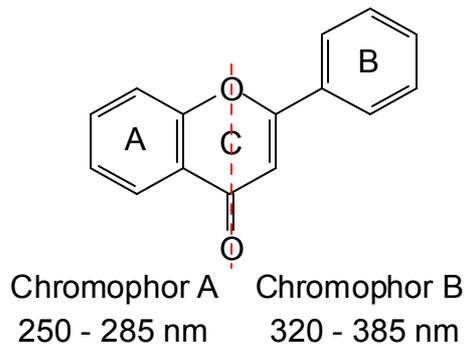
Wegen ihrer attraktiven Farben dienen die Flavonoide als visuelle Signale für die Befruchtung der Blüten durch Insekten^[3].

Die adstringierende Eigenschaft des Catechins und anderer Flavonole in Pflanzen dient zusätzlich als Schutzsystem gegen schädliche Insekten.

Flavonoide agieren in der Lichtphase der Photosynthese und dienen als Schutz gegen oxidativen Stress in Pflanzenzellen durch Abfangen von reaktiven Sauerstoffspezies^[3].

Ihre günstigen UV-Absorptionseigenschaften schützt die Pflanzen vor UV-Strahlung und vor UV-Licht erzeugten reaktiven Sauerstoffspezies.

Im UV-VIS-Spektrum von Flavonoiden sind in der Regel zwei Absorptionsbanden zu beobachten. Die kürzerwellige Bande A (250-285 nm) ist dem Benzyl-Subchromophor (Ring A) zuzuordnen. Die längerwellige Bande B (320-385 nm) ist dem Rest des Moleküls zuzuordnen. Die Verlängerung dieses Subchromophors bei Flavonen durch eine vinyloge Verlängerung des π -Systems führt zu einer bathochromen Verschiebung der Bande B von ca. 40 nm und eine Vergrößerung des Extintionskoeffizienten auf über $30.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (verglichen zu $20.000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ in anderen Systemen).



1.1.4. Antioxidative Eigenschaften

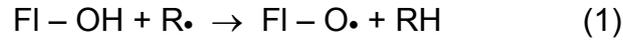
Die Mechanismen der antioxidativen Wirkung von Flavonoiden in vitro sind:

- Unterdrückung der Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies
- Eliminierung von reaktiven Sauerstoffspezies
- Quencher von Radikalen s.u. (1).

Die antioxidative Wirkung beruht auf zwei Mechanismen:

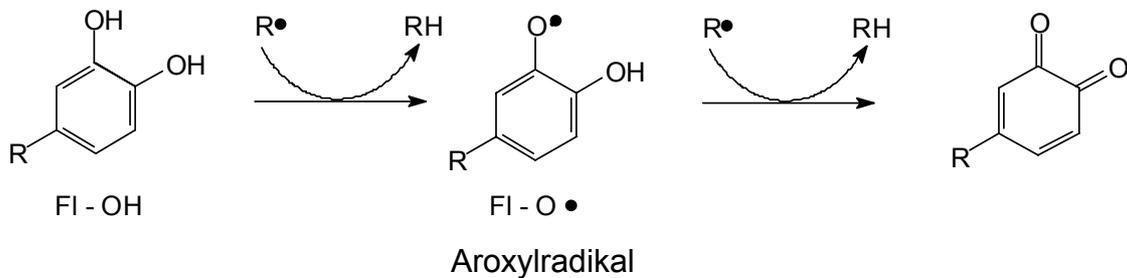
- Inhibierung des Enzyms das für die Bildung von Superoxidsauerstoffradikalen verantwortlich ist,
- wegen des niedrigen Redoxpotentials ($0.23 \text{ V} < E_F < 0.75 \text{ V}$) sind Hydroxyflavonoide fähig, hochoxidierte, freie Radikale, deren Redoxpotential zwischen 2.13 V und 1.0 V liegt, zu reduzieren.

Der Mechanismus für diese antioxidative Wirkung der Flavonoide kann wie folgt dargestellt werden:



- R• steht hierbei für ein:
- Superoxidradikalanion $\text{O}_2^{\cdot-}$
 - Peroxylradikal $\text{ROO}\cdot$
 - Oxylradikal $\text{RO}\cdot$
 - Hydroxylradikal $\text{OH}\cdot$

Die Wasserstoffatom-Abstraktion läuft wie folgt ab:



Schema 4: Oxidation des Catecholrings

Die antioxidative Fähigkeit des Flavonoids hängt nicht nur vom Redoxpotential des Paares $\text{FI} - \text{O}\cdot/\text{FI} - \text{OH}$ ab, sondern auch von möglichen Nebenreaktionen des Aroxylradikals.

Das Aroxylradikal wirkt prooxidativ, wenn es Sauerstoff zum Superoxidanion oxidieren kann. Das kann bei hohen Konzentrationen von Metallionen stattfinden.

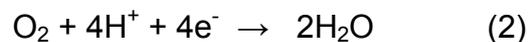
Das Abfangen von Superoxidradikalen ist besonders wichtig, da sie sich trotz ihrer geringen Reaktivität in aeroben Zellen befinden und sie ein möglicher Vorläufer von aggressiven Hydroxylradikalen in der Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion sind.

1.2. Flavonoide als Antioxidanten

1.2.1. Allgemeines

Sauerstoff ist notwendig für das Leben der Mehrheit der Organismen auf der Erde.

Die Reduktion von Sauerstoff zu Wasser ist der erste Schritt der Energieproduktion in der Zelle (ATP). Obwohl mehr als 90 % der Aufnahme von Sauerstoff für die ATP Produktion benötigt wird, wird es auch als Substrat durch mehrere Enzyme benutzt^[7].



Reaktive Sauerstoffspezies sind Radikale. Radikale entstehen durch homolytische Spaltung einer Bindung, so dass das bindende Elektronenpaar gleichmäßig zwischen den beiden beteiligten Atomen (oder Molekülfragmenten) aufgeteilt wird.

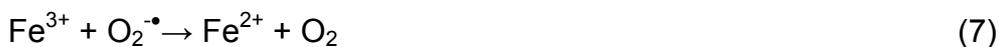
Wegen der ungepaarten Elektronen sind diese Radikale außerordentlich reaktiv und lassen sich oft nur schwierig isolieren.

Im aeroben Metabolismus werden reaktive Sauerstoffspezies (ROS) freigesetzt. Im Säugetier werden ca. 1 bis 4 % des eingeatmeten Sauerstoffs in Superoxid (O_2^-) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2) verwandelt. Das relativ unreaktive und langlebige Superoxid und Wasserstoffperoxid führen zum hochreaktiven und kurzlebigen ($t_{1/2} = 10^{-9}$ s) Hydroxylradikal ($\bullet\text{OH}$)^[8]. Nur in wenigen Fällen ist der Auftritt von ROS nützlich für den Organismus, zum Beispiel für die Energieproduktion, Phagozytose, Regulierung des Wachstums der Zelle und der Signale zwischen den Zellen, Synthese von biologisch wichtigen Verbindungen, etc. Im allgemeinen müssen ROS jedoch schnell abgefangen werden, um ihre schädliche Wirkung herabzusetzen.

Reaktive Sauerstoffspezies sind intermediäre Verbindungen bei der Reduktion von Sauerstoff. Sauerstoff ist letztlich ein Elektronenakzeptor im Redoxzyklus der Atmungskette^[7].



In vivo wird das Hydroxylradikal in einem zweistufigen Prozeß und durch Übergangsmetalle (Fe^{3+} , selten Cu^{3+}) katalysiert durch die Haber-Weiss-Reaktion und durch die Fenton-Reaktion erzeugt.



Die reaktiven Sauerstoffspezies schädigen eine Vielzahl zellulärer Verbindungen. Können die Schäden nicht mit ausreichender Geschwindigkeit repariert werden, so stellen sich letztendlich Chromosomenveränderungen und Chromosomenbrüche ein. Manche Proteine (Methionin- Histidin- Tryptophanreste, die Thiolgruppe, etc.) sind besonders empfindlich gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies. Die Reaktionen mit den ROS können beachtliche Veränderungen der biologischen Aktivität der betreffenden Proteine bewirken.

Während die oxidativen Schädigungen von Kohlenhydraten von geringerer Bedeutung sind, treten in Lipiden (besonders in Membranlipiden) umfangreiche oxidative Schädigungen auf, die zu Lipidperoxiden führen. Von großer Bedeutung sind möglicherweise Oxidationsprodukte des Cholesterins (z.B. 5α -Cholesterin-hydroperoxid), das eine mutagene Wirkung zeigt^[9].

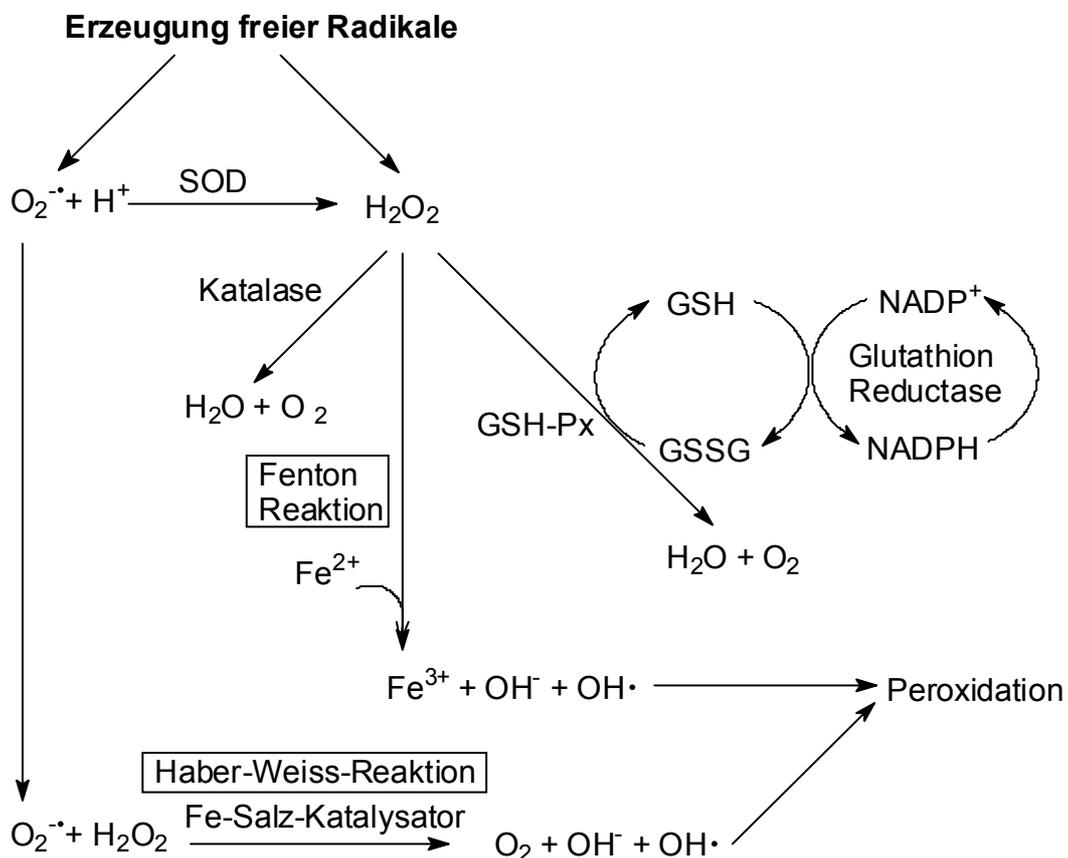
Der Sauerstoff, der durch Photosynthese entsteht, ermöglicht es mit effektiver Oxidation von Nahrungsstoffen, die biologische Energieversorgung zu verbessern. Die Entstehung reaktiver Sauerstoffspezies führt zum **oxidativen Streß**.

Für die Entfernung der reaktiven Sauerstoffspezies haben sich im Verlauf der Evolution eine Vielzahl an Mechanismen herausgebildet, um den Körper gegen freie Radikale zu schützen. Diese Schutzmechanismen beruhen entweder auf

im Körper selbst produzierten (endogen) Substanzen oder auf mit der Nahrung zugeführten (exogen) Substanzen z.B.: α -Tocopherol, Ascorbinsäure, Carotinoide, Polyphenole und Flavonoide. Die endogenen Mechanismen werden in nichtenzymatische (Glutathion) und enzymatische (Superoxiddismutase (SOD), Katalase, Glutathion-Peroxidase GSH-Px)) unterschieden.

Drei Schutzmechanismen kommen in Betracht:

- Verhinderung der Bildung reaktiver Sauerstoffspezies,
- Abfangen der ROS durch Radikalfänger oder durch antioxidativ wirkende Enzyme,
- Reparatur von verursachten Schäden.

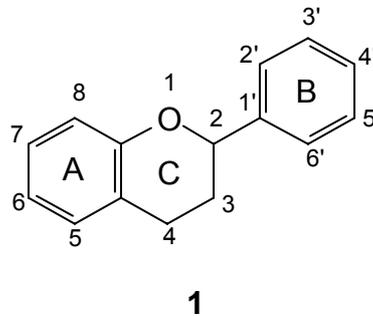


Schema 5: Erzeugung freier Radikale, Ausschnitt aus der Graphik von Storey^[7]

Definition: Ein **Antioxidans** ist eine Verbindung, die bezogen auf das Substrat in geringer Konzentration, fähig ist, das Substrat vor Oxidation zu schützen.

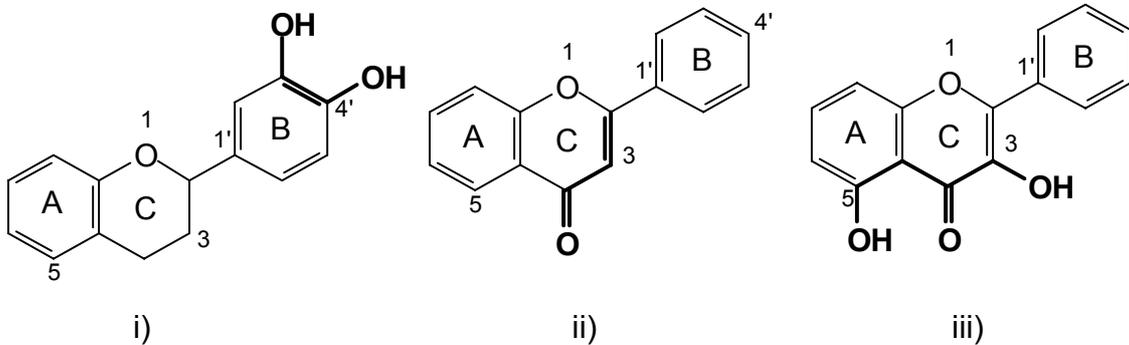
1.2.2. Struktur-Aktivitäts-Beziehungen

Die Wirksamkeit eines Flavonoids hängt mit seiner Struktur zusammen.



Bors et al.^[10] finden drei Gruppen struktureller Merkmale, die für die antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden als Radikalfänger verantwortlich sind:

- i) Ortho-dihydroxy-Struktur im Ring B
- ii) 2,3-Doppelbindung mit der 4-Ketogruppe im Ring C
- iii) 3- und 5-Hydroxygruppe mit der 4-Ketofunktion im C-Ring



Die drei Strukturgruppen sollen für die Stabilität der intermediären Radikale nach der H-Abstraktion sorgen.

Der B-Ring:

Die Struktur im B-Ring ist entscheidend für die antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden^[11]. Dies wurde durch quantenmechanische Rechnungen von van Acker et al.^[12] bestätigt.

Die Anwesenheit von Hydroxygruppen im B-Ring sind essentiell für die antioxidative Aktivität^[13]. Hydroxygruppen in der C3'- und C4'-Position sind dabei besonders wichtig^{[10],[14]}.

Die Anwesenheit einer Methoxygruppe in der C4'-Position führt zu einer Aktivierung der Hydroxygruppe in der C3'-Position, als wäre nur eine Hydroxygruppe in der C4'-Position vorhanden.

Wenn im B-Ring eine 3',4'-Dihydroxygruppe vorhanden ist, dann hat eine Hydroxygruppe in 3-Position im C-Ring eine starke antioxidative Wirkung. Trägt der B-Ring zwei *meta*-ständige Hydroxygruppen, dann ist der Einfluß eine Hydroxygruppe in der 3-Position nicht vorhanden^[15]. Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass bei *meta*-Position der Hydroxygruppen keine intramolekularen Wasserstoffbrücken gebildet werden können.

Der A-Ring:

Nach Jovanovic et al.^[16] hat der A-Ring keinen Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften.

Rice-Evans et al.^[17] finden, dass Hydroxygruppen im A-Ring nur dann zu den antioxidanten Eigenschaften beitragen, wenn Hydroxygruppen im B-Ring vorhanden sind.

Eine Hydroxygruppe in der C5-Position wirkt nicht aktivierend^[14].

Der C-Ring:

Um antioxidativ wirksame Systeme zu erhalten, sind im C-Ring die C2-C3-Doppelbindung und die Ketofunktion an C4 notwendig^[10].

Nach v. Acker^[12] steigert eine Hydroxygruppe an C3 zusammen mit der konjugierten C2-C3-Doppelbindung die Radikalfänger-Eigenschaften von Flavonoiden.

Aus diesen Ergebnissen können folgende allgemeine Aussagen abgeleitet werden:

Die Hydroxygruppen im Flavonoid sind entscheidend für die Radikalfänger-Eigenschaften^[10].

Je mehr Hydroxygruppen ein Flavonoid hat, desto stärker sind seine antioxidativen und prooxidativen Effekte^[14]. Cao et al.^[14] finden auch:

Die Konjugation zwischen A- und B-Ring zeigt keinen Effekt, ebenso Methoxy-Gruppen.

Von allen oben genannten Autoren^{[10]-[17]} werden folgende strukturelle Eigenschaften hinsichtlich der optimalen antioxidativen Wirkung gefordert:

- 1) 3',4'- Dihydroxyfunktion im B-Ring,
- 2) eine Ketogruppe im C-Ring.

1.2.3. Mechanismus der antioxidativen Wirkung

Die strukturellen Eigenschaften der Flavonoide sind für ihre antioxidative Aktivität verantwortlich. Die polyphenolische Struktur erlaubt es ihnen als Radikalfänger und als Chelatbildner zu wirken.

Für Flavonoide wird folgende Reihenfolge für die Deprotonierung ihrer Hydroxygruppen gefunden^[18]:



Eine Deprotonierung im A-Ring ist einfacher, meinen Jovanovic et al.^[16], da die Protonen in diesem Ring saurer sind. Dieser Ring scheint keinen Einfluß auf die Oxidation zu haben.

1.2.3.1. Radikalfänger

Die Wirkung der Flavonoide als Radikalfänger kann durch folgende Halbreaktionen erklärt werden (s.o. (1)):



Die elektrochemische Oxidation wird durch folgende Reaktionsgleichung beschrieben:

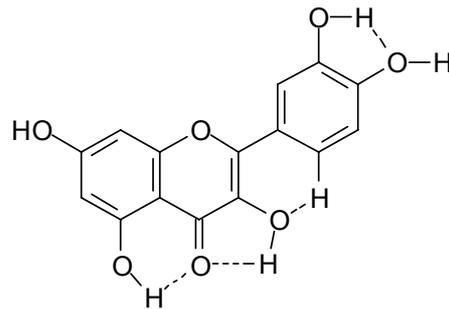


Die reaktiven Sauerstoffspezies, die von den Flavonoiden abgefangen werden können, sind zum Beispiel das Hydroxylradikal $\cdot\text{OH}$, das Superoxidanion $\text{O}_2^{\cdot-}$ und Alkyl- oder Peroxylradikal (bzw. $\text{RO}\cdot$ und $\text{ROO}\cdot$) (s. Kapitel 1.1.4.).

Als Radikalfänger für das Superoxidanion erscheint eine Hydroxygruppe in der C3-Position des Flavonoids wichtig zu sein. Als Radikalfänger von $\cdot\text{OH}$ spielt eine Hydroxygruppe in der C3-Position eine nicht so große Rolle. Eine Hydroxygruppe in der C3-Position ist auch wichtig für das Abfangen von Azoradikalen.

Die Stabilität der aus einem Antioxidans gebildeten Radikale ist eine wichtige Bedingung, damit eine Verbindung als ein effektives Antioxidans bezeichnet werden kann. Die Radikalfängeraktivität eines Antioxidans hängt von der Fähigkeit ab, stabile Radikale zu bilden und eine gute Elektronendelokalisierung ist eine Bedingung für die Stabilisierung des Radikals^[10].

Die Möglichkeit Elektronen im Flavonoidgerüst zu delokalisieren, ist der Grund für die antioxidativen Eigenschaften des Flavonoids. Eine Planarität des Moleküls ist wichtig, um eine günstige Delokalisierung der Elektronen zu ermöglichen. Wenn das radikalische Molekül planar ist, bedeutet dies, dass das Molekül vollständig konjugiert ist. Ein Maßstab für die Radikalfängerfähigkeit von Flavonoiden soll dabei der Torsionswinkel des B-Rings zum Rest des Moleküls sein. Die planare Struktur eines Flavonols wird durch Wasserstoffbrückenbildung der Hydroxygruppe an der C3-Position mit dem Wasserstoffatom an 6'-Position begünstigt.



Quercetin 4

In Flavonen bewirkt die Abwesenheit einer Hydroxygruppe in der C3-Position einen Verlust der Planarität mit einer leichten Verdrehung um 20° des B-Rings gegenüber der Ebene des restlichen Moleküls^[12].

Die Bildungsenergie des gebildeten Radikals ist nach Gleichung (13) ein Maßstab für die Aktivität eines Flavonoids als Radikalfänger.

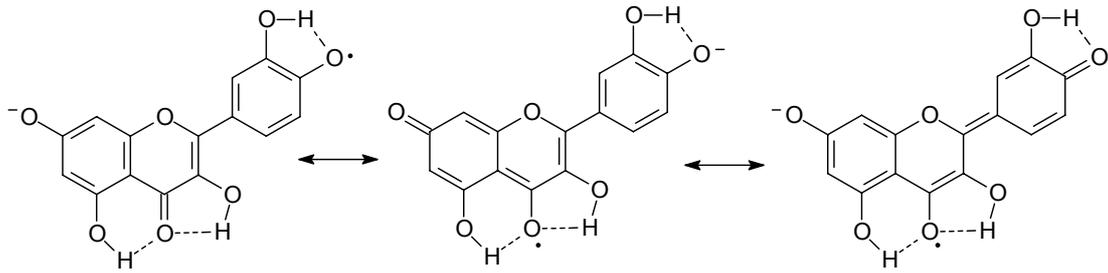
Die Bildungsenergie ergibt sich aus dem Oxidationspotential für die heterolytische Spaltung der O-H-Bindung. Das Halbpeak-Potential ($E_{1/2}$) eines Flavonoids soll nach van Acker^[12] ein Maß für die Qualität von Antioxidantien voraussagen. Dieser Befund gilt für Flavonole und Flavone.

Über diese Befunde berichtet Bors^[19] detaillierter.

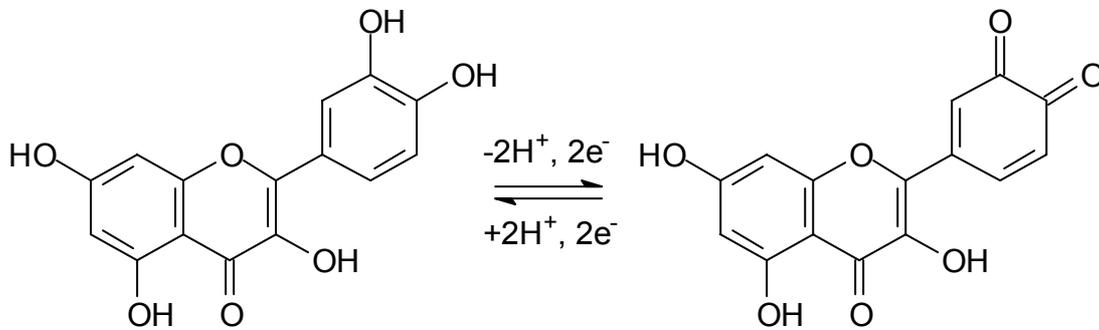
Quantenmechanische Rechnungen^[12] zeigen, dass die Oxidation im B-Ring stattfindet. Nach van Ackers Rechnungen gibt es im

- Flavonol eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen der Hydroxygruppe in der C3-Position und dem Wasserstoff in der C2'- oder C6'-Position des B-Rings
- Das Radikal ist vorallem in der Hydroxygruppe der C4'-Position lokalisiert. Das widerspricht dem Prinzip der totalen Delokalisierung der Spindichte. Dafür spricht die Behauptung, dass hauptsächlich der B-Ring für die antioxidative Aktivität verantwortlich ist und der Rest des Moleküls einen sehr unbedeutenden Einfluß besitzt.

Für die antioxidativen Eigenschaften der Flavonoide ist eine H-Abstraktion verantwortlich. Es wird eine Semichinonradikalstruktur das Phenoxylradikal erzeugt. Das Phenoxylradikal ist durch Delokalisation stabilisiert.

Schema 6: Haupt-Semichinonstrukturen von Quercetin **4**

Die oxidierte Form von Quercetin **4** wird nach der Abgabe von zwei Protonen und zwei Elektronen erhalten.

Schema 7: Quercetin **4** und Quercetinchinon

Die Hydroxygruppen sind für H^+ - oder e^- -Donation verantwortlich^[17].

1.2.3.2. Chelatbildung

Als Chelat wird der Komplex zwischen einem Metall und einem mehrzähligen Liganden, hier einem Flavonoid bezeichnet.

Drei mögliche Metallkomplex-Positionen sind in einem Flavonoid mit der Hydroxygruppe in den Positionen C3, C5, C3' und C4' möglich^[20]:

- 1) Hydroxygruppe am C3 mit Ketogruppe am C4.
- 2) Ketogruppe am C4 mit Hydroxygruppe am C5.
- 3) Hydroxygruppe am C3' mit Hydroxygruppe am C4'

Die zuerst besetzte Stelle ist nach Paganda et al.^[21] Position 1. Die anderen beiden Positionen haben unter neutralen Bedingungen die gleiche Wahrscheinlichkeit Metallionen zu komplexieren. Die Wahrscheinlichkeit zur Chelatbildung wird für die Catecholform im basischen Milieu favorisiert. Jedoch ist nach Braun et al.^[22] der Catecholteil des Flavonoids die bedeutendere Chelatbildungsstelle. Für die Chelatbildung zeigt Quercetin **4** eine optimale Struktur, um an drei verschiedenen Stellen mögliche Chelate mit dem Metallion bilden zu können.

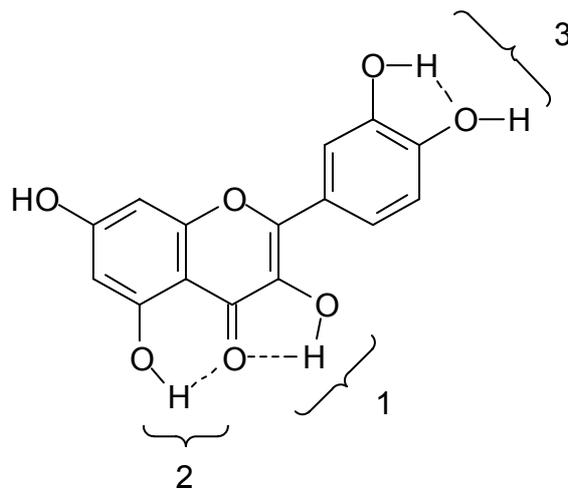
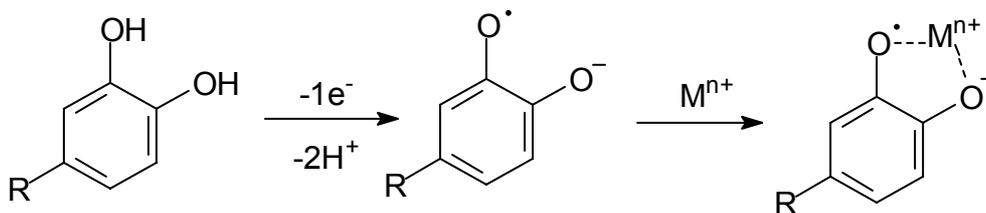


Abbildung 2: Quercetin **4** mit den möglichen Chelatbildungsstellen 1, 2 und 3

Als Redoxsystem zeigt das Quercetin **4** durch die 3',4'-Dihydroxygruppe im B-Ring die Fähigkeit ein Chinon bilden zu können.



Schema 8: Chelatbildungsstelle 3) beim Quercetin **4**

1.2.4. Prooxidative Effekte von Flavonoiden

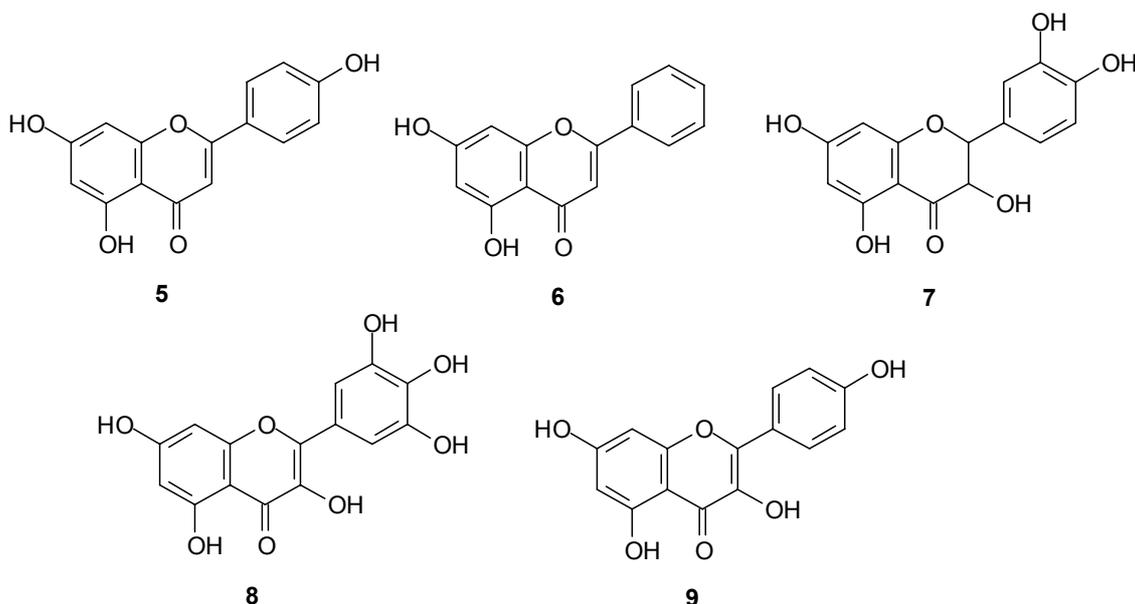
Prooxidative Aktivität ist die Fähigkeit von Verbindungen die Menge an Radikalen in einem System zu steigern.

Der prooxidative Effekt von Flavonoiden wird vor allem in Gegenwart von Metallionen gefunden. Die Bildung von Sauerstoffradikalen während des autooxidativen Redox-Zyklus ist der Grund des prooxidativen Effekts. Der Effekt ist besonders deutlich in basischer Lösung^[23].

Sugihara et al.^[24] finden ein prooxidatives Verhalten von Apigenin (4',5,7-Trihydroxyflavon) **5** und Chrysin (5,7-Dihydroxyflavon) **6** in Gegenwart von Metallionen und für Taxofolin (3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavanon) **7** hängt der prooxidative Effekt von der Eisenkonzentration ab.

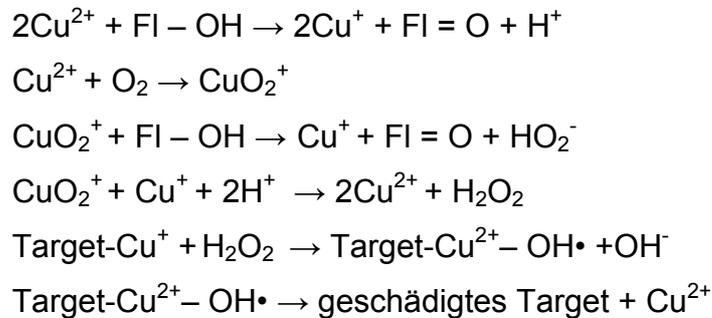
Auch Quercetin **4** agiert prooxidativ unter hohen Eisenkonzentrationen^[25].

Sahu et al.^[26] finden ein prooxidatives Verhalten von Quercetin **4**, Myricetin **8** und Kämpferol **9** entgegen die antioxidativen Schutzmechanismen der Zelle (GSH und GST). Die Beeinträchtigung von GSH bzw. GST durch die phenolischen Flavonoide kann zu DNA-Schäden führen, die für Mutationen verantwortlich sind.



Die Konjugation zwischen A- und B-Ring hat keinen Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden, sie ist jedoch wichtig für die prooxidative

Aktivität in Gegenwart von Kupfer^[27]. Je mehr Hydroxygruppen ein Flavonoid hat, desto stärker sind seine antioxidativen und auch seine prooxidativen Eigenschaften^[27].



Schema 9: Prooxidative Eigenschaften der Flavonoiden in Gegenwart von Kupfer-Ionen

Flavonoide spielen zwei unterschiedliche Rollen in Gegenwart von Kupfer-Ionen und Wasserstoffperoxid:

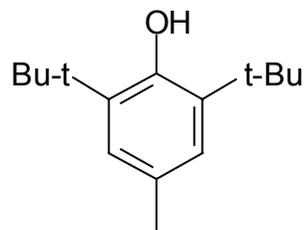
- sie inaktivieren Hydroxylradikale und reaktive Spezies, die durch Oxidationsreaktionen generiert werden, und
- sie erzeugen reaktive Spezies in den Reaktionen zwischen Flavonoiden, Kupfer-Ionen und Sauerstoff. Die Produktion von reaktiven Spezies verursacht Schäden am Makromolekül (Target).

Um die Prooxidativität, die zur Toxizität führen kann, zu vermeiden, darf das Flavonoid keine Hydroxygruppe in der C3-Position, die mit einer C2-C3- Doppelbindung und einen Catechol im B-Ring konjugiert ist, besitzen^[28].

1.3. Synthetische Flavonoide

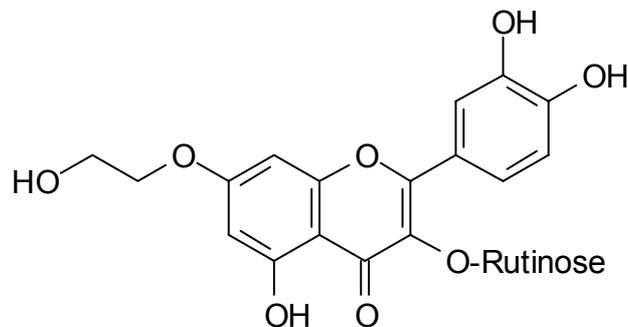
Die in der Literatur gefundenen, neuen synthetischen Flavonoide, deren antioxidative Wirkung geprüft wurde, entstehen überwiegend durch Modifikationen am Flavonoid-Grundgerüst **1**.

- Cotelle et al.^[29] modifizierten ihre Flavonoide mit Di-*tert*-butylhydroxylierten Gruppen in verschiedenen Positionen des Flavonoidgrundgerüsts. Bei dem Versuch die ausgezeichneten antioxidativen Eigenschaften des BHTs **10** mit denen der Flavonoiden zu koppeln, zeigen einige dieser modifizierte Verbindungen bessere antioxidative Eigenschaften gegenüber Lipidperoxidation als Quercetin **4**.



10

- Neue von van Acker et al.^[30] synthetisierte Flavonoide sind an zwei Positionen des Flavonoidgrundgerüsts **1** modifiziert:
 - a) Position 7 wird durch einen primären Alkohol, einem quartären Ammoniumsalz (ungünstig) oder eine Methoxygruppe substituiert. Besonderes gute antioxidative Eigenschaften besitzt das monoHER (monohydroxyethylrutinosid Flavonoid) **11**^{[31],[32]}.



11

- b) Substitutionen in der C3-Position führen zu stärker antioxidativ wirkenden Verbindungen als in der C7-Position. Die untersuchte Substituenten in dieser Position sind: Carboxyrest, quartäre Ammoniumrest (zeigen keinen Einfluß) und Zucker (der Zucker ist ein großer Substituent und da er einen Torsionswinkel zwischen B-Ring und A-C-Ring verursacht, wird die Radikalfänger-Aktivität des Flavonoids nicht positiv beeinflusst).

Eine wichtige Voraussetzung für die Wirkung als Antioxidans der neuen synthetischen Flavonoide ist die Doppelbindung an der C2-C3 Position, die mit der C4-Ketogruppe konjugiert ist. Substituenten im A-Ring führen zu keiner wesentlichen Verbesserung, wenn in der C3-Position Substituenten zu finden sind.

- Die Einführung einer Methylengruppe zwischen dem Chromonchromophor und der Phenylgruppe bringt nach Albasini et al.^[33] positive Ergebnisse in der Blockade des Enzyms Aldose Reductase, das für das Erscheinen von Komplikationen während einer Diabetes, wie grauer Star, Nevenleiden, Nierenschaden, etc., verantwortlich ist.

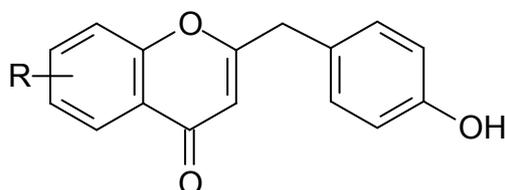
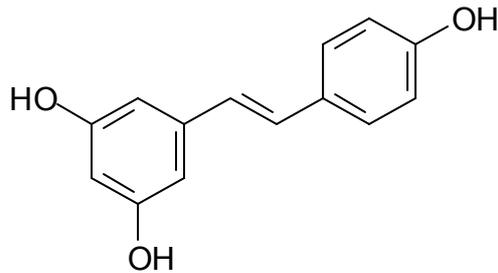


Abbildung 3: von Albasini et al.^[33] synthetisiertes Flavonoid, R = OH

Neben der starken antioxidativen Wirkung neu synthetisierter Flavonoide ist ihre Toxizität zu beachten. Um die Toxizität von Flavonoiden *in vivo* voraussagen zu können, werden Hepatocyten (Leberzellen) benutzt^[32].

1.4. Resveratrol

Resveratrol **12** als Polyhydroxystilben gehört nicht zu den Flavonoiden, zeigt jedoch aufgrund seiner polyphenolischen Struktur ähnliche interessante antioxidative Eigenschaften, die in der vorliegenden Arbeit untersucht wurden.



3,4',5-Trihydroxy-trans-stilben, Resveratrol **12**

Seit mehr als 6000 Jahren gehört der Wein zum Kulturgut der Menschen. Der Genuß von Rotwein in den Ländern des Mittelmeerraumes, wo die Ernährung besonders fettreich ist, soll vor Herzkrankheiten schützen^[34]. Die antioxidativen Eigenschaften von Resveratrol, Flavonoiden und Polyphenolen im Rotwein, erklären das „*French Paradox*“^[35].

Diese Verbindungen sind starke Antioxidantien, sie hemmen die Bildung von Superperoxiradikalen ($O_2^{\cdot-}$) und Wasserstoffperoxid (H_2O_2)^{[36],[37]}.

Im Wein sind vor allem folgende Polyphenole zu finden^{[38],[39]}:

Trihydroxystilbene:	Resveratrol 12 Polidatin
Flavonoide:	Catechin Epicatechin Quercetin 4

Polyphenolische Säuren: 4-Cumarsäure
Zimtsäure
Kaffeensäure
Gentisinsäure
Ferulasäure
Vanillinsäure

Die Biosynthese aller dieser Weinkomponenten erfolgt wie bei den Flavonoiden aus Phenylalanin und Malonyl-CoA (s. o. 1.1.2.).

Die antioxidativen Eigenschaften der drei häufigsten Polyphenole in Wein (Resveratrol **12**, Quercetin **4** und Catechin) wurden *in vitro* nachgewiesen. Sie hemmen die Entstehung von Krebs, was in verschiedenen Experimenten nachgewiesen wurden^{[40]-[43]}.

Resveratrol **12** wurde als orientalische Volksmedizin gegen verschiedene Krankheiten benutzt.

1992 berichten Siemann und Creasy^[44] das erste Mal über die Anwesenheit von Resveratrol **12** im Wein. Zu dieser Zeit wurde der Gesundheitsaspekt beim Weingenuß noch angezweifelt. Rotwein ist reich an Flavonoiden und anderen Polyphenolen, die sich wirksam gegen Aggregation der Blutplättchen und Eicosanoidsynthese zeigen.

Im Wein wurde später auch *cis*-Resveratrol gefunden sowie das β -Glucosid von *trans*-Resveratrol **12**. Für die Isomerisierung von *cis*- und *trans*-Resveratrol sind nur das UV-Licht und Sauerstoff verantwortlich.

Resveratrol **12** (3,4',5-Trihydroxy-*trans*-stilben) ist das Monomer der Familie der Viniferine, Substanzen die den Fortgang von Pilzinfektionen hemmen. Resveratrol **12** ist ein Phytoalexin.

Die Konzentration von Resveratrol **12** in den verschiedenen Weinsorten hängt von Umwelteinflüssen ab. Wenn die Traube von Pilzen infiziert wird, ist die Produktion von Resveratrol **12** deutlich höher. Das ist ein Hinweis, dass Resveratrol eine Schutzfunktion besitzt.

Resveratrol **12** befindet sich überwiegend in der Haut von Weintrauben. Der Gehalt von Resveratrol **12** im Traubensaft ist drei Mal niedriger als in der Haut

von Trauben der gleichen Sorte. Weißwein besitzt einen vergleichsweise geringeren Gehalt an Resveratrol **12**.

Die Position und die Zahl seiner Hydroxygruppen sind die **strukturelle Voraussetzung**^[45], für die antioxidativen Eigenschaften von Resveratrol **12**. Eine Hydroxygruppe in der C4'-Position ist für die antioxidativen Eigenschaften notwendig, ist aber nicht das einzig Entscheidende. Die Hydroxygruppe in der C4'-Position zeigt Synergismus mit den Hydroxygruppen in der C3- und C5-Position.

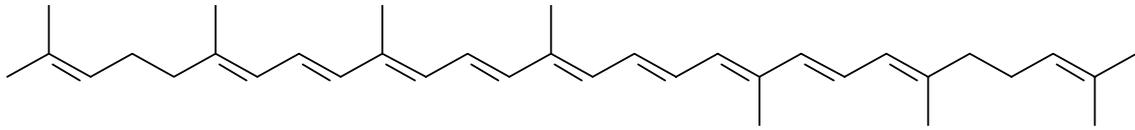
Die *trans*-Konformation von Resveratrol **12** ist eine weitere Bedingung für die antioxidativen Eigenschaften, da:

- das Phenoxyradikal in der *trans*-Konfiguration stabiler ist als in der *cis*-Konfiguration,
- die Resonanzenergie höher als in der *cis*-Konformation ist, wegen des Verlustes der Koplanarität zwischen den zwei Phenolringen in der *cis*-Form,
- die Enthalpie für die H-Abstraktion, durch MO-Rechnungen berechnet^[45], von *trans*-Resveratrol **12** um 2 kcal/mol exothermer als *cis*-Resveratrol ist. Die H-Abstraktion von der Hydroxygruppe in der C4'-Position exothermischer ist als in der C3- oder C5-Position und deshalb eine H-Abstraktion der C4'-Hydroxygruppe favorisiert ist.

Die *p*-Hydroxygruppe von *trans*-Resveratrol **12** ist ein effektiverer Radikalfänger als die *m*-Hydroxygruppe. Die *m*-Hydroxygruppe nimmt lediglich an der sekundären Stabilisierung des Phenoxyradikals teil. Als Radikalfänger wirkt *trans*-Resveratrol **12** besser als die Vitamine E und C, und ähnlich wie die Flavonoide Epicatechin und Quercetin **4**^[46].

Die Untersuchung der antioxidativen Eigenschaften neuer synthetisierter Polyhydroxystilbene mit dem Resveratrol-Grundgerüst ergab, dass drei der Derivate (3,3',4,5'-Tetrahydroxystilbene, 3,3',4,5,5'-Pentahydroxystilbene und 3,4,4',5'-Tetrahydroxystilben) bessere Eigenschaften als Resveratrol **12** zeigen^[47].

1.5. Natürliche Carotinoide



13

Die wichtigste Funktion der Carotinoide für Menschen ist, dass sie als Vorstufe für Vitamin A dienen. Als Bedingung für die Provitamin-A-Eigenschaften eines Carotinoids muß es mindestens einen nicht substituierten β -Ring (β -Ionon-Ring) besitzen.

Wegen ihrer attraktiven Farben werden Carotinoide als Farbstoffe für Lebensmittel in der Industrie benutzt. Weitere Anwendungen sind der Zusatz in Arzneimitteln und als Farbstoffe in kosmetischen Artikeln.

Die Mehrheit der Carotinoide besitzt ein C_{40} -Grundgerüst, welches bei der Biosynthese aus zwei Molekülen mit 20 C-Atome gebildet wird. Als erste Vorstufe ist wie bei der Flavonoid-Biosynthese das Malonyl-CoA zu finden.

Carotinoide sind meist unpolare Substanzen und daher in Wasser unlöslich, mit Ausnahme der Carotinoide die polare funktionelle Gruppen besitzen.

Carotinoide werden danach in zwei Klassen eingeteilt:

- Carotine, apolare Verbindungen reine Kohlenwasserstoffe
- Xanthophylle, polare Carotinoide mit sauerstoffhaltigen Gruppen

Beide Klassen besitzen konjugierte Doppelbindungen, die dem Carotinoid eine typische Farbe geben.

Strukturell können Carotinoide desweiteren unterschieden werden in:

- Acyclische Carotinoide wie das Lycopin **13**,
- cyclische Carotinoide mit einem Fünfring oder Sechsring am Ende der Moleküls.

Traditionell bekommen die Carotinoide den Namen der natürlichen Quelle wo sie gefunden wurden. Heutzutage hat die *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) die Namen der Carotinoide systematisiert^[48].

Carotinoide befinden sich in lebenden Organismen und zwar in Pflanzen und Tiere in unterschiedlichen Konzentrationen.

Capsanthin **16** und Capsorubin **20** befinden sich ausschließlich im reifen Früchten des *generis Capsicum annum* (rote Paprika) und sind für deren Farbe verantwortlich.

Im Gewebe grüner Pflanzen sind Xanthophylle in freier Form zu finden. Sie können auch mit Fettsäuren verestert sein.

Im Tierreich werden die mit der Nahrung aufgenommenen Carotinoide in verschiedenen Geweben gespeichert. Manche Tiere, wie Vögel, Fische, Reptilien und Amphibien, können Carotinoide selbst modifizieren.

Die elektronenreiche Struktur, die die Carotinoide durch das konjugierte Doppelbindungs-System besitzen, ist gegenüber elektrophilen Substanzen wie freien Radikalen und oxidativen Agenzien sehr reaktiv.

Carotinoide reagieren schneller als andere Moleküle, die zur Oxidation fähig sind. Auf diese Weise schützen sie das Substrat. Diese leichte Oxidation von Carotinoiden schützt das System gegen reaktive Sauerstoffspezies und auf diesem Weg agieren sie als Antioxidantien.

Es gibt zwei wichtige **Mechanismen** mit denen Carotinoide reaktive Sauerstoffspezies quenschen: Addition von freien Radikalen an das Doppelbindungs-System und Wasserstoffatom-Abstraktion, besonders in der 4, bzw. 4'-Position. Die antioxidative Wirkung von Carotinoiden beruht auf dem Abfangen des Peroxylradikal.

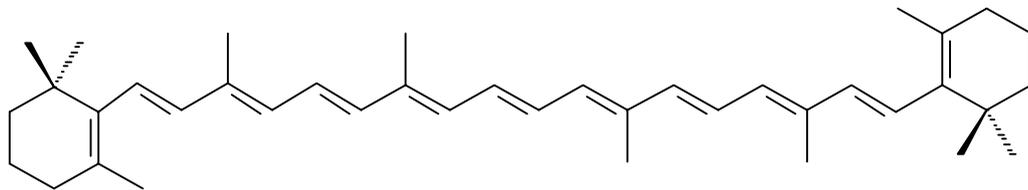
Das chemische Verhalten von Carotinoiden gegenüber freien Radikalen ist wichtig, um seine Fähigkeit als Radikalfänger zu bewerten.

Peroxylradikale werden im Molekülzentrum addiert^[49]. Eine H-Abstraktion in der 4- bzw. 4'-Position ist in Canthaxanthin **15** mit Ketogruppen in diesen Positionen, unmöglich. Canthaxanthin **15** wird als effektiveres Antioxidans als β -

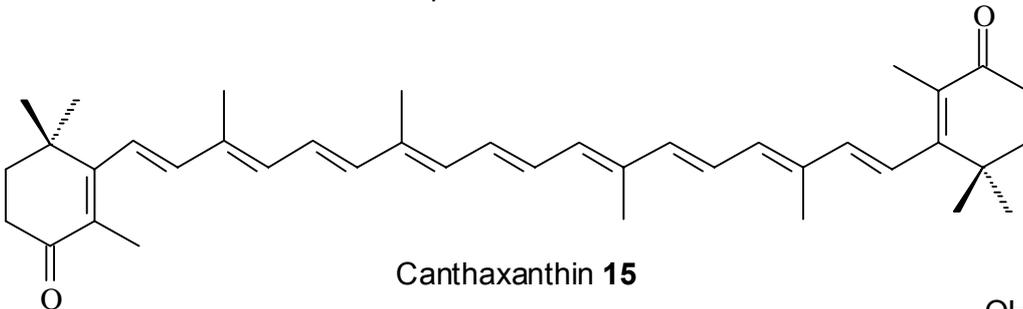
Carotin **14** in der durch Radikale initiierten Peroxidation beschrieben^{[50],[51]}. Die Ketogruppen in der 4,4'-Position sollen eine Rolle bei der Stabilisierung von Carotinoidradikalen spielen^[52]. Mehrere Berichte schlagen die Keto-Carotinoide als effektivere Antioxidantien gegen Lipidperoxidation vor^{[50]-[54]}.

Über die **Abbauprodukte** bei der selbst initiierten Oxidation und in der radikalisch initiierten Oxidation von β -Carotin **14** wurde in verschiedenen Publikationen berichtet^{[55]-[60]}.

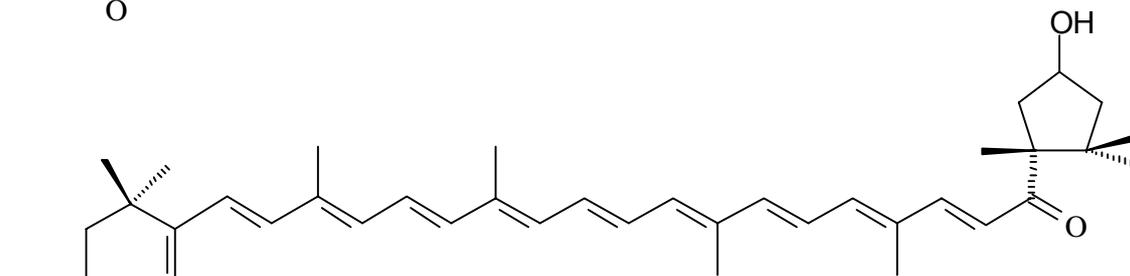
Als Abbauprodukte von β -Carotin **14** werden in der Literatur Apo-Carotenale und verschiedene Epoxide genannt^{[55]-[57],[61]}.



β -Carotin **14**



Canthaxanthin **15**



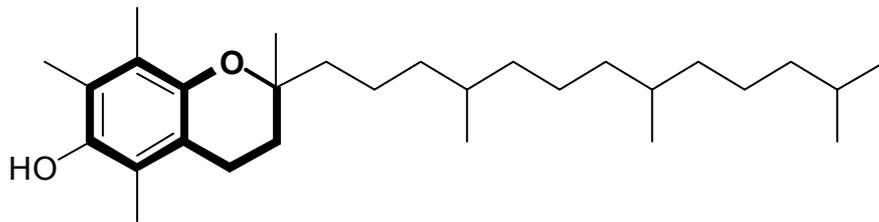
Capsanthin **16**

2. Problemstellung

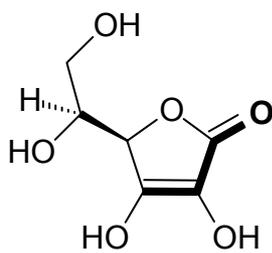
1) Flavonoide

Die Einführung einer Doppelbindung zwischen dem Chromonteil und dem Phenylring könnte zur Verbesserung der antioxidativen Eigenschaften führen, dies soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden. Wenn man die Struktur des Resveratrols **12** betrachtet, entspricht es gedanklich einem synthetisch unvollendetem Flavonoid. Beide Verbindungen werden in der Biosynthese auf gleiche Weise aufgebaut, aus Phenylalanin mit drei Molekülen Malonyl-CoA. Das Auftreten von zwei unterschiedlichen Enzymen verursacht entweder die Synthese von einem Chalcon (Flavonoid) oder von einem Stilben.

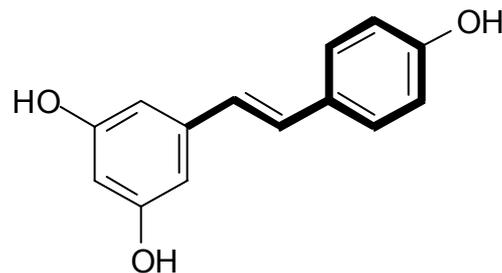
Ein vinylog-verlängertes Flavonoid kann man als eine Kombination der für die antioxidative Eigenschaften verantwortlichen funktionellen Gruppen der drei bekannten Antioxidantien α -Tocopherol (Vitamin E) **17**, Ascorbinsäure (Vitamin C) **18** und Resveratrol **12** betrachten.



17

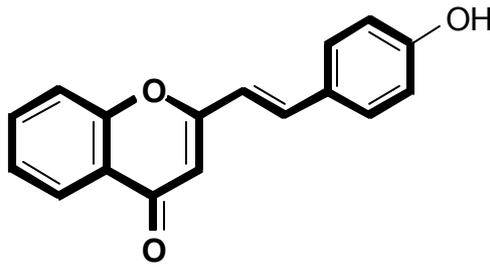


18



12

Aus Vitamin E **17** lässt sich der Chroman-Teil ableiten. Vitamin C **18** steuert die Ketofunktion mit der konjugierten Doppelbindung bei, und Resveratrol **12** die Styrylgruppe.

Vinyllog-verlängertes Flavonoid **19**

Mit einer Messmethode soll die Fähigkeit verschiedener synthetischer Flavonoide und natürlicher Carotinoide, das Cumolhydroperoxidradikal abzufangen, bzw. die Bildung des Cumolhydroperoxides zu verhindern oder zu verlangsamen, überprüft werden.

Wenn diese neuen synthetischen Flavonoide sich wie typische Flavonoide verhalten, sollen sie die gleichen strukturellen Anforderungen wie die natürliche Flavonoide zeigen, d.h.

- die Catecholgruppe im B-Ring,
- die C2-C3-Doppelbindung in Konjugation mit der Ketogruppe in der C4-Position und
- die Hydroxygruppe in der C3-Position

Ebenso ist die antioxidative Wirkungsweise der synthetisierten Flavonoide von Interesse.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen mit denen von natürlich vorkommender Flavonoide verglichen werden^[62].

2) Carotinoide

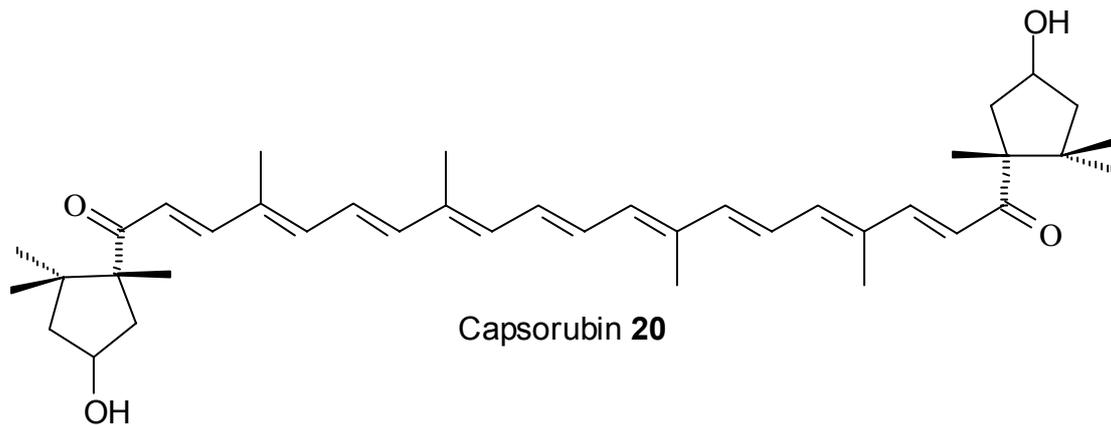
Informationen über den Abbau von β -Carotin **14** werden gesammelt. Die Ergebnisse bestätigen die Messungen anderer Autoren^{[100]-[102]}.

Das Auftreten von Retinal als Abbauprodukte von β -Carotin **14** wird geprüft. Die antioxidativen Eigenschaften von Retinal werden ebenfalls untersucht.

Der Einfluß der Xanthophylle aus der Paprika auf die Bildung von Cumolhydroperoxid wird mit β -Carotin **14** verglichen. Die Xanthophylle besitzen bessere antioxidative Eigenschaften als die Carotinoide, die keine Sauerstoffatome besitzen. Carotinoide mit Ketogruppe zeigen hohe Stabilität im Oxidationsprozess.

Das Radikal wird besser stabilisiert, wenn eine Ketogruppe im Carotinoid enthalten ist. Aus diesem Grund wird erwartet, dass Capsorubin **20** und Canthaxanthin **15** (zwei Carotinoide mit Ketogruppen in 4- bzw. 4'-Position) bessere Eigenschaften als Radikalfänger und eine größere Stabilität im Selbstoxidationsprozeß besitzen, als der Rest der untersuchten natürlichen Carotinoide.

Die Ergebnisse nach dieser Methode werden mit anderen Ergebnissen verglichen.



3. Hauptteil

3.1. Synthetischer Teil

Im Rahmen dieser Arbeit wurden verschiedene vinylog verlängerte Flavonoide synthetisiert, die auf ihre antioxidativen Eigenschaften getestet wurden. Zusätzlich wurden in Kooperation mit der BASF weitere vinylog verlängerte Flavonoide synthetisiert, deren UV-VIS-Spektren im UVA und UVB Bereich liegen.

Die Einführung von Hydroxy-Substituenten im B-Ring führt zu einer bathochromen Verschiebung in den VIS-Bereich. Die Hydroxygruppen in den Flavonoiden sind zudem die Bedingung für die Wirksamkeit als Antioxidans.

Um die Doppelbindung aufzubauen, wird durch Aldolkondensation ein Chromonenteil mit verschiedenen Aldehydderivaten gekuppelt.

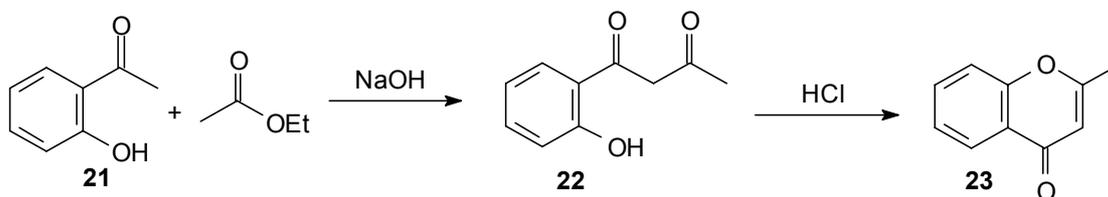
Ausgehend von phenolischen Derivaten oder Acetophenon wird zuerst das Hydroxyacetophenon dargestellt. Das Hydroxyacetophenon wird zum Diketon kondensiert und das Diketon zu Chromon cyclisiert.

Weiterhin besteht die Aufgabe, die verschiedenen Hydroxy-Chromone herzustellen und mit verschiedenen Benzaldehyden zu verknüpfen.

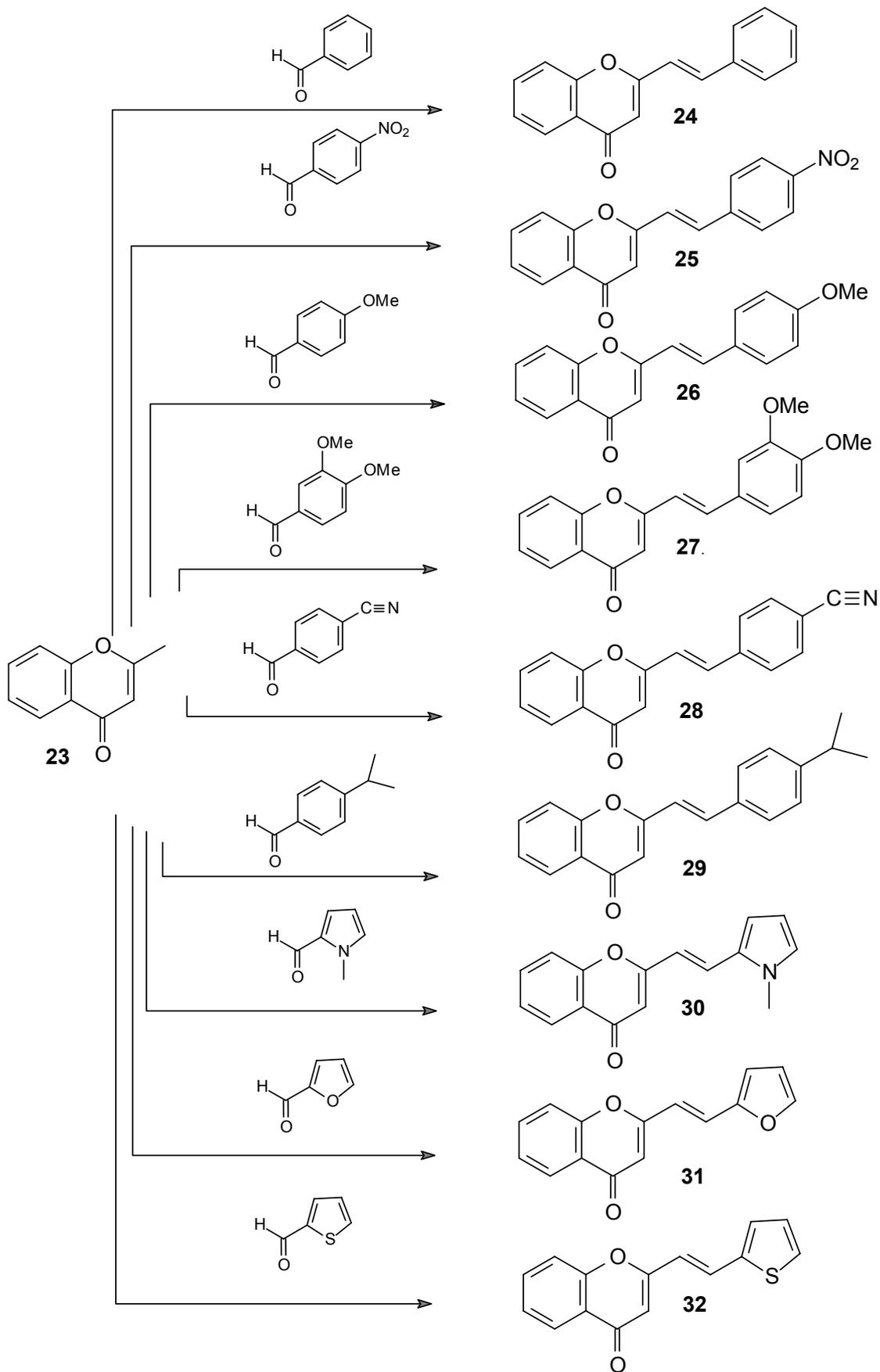
Die Hydroxygruppen werden (z.B. als Methylether) geschützt, und am Schluß der Synthese werden diese Schutzgruppen wieder entfernt.

2-Styrylchromon (Vinylflavon)

Ausgehend von 2-Hydroxy-Acetophenon **21** und Essigsäureethylester wird in zwei Reaktionsschritten das 2-Methylchromon **23** hergestellt^[63].

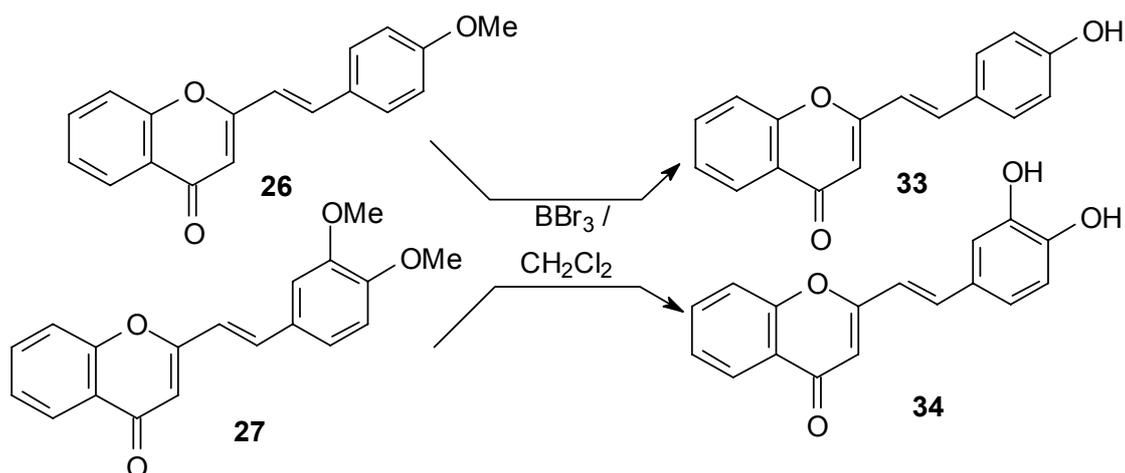
**V1**

Durch Aldolkondensation mit Natriumethanolat wird 2-Methylchromon **23** mit verschiedenen aromatischen Aldehyden umgesetzt^[64].

V2
-
V10

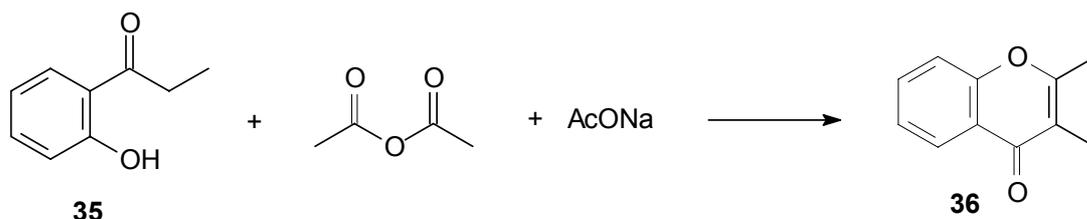
Die Photostabilität von fünf dieser Verbindungen wurde von T. Heinrich^[65] untersucht und mit natürlich vorkommenden Flavonoiden verglichen. Die vinyllog verlängerten Flavonoide zeigen ähnliche Photostabilitäten wie die korrespondierenden Flavonoide. Nur die Stammverbindung **24** (Vinylflavon) ist stabiler, aber nicht so stabil wie das 5-Hydroxyflavon.

Das 3',4'-Dimethoxyvinylflavon **27** wurde auch aus 2-Methylchromon **23** und 3,4-Dimethoxybenzaldehyd hergestellt. Die Entfernung der Methoxy-Schutzgruppe mit Bortribromid setzt zwei Hydroxygruppen frei^[66]. Die Anwesenheit von einer oder zwei Hydroxygruppen im B-Ring sollte für natürlich vorkommende Flavone eine der wichtigsten Bedingungen für die antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden darstellen. Auf gleiche Weise wurde am 4'-Methoxyvinylflavon **26** die Schutzgruppe entfernt.

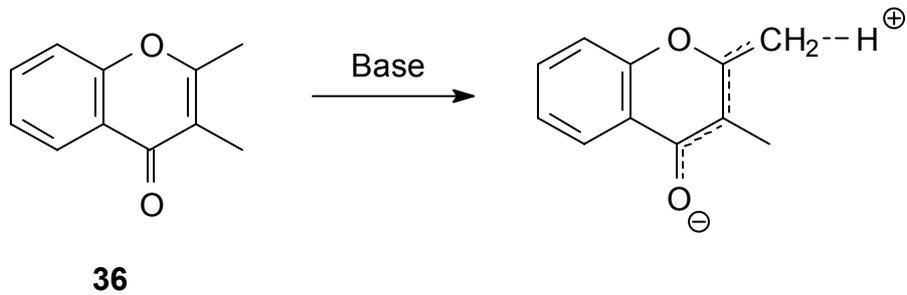


3-Methyl-vinyl-flavon

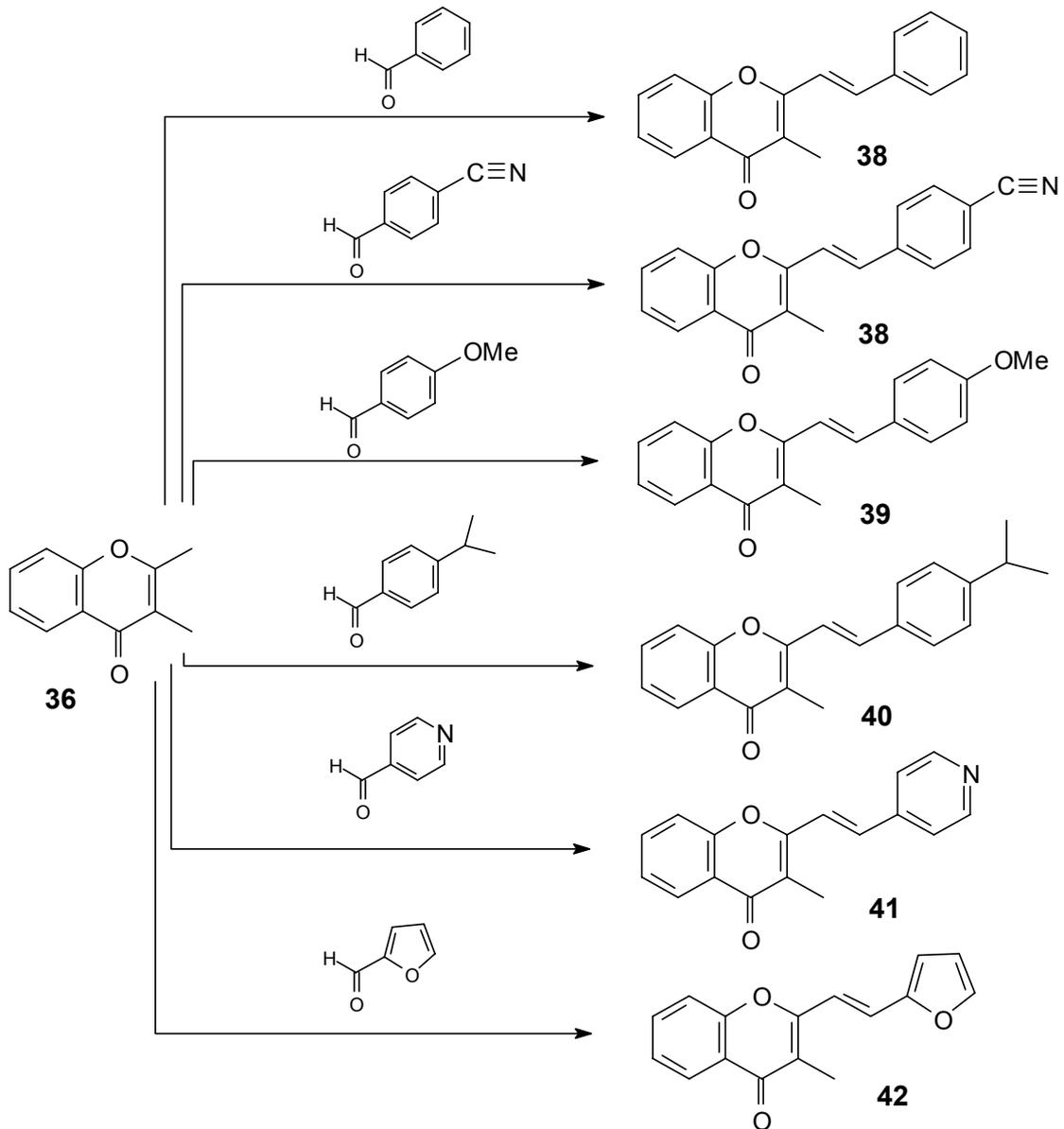
Ausgehend von 2-Hydroxypropiophenon **35**, Essigsäureanhydrid und Natriumacetat wird das 2,3-Dimethylchromon **36** hergestellt^{[67],[68]}.



Die Kupplung mit Benzaldehyd sollte ausschließlich an der Methylgruppe in C2-Position stattfinden, da diese acider ist. Dies wird durch das Experiment bestätigt.

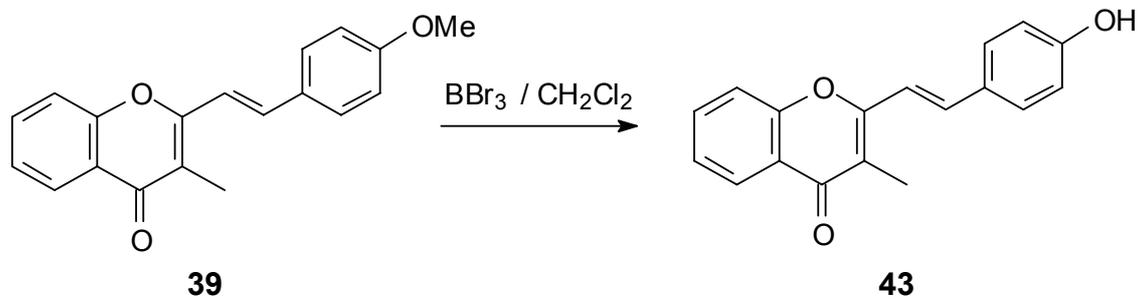


Das Dimethylchromon wird mit verschiedenen Aldehyden gekuppelt.



V14
-
V19

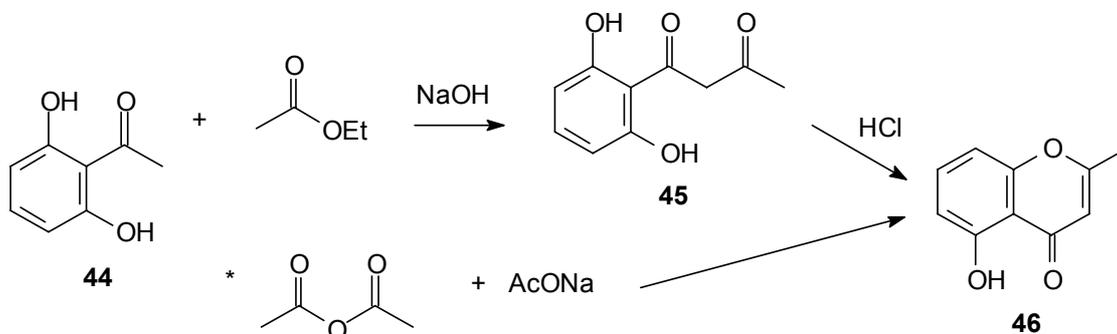
Von 2-Methyl-4-methoxyvinylflavon wurde mittels Bortribromid die Methoxy-Schutzgruppe entfernt.



V20

Ausgehend von 2,6-Dihydroxyacetophenon **44** wurde das 5-Hydroxy-2-methylchromon **46** auf 2 Wegen dargestellt.

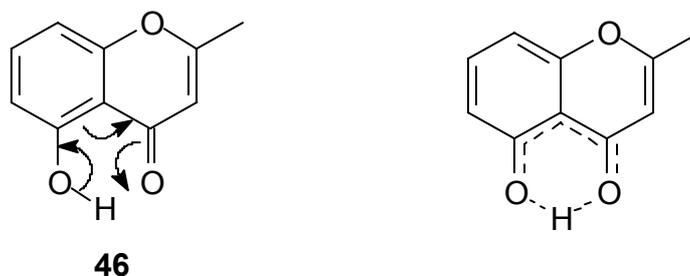
V21
-
V22



Die Umsetzung mit Essigsäureanhydrid^{[70],[71]} ergibt eine doppelt so hohe Ausbeute wie die Reaktion mit Essigester^[72].

Der Versuch einer Kupplung der verschiedenen Aldehyde mit 5-Hydroxy-2-methylchromon **46** war erfolglos. Man erhält nicht das erwartete vinylog verlängerte Flavon.

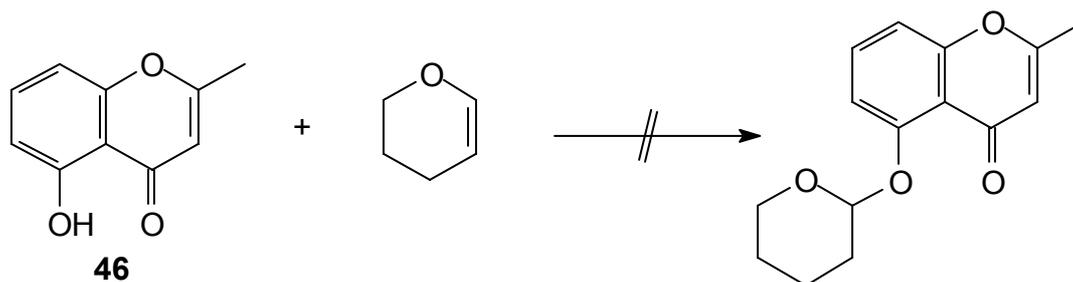
Ein Grund dafür dürfte die H-Brücke der Hydroxygruppe zur Ketogruppe sein,



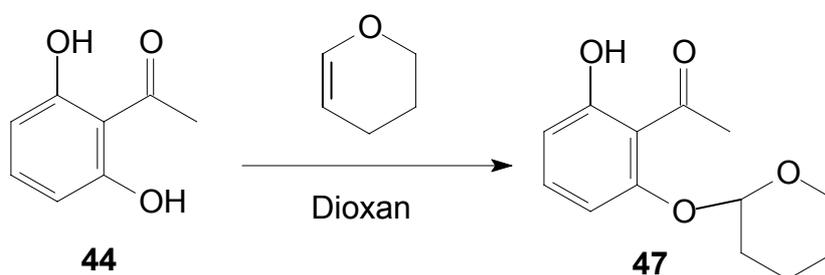
oder die O-H ist acide und reagiert zuerst mit der Base.

Die Methylgruppe wird für die Aldolkondensation desaktiviert.

Die Hydroxygruppe mit 3,4-Dihydro-2H-pyran zu schützen mißlang.



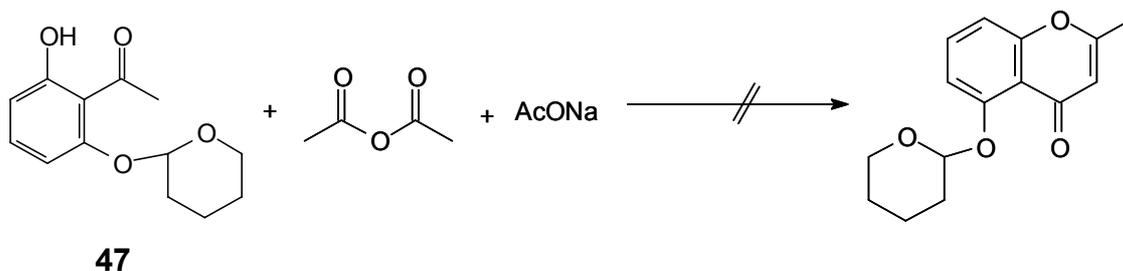
Deshalb wurde die Schutzgruppe vor der Cyclisierung eingeführt^{[73],[74]}.



V23

Es gelang, selektiv nur eine der Hydroxygruppen zu schützen.

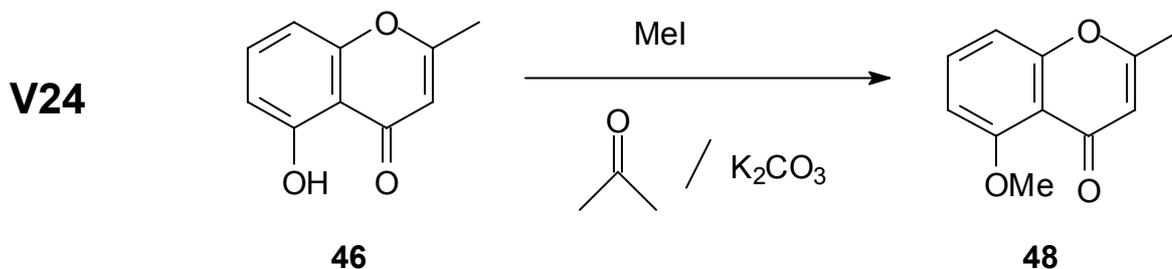
Leider ist die Schutzgruppe unter den Bedingungen der Chromonherstellung nicht stabil.



Vinylog verlängerte Flavonoide mit Hydroxylgruppen im A-Ring wurden daher auf anderem Wege gewonnen: 5-Methoxy-2-methylchromon **48** wurde mit den gewünschten Aldehyden gekuppelt und anschließend wurde die Methoxy-Schutzgruppe entfernt

5-Methoxy-2-methylchromon 48 wurde auf zwei Weisen dargestellt:

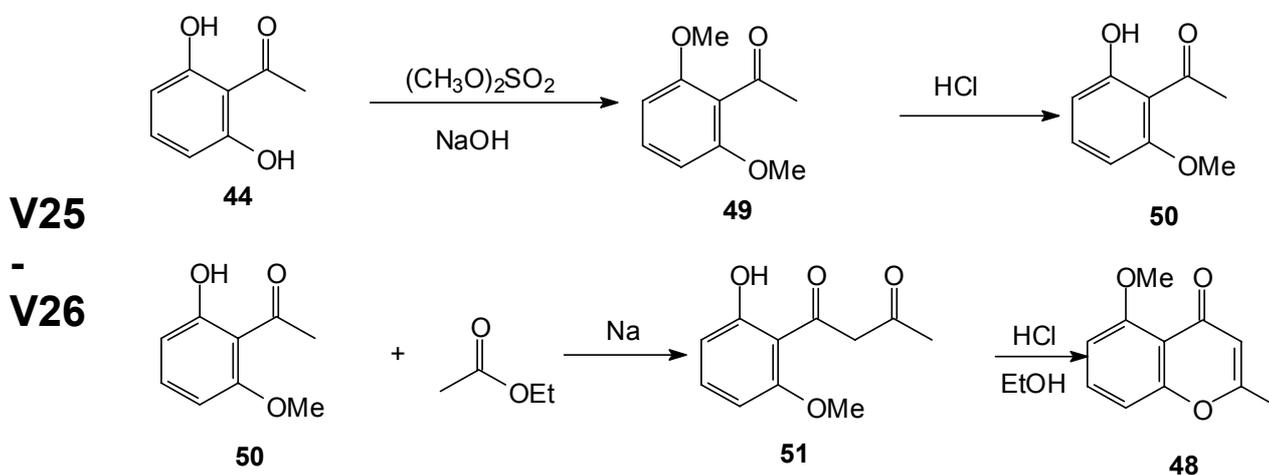
1.) Die Hydroxygruppe des 5-Hydroxy-2-methylchromons **46** wurde mit Methyljodid in Aceton methyliert^[75].



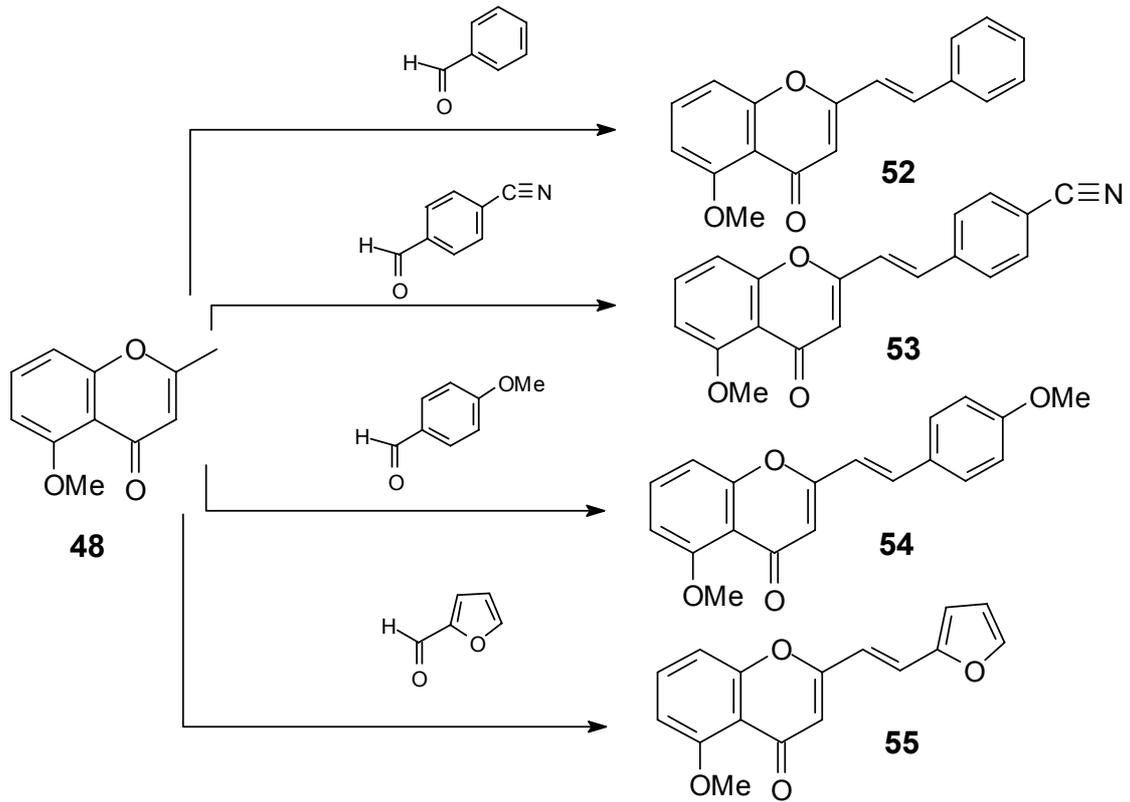
2.) Ausgehend von 2,6-Dihydroxyacetophenon **44** wurde das 5-Methoxy-2-methylchromon **48** in vier Schritten dargestellt.

Die Methylierung der beiden Hydroxygruppen wurde nach Wallenfels^[76] durchgeführt. In einem weiteren Schritt wird eine Methylgruppe mit Salzsäure abgespalten.

Die Cyclisierung erfolgt über zwei Stufen mit Ethylacetat^[72].

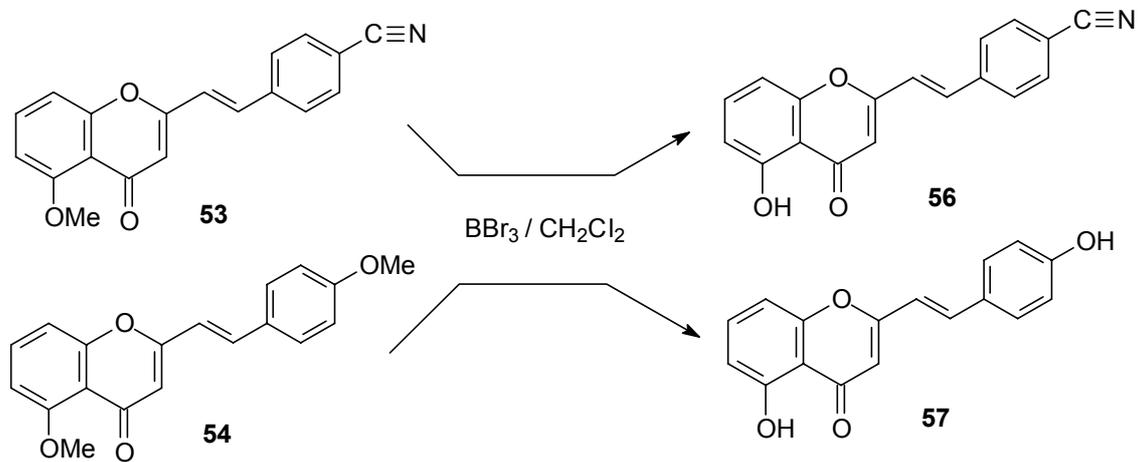


Das 5-Methoxy-2-methylchromon **48** wurde mit verschiedenen Aldehyden gekuppelt.



V27
-
V30

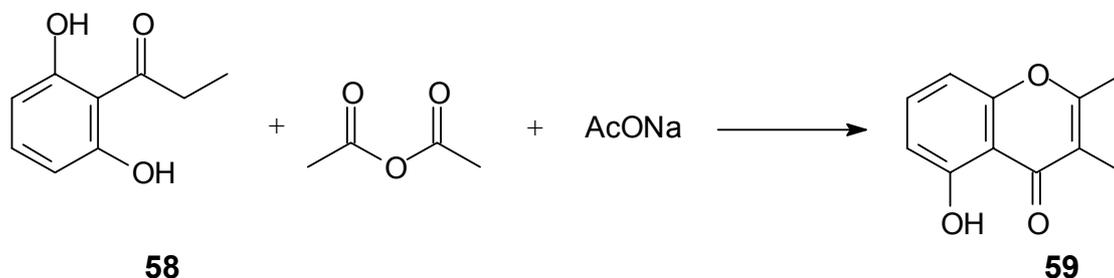
Das Entfernen der Methoxy-Schutzgruppe erfolgt wieder mit der Lewissäure Bortribromid (BBr_3) in Dichlormethan.



V31
-
V32

5-Hydroxy-2,3-dimethylchromon 59

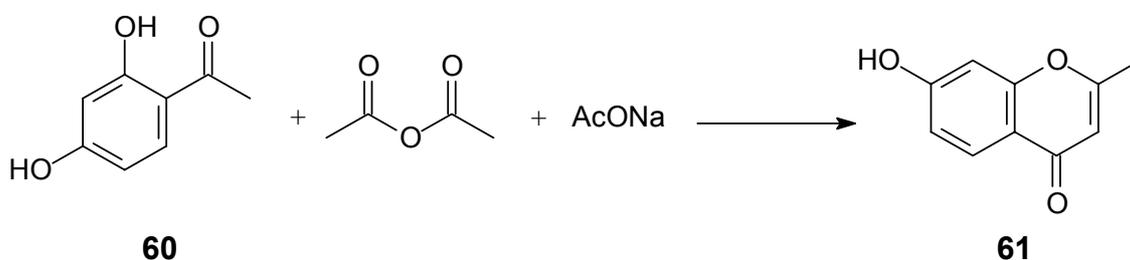
Ausgehend von 2,6-Dihydroxypropiophenon **58** wurde das 2,3-Dimethyl-5-hydroxychromon **59** dargestellt^[77].

V33

Andere 2-Methyl- und 2,3-Dimethylchromone mit Hydroxygruppen in der C6- und C7- Position im A-Ring wurden wie folgt dargestellt:

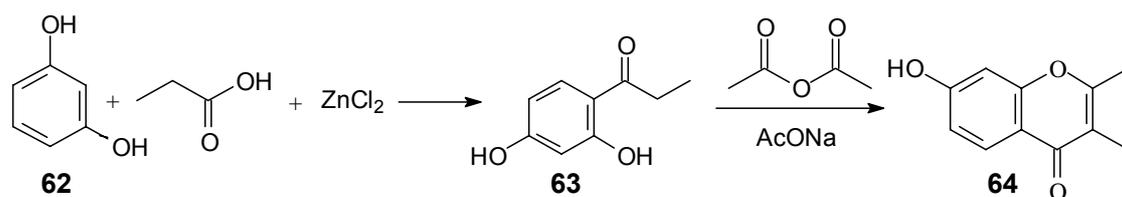
7-Hydroxy-2-methylchromon 60

Das an C7 substituierte Chromon wurde nach Tahara^[78] und Kostanecki^[79] aus dem 2,4-Dihydroxyacetophenon **60** hergestellt.

V34

Aber leider gelingt die Kupplung mit Aldehyden nicht, wenn das Chromon oder der Aldehyd eine ungeschützte Hydroxygruppe besitzen.

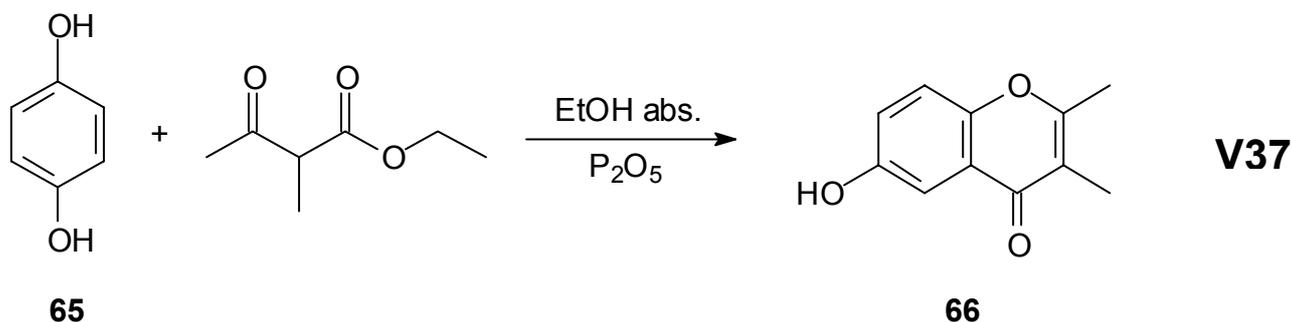
7-Hydroxy-2,3-dimethylchromon 64 wurde auf folgendem Weg synthetisiert:

V35**V36**

Das Propiophenon **63** wird nach Gnagy^[80] aus Resorcin **62** und Propionsäure unter der katalytischen Wirkung von Zinkchlorid gewonnen. In einem zweiten Schritt wird das Resapropiophenon **63** mit Essigsäureanhydrid kondensiert und cyclisiert^{[81],[82]}.

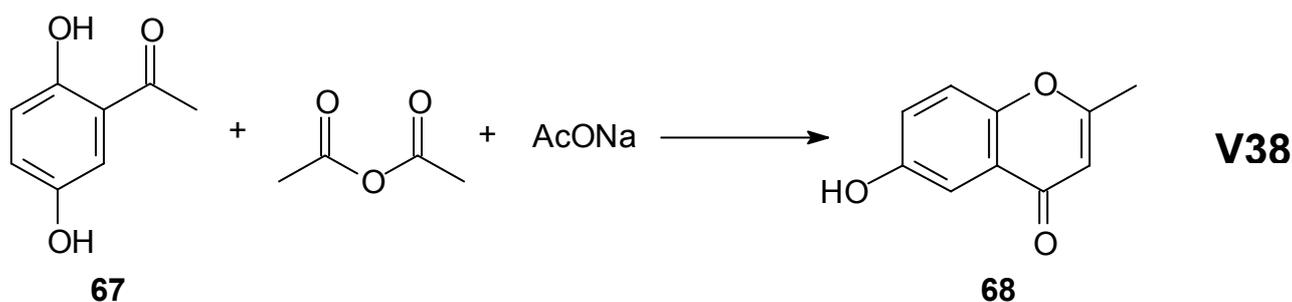
6-Hydroxy-2,3-dimethylchromon

Ausgehend von Ethyl-2-methylacetoacetat und Hydrochinon **65** wurde 2,3-Dimethyl-5-hydroxychromon **66** dargestellt^[83].

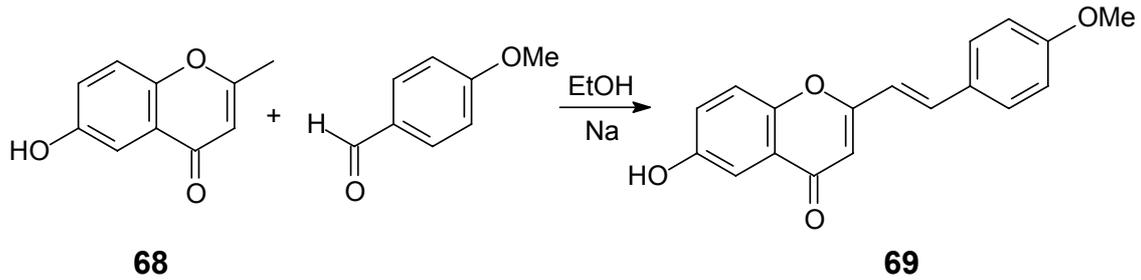


6-Hydroxy-2-methylchromon

Aus 2,5-Dihydroxyacetophenon **67** wurde nach Tahara^[78] und Kostanecki^[79] das 2-Methyl-5-hydroxychromon **68** gewonnen.

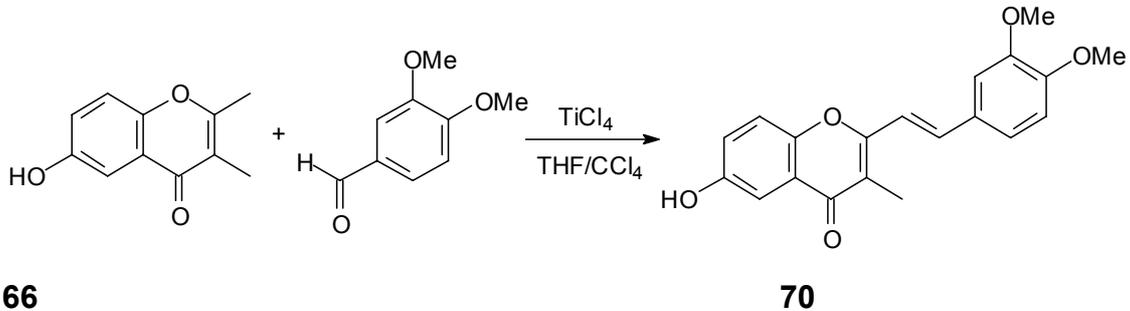


Mit diesen Chromonen konnte eine Kupplung mit einem Benzaldehyd erfolgen. Erstmalig gelang eine Kupplung von einem Hydroxymethylchromon mit einem Aldehyd.

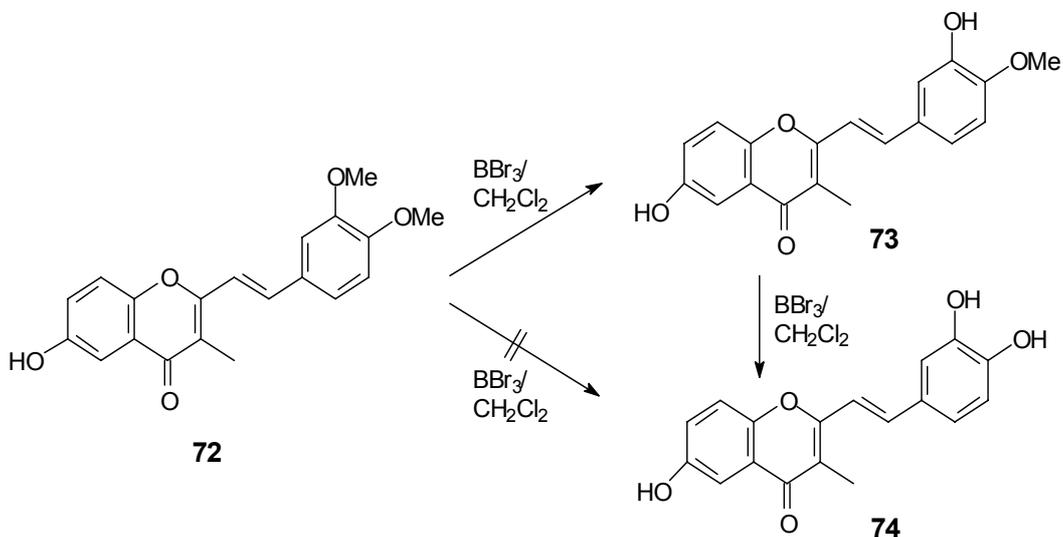
V39

Die gleiche Reaktion wurde erfolglos mit 2,3-Dimethyl-5-hydroxychromon **59** versucht.

Die Kupplung mit 3,4-Dimethoxybenzaldehyd war mittels eines Titan (IV) Katalysators möglich.

V40

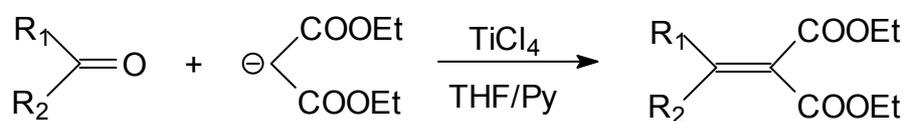
Mit Bortribromid wird die Demethylierung beider Methoxygruppen versucht. Es wird nur eine Methoxygruppe gespalten. Das Produkt wird erneut mit Bortribromid versetzt. Eine totale Demethylierung gelang.

V41
-
V42

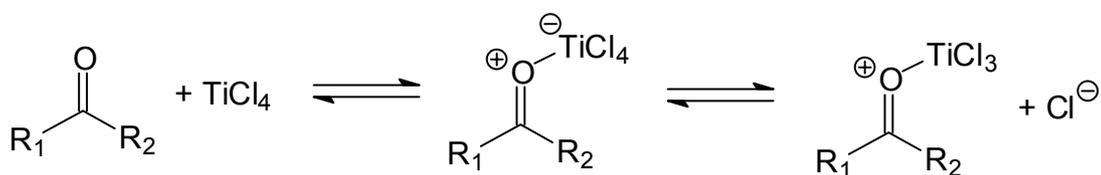
Titantetrachlorid als Katalysator

Bei der oben beschriebenen Reaktion handelt es sich um eine verbesserte Variante der Knövenagel-Kondensation mit Titantetrachlorid als Katalysator. Die von Lehnert^{[84]-[87]} durchgeführte Umsetzung erlaubt, aliphatische und aromatische Ketone in Gegenwart von Titantetrachlorid (TiCl₄) und Pyridin (Py) in Tetrahydrofuran (THF) mit Malonsäurediethylester zu kondensieren.

Unter den gleichen Bedingungen wie bei Lehnert^{[84]-[87]} werden in dieser Arbeit aktive Methylgruppen aus den Methylchromonen mit Aldehyden kondensiert.



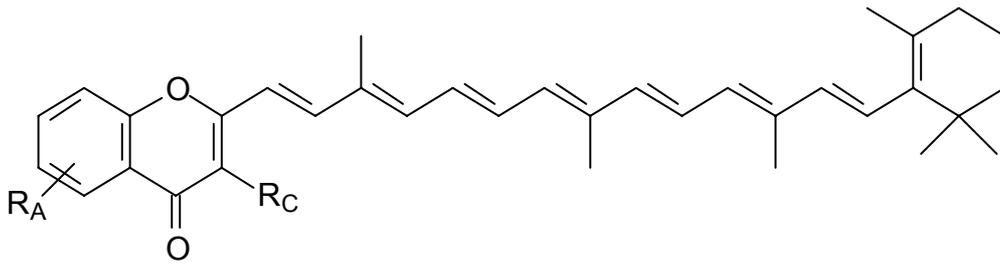
Nach Ersatz des Pyridins durch die stärkere Base *N*-Methylmorpholin steigen für die schon dargestellten Verbindungen die Ausbeuten und auch für neue Chromone mit Hydroxygruppen war die Kupplung erfolgreich.



Auf diesem Weg sind Kupplungen von Chromonen mit Hydroxygruppen erfolgreich, wenn der Benzaldehyd keine freie Hydroxygruppe besitzt. Die Hydroxygruppe von Aldehydkomponenten wird vor der Kupplung als Methoxygruppe geschützt und nach der Kupplung mit Bortribromid die Schutzgruppe entfernt.

Kupplung von Methylchromon-Derivate mit C₂₅-β-Carotinaldehyd

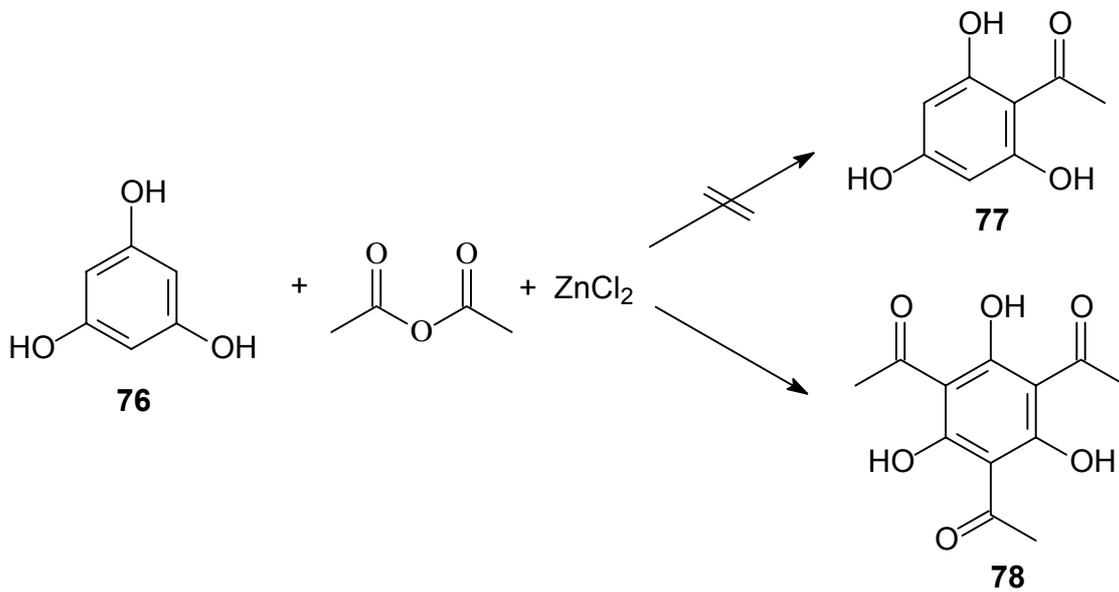
Verschiedene Kondensationsreaktionen von Chromonen mit C₂₅-Carotinoidaldehyden erfolgten mit diesem Katalysator. Auf diesem Weg wurden die folgenden Verbindungen synthetisiert:

**V43**

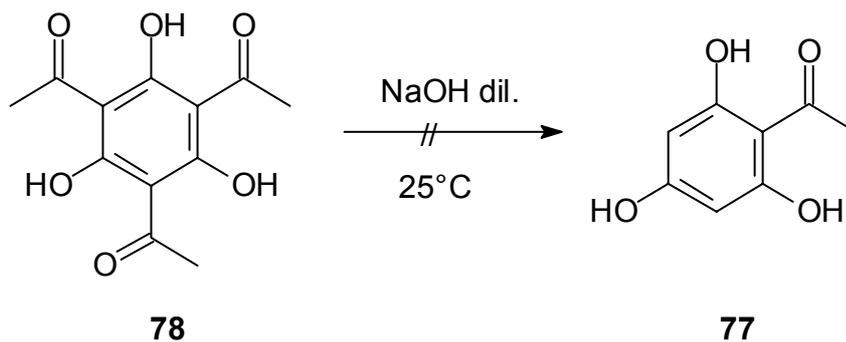
-

V45 $R_C = H$ $R_C = Me$ $R_C = Me$ $R_A = H$ $R_A = OH, C5\text{-Position}$ $R_A = OH, C6\text{-Position}$ **73****74****75****5,7-Dihydroxy-2-methylchromon 83**

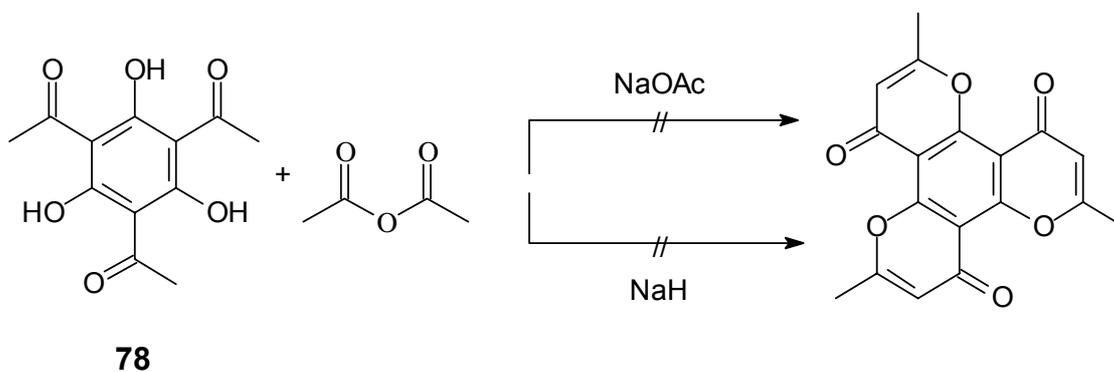
Ausgehend von Phloroglucin (1,3,5-Trihydroxybenzol) **76** wird versucht, mit Essigsäureanhydrid und $ZnCl_2$ das Acetophenon **76** herzustellen. Anstelle des einfach substituierten Acetophenons **76** bekommt man nach der Friedel-Crafts-Reaktion in den drei freien Stellen des Phenolrings als Produkt 2,4,6-Trihydroxy-1,3,5-triacetylbenzol **78**:

V46

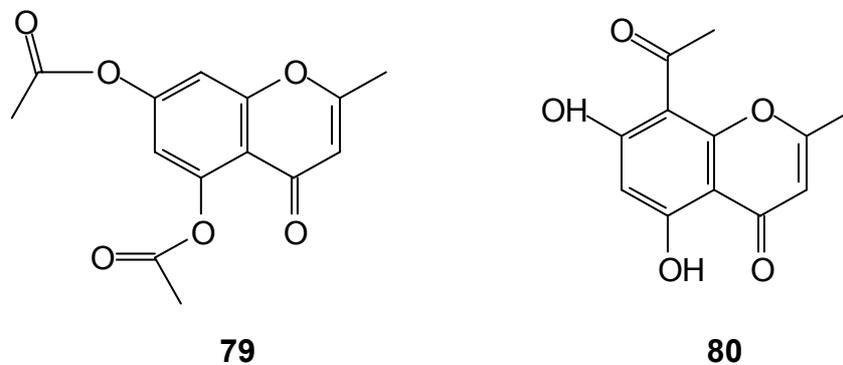
Das 2,4,6-Trihydroxy-1,3,5-triacetophenon **78** lässt sich nach Heller^[88] nicht mit Natronlauge umsetzen, um das gewünschte 2,4,6-Trihydroxy-acetophenon **77** zu bekommen.



Ausgehend von 2,4,6-Trihydroxy-1,3,5-triacetophenon **79** wurde eine dreifache Acylierung und ein Ringschluss mit Essigsäureanhydrid und NaOAc oder NaH als Base ohne Erfolg versucht.



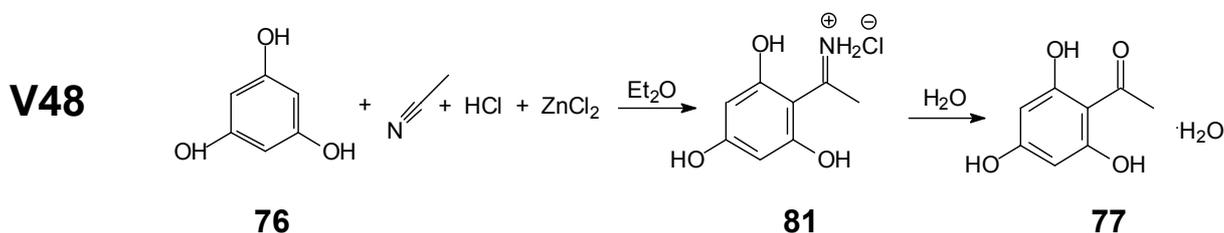
Man erhielt einen sehr schwer löslichen Feststoff. Über Säulenchromatographie nach Soxhlet-Extraktion bekam man drei Fraktionen, von denen zwei als **79** und **80** identifiziert wurden:



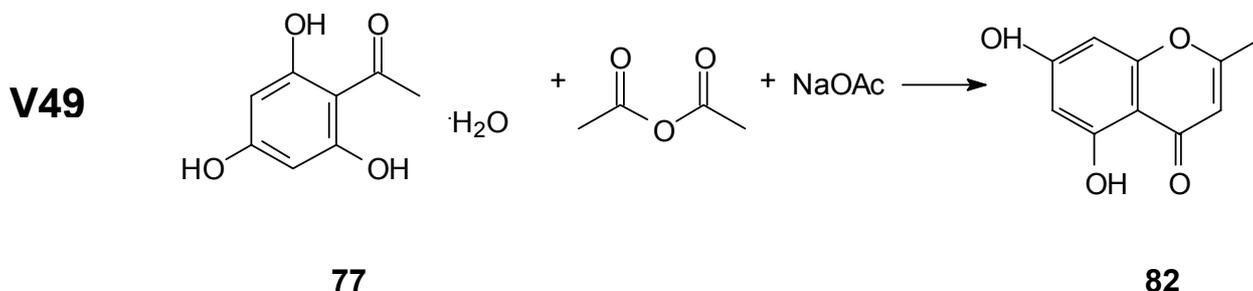
Offensichtlich erfolgte eine Deacylierung bei den stärkeren basischen Bedingungen.

Für die Acylierung von 1,3,5-Trihydroxybenzol (Phloroglucin) **76** ist die Houben-Hoesch-Synthese eine sehr elegante Methode.

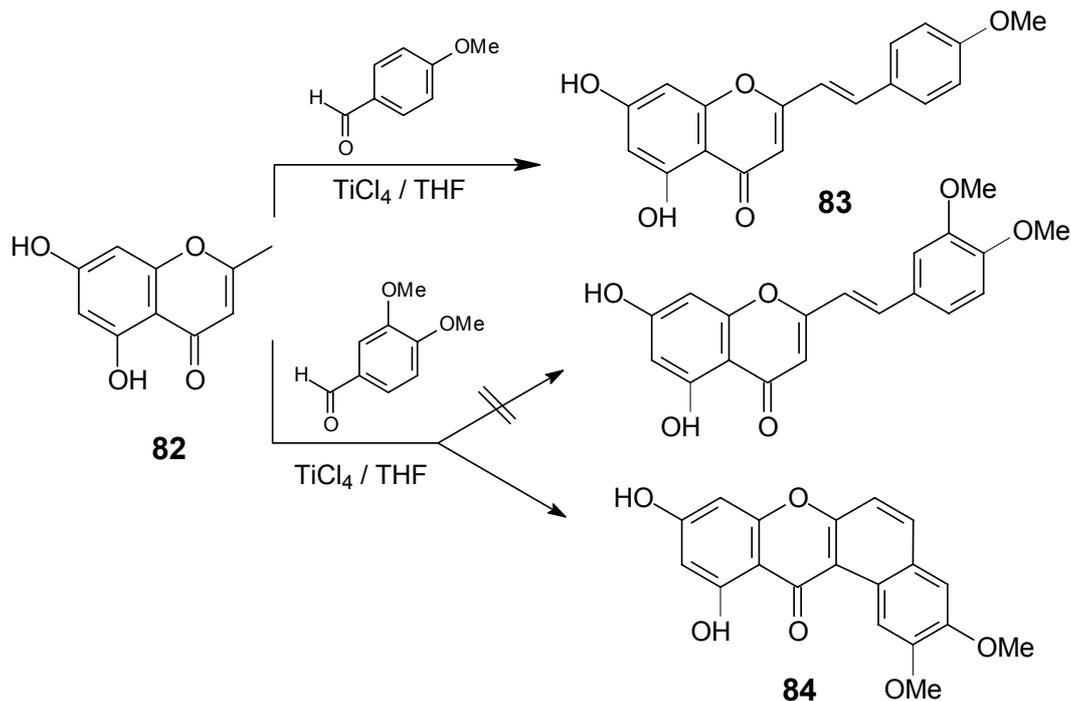
Die Synthese von 2,4,6-Trihydroxyacetophenon **77** gelingt durch Umsetzung des Phloroglucins mit Acetonitril und Chlorwasserstoff in Diethylether^{[89],[90]}. Das nach der Reaktion entstehenden Ketimid **81** wird zum Acetophenon **77** hydroliert.



In der dritten Stufe wurde das 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon **82** wie üblich durch Kondensation mit Essigsäureanhydrid dargestellt.



Dihydroxyliertes Chromon wurde mit Anisaldehyd und mit 3,4-Dimethoxybenzaldehyd umgesetzt.



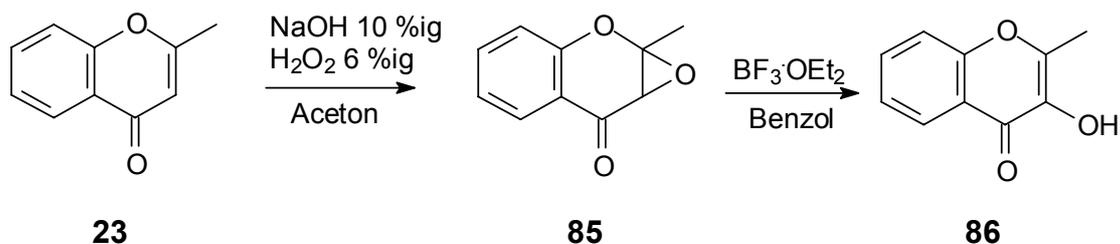
V50
-
V51

Der Kupplungsversuch von **82** mit Dimethoxybenzaldehyd ergibt nicht das gewünschte Produkt, sondern das Produkt eines anschließenden oxidativen Ringeschlusses. Die Struktur wurde NMR-spektroskopisch bewiesen (s. 5. V51).

Eine Hydroxygruppe in der 3-Position spielt eine wichtige Rolle bezüglich der antioxidativen Eigenschaften der natürlich vorkommenden Flavonoide.

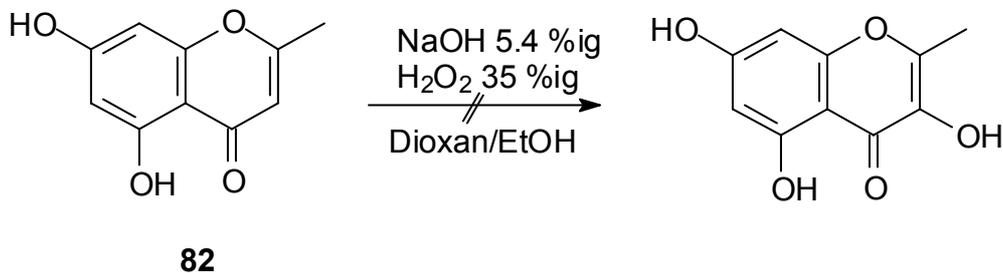
Eine Epoxidierung an der Doppelbindung des C-Rings, gefolgt von einer anschließenden Öffnung des Epoxids, liefert solche Produkte.

Nach Donelly^[91] wurde 2-Methylchromon **23** mit Wasserstoffperoxid und Natronlauge behandelt. Nach dem ersten Schritt erhält man eine Produktmischung. Ohne die Mischung zu trennen wird die Öffnung des Epoxids **85** versucht. Die Ausbeute nach dem zweiten Schritt ist unter 1 %.



V52

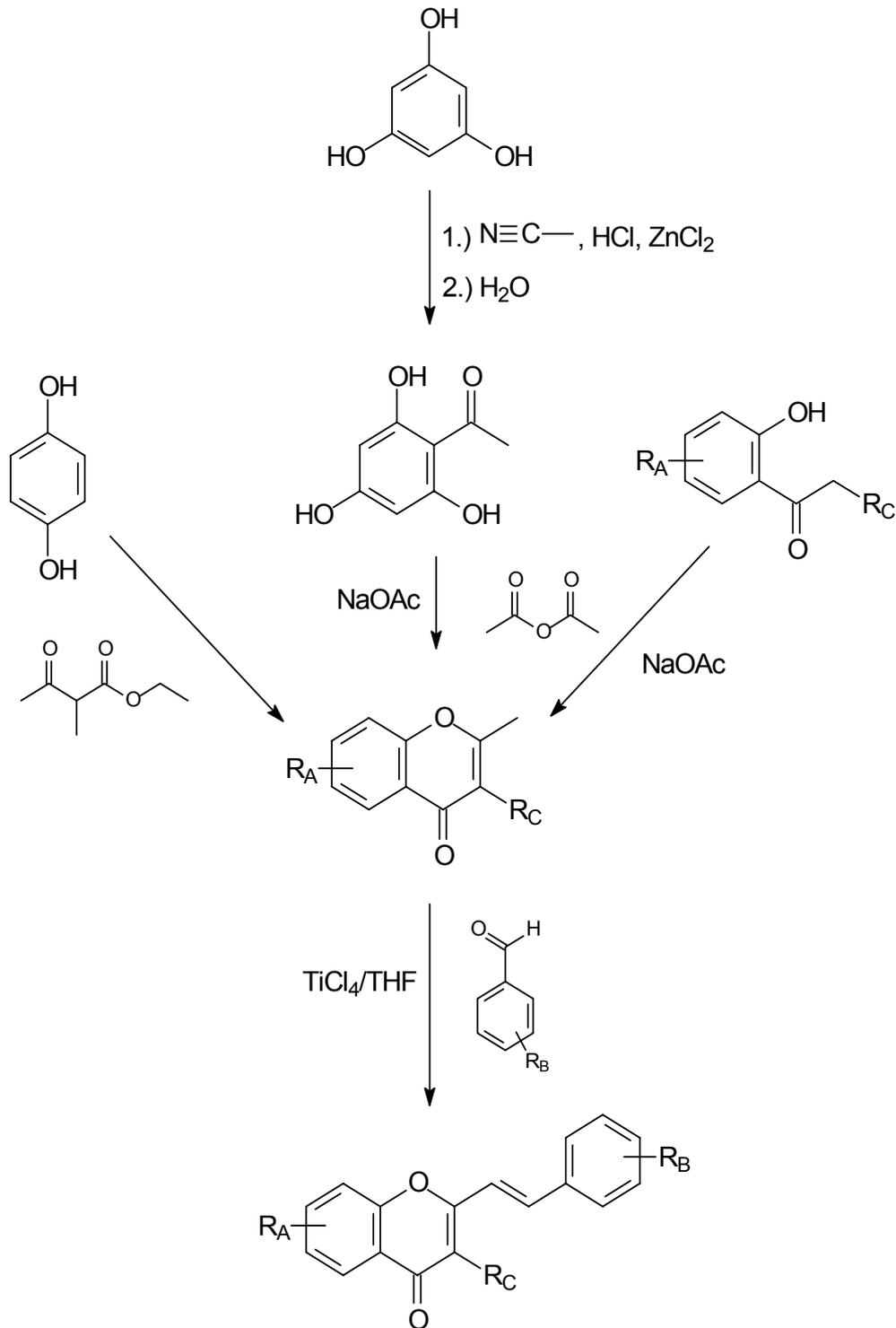
Auch unter härteren Bedingungen^[92] gelang es nicht das 5,7-Dihydroxy-2-Methylchromon **82** zu epoxidieren.



Bei den Messungen an den synthetisierten Verbindungen stellte sich heraus, dass eine Methylgruppe in der 3-Position die antioxidativen Eigenschaften extrem verbessert.

Der Effekt einer Hydroxygruppe im C-Ring konnte aufgrund der synthetischen Schwierigkeiten leider nicht geprüft werden.

Die Syntheseroute ist im nächsten Schema noch einmal zusammengefaßt.



$R_A, R_B = \text{H}, \text{OH}, \text{OMe}$

$R_C = \text{H}, \text{Me}$

Schema 10: Syntheseroute vinylog verlängerter Flavonoide

3.2. Messteil

3.2.1. Messverfahren

In dieser Arbeit werden die antioxidativen Eigenschaften verschiedener modifizierter Flavonoide in Bezug auf die Hemmung der Bildung von Cumolhydroperoxid nach der von Terao^[50] für Carotinoide vorgestellten Messmethode untersucht, die von M. Schmidt^[93] modifiziert und in dieser Arbeit für Flavonoide optimiert wurde.

In einem zur Unterdrückung von Photoreaktion aus Braunglas gefertigten Reaktionsgefäß findet die Autooxidation des Substrats Cumol in Gegenwart von Sauerstoff und einem Radikalstarter statt. Der Sauerstoffpartialdruck beträgt 150 Torr (200 mbar).

Das Reaktionsgefäß hat ein Innenvolumen von ca. 500 ml und wird mittels Wassermantel auf die physiologische Temperatur von 37 °C temperiert. Alle 10-20 min werden Proben gezogen und die Proben mit einer HPLC einer Proben-schleife von 10 µl/20 µl vermessen. Das Reaktionsgemisch wird in der HPLC durch eine Säule in Einzelkomponenten getrennt. Als Laufmittel wird n-Hexan/Isopropanol im Verhältnis 99:1 benutzt. Die Detektion jeder Komponente erfolgt UV-spektroskopisch mittels einem Dioden Array Detector (DAD). Das Signal von Cumolhydroperoxid wird detektiert und bei 254 nm integriert.

Die Zunahme der Menge an Cumolhydroperoxid wird gegen die Zeit aufgetragen. Die Fläche für Cumolhydroperoxid ohne Inhibitor nach 300 min wird auf 100 % normalisiert. Dies ergibt eine Gerade.

In Gegenwart eines Wirkstoffs im Reaktionsgefäß variiert die Menge des gebildetes Cumolhydroperoxids. Wenn die gebildete Cumolhydroperoxidmenge geringer ist als bei Abwesenheit des Wirkstoffs, agiert der Wirkstoff antioxidativ, wird sie größer agiert der Wirkstoff prooxidativ. Keine der nach dieser Methode gemessenen Verbindungen zeigte einen prooxidativen Effekt.

Ein Wirkstoff ist ein gutes Antioxidans, wenn die Unterdrückung der Bildung von Cumolhydroperoxid groß ist. Die Darstellung der Cumolhydroperoxidbildung in

Abhängigkeit von der Zeit ergibt in der Regel eine Kurve, welche Auskunft über das Verhalten eines Antioxidans gibt.

Die antioxidative Wirkung einer Verbindung wurde in drei Konzentrationen untersucht: $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M.

Die Messung einer Verbindung wurde zweimal durchgeführt.

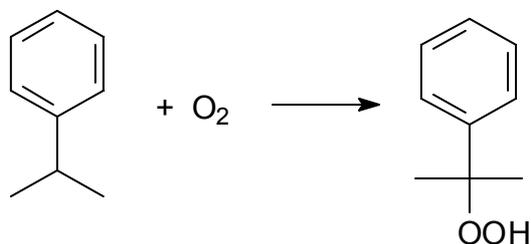
Der Messfehler beträgt 10 %^[93].

Das Reaktionsgefäß (s. o.)

Das von M. Schmidt^[93] entwickelte Reaktionsgefäß ist ein Standzylinder von 40 cm Höhe und 4 cm Durchmesser mit einem ca. 1 cm dicken Thermostatisierungsmantel. Das mit einem Septum verschlossene System erlaubt eine Probenentnahme.

Chemikalien

Cumol 87 (zur Synthese, > 99%) wird als Substrat benutzt. Das Cumol ist dabei in Gegenwart von Sauerstoff sehr oxidationsempfindlich.



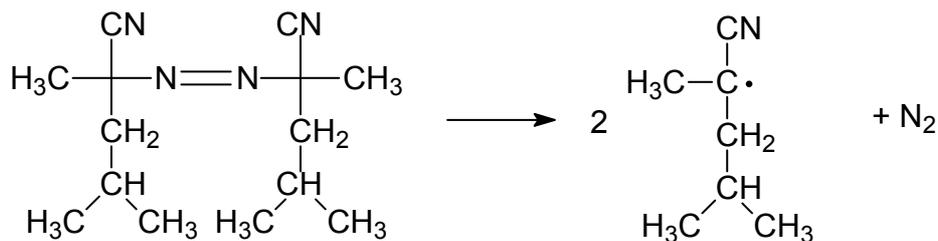
87

Schema 11: Cumolperoxidation

AMVN 2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril) (Wako Pure Chemicals, Ltd., Japan) wird als Starter benutzt.

Es ist bekannt, dass Azoverbindungen bei Raumtemperatur durch Abspaltung eines Stickstoffmoleküls (N₂) Radikale erzeugen.

AMVN zerfällt unter den Reaktionsbedingungen nur langsam, so dass über die gesamte Reaktionsdauer eine konstante Radikalkonzentration zur Verfügung gestellt wird.



Schema 12: Thermische Homolyse des AMVNs

Chlorbenzol (Spezialqualität zur Synthese, > 99.5 %) dient als Lösungsmittel aufgrund seiner folgenden guten Eigenschaften:

- es ist oxidationsstabil,
- es löst sowohl polare als auch nicht polare Verbindungen, und
- es besitzt einen hohen Siedepunkt.

Auswahl des richtigen Konzentrationsbereiches

Die verwendeten Konzentrationen der untersuchten Verbindungen basieren auf den Ergebnissen von Terao^[50], Burton und Ingold^[94] und M. Schmidt^[93].

Der Konzentrationsbereich wurde so gewählt, dass große Unterschiede im antioxidativen Verhalten (von unwirksam bis hoch wirksam) beobachtet werden konnten.

Als günstig erwies sich ein Konzentrationsbereich zwischen $2 \cdot 10^{-4}$ M und $2 \cdot 10^{-3}$ M. Die antioxidative Wirkung der Verbindungen wurden hauptsächlich bei den folgenden drei Konzentrationen gemessen: $2 \cdot 10^{-4}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-3}$ M. Die Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M wurde als Referenz für den Vergleich von verschiedenen Antioxidantien ausgewählt. Bei der kleinsten Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ M zeigen die Verbindungen kaum eine antioxidative Wirkung, bei der mittleren Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M stellen sich manche Flavonoide als sehr guten Antioxidanten heraus. Diese mittlere Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M dient als Referenz für andere Antioxidantien. Die größere Konzentration soll verdeutlichen, dass eine Verbindung, die in geringerer Konzentration keine guten Effekte besitzt, bei einer höheren Konzentration durchaus antioxidative Wirkung ausüben kann.

Die Reaktionsmischung setzt sich wie folgt zusammen:

- 5 ml reines Cumol,
- 1 ml von einer 0.45 M-Lösung AMVN in Chlorbenzol als Starter,
- und 4 ml der untersuchten Verbindung in den Konzentrationen $5 \cdot 10^{-3}$ M, $2.5 \cdot 10^{-3}$ M und $5 \cdot 10^{-4}$ M in Chlorbenzol.

Das ergibt eine Endkonzentration im Reaktionsgefäß von:

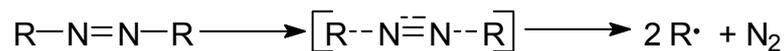
- 3.6 M Cumol,
- 45 mM AMVN,
- und $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M der als Antioxidant untersuchten Verbindung.

Reaktionsschema

Azoverbindungen erweisen sich als gute Initiatoren. Durch thermische Homolyse spaltet sich ein Stickstoffmolekül ab.

Die homolytische Bindungsspaltung C-N- und N=N-Bindungen besitzt eine Bindungsenergie von $46^{[95]}$ und $100^{[8],[96]}$ kcal/mol. Die Dissoziationsenergie für Stickstoff (N_2) ist sehr hoch (225 kcal/mol^{[8],[96]}). Dies ist die Triebkraft für eine Stickstoffabspaltung unter Bildung von zwei Radikalen.

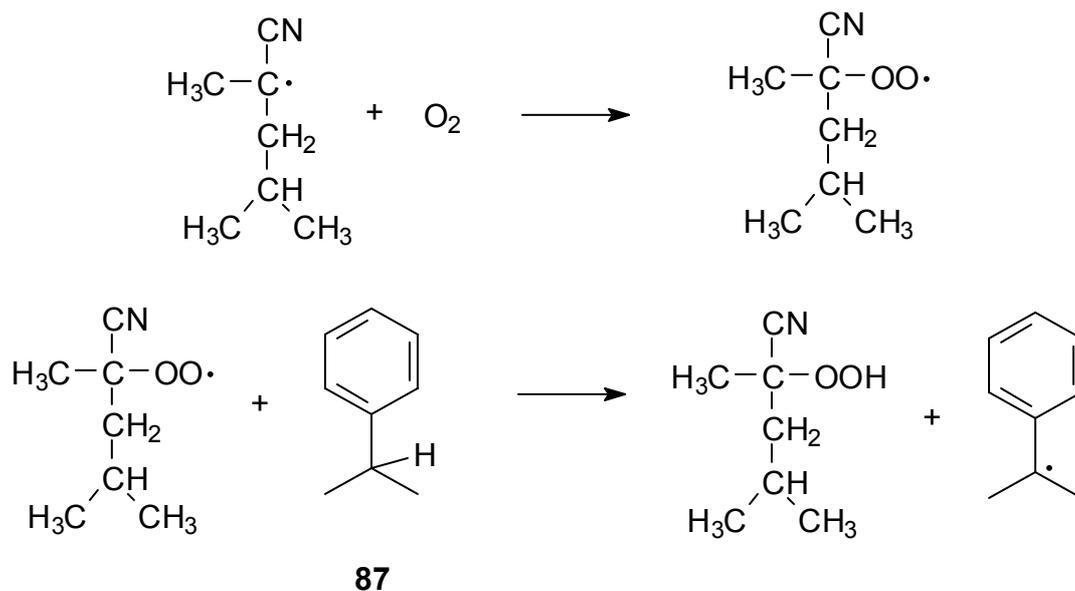
Das Stickstoffmolekül (N_2) ist schon im Übergangszustand partiell vorgebildet.



Schema 13: N_2 -Abspaltung einer beliebigen Azoverbindung

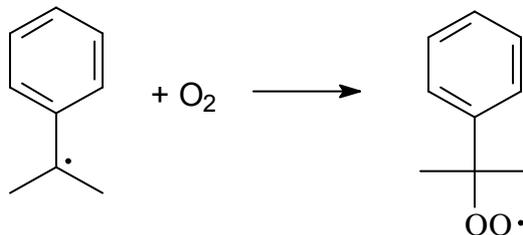
Das Stickstoffmolekül wird nicht von Radikalen angegriffen.

Durch Zerfall des AMVN wird die radikalische Peroxidation des Cumols **88** initiiert.



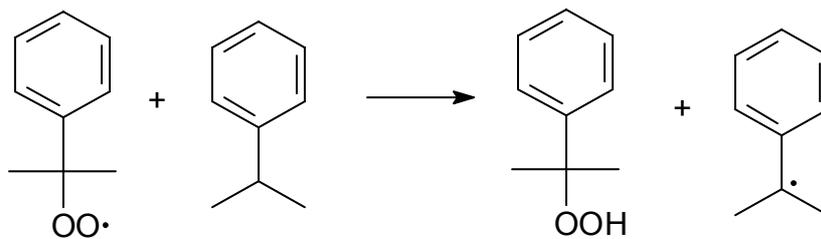
Schema 14: Radikalischer Angriff an Cumol mit Cumylradikalbildung und Quenchen des Dimethylvaleronitrilperoxyradikales

In Gegenwart von Sauerstoff (O_2) startet eine Kettenreaktion an:



Schema 15: Peroxyradikalerzeugung

Das instabile Peroxyradikal reagiert mit einem anderen Cumolmolekül und bildet ein neues Cumylradikal.



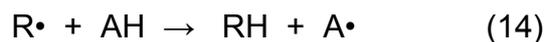
Schema 16: Ablauf der Cumolhydroxyperoxidation

Bei Anwesenheit eines Antioxidans im Reaktionsgefäß tritt eine Konkurrenzreaktion ein.

Der Zugabe eines Wirkstoffs verändert die Menge des sich bildenden Cumolhydroperoxids, wenn eine antioxidative oder prooxidative Wirkung ausgeübt wird. Die Menge des Cumolhydroperoxid wird nicht geändert, wenn die zugegebene Verbindung nicht in die Reaktion eingreift. Dies ist der Fall bei Flavonoiden und Carotinoiden ohne Hydroxygruppen.

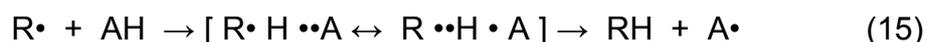
Antioxidantien wirken indem sie die beschriebene Radikalkettenreaktion unterbrechen. Der wichtigste Mechanismus ist dabei eine Wasserstoffatom-Abstraktion aus dem Antioxidans.

Dies wird in der nächsten Gleichung zusammengefaßt, wobei AH ein Antioxidans ist, das zur H-Abgabe befähigt ist,



Ein Wasserstoffatomtransfer kommt fast in jedem Radikalsystem vor, entweder als Hauptreaktion oder als unvermeidbare Nebenreaktion.

Die Bildung der neuen Bindung kann wie folgt beschrieben werden:



Auswertungsmethode

Die Peakflächen in den HPLC-Chromatogrammen sind proportional zur Substanzmenge, da es sich um ein Differential-Chromatogramm handelt und das Lambert-Beer'sche-Gesetz gilt. Mit einem an den Detektor angeschlossenen Computer erfolgt die Integration des Peaks.

Bei einem typischen Chromatogramm kann man die Signale von Chlorbenzol, Cumol und AMVN nicht trennen. Die drei Substanzen werden mit sehr ähnlichen Retentionszeiten detektiert und da sie im Vergleich mit Cumolhydroperoxid in sehr hohen Konzentrationen auftreten, erfolgt keine Auslösung des HPLC-Chromatogramms.

Das Signal von Cumolhydroperoxid erscheint getrennt von den Peaks anderer Verbindungen im Chromatogramm. In den meisten Fällen wird die Basislinie des Peaks korrigiert.

Die Peroxidmenge der ersten Messung wird vernachlässigt.

Die Programme „Microcal Origin, Version 6.0“ und „Statistica 99“ dienen der graphischen Auswertung der Messdaten.

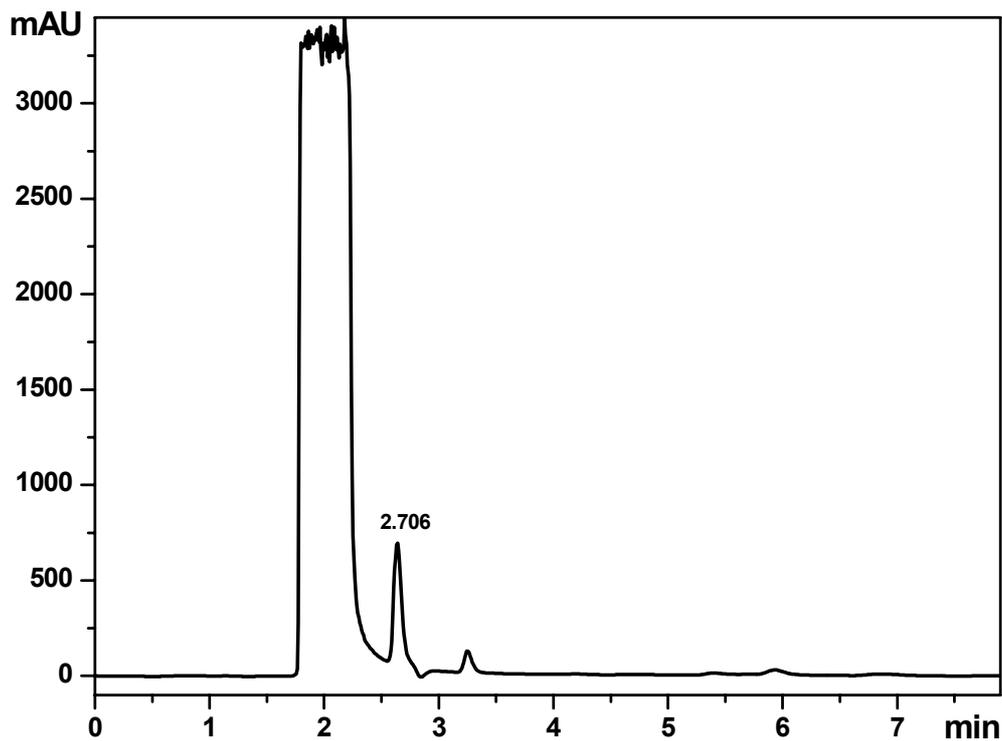


Abbildung 4: Chromatogramm einer Messung. Der Peak bei 2.7 min ist Cumolhydroperoxid

3.2.2. Messungen

3.2.2.1. Flavonoide und Resveratrol

3.2.2.1.1. Referenzmessungen: Cumol/AMVN/Chlorbenzol (ohne Antioxidans)

Zunächst wird eine Referenzmessung durchgeführt. Zur Ermittlung einer Referenzgerade wird die Peroxidbildung des reinen Cumols mit Starter ohne Zugabe von Antioxidantien, nur mit der entsprechenden Menge Chlorbenzol im Reaktionsgefäß durchgeführt.

Da die AMVN-Lösung nach einer größeren Messreihe neu angesetzt werden muß, wird diese Referenzmessung als Kontrolle durchgeführt. Bei allen Referenzmessungen liegen die Messwerte auf einer Ausgleichsgerade.

Die Messung wurde 2-4 mal durchgeführt und ein Mittelwert bestimmt.

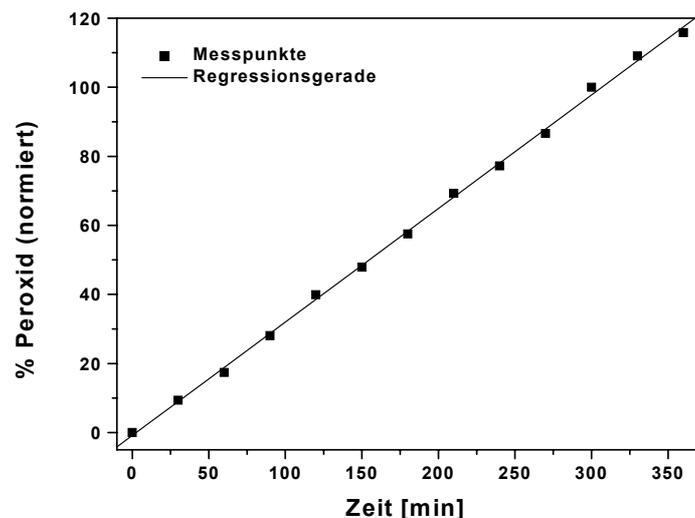


Abbildung 5: Zunahme von Peroxid ohne Antioxidans. Probenschleife 10 μ l

Die uninhibierte Bildung des Cumolhydroperoxids verläuft quasi linear, d.h. die Reaktionsgeschwindigkeit ist konstant.

Lineare Regression:

Steigung:	0.329 %/min
Ordinatenabschnitt:	-0.00879 %
Regressionskoeffizient:	0.99945

Die Werte wurden auf den Wert der Fläche des Cumylhydroperoxids nach 300 min als 100 % normiert.

Wie erwartet verläuft auch die Referenzmessung der AMVN-induzierten Oxidation von Cumol mit 20 µl Probenschleife linear.

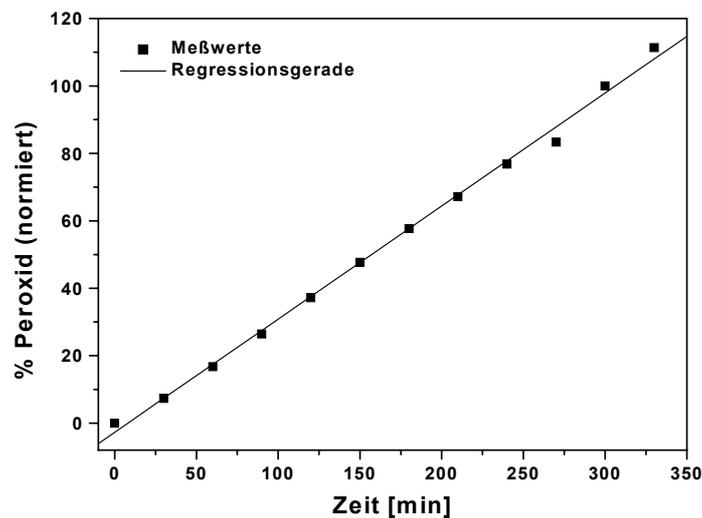
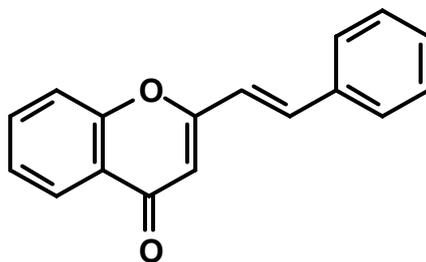


Abbildung 6: Zunahme von Peroxid ohne Antioxidans

Lineare Regression: Steigung: 0.33529 %/min
 Ordinatenabschnitt: -2.66887 %
 Regressionskoeffizient: 0.9984

3.2.2.1.2. 2-Styrylchromon 24



2-Styrylchromon **24**

Die erste untersuchte Verbindung ist die Stammverbindung dieser Substanzklasse, das unsubstituierte Vinylflavon.

Die ermittelten Werte zeigen, dass die Cumolhydroperoxidbildung im Rahmen der Messgenauigkeit identisch mit der Referenzmessung ist. Dies bedeutet, dass das Vinylflavon **24** genau wie das unsubstituierte Flavon nach I. Schülke^[62] keine antioxidative Wirkung zeigt. Daraus folgt, dass die zusätzliche Doppelbindung hier keinen entscheidenden Beitrag zur Steigerung der antioxidativen Wirkung liefert. Eine radikalische Addition an die Doppelbindung ist für vinylloge Analoge der Flavonoide ausgeschlossen.

In folgenden werden die Messungen bei der drei Konzentrationen im Detail diskutiert.

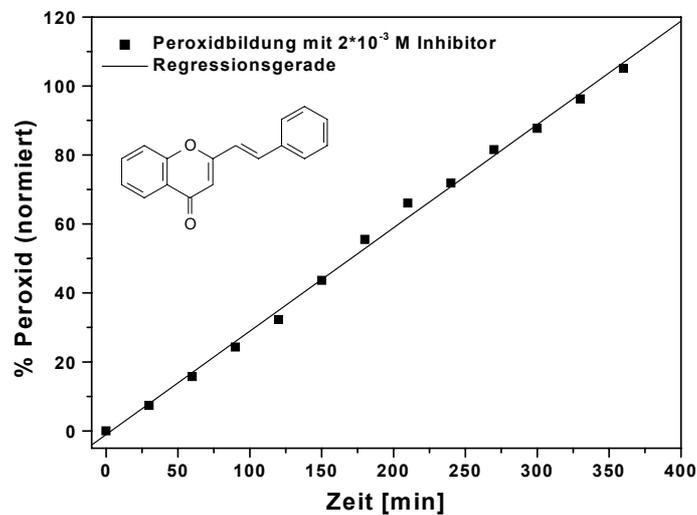


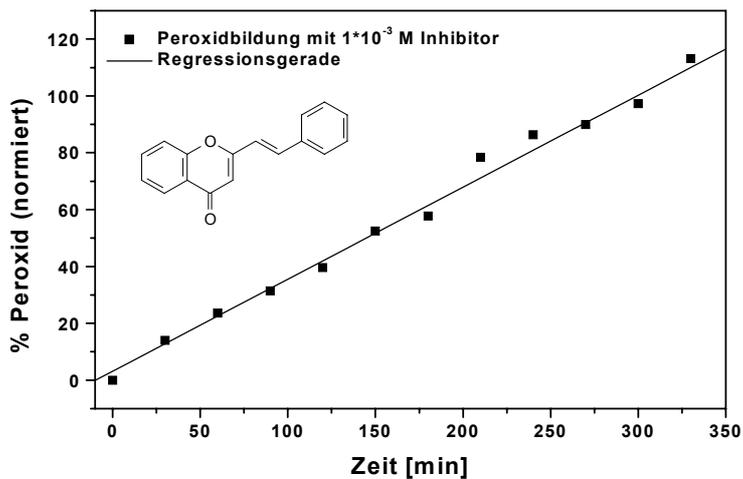
Abbildung 7: Bildung von Cumolhydroperoxid in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M Vinylflavon **24**

Die Ordinate wurde wie oben beschrieben auf die nicht inhibierte Bildung des Hydroperoxids nach 300 min normiert.

Menge an Cumolhydroperoxid nach 5 h: 87.7 %

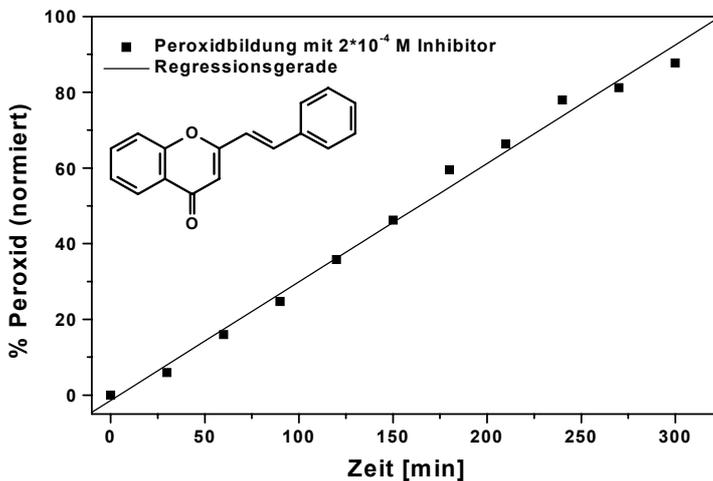
Die Messwerte liegen auf einer Geraden,

<u>Lineare Regression:</u>	Steigung:	0.29962 %/min
	Ordinatenabschnitt:	-1.05338 %
	Regressionskoeffizient:	0.9984

Abbildung 8: Cumolhydroperoxidbildung in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M Inhibitor

Menge an Cumolhydroperoxid nach 5 h: 94.0 %

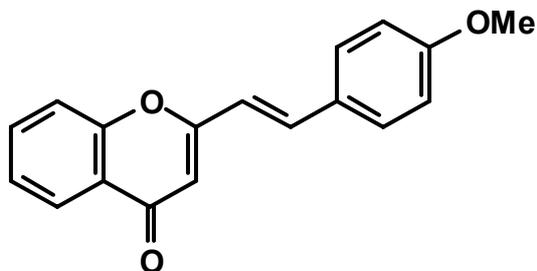
Lineare Regression: Steigung: 0.32367
Ordinatenabschnitt: 3.1622
Regressionskoeffizient: 0.9931

Abbildung 9: Cumolhydroperoxidbildung in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-4}$ M Inhibitor

Menge an Cumolhydroperoxid nach 5 h: 87.8 %

<u>Lineare Regression:</u>	Steigung:	0.31298
	Ordinatenabschnitt:	-1.37261
	Regressionskoeffizient:	0.99582

3.2.2.1.3. 2-(4-Methoxystyryl)chromon **26**



2-(4-Methoxystyryl)chromon **26**

Die Verbindung **26** zeigt keine antioxidativen Eigenschaften. Die Ergebnisse der Messung stimmen mit der Literatur^[27] überein: eine geschützte Hydroxygruppe im B-Ring bringt keine antioxidative Wirkung.

Die nächste Abbildung zeigt die Peroxidbildung bei den drei gemessenen Konzentrationen für Verbindung **26**.

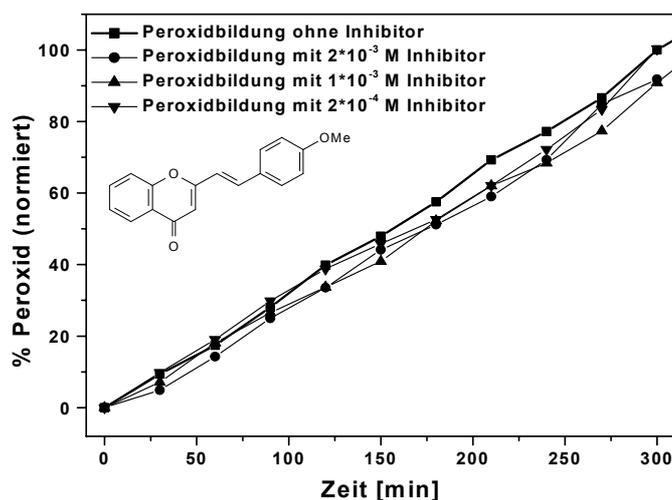
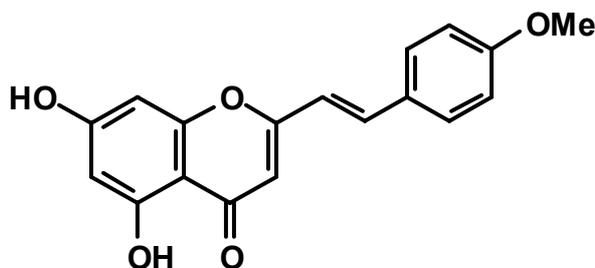


Abbildung 10: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen 4'-Methoxyvinylflavon **26**

Die Messungen bei den drei Konzentrationen ergeben Kurven, die nahezu parallel zur Messung ohne Antioxidans verlaufen.

3.2.2.1.4. 5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon **82**



5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon **82**

Die Verbindung besitzt zwei Hydroxygruppen im A-Ring und eine Methoxygruppe im B-Ring. Die beiden Hydroxygruppen spielen in diesem Fall keine bedeutsame Rolle für die Hemmung der Peroxidbildung. Die Inhibition der Peroxidbildung erreicht bei der höchsten Konzentration 15 % und sind damit im Rahmen der Messgenauigkeit identisch mit der Stammverbindung **24** (13 %).

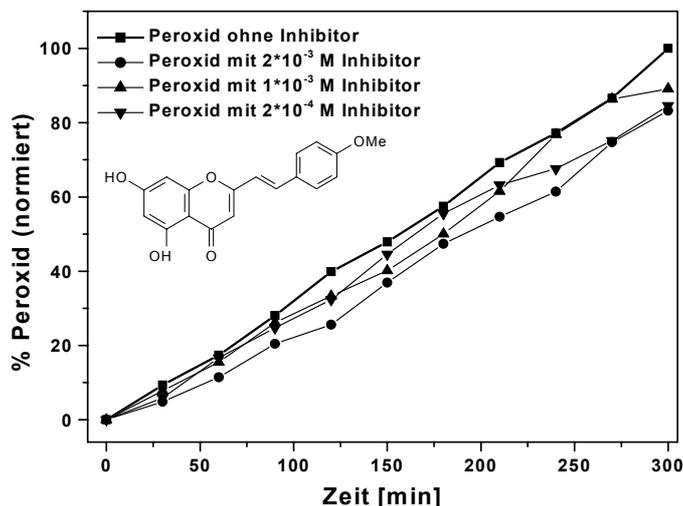
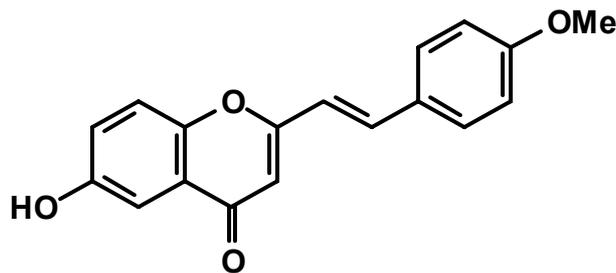


Abbildung 11: Hemmung der Hydroperoxydbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Verbindung **82** und ohne Antioxidans.

In Übereinstimmung mit der Literatur^[17] wird gefunden, dass die Einführung von Hydroxygruppen im A-Ring in 5- und 7-Position keine großen Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften hat, wenn keine Hydroxygruppen in B-Ring vorhanden sind.

3.2.2.1.5. 6-Hydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 69



6-Hydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon **69**

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen zeigen diese Untersuchungen, dass ein 6-Hydroxysubstituiertes Derivat die Bildung des Peroxides inhibiert.

Flavonoide mit einer Hydroxygruppe in der C6-Position gibt es nicht in der Natur, mit Ausnahme von Baicalein (5,6,7-Trihydroxyflavon). Das deutet darauf hin, dass ein 6-Hydroxyflavonoid in der Natur keine aktive Wirkung zeigen würde

Die antioxidative Wirkung zeigt sich ab der mittleren untersuchten Konzentration. Für die kleinere Konzentration der Verbindung ($2 \cdot 10^{-4}$ M) ist keine Wirkung bemerkbar.

Für die größte gemessene Konzentration $2 \cdot 10^{-3}$ M zeigt die Verbindung gute antioxidative Eigenschaften.

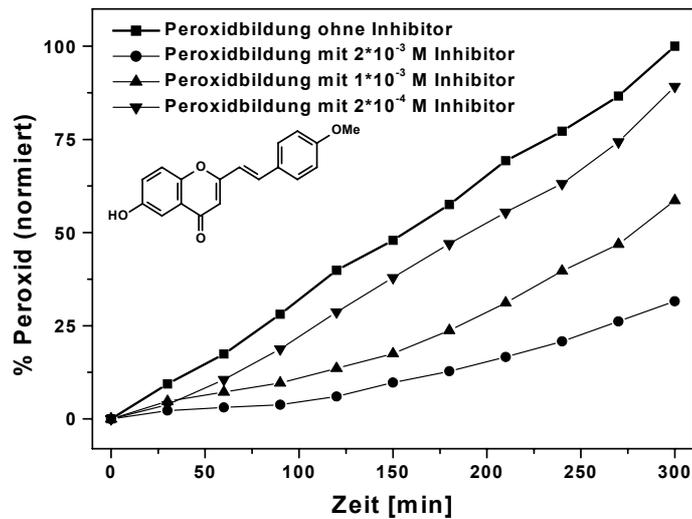


Abbildung 12: Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen der Verbindung **69** im Vergleich zur Referenzmessung

Für diese Verbindung wird eine Graphik erstellt, in der die Werte der Hemmung der Peroxidbildung nach 300 min für die drei unterschiedlichen Konzentrationen zusammengefaßt ist.

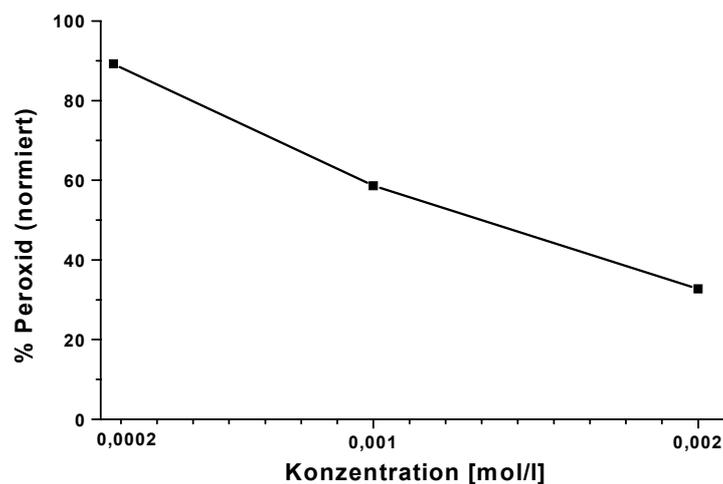


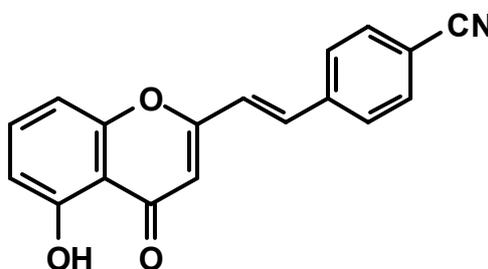
Abbildung 13: Auftragung der Peroxidinhibition nach 300 min (bzw. 5 h) gegen unterschiedlichen Flavonoidkonzentrationen

Die antioxidative Wirkung ist von der Konzentration abhängig. Anhand Abb. 13 und Tabelle 1 wird deutlich, dass die Peroxidbildung mit zunehmender Antioxidanzkonzentration abnimmt (bzw. dass die Inhibition der Peroxidbildung mit zunehmender Konzentration zunimmt). Die Inhibition der Peroxidbildung verläuft linear mit der Konzentration.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	31.5 ± 1.6	68.5 ± 1.6
$1 \cdot 10^{-3}$ M	58.6 ± 0.9	41.4 ± 0.9
$2 \cdot 10^{-4}$ M	89.2 ± 7.2	10.8 ± 7.2

Tabelle 1: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Verbindung **69** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.1.1.6. 2-(4-Cyanstyryl)-5-hydroxychromon **56**



2-(4-Cyanstyryl)-5-Hydroxychromon **56**

Der Einfluß einer Hydroxygruppe in der C5-Position auf die antioxidative Wirkungsweise wird mit dieser Verbindung untersucht.

Die Verbindung besitzt eine Akzeptorgruppe in der C4'-Position. Sie hat im Vergleich mit der vorigen Verbindung **69** gleichwertige antioxidative Eigenschaften.

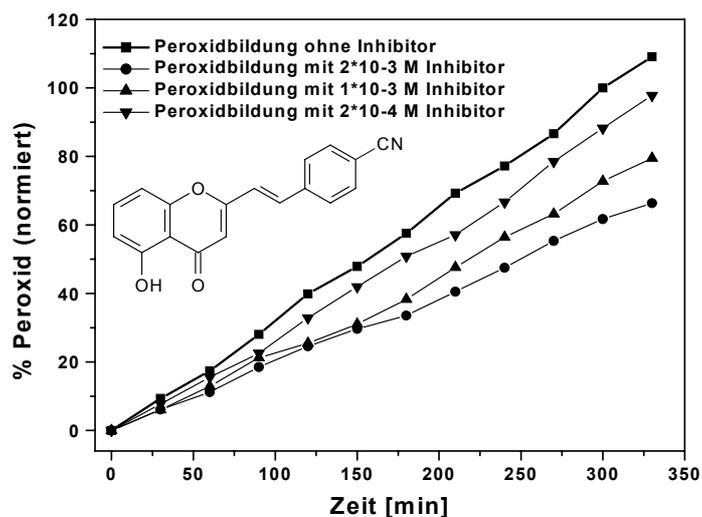


Abbildung 14: Peroxidbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Verbindung **56**

Die relativen Mengen an gebildeten Cumolhydroperoxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 15 zusammengefaßt.

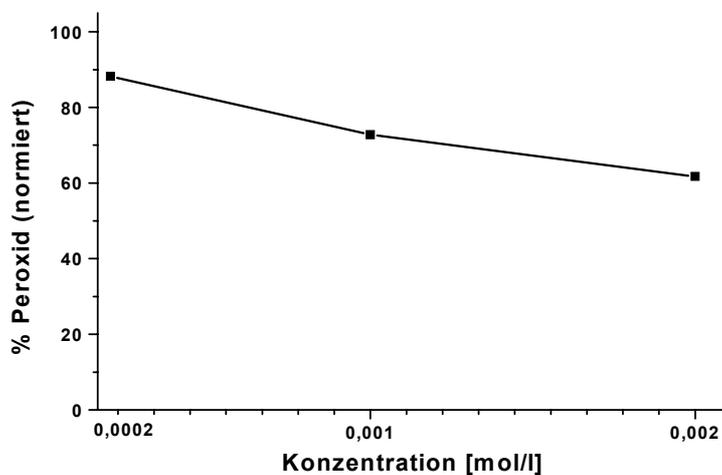


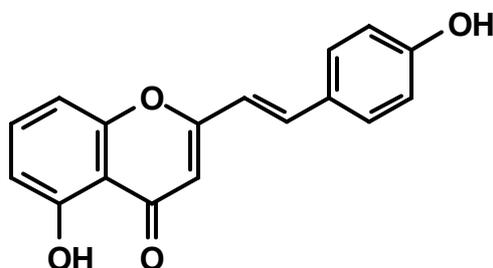
Abbildung 15: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Die Linie die alle drei Werte erfaßt, schneidet die Ordinate bei einem hohen Wert und verläuft fast parallel zum x-Achse. Daher handelt es sich um ein schlechtes Antioxidans.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	61.7 ± 1.3	38.3 ± 1.3
$1 \cdot 10^{-3}$ M	72.8 ± 0.6	27.2 ± 0.6
$2 \cdot 10^{-4}$ M	88.2 ± 4.4	11.8 ± 4.4

Tabelle 2: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Verbindung **56** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.1.1.7. 5-Hydroxy-2-(4-hydroxystyryl)chromon **57**



5-Hydroxy-2-(4-hydroxystyryl)chromon **57**

In Verbindung **57** wird die Cyanogruppe von **56** durch eine Hydroxygruppe ersetzt.

Diese Verbindung wurde nur in der höchsten Konzentration untersucht, da nur geringe Menge zur Verfügung standen.

Im Verlauf der Kurve, die die Peroxidbildung mit der Zeit beschreibt, findet man ein Plateau. In den ersten 30 min beobachtet man eine Induktionsperiode. Danach steigt die Kurve langsam an. Nach 160 min folgt eine schnelle Zunahme und nach weiteren 30 min wird die Peroxidbildung gestoppt. Nach 5 h steigt die Peroxidbildung langsam jedoch wieder kontinuierlich an. Die Meßdaten sind durch eine weitere Messung reproduzierbar.

Die Einführung einer Hydroxygruppe in den B-Ring bringt eine deutliche Verbesserung in der Hemmung der Peroxidbildung. Die Peroxidbildung nach 5 h beträgt 8.7 ± 0.6 %.

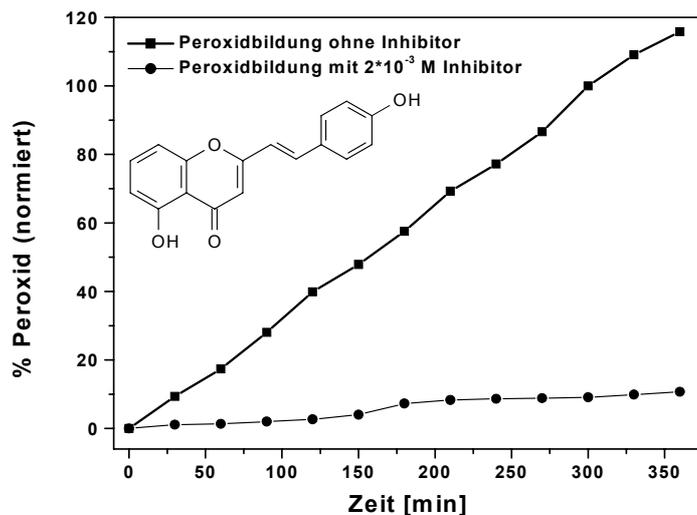


Abbildung 16: Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart $2 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindung **57** und ohne Inhibitor

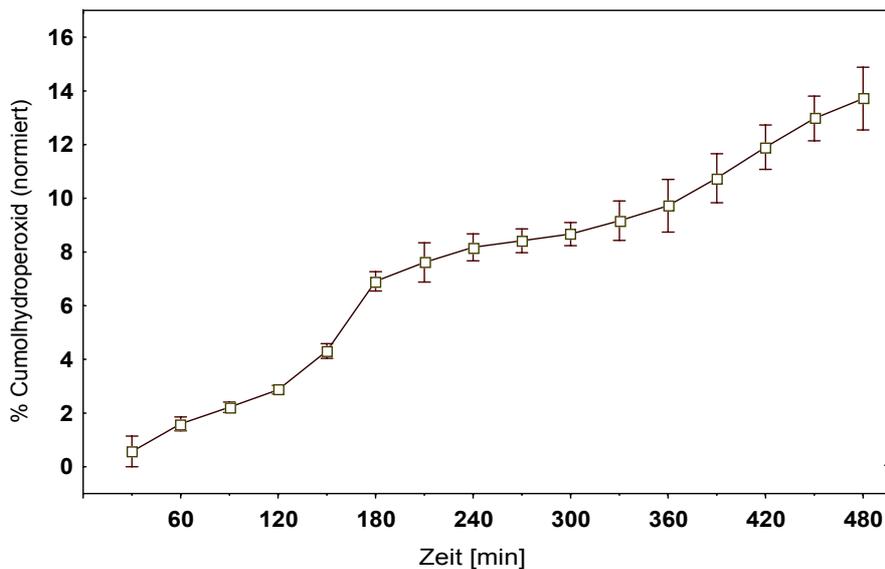
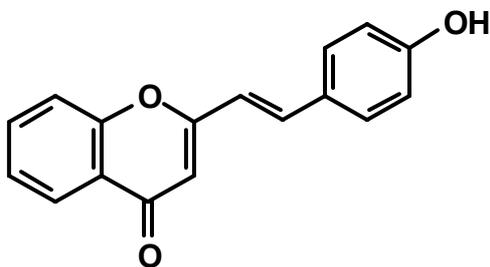


Abbildung 17: Ausschnitt aus den Abbildung 16 zur Verdeutlichung des Plateau Effekts

3.2.1.1.8. 2-(4-Hydroxystyryl)chromon **33**2-(4-Hydroxystyryl)chromon **33**

Verbindung **57** hat den wichtigen Einfluß einer 4'-Hydroxygruppe gezeigt. Daher wurde als Vergleich Verbindung **33** untersucht. Bei dieser Verbindung kann man den bedeutsamen Einfluß einer Hydroxygruppe an 4'-Position im B-Ring auf die antioxidativen Eigenschaften erkennen.

Verschiedene Methoden^{[19],[97]} wurden für die Untersuchung der antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden benutzt. Alle Untersuchungen belegen, dass der B-Ring einen bedeutenden Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften hat. Diese Verbindung mit einer Hydroxygruppe im B-Ring und keiner Hydroxygruppe im Chromon-Chromophor ist ein sehr gutes Antioxidans in hohen Konzentration, zeigt aber keinen Effekt bei der kleinsten gemessenen Konzentration.

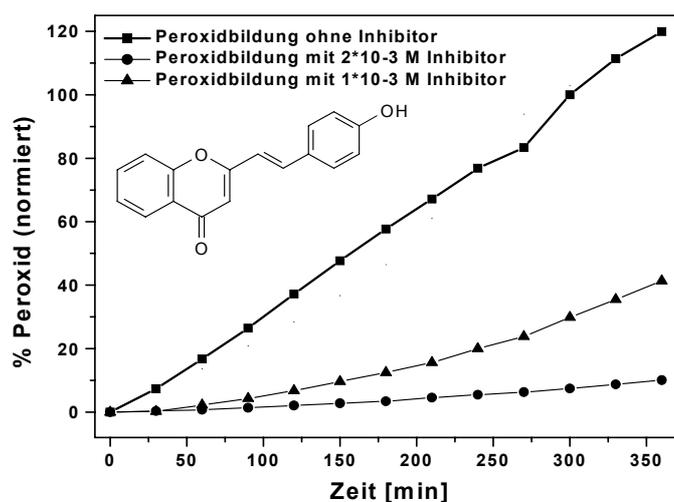


Abbildung 18: Inhibition von Cumolhydroperoxid in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M 4'-Hydroxyvinylflavon **33**

In der Abbildung 18 ist die Peroxidbildung in Gegenwart der zwei höchsten Konzentrationen von Verbindung **33** abgebildet.

Die Einführung einer Hydroxygruppe in der C5-Position führt zu keiner Verbesserung der antioxidativen Eigenschaften, da keine Verbesserung der Inhibierung der Hydroperoxidbildung erfolgt, wenn sich in der C4'-Position eine zusätzliche Hydroxygruppe befindet.

Die Menge an gebildeten Peroxid nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 20 zusammengefaßt.

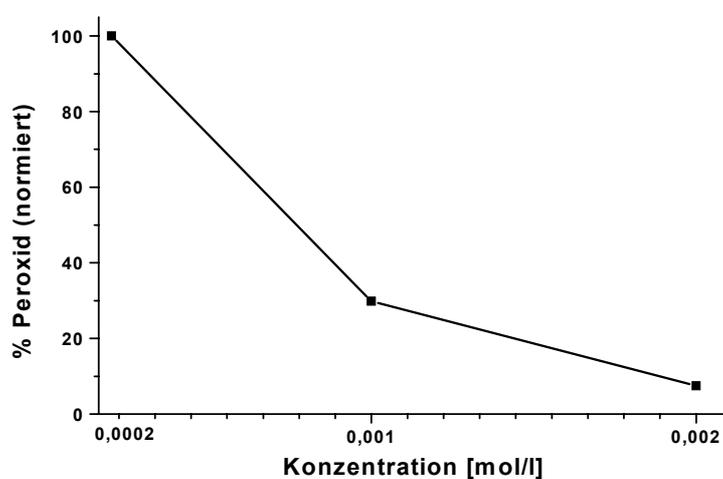
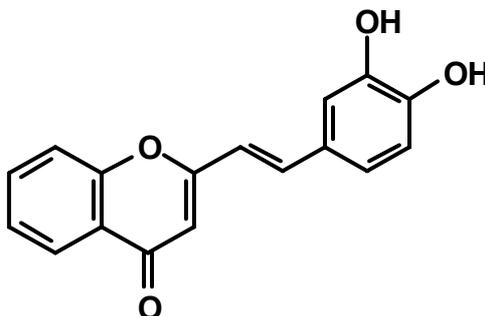


Abbildung 20: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	7.4 ± 0.4	92.6 ± 0.4
$1 \cdot 10^{-3}$ M	29.8 ± 1.1	70.2 ± 1.1
$2 \cdot 10^{-4}$ M	100	0

Tabelle 3: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindung **33** nach 5 h.

3.2.1.1.9. 2-(3,4-Dihydroxystyryl)chromon 34



2-(3,4-Dihydroxystyryl)chromon **34**

Verbindung **34**, die sich durch einen Catecholteil auszeichnet, hemmt ausgezeichnet die Peroxidbildung bei den beiden größten Konzentrationen.

Das Radikal, das sich beim Abfangen des Peroxidradikals bildet, soll sehr stabil sein^[10].

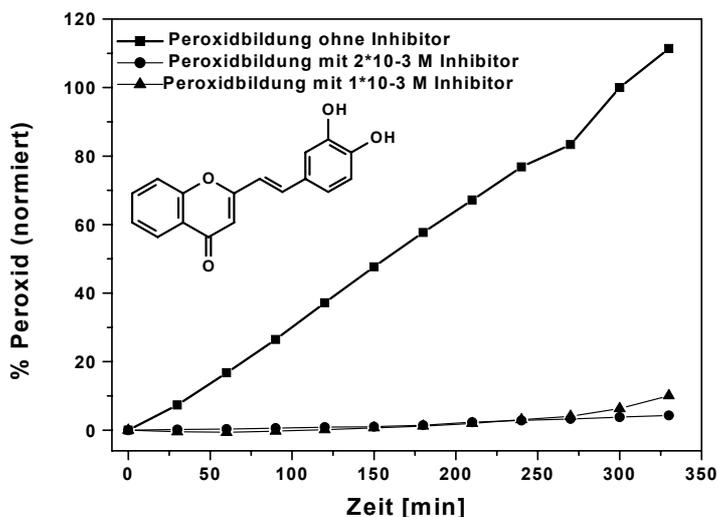


Abbildung 21: Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Verbindung **34**

Die Menge an gebildeten Peroxid nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 22 zusammengefaßt.

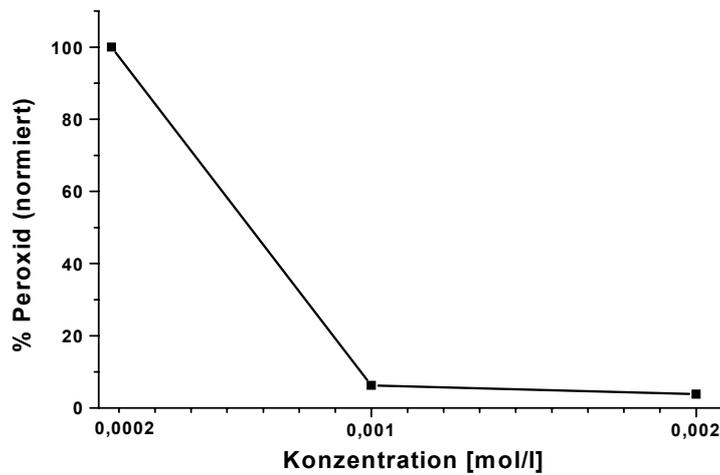
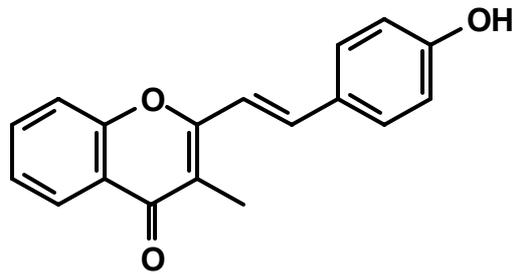


Abbildung 22: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Bei den zwei höchsten Konzentrationen besitzt die Gerade niedrige y-Werte und verläuft parallel zur x-Achse. Dies bedeutet, dass die Verbindung hervorragend die Bildung des Peroxids hemmt.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	3.8 ± 0.1	96.2 ± 0.1
$1 \cdot 10^{-3}$ M	6.3 ± 1.1	93.7 ± 1.1
$2 \cdot 10^{-4}$ M	100	0

Tabelle 4: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Verbindung **34** bei zwei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.1.1.10. 2-(4-Hydroxystyryl)-3-methylchromon **43**

Struktur der Verbindung **43** mit den besten antioxidativen Eigenschaften

Die Einführung einer Methylgruppe in die C3-Position des Chromonchromophors führt zu ausgezeichneten guten antioxidativen Eigenschaften der Verbindung.

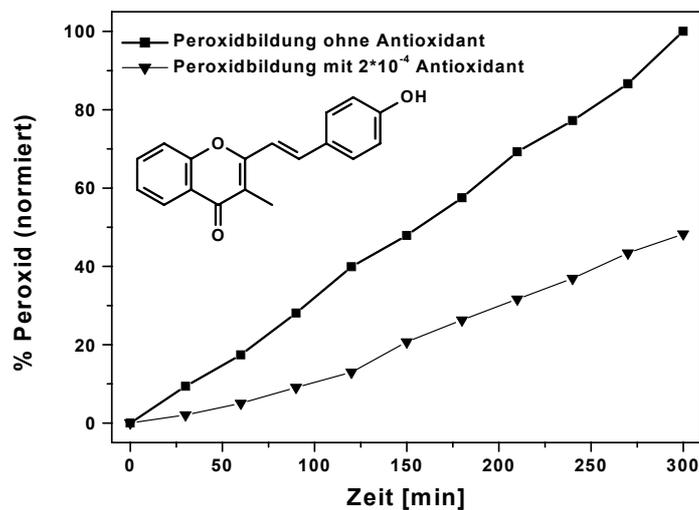


Abbildung 22: Peroxidproduktion in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-4}$ M Antioxidant **43** und ohne Inhibitor

Sogar in der kleinsten gemessenen Konzentration hemmt Verbindung **43** nach 5 h die Peroxidproduktion um die Hälfte. Menge an Cumolhydroperoxid nach 5 h: 48.3 %

Die Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ M wurde mit der 10 μ l Probenschleife gemessen. Die anderen beiden Konzentrationen wurden mit der 20 μ l Probenschleife gemessen.

In der mittleren Konzentration wirkt Verbindung **43** etwas besser als das Flavonoid mit den Catecholteil **34**.

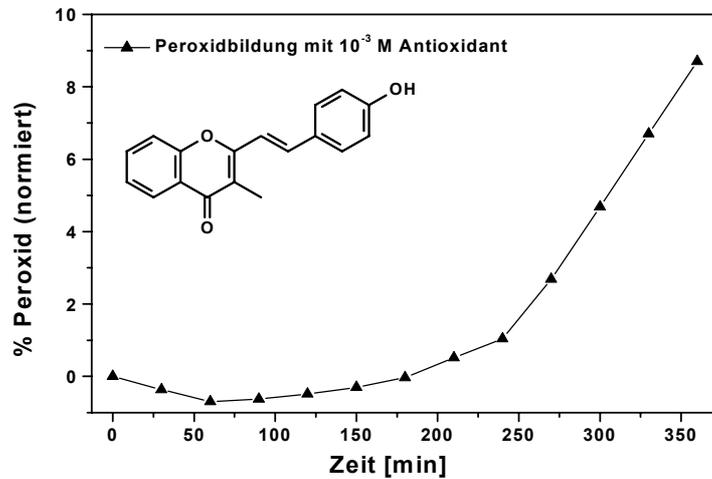


Abbildung 23: Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindung **43**

Menge an gebildeten Cumolhydroperoxid nach 5 h: 4.7 %

Bei der größten gemessenen Konzentration ist kein Peroxid in den ersten 5 h zu messen. Nach 8 h fängt das Cumolhydroperoxid an sich zu bilden. Nach einer Hemmzeit wächst die Peroxidbildung sehr schnell.

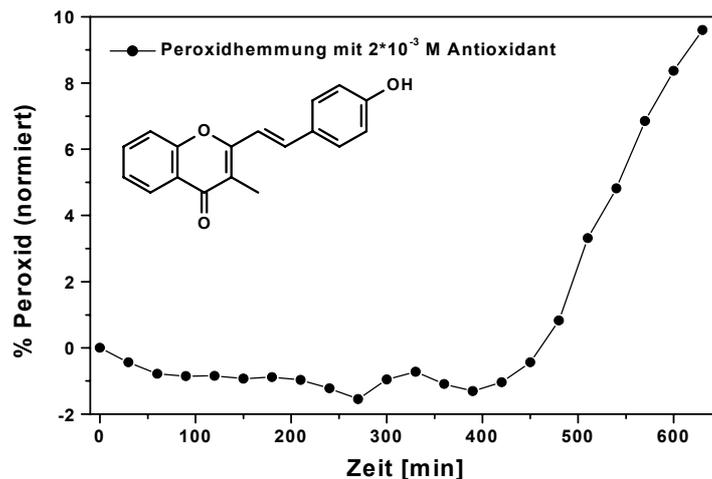


Abbildung 24: Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindung **43**

Der Verlauf der Kurve wurde mit einer zweiten, parallel durchgeführten Messung reproduziert.

Die Menge an gebildeten Cumolhydroperoxid ist nach 5 h: 0 % d.h. total Inhibition. Nach 10 h sind 8,4 % Peroxid gebildet worden.

Die Einführung einer Methylgruppe in die C3-Position eines 4'-Hydroxyvinylflavonoids bringt in der Vergleichskonzentration ($1 \cdot 10^{-3}$ M) die gleichen Ergebnisse bezüglich der Hemmung der Peroxidbildung wie die Einführung einer zusätzlichen Hydroxygruppe in C3'-Position (Aufbau eines Catecholeinheit). Eine Methylgruppe im Chromonchromophor kann eine Hydroxygruppe im B-Ring ersetzen.

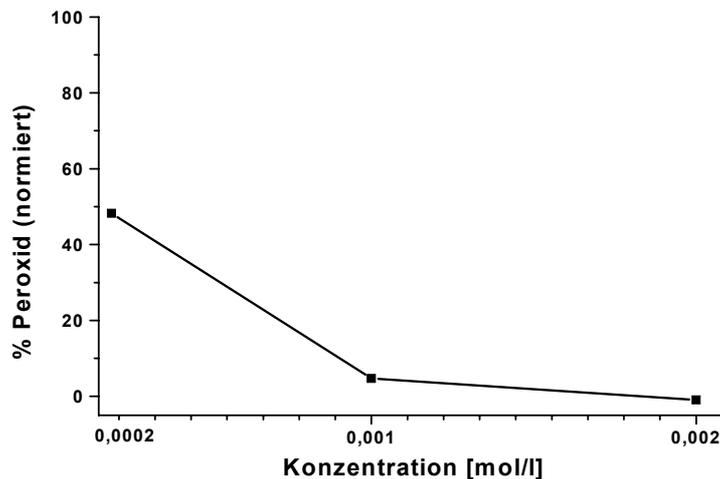


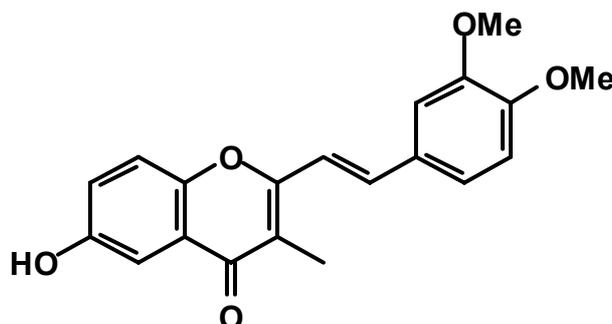
Abbildung 25: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Diese Verbindung zeigt die besten antioxidativen Eigenschaften, die bislang mit dieser Methode gemessen wurden.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	-0.95 ± 0.2 (8.4 ± 1.6 nach 10 h)	100.95 ± 0.2 (91.6 ± 1.6 nach 10 h)
$1 \cdot 10^{-3}$ M	4.7 ± 0.9	95.3 ± 0.9
$2 \cdot 10^{-4}$ M	48.3 ± 0.2	51.7 ± 0.2

Tabelle 5: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart der Verbindung **43** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h (bzw. bei $2 \cdot 10^{-3}$ M zusätzlich nach 10 h).

3.2.2.1.11. 6-Hydroxy-2-(3,4-Dimethoxystyryl)-3-methylchromon **70**



6-Hydroxy-2-(3,4-dimethoxystyryl)-3-methylchromon **70**

Der Einfluß einer Methylgruppe in der C3-Position auf die antioxidativen Eigenschaften, wird an einen weiteren Beispiel untersucht. Bei Verbindung **69** wurde festgestellt, dass eine Hydroxygruppe an C6-Position antioxidativ wirkt, obwohl im B-Ring keine Hydroxygruppe vorhanden ist.

Diese Verbindung besitzt zwei Methoxygruppen im B-Ring. Die zwei Methoxygruppen erbringen keine antioxidative Wirkung.

Die Substituentenanordnung hat keine Verbesserung der antioxidativen Eigenschaften erbracht. Die Hemmung der Cumolhydroperoxid ist nicht besser als bei Verbindung **69**. Dies bedeutet, wenn keine Hydroxygruppe im B-Ring vorhanden ist, ist der Einfluß der Methylgruppe im Chromonteil nicht von Bedeutung. Dies spricht nicht dafür, dass die Methylgruppe in der C3-Position einen

Effekt auf die Radikalstabilisierung ausübt, wenn das H-Atom aus einer Hydroxygruppe in C6-Position entfernt wird

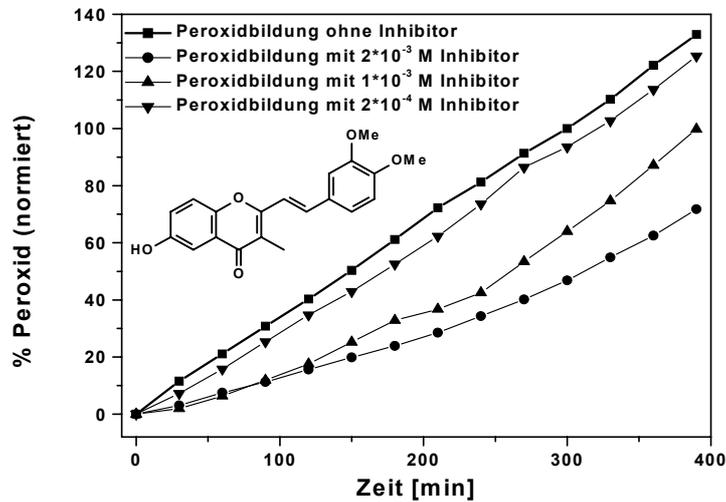


Abbildung 26: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **70**

Die Abhängigkeit der Geschwindigkeit der Peroxidbildung von der Konzentration des Inhibitors wird in der nächsten Graphik dargestellt.

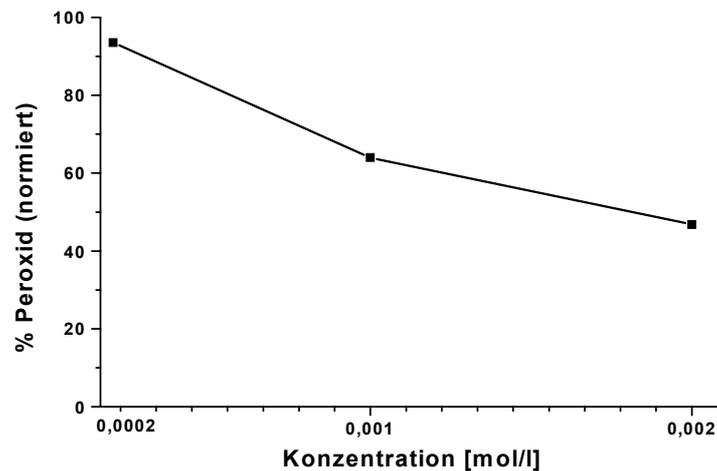
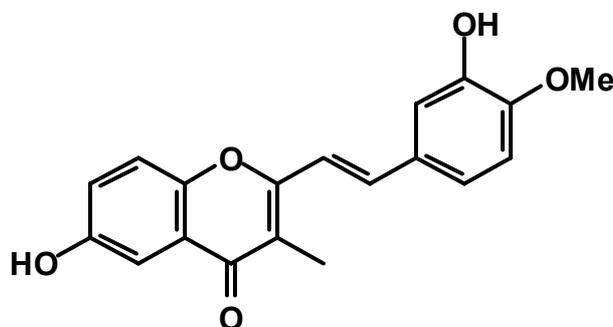


Abbildung 27: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	46.8 ± 1.6	53.2 ± 1.6
$1 \cdot 10^{-3}$ M	64.0 ± 1.3	36.8 ± 1.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	93.5 ± 2.3	6.5 ± 2.3

Tabelle 6: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Verbindung 70 bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.12. 6-Hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-3-methylchromon 71



6-Hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-3-methylchromon 71

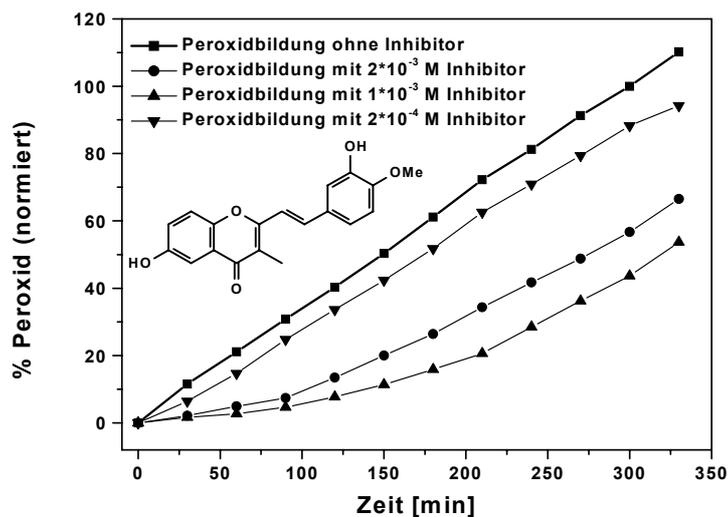


Abbildung 28: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung 71

Die Freisetzung einer C3'-Methoxygruppe führt zu keiner merkbaren Verbesserung der antioxidativen Eigenschaften.

Der Einfluß der Konzentrationen des Antioxidans auf die Geschwindigkeit der Peroxidbildung wird in der nächsten Graphik gezeigt.

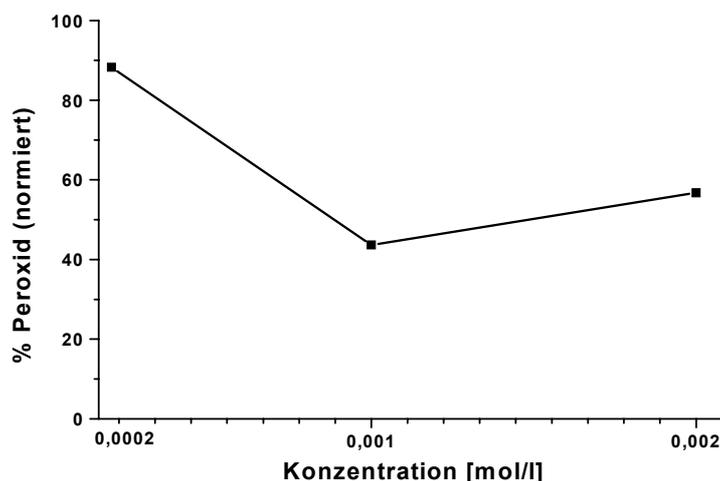
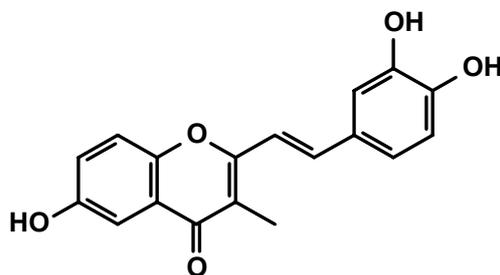


Abbildung 29: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Das Flavonoid **71** zeigt ein untypisches Verhalten. Mit steigender Konzentration an **71** nimmt die gebildete Menge an Cumolhydroperoxid zunächst ab, um bei höheren Konzentrationen an **71** wieder zuzunehmen. (Offensichtlich wirkt **71** bei höherer Konzentrationen als Prooxidans).

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	56.7 ± 1.2	43.3 ± 1.2
$1 \cdot 10^{-3}$ M	43.7 ± 1.5	56.3 ± 1.5
$2 \cdot 10^{-4}$ M	88.3 ± 5.0	11.7 ± 5.0

Tabelle 7: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Verbindung **71** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.13. 2-(3,4-Dihydroxystyryl)-6-hydroxy-3-methylchromon **72**2-(3,4-Dihydroxystyryl)-6-hydroxy-3-methylchromon **72**

Das Flavonoid **72** hat nicht die durch Vergleich mit **34**, einem Flavonoid mit Catecholrest, erwarteten guten antioxidativen Eigenschaften. Vielmehr ist sein antioxidatives Verhalten mit dem des Dimethoxy-Derivates **70** vergleichbar.

Es wurde festgestellt, dass die Anzahl der Hydroxygruppe nicht entscheidend für die antioxidativen Eigenschaften ist, sondern ihre Position im Vinylflavonoid-Grundgerüst eine große Bedeutung hat.

Bei der Messung der Verbindung trat ein Löslichkeitsproblem auf. Alle gemessenen Flavonoide (überwiegend mit Hydroxygruppe) sind nicht besonders gut löslich. Diese Schwerlöslichkeit wird mit der Zeit im Reaktionsgefäß durch die Temperatur und ständiges Rühren nicht besser.

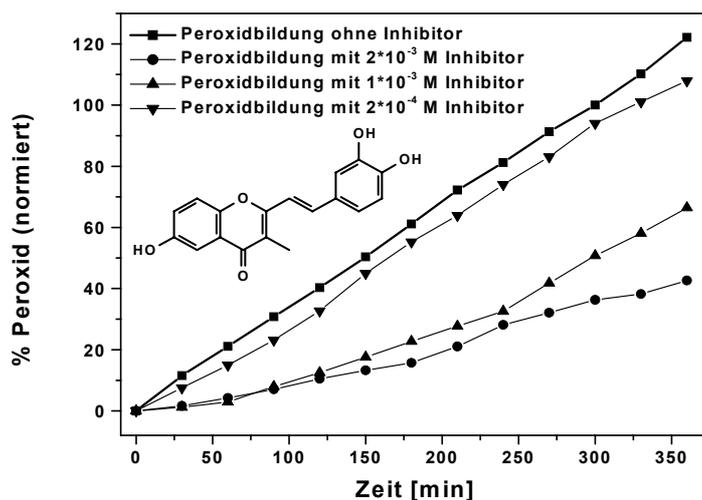


Abbildung 30: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **72**

Eine Erklärung dafür, dass die Verbindung schlecht die Bildung von Cumolhydroperoxid hemmt, ist ihre Schwerlöslichkeit und die Konkurrenz zwischen den beiden Hydroxygruppen im B-Ring und die Hydroxygruppe des Chromonteil.

Der Einfluß der Konzentrationen des Antioxidans auf die Geschwindigkeit der Peroxidbildung wird in der nächsten Graphik gezeigt.

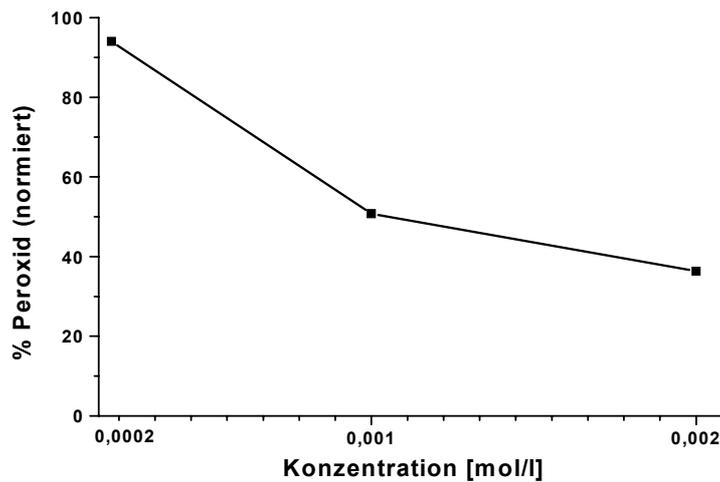
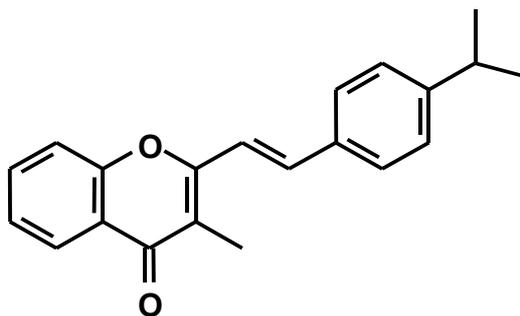


Abbildung 31: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	36.3 ± 0.8	63.7 ± 0.8
$1 \cdot 10^{-3}$ M	50.7 ± 1.3	49.3 ± 1.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	94.0 ± 4.9	6.0 ± 4.9

Tabelle 7: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Verbindung **72** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.14. 2-(4-Isopropylstyryl)-3-methylchromon **40**2-(4-Isopropylstyryl)-3-methylchromon **40**

Das Flavonoid **40** geht durch Substitution der 4'-Hydroxygruppe mit einer Isopropylgruppe aus dem Flavonoid **43** her vor. Bei dieser Substitution nimmt die antioxidative Fähigkeit deutlich ab. Wie erwartet, kann die Isopropylgruppe also wie im Cumol als Wasserstoffatom-Donor wirken, allerdings schwächer als eine Hydroxygruppe.

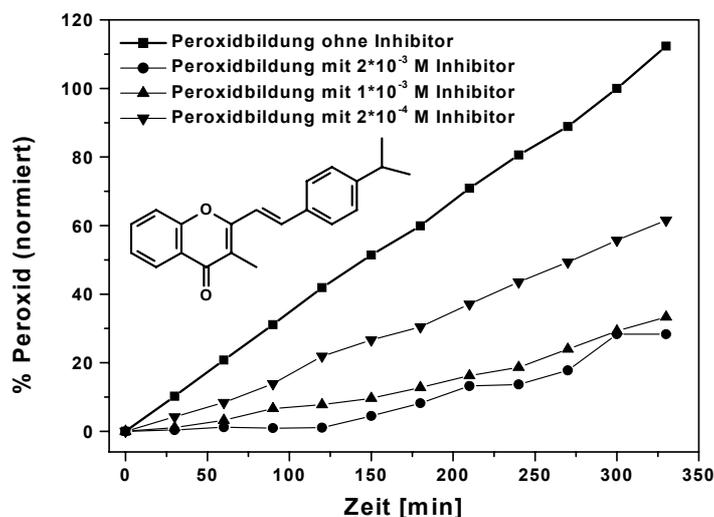


Abbildung 32: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **40**

Das entstehende Isopropylradikal von **40** ist besser mesomeriestabilisiert als im Cumol und unterbricht die Radikalkettenreaktion.

Die Methylgruppe in der C3-Position des Chromonsubchromophor soll eine wichtige Rolle in der Stabilisierung des Radikals spielen.

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 33 zusammengefaßt.

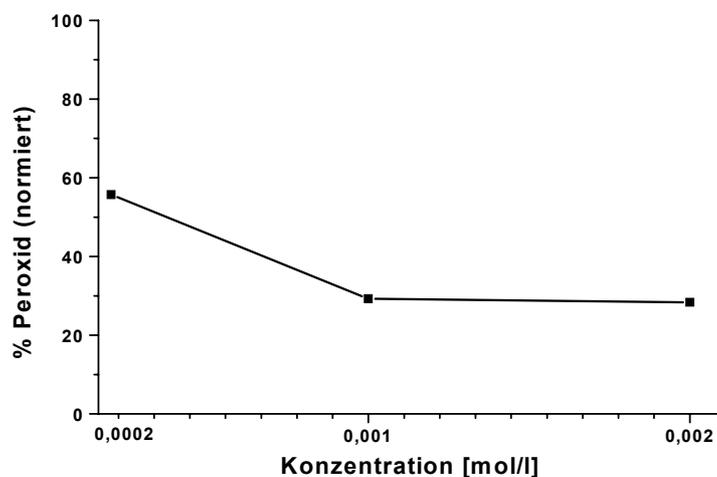
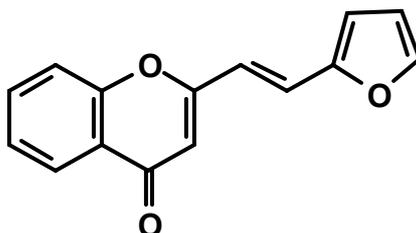


Abbildung 33: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	28.3 ± 0.1	71.7 ± 0.1
$1 \cdot 10^{-3}$ M	29.3 ± 2.9	70.7 ± 2.9
$2 \cdot 10^{-4}$ M	55.7 ± 0.2	44.3 ± 0.2

Tabelle 8: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Verbindung **40** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.15. 2-(2-Fur-2-ylvinyl)chromon **31**2-(2-Fur-2-ylvinyl)chromon **31**

Die Messung bei der kleinsten Konzentration der Verbindung zeigt keine Hemmung der Peroxidbildung.

Bei den anderen beiden Konzentrationen wirkt die Verbindung antioxidativ.

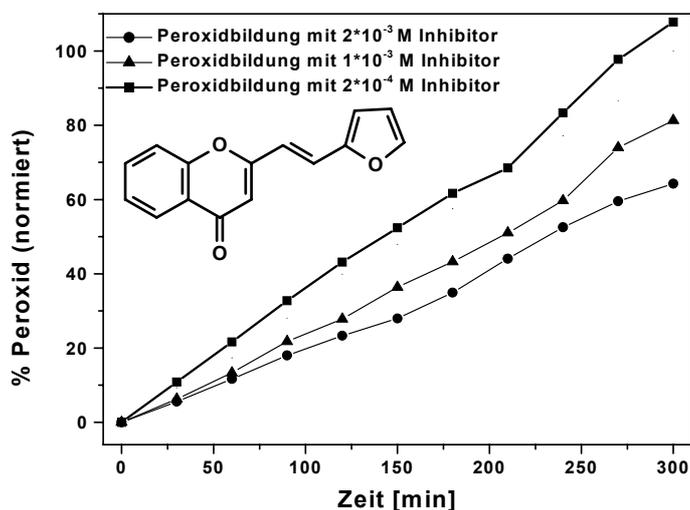


Abbildung 34: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **31**

Der Austausch des B-Rings durch eine Furylgruppe führt zu einer Verbesserung der antioxidativen Eigenschaften im Vergleich zur Stammverbindung **24**.

Der Mechanismus verläuft anders als im Phenylflavonoid. Anstelle der Wasserstoffatom-Abstraktion aus der Hydroxygruppe des Benzolrings könnte eine Abstraktion des Wasserstoffatoms von dem Kohlenstoffatom, welches dem Sauerstoff der Furylgruppe benachbart ist (das Radikal wird durch den benachbarten Sauerstoff stabilisiert), erfolgen.

Durch das UV-Spektrum (bei $\lambda = 254 \text{ nm}$) wird bei der Konzentration $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ das Signal eines Abbauprodukts des Antioxidans sichtbar.

Nach dem schnellen Abbau des Antioxidans **31** in den ersten 30 min folgt eine langsame Abnahme der Konzentration. Nach 5 h ist noch die Hälfte des Antioxidans in der Lösung erhalten.

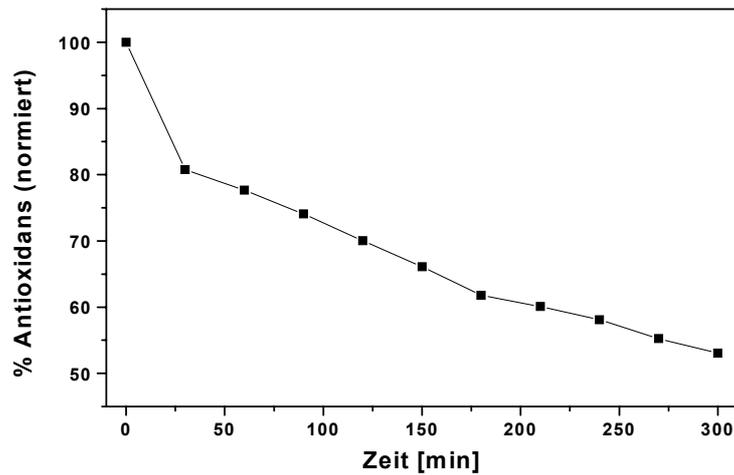


Abbildung 35: Abbau des Antioxidans **31** bei $1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 36 zusammengefasst.

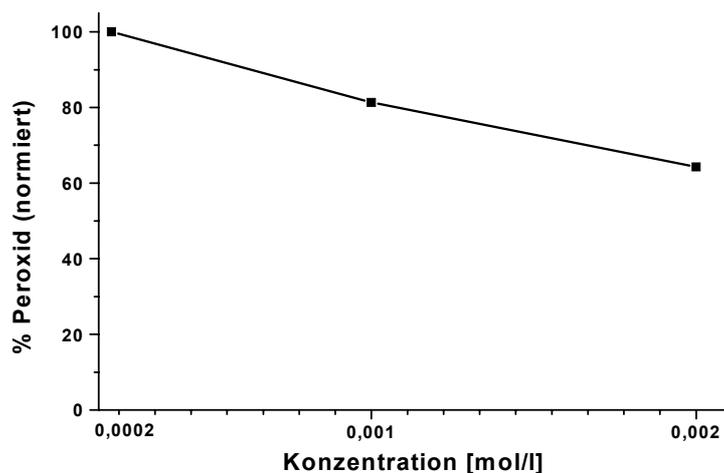
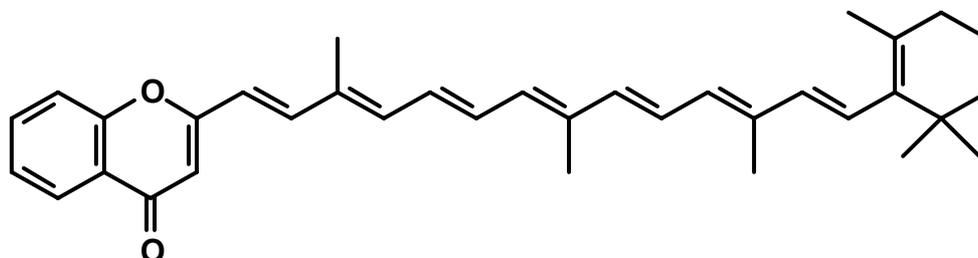


Abbildung 36: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	64.3 ± 7.1	35.7 ± 7.1
$1 \cdot 10^{-3}$ M	81.7 ± 0.1	18.7 ± 0.1
$2 \cdot 10^{-4}$ M	100	0

Tabelle 9: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Verbindung **31** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.16. 2-[3,8,12-Trimethyl-14-(2,6,6-trimethyl-cyclohex-1-enyl)-tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]-chromon **73**



73

2-Methylchromon wurde mit 12'-Apo- β -Carotinal gekoppelt.

Es ist keine Hydroxygruppe vorhanden und es ergibt sich nur bei der größten Konzentration ein moderates antioxidatives Verhalten.

Die kleinste Konzentration zeigt ein lineares Wachstum der Peroxidmenge, welches nicht durch das Antioxidans gestoppt werden kann.

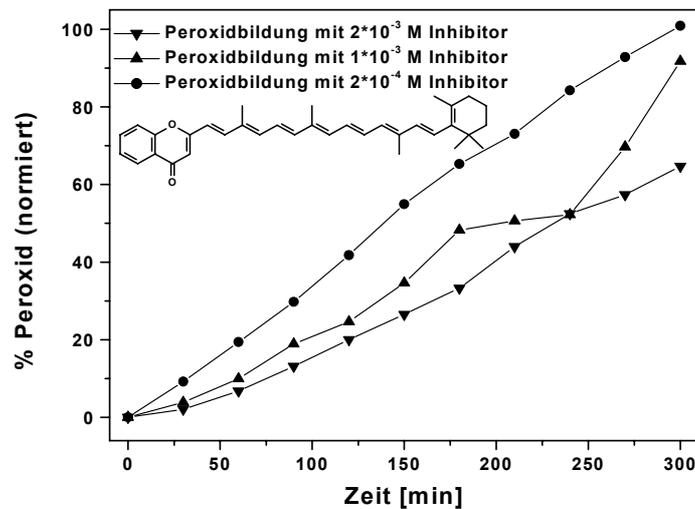


Abbildung 37: Peroxidbildung in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **73**

Wie aus der Graphik für die mittlere Konzentration zu entnehmen ist, zeigt die Kurve nach 3 h ein kleines Plateau. Die Werte wurden in einer weiteren, parallel durchgeführten Messung reproduziert. Die ursprüngliche orange Farbe der Lösung verschwindet nach 2 h im Reaktionsgefäß. Offensichtlich sind die Abbauprodukte der Reaktion wirkungsvollere Antioxidantien als **73**. Dadurch kommt die Peroxidbildung für 1 h fast völlig zum Erliegen. Nach dieser Zeit sind die Abbauprodukte aufgebraucht und die Peroxidbildung steigt wieder an.

Bei der größten Konzentration konnte dieser Effekt nicht beobachtet werden. Entweder läuft die Peroxidbildung bei dieser Konzentration kontinuierlich steigend oder dieser Effekt tritt nicht in der Meßzeit von 300 min auf.

Der Carotinoidanteil in Verbindung **73** hat nicht den erwünschten Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften ausgeübt.

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 38 zusammengefaßt.

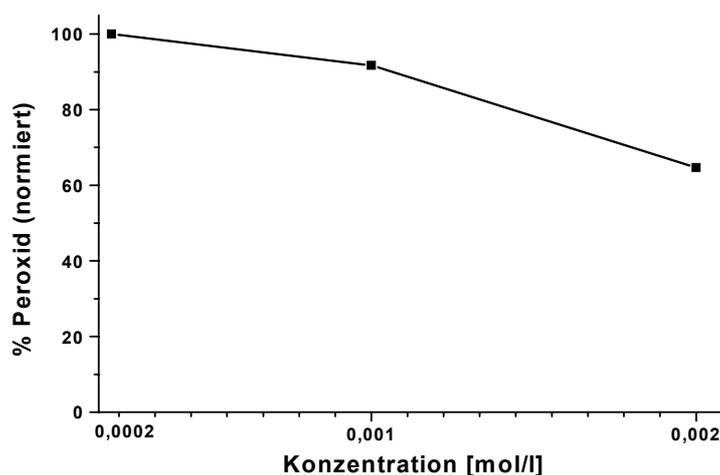


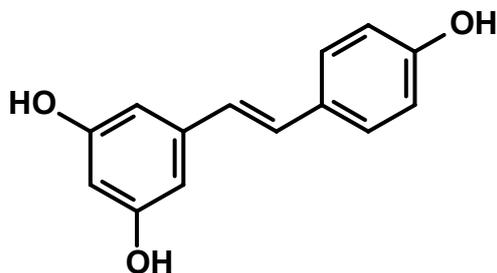
Abbildung 38: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration des Antioxidans

Verbindung **73** ist kein gutes Antioxidans. Die Hemmung der Peroxidbildung ist nicht effektiv.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	64.7 ± 4.5	35.3 ± 4.5
$1 \cdot 10^{-3}$ M	91.7 ± 1.3	8.3 ± 1.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	100	0

Tabelle 10 : Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Verbindung **73** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.1.17. Resveratrol 12



trans-3,4',5-Trihydroxystilben, Resveratrol **12**

Resveratrol wurde auch nach dieser Methode untersucht.

Resveratrol löst sich nicht in Chlorbenzol, sondern ergibt eine Suspension. Es wurde in seiner höchsten Konzentration als Suspension gemessen. In der kleinsten Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ M löst es sich unter diesen Bedingungen, da es im Meßgefäß verdünnt und erwärmt vorlag.

Alternativ könnte man Resveratrol in einer Mischung aus n-Hexan/Isopropanol 80:20 messen und diesen Wert mit den schon gemessenen vergleichen.

Um jedoch einen eindeutigen Vergleich mit allen, gemessenen Verbindungen zu ermöglichen, wurde auf die Alternative des Wechsels des Lösungsmittels verzichtet.

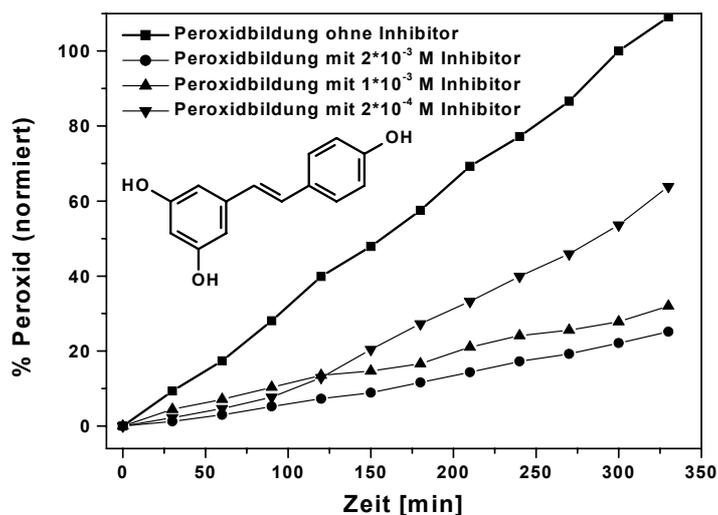


Abbildung 39: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Verbindung **12**

Resveratrol zeigt sich schon bei einer kleinen Konzentration als gutes Antioxidans, wie anhand Abbildung 39 deutlich wird.

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 40 zusammengefaßt.

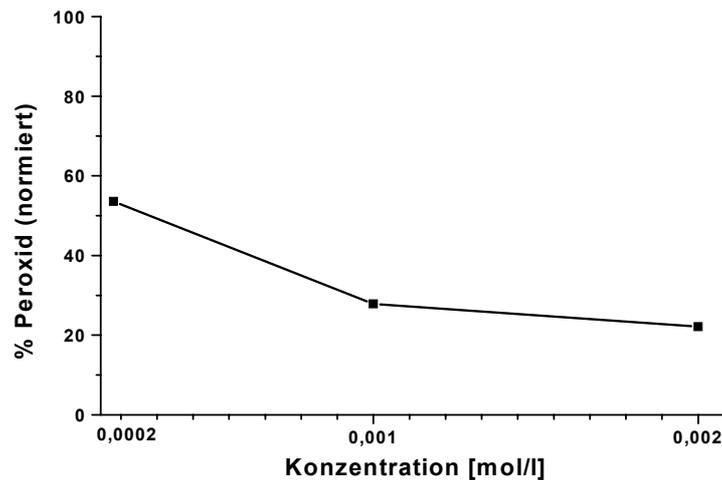


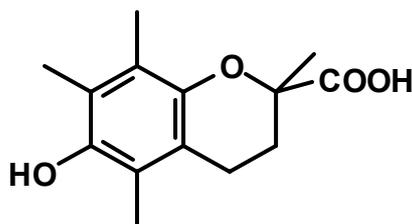
Abbildung 40: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Wie aus der Graphik zu entnehmen ist, ist das Resveratrol ein gutes Antioxidans obwohl es in diesem Lösungsmittel eine Suspension bildet.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	22.1 ± 1.7	77.9 ± 1.7
$1 \cdot 10^{-3}$ M	27.8 ± 1.3	72.2 ± 1.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	53.6 ± 3.5	46.4 ± 3.5

Tabelle 11: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Resveratrol **12** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.2. Trolox 89



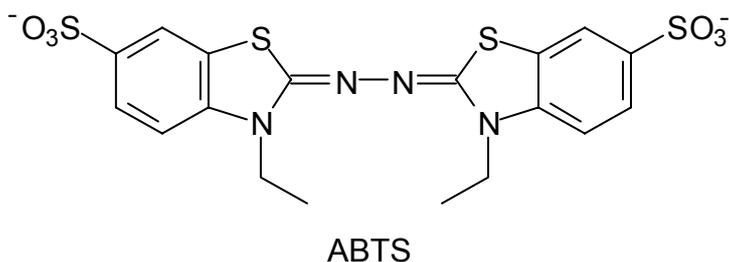
Trolox **89**

Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carbonsäure) **89** ist das synthetische wasserlösliche Vitamin E-Analogen.

Trolox wird als „standard antioxidant“-Referenz benutzt. Dafür wird die TEAC (*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*) definiert als Konzentration einer Lösung von Trolox, die eine Leistungsfähigkeit wie 1 mM der untersuchten Verbindung besitzt^[97].

TEAC bezieht sich auf die gesamte antioxidative Aktivität, und ist ein Maß dafür, wie gut ein Antioxidans im Vergleich zu Trolox wirkt.

Die nach Miller et al.^[98] entwickelte TEAC-Probe bezieht sich auf die Fähigkeit eines Antioxidans, das Radikalkation von ABTS (2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonsäurediammoniumsalz) abzufangen im Vergleich zu der Fähigkeit von Trolox.



Trolox wurde auch nach der hier in den vorangegangenen Experimenten beschriebenen Methode untersucht. In den einzelnen Versuchen wurde die Hemmung der Peroxidbildung in Gegenwart von Trolox gemessen.

Trolox erweist sich als gutes Antioxidans in den zwei höchsten gemessenen Konzentrationen.

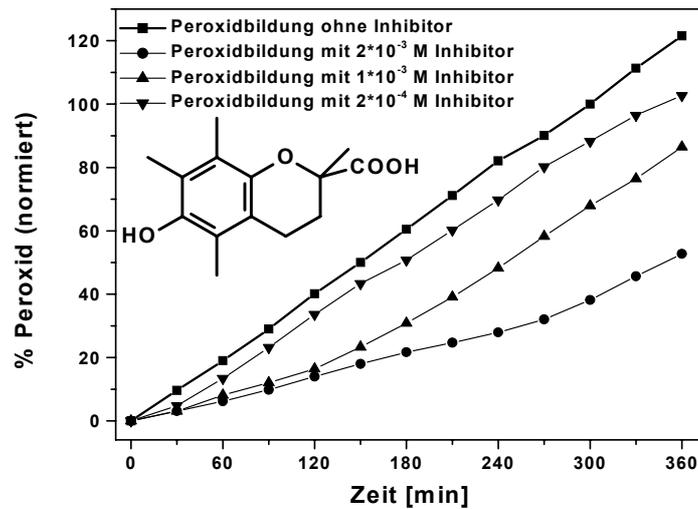


Abbildung 41: Peroxidbildung ohne Inhibitor und in Gegenwart verschiedener Konzentrationen von Trolox **89**

Nach 5 h werden 37,0 % Peroxid gebildet (normiert auf 100 % Peroxidbildung ohne Antioxidans) für eine $2 \cdot 10^{-3}$ M Konzentration von Trolox. Für eine Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M werden 67,9 % von Cumolhydroperoxid gebildet und für $2 \cdot 10^{-4}$ M von Trolox 88,3 % nach 5 h.

Die drei Werte sind in der Graphik der Abbildung 42 zusammengefaßt.

Die Hemmung der Peroxidbildung steigt nahezu linear mit der Konzentration. Nach dieser Methode zeigt Trolox **89** jedoch schlechtere antioxidative Eigenschaften als Resveratrol **12**. Das deckt sich mit den Ergebnissen von Tadolini et al.^[99]. Sie untersuchten die Peroxidhemmung von Resveratrol **12** in der Lipidperoxidation mit AMVN als Radikalstarter.

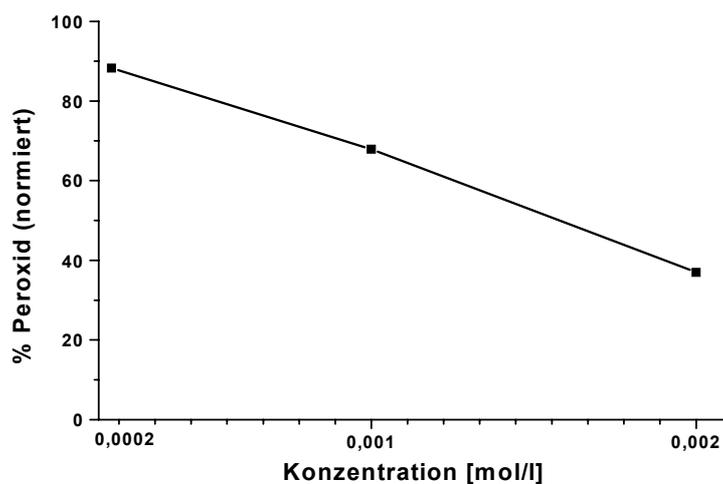


Abbildung 42: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	37.0 ± 2.3	63.0 ± 2.3
$1 \cdot 10^{-3}$ M	67.9 ± 0.2	32.1 ± 0.2
$2 \cdot 10^{-4}$ M	88.3 ± 0.2	11.7 ± 0.2

Tabelle 12: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Trolox **89** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

Die in dieser Arbeit synthetisierten vinylog verlängerten Analoge der Flavonoide werden hinsichtlich ihre antioxidativen Eigenschaften mit Trolox verglichen. Dafür wird ein neuer Quotient RAA (*Relative Antioxidant Activity*) definiert.

Relative Antioxidant Activity für eine bestimmte Konzentration

Die „**Relative Antioxidant Activity**“ wird definiert als Quotient: Inhibition von Cumolhydroperoxid durch das Antioxidans dividiert durch die Inhibition von Cumolhydroperoxid durch Trolox

$$RAA = \frac{ICA}{ICTx}$$

Dabei ist:

ICA: Inhibition der Bildung von Cumolhydroperoxid in Prozent in Gegenwart des Antioxidans (Referenzexperiment für eine gegebene Konzentration des Antioxidans nach 5 h)

ICTx: Inhibition der Bildung von Cumolhydroperoxid in Prozent in Gegenwart des Trolox (Referenzexperiment für die gleiche gegebene Konzentration von Trolox nach 5 h)

Für ICA = 0 % besitzt die Verbindung keine antioxidativen Eigenschaften in dieser Konzentration.

Für ICA = 100 % inhibiert die Verbindung vollständig die Peroxidbildung.

Die Werte von RAA liegen zwischen 0 und:

- 1.6 für eine Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ M, da ICTx = 63.0 %
- 3.1 für eine Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M, da ICTx = 32.1 %
- 8.5 für eine Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ M, da ICTx = 11.7 %

Dies bedeutet, dass das Antioxidans um so bessere antioxidative Eigenschaften besitzt je größer der RAA-Wert ist.

Der RAA-Wert bietet als anerkannte Referenz zu Trolox eine Alternative zu dem in unserem Arbeitskreis benutzten Schutzwert (SW_{300}). Der Quotient aus der Menge Peroxid ohne Inhibitor nach 5 h durch die Menge Peroxid mit Inhibitor minus 1 wird als Schutzwert 300 (SW_{300}) definiert. Dieser Wert soll die protektive Wirkung der untersuchten Antioxidantien repräsentieren. Er erlaubt jedoch

keinen guten Vergleich für Verbindungen, die nach dieser Methode als sehr gute Antioxidanten bezeichnen können werden.

Relative Antioxidant Activity in einem Konzentrationsbereich

Die „*Relative Antioxidant Activity*“ für ein Antioxidans im gemessenen Konzentrationsbereich ($2 \cdot 10^{-3}$ M – $2 \cdot 10^{-4}$ M) wird wie folgt ermittelt (RAA_{RC}):

Die Auftragung der drei Inhibitions-Werte in % für eine Verbindung versus Konzentration ergibt ein Diagramm mit drei Punkten. Die Verbindung der drei Punkte mit einer Linie und die Integration bis zur Abszisse bei 0 % (totale Hemmung der Peroxidbildung) unter der Linie ergibt eine Fläche und wird als „*Area under the Line of the Antioxidant*“, (AUL_A) bezeichnet.

Der Quotient aus diesem Wert und dem Wert „*Area under the Line for Trolox*“ ergibt den „*Relative Antioxidant Activity*“-Wert RAA_{RC} für den Konzentrationsbereich (*range of concentrations*) zwischen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M (RAA_{RC}).

$$RAA_{RC} = \frac{AUL_A}{AUL_{Tx}}$$

Für Trolox ergibt die Abbildung des AUL eine zu Abbildung 42 komplementäre Graphik.

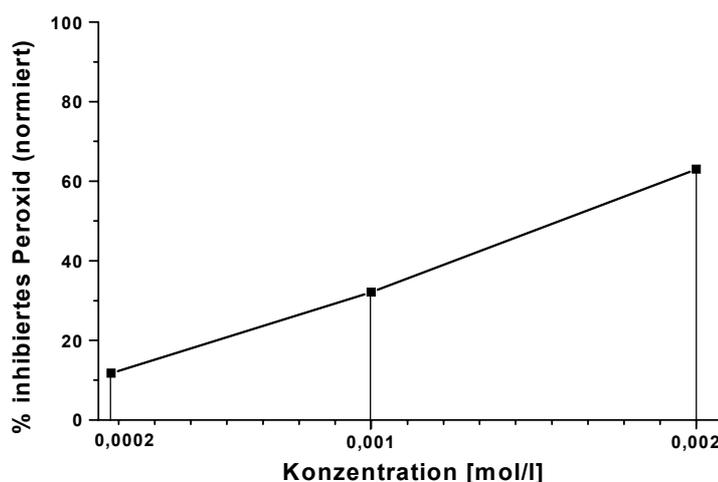


Abbildung 43: Berechnung der „*Area under the Line*“ (AUL) für Trolox

Area under the Line für Trolox (AUL_{Tx}) beträgt 0.06506 Flächeneinheiten.

Die Werte für RAA_{RC} liegen zwischen:

- 0: wenn ein Antioxidans in jeder gemessenen Konzentration zu 0 % die Peroxidbildung hemmt
- 2.8: wenn das Antioxidans in jeder gemessenen Konzentration zu 100 % die Peroxidbildung inhibiert, da $AUL = 0.18$ Flächeneinheiten beträgt

3.2.2.3. Struktur-Aktivitäts-Beziehung der synthetisierten Flavonoide

Das Verhalten der synthetischen vinyl-verlängerten Flavonoide ist entsprechend dem Verhalten der natürlich vorkommender Flavonoide mit Flavan-Grundgerüst **1**.

- Das unsubstituierte Vinylflavon zeigt keine antioxidativen Eigenschaften (s. 3.2.2.1.2.)
- Ein Methoxygruppe im B-Ring zeigt keinen Einfluß auf die antioxidative Wirkung (s. 3.2.2.1.3.)
- Hydroxygruppen im A-Ring sind nicht wichtig und spielen nur eine geringe Rolle, wenn keine Hydroxygruppen im B-Ring auftreten (s. 3.2.2.1.4. und Abb. 44)

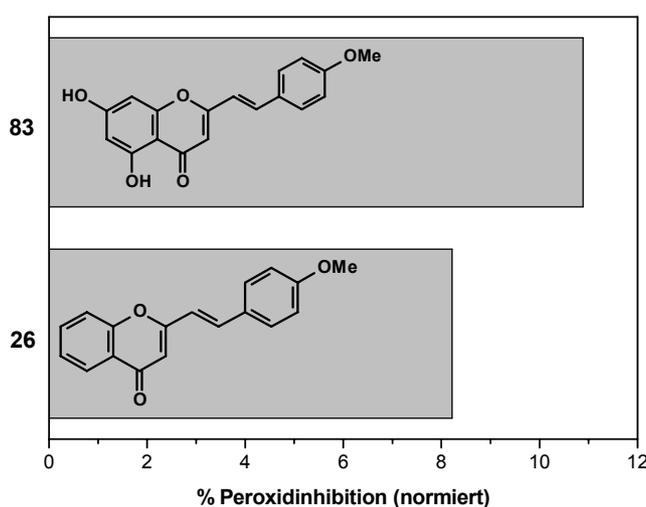


Abbildung 44: Vergleich der Peroxidinhibition von Verbindungen **83** und **26** für $1 \cdot 10^{-3}$ M

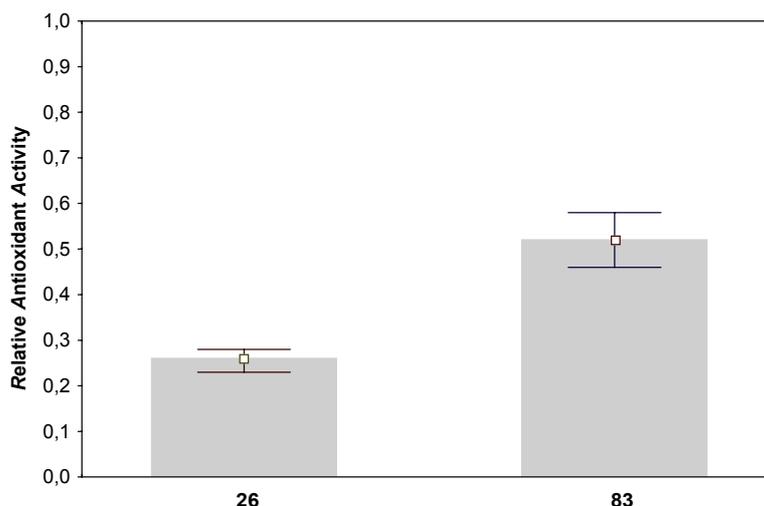


Abbildung 45: *Relative Antioxidant Activity* bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindungen **26** und **83**

Die Hemmung der Peroxidbildung der Verbindung **83** mit zwei Hydroxygruppen im A-Ring ist nicht viel besser als die Hemmung der Peroxidbildung der Verbindung **26** mit keiner Hydroxygruppe im A-Ring.

- Ein Hydroxygruppe in 4'-Position im B-Ring hat große Auswirkung auf die antioxidativen Eigenschaften (s. 3.2.2.1.3. und 3.2.2.1.8), eine geschützte Hydroxygruppe dagegen nicht (s. Abb. 46)

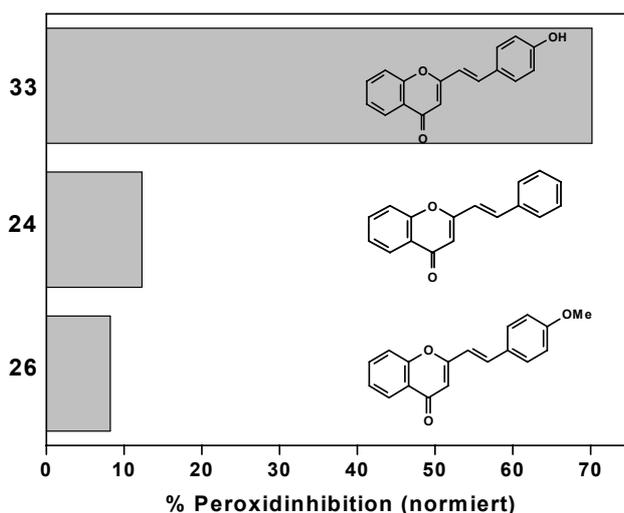


Abbildung 46: Antioxidative Wirkung einer Hydroxygruppe im B-Ring. Einfluß zur Peroxidinhibition von **26**, **24** und **33** ($1 \cdot 10^{-3}$ M)

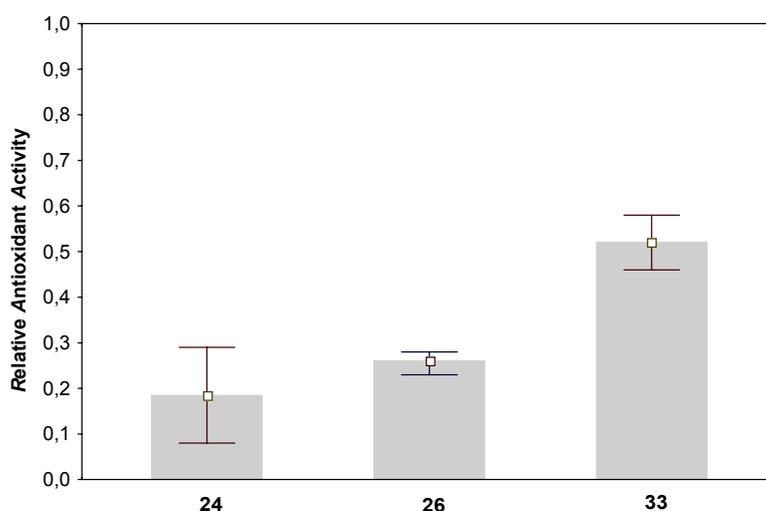


Abbildung 47: *Relative Antioxidant Activity* bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindungen **24**, **26** und **33**

- Zwei Hydroxygruppen in 3',4'-Position im B-Ring zeigen einen großen Einfluß auf die Hemmung der Cumolhydroperoxidbildung (s. Abb. 48)

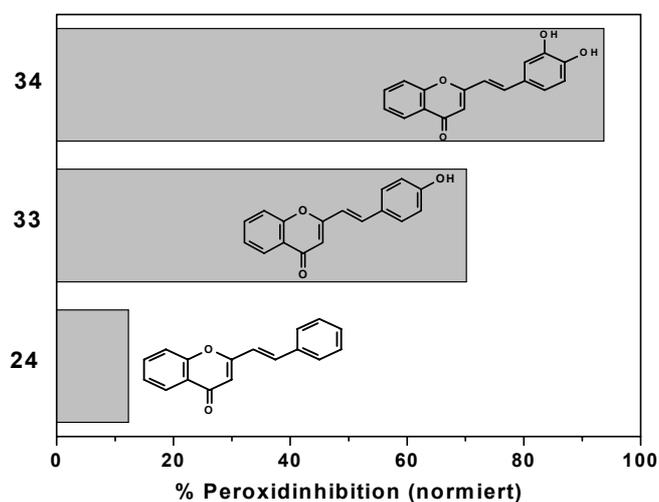


Abbildung 48: Einfluß der Hydroxygruppen im B-Ring auf die antioxidativen Eigenschaften. % Peroxidinhibition der Verbindungen **24**, **33** und **34** (für $1 \cdot 10^{-3}$ M)

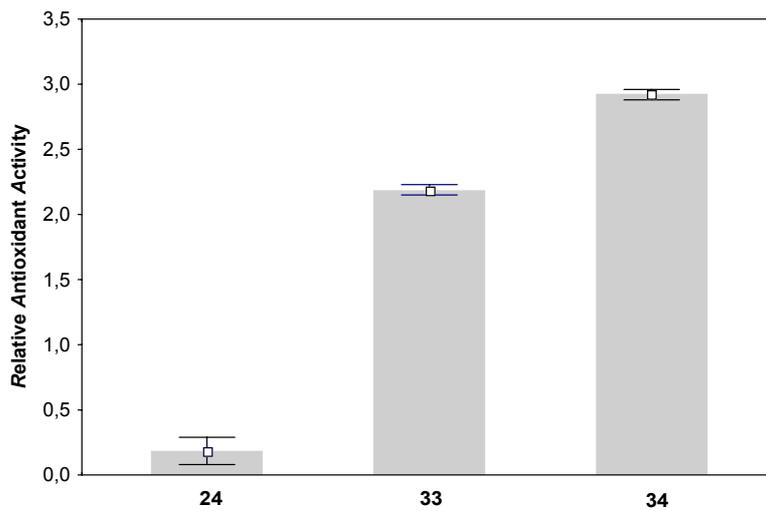


Abbildung 49: *Relative Antioxidant Activity* bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindungen **24**, **33** und **34**

- Ein Hydroxygruppe in der 5-Position bringt keine zusätzliche Wirkung, wenn die Verbindung eine Hydroxygruppe in der 4'-Position hat

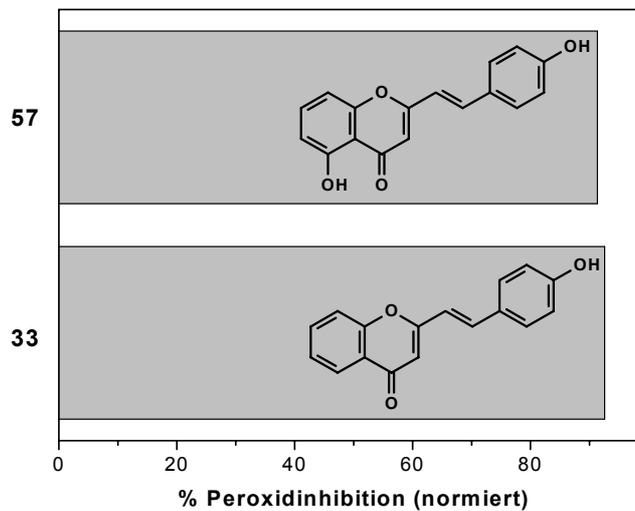


Abbildung 50: Einfluß der C5-Hydroxygruppe auf die Peroxidinhibition der Verbindungen **33** und **57** ($2 \cdot 10^{-3}$ M)

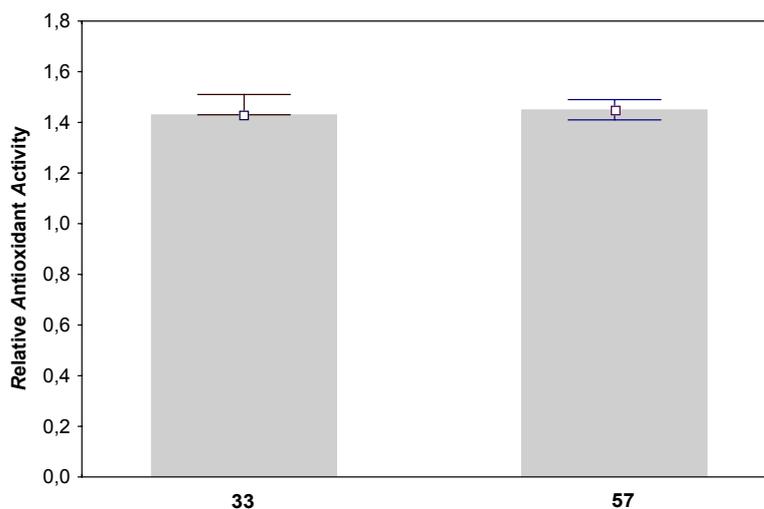


Abbildung 51: *Relative Antioxidant Activity* bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ M der Verbindungen **33** und **57**

Die synthetisierten Flavonoide haben außerdem folgende Struktur-Aktivitätseigenschaften:

- Eine Methylgruppe in der 3-Position mit einer Hydroxygruppe in der 4'-Stellung (B-Ring) verleiht eine ähnliche Wirkung wie eine 3',4'-Dihydroxygruppe im B-Ring (s. 3.2.2.1.8. und 3.2.2.1.9.)

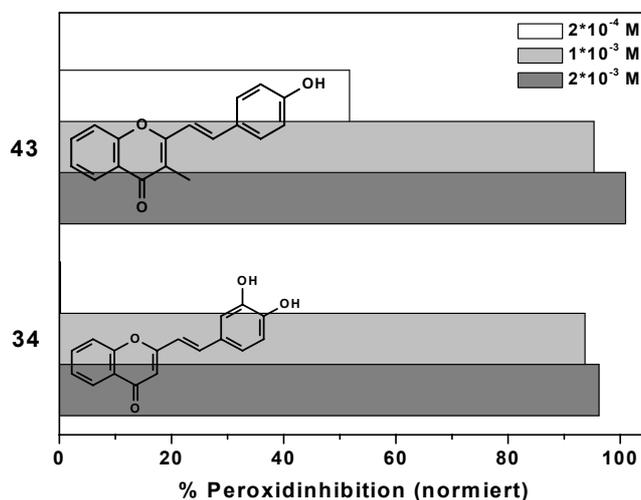


Abbildung 52: Wirkung zur Inhibition der Peroxidbildung einer Methylgruppe in C3-Position bei unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen **34** und **43**

Bei der kleinsten gemessenen Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ M) zeigen sich allerdings deutliche Unterschiede. Während 3',4'-Dihydroxyvinylflavon **34** keine Wirkung zeigt, inhibiert das 4'-Hydroxy-3-methylvinylflavon **43** über 50 % die Peroxidbildung.

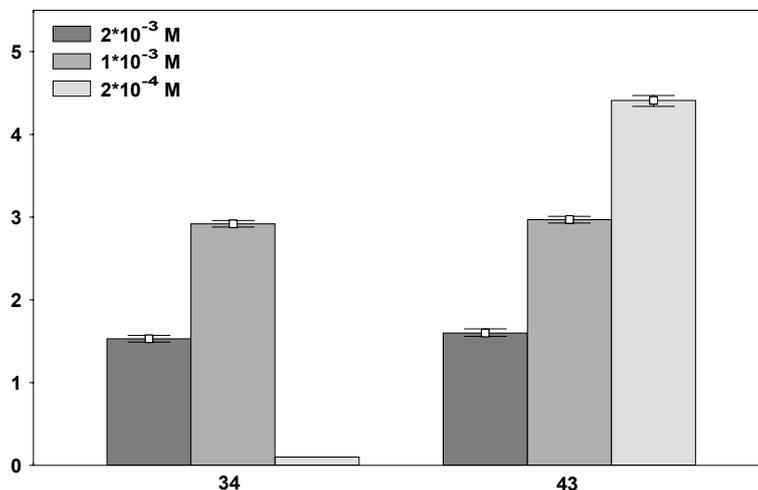


Abbildung 53: *Relative Antioxidant Activity* bei unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen **34** und **43**

- Hydroxygruppen in der 6-Position vom A-Ring wirken antioxidativ, auch wenn keine Hydroxygruppe im B-Ring auftritt (s. 3.2.2.1.5. und 3.2.2.1.5)

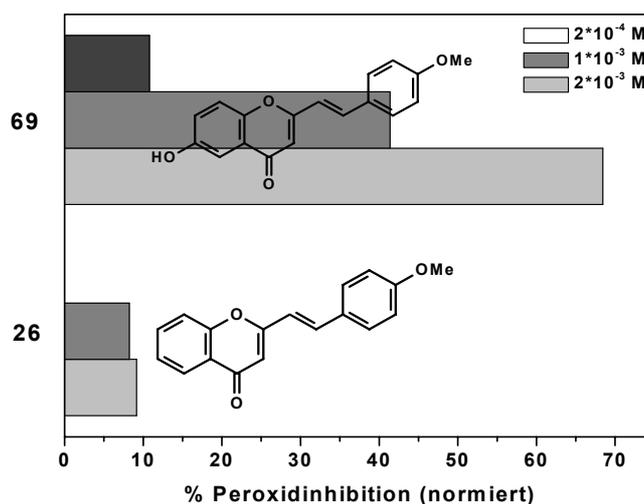


Abbildung 54: Wirkung einer Hydroxygruppe in der C6-Position ohne Hydroxygruppe im B-Ring auf die Inhibition der Peroxidbildung bei unterschiedlichen Konzentrationen der Verbindungen **26** und **69**

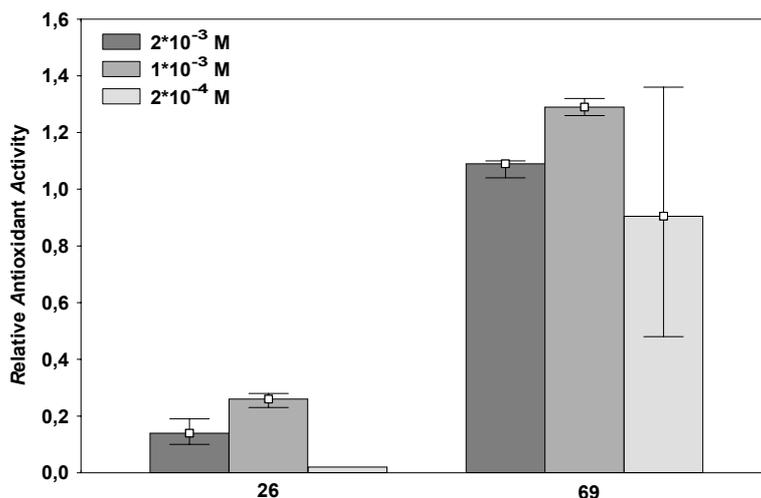
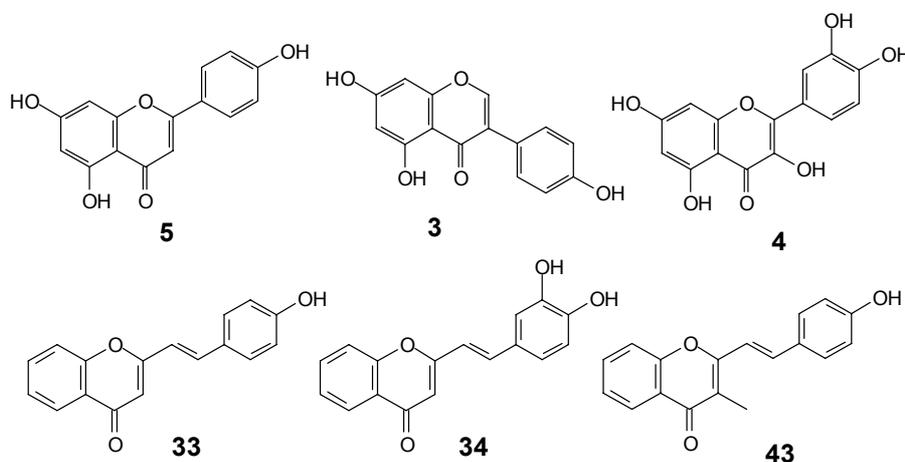


Abbildung 55: *Relative Antioxidant Activity* bei unterschiedlicher Konzentrationen der Verbindungen **26** und **69**

Flavonoide mit Hydroxygruppe in der 6-Position kommen in der Natur selten vor und nur wenn in der 5- und 7-Position des A-Rings auch Hydroxygruppen sich befinden.

3.2.2.4. Vergleich synthetischer Flavonoide mit den natürlich vorkommenden Flavonoiden

Die nächste Abbildung zeigt die Inhibitionsfähigkeit der besten nach dieser Methode von I. Schülke^[62] gemessenen natürlich vorkommenden Flavonoide (Genistein **3**, Quercetin **4**, und Apigenin **5**) und der besten der in dieser Arbeit synthetisiert und gemessenen vinylog verlängerten Flavonoide **33**, **34**, **43**.



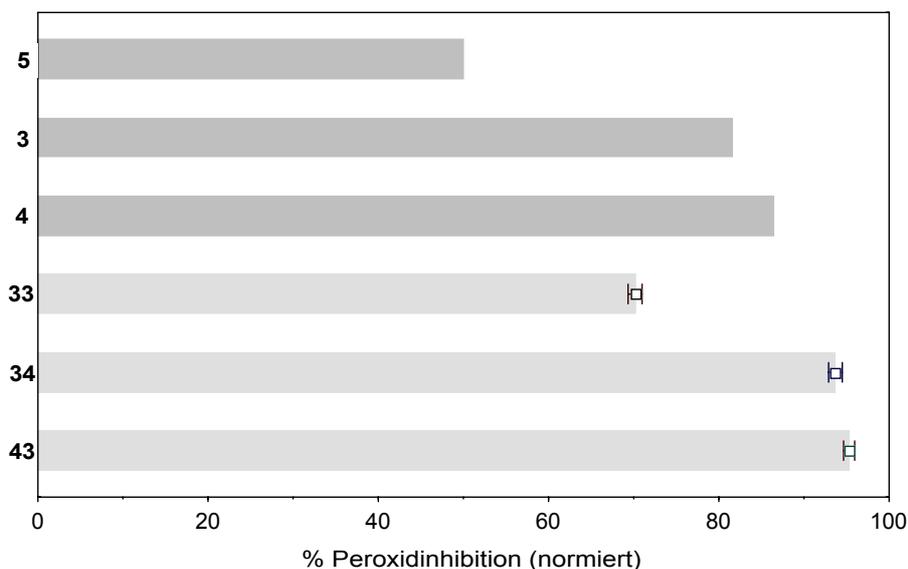


Abbildung 56: Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von der Verbindungen **43, 34, 33, 4, 3** und **5** bei der Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M nach 5 h

Wie man aus den Graphik entnehmen kann, zeigen die synthetischen Flavonoide bessere antioxidative Eigenschaften gegenüber der Cumolhydroperoxidbildung als die natürlich vorkommenden Flavonoide.

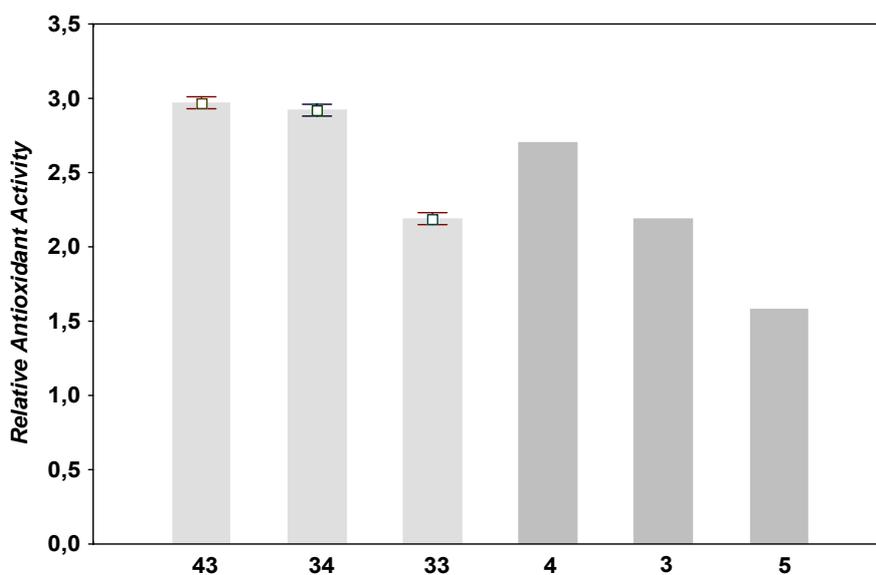
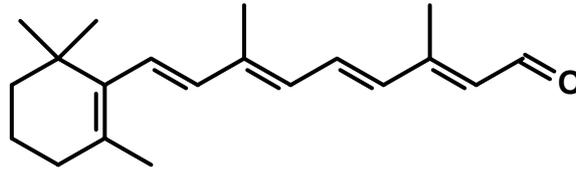


Abbildung 57: *Relative Antioxidant Activity* bei eine Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M einiger natürlich vorkommender und synthetischer Flavonoide

3.2.2.5. Carotinoide

3.2.2.5.1. Retinal



Retinal **90**

Retinal entsteht im Metabolismus bei der oxidativen Spaltung von β -Carotin. Wie im nächsten Kapitel gezeigt wird, tritt Retinal **90** bei der initiierten radikalischen Oxidation von β -Carotin als Abbauprodukt auf und erst nachdem β -Carotin vollständig verbraucht ist, wird Retinal langsam abgebaut. Auf diese Weise kann Retinal einen Beitrag zu der antioxidativen Wirkung von β -Carotin leisten.

Abbildung 58 veranschaulicht die Peroxidbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Retinal.

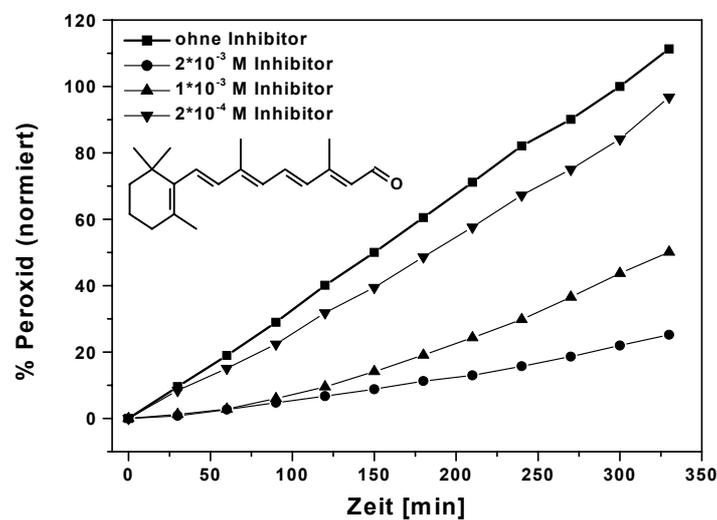


Abbildung 58: Peroxidbildung in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von **90**

Retinal ist ein sehr gutes Antioxidans bei der höchsten gemessenen Konzentration ($2 \cdot 10^{-3}$ M). In der mittleren Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M hemmt es die Peroxidbildung fast um die Hälfte im Vergleich zu der Peroxidbildung ohne Antioxidans.

Die normierten Werte der Peroxidbildung, die nach 5 h ermittelt wurden, sind für verschiedene Konzentrationen im folgenden Diagramm dargestellt.

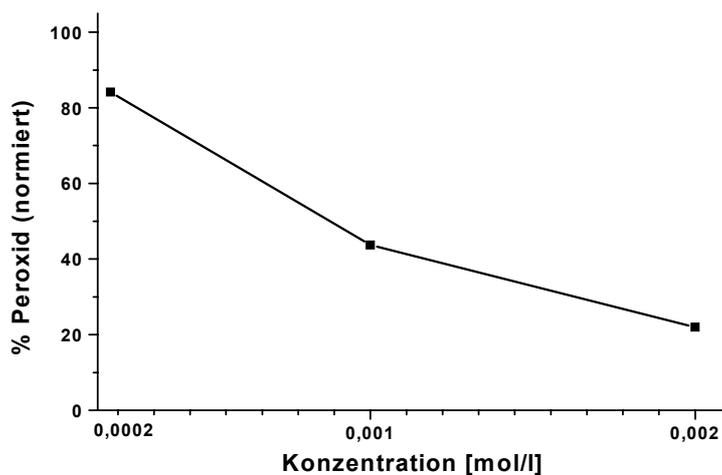


Abbildung 59: Peroxidbildung nach 5 h in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Retinal **90** versus Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	22.0 ± 0.2	78.0 ± 0.2
$1 \cdot 10^{-3}$ M	43.7 ± 0.2	66.3 ± 0.2
$2 \cdot 10^{-4}$ M	84.2 ± 3.6	15.8 ± 3.6

Tabelle 13: Peroxidbildung und Inhibition der Peroxidbildung in Gegenwart von Retinal bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

Der Peak von Retinal erscheint im Chromatogramm kurz vor dem Peak von Cumolhydroperoxid. Da Peaks bei verschiedenen Wellenlängen detektiert wer-

den, bereitet es keine Schwierigkeit die beiden Signale zu identifizieren und zu trennen.

Der Peak von Retinal wird bei 302 nm integriert und sein Abbau verfolgt. Bei dieser Wellenlänge tritt das Signal von Cumolhydroperoxid nicht im Chromatogramm auf. Das Signal von Cumolhydroperoxid wird bei 254 nm integriert. Bei dieser Wellenlänge ist das Signal von Retinal nicht zu messen.

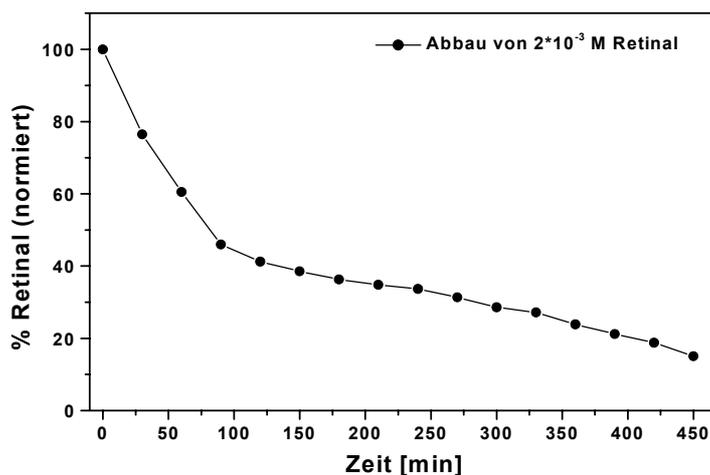
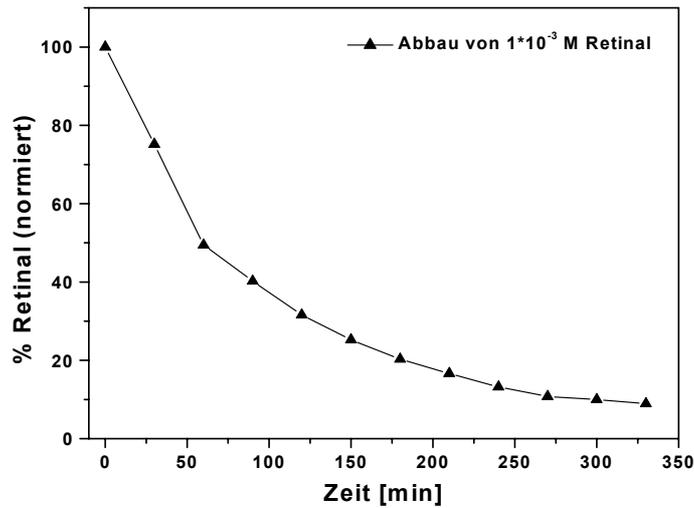


Abbildung 60: Abbau von Retinal **90**, bei 302 nm integriert

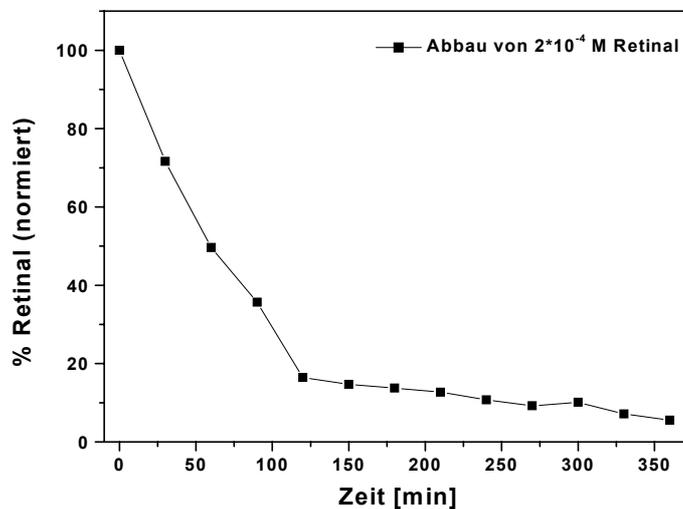
Bei der höchsten Konzentration baut sich Retinal in den ersten 100 min sehr schnell ab. Nach 80 min Reaktionszeit sind 90 % des Retinals verbraucht, nach weiteren 40 min 60 % und nach Ende der Messung (7.5 Stunden) werden nur noch 15 % **90** gefunden. Dieser Verlauf lässt vermuten, dass Abbauprodukte des Retinals dessen weiteren Abbau behindern. Es wird angenommen, dass Retinal während des Abbaus kleinere Chromophore bildet, die zu den gesamten antioxidativen Eigenschaften beitragen^[57].

Ein ähnlicher Verlauf des Abbaus wird auch bei den Konzentrationen von $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M beobachtet.

Bei der Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M sind nach 1 h 50 % von Retinal abgebaut. Der Rest baut sich innerhalb der nächsten 4.5 h ab.

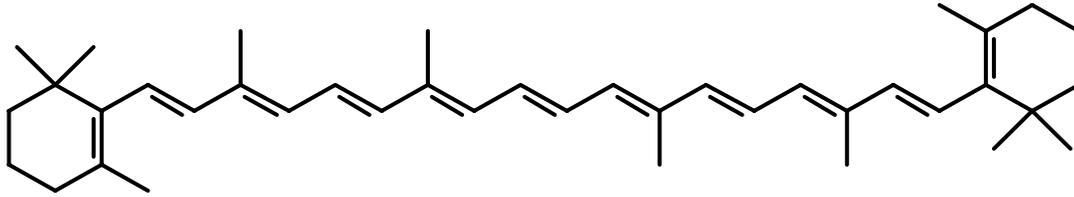
Abbildung 61: Abbau von $1 \cdot 10^{-3}$ M Retinal

Bei der kleinsten gemessenen Konzentration ($2 \cdot 10^{-4}$ M) ist der Abbau des Retinals **90** wesentlich schneller, zeigt aber einen ähnlichen Verlauf. Nach zwei Stunden verbleiben noch 14 % vom gesamten Retinals.

Abbildung 62: Abbau von $2 \cdot 10^{-4}$ M Retinal

Die während der Oxidation produzierten Abbauprodukte von Retinal **90** waren nicht stabil genug, um das Retinal **90** längere Zeit vor der Oxidation zu schützen. Retinal **90** wird somit sehr schnell abgebaut.

3.2.2.5.2. β -Carotin 14



β -Carotin 14

Das β -Carotin wurde in drei Konzentrationen gemessen: $1 \cdot 10^{-2}$ M, $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M.

Die Ergebnisse von M. Schmidt^[93] für die Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M von β -Carotin und für eine Reaktionszeit von 5 h konnten reproduziert werden. Die Messungen wurden wiederholt, um die Bildung der Abbauprodukten, insbesondere von Retinal **90**, 5,6-Epoxid und 15,15'-Epoxid von β -Carotin zu verfolgen.

3.2.2.5.2.1. β -Carotin $1 \cdot 10^{-2}$ M

β -Carotin kommt beispielsweise in Karotten in hohen Konzentrationen vor.

Die hohe Konzentration von β -Carotin im Reaktionsgefäß ermöglicht es, die Abbauprodukte zu ermitteln.

Messbedingungen:

- Alle Messungen erfolgten bei 37 °C, mit einer Probenschleife von 20 μ l und einem Druck von 150 Torr
- Die Messzeit beträgt 4000 min, das entspricht ca. 3 Tagen. Die Messungen erfolgten in zwei Abschnitten jeweils mit ca. 12 h/d. Ein Versuch besteht aus zwei Meßreihen, die um 12 h versetzt sind
- Die 5,6- und 15,15'-Epoxyde wurden durch Vergleich mit Literaturangaben^{[100]-[102]} und entsprechend den gemessenen UV-Spektren zugeordnet.

Bei der Messung von $1 \cdot 10^{-2}$ M β -Carotin wurde folgendes beobachtet:

1. Im HPLC-Chromatogramm treten neben dem Signal von β -Carotin auch weitere Signalen auf, die mit der Zeit zunehmen (s. Abb. 63). Im Verlauf der Reaktion nehmen die Signale wieder ab.

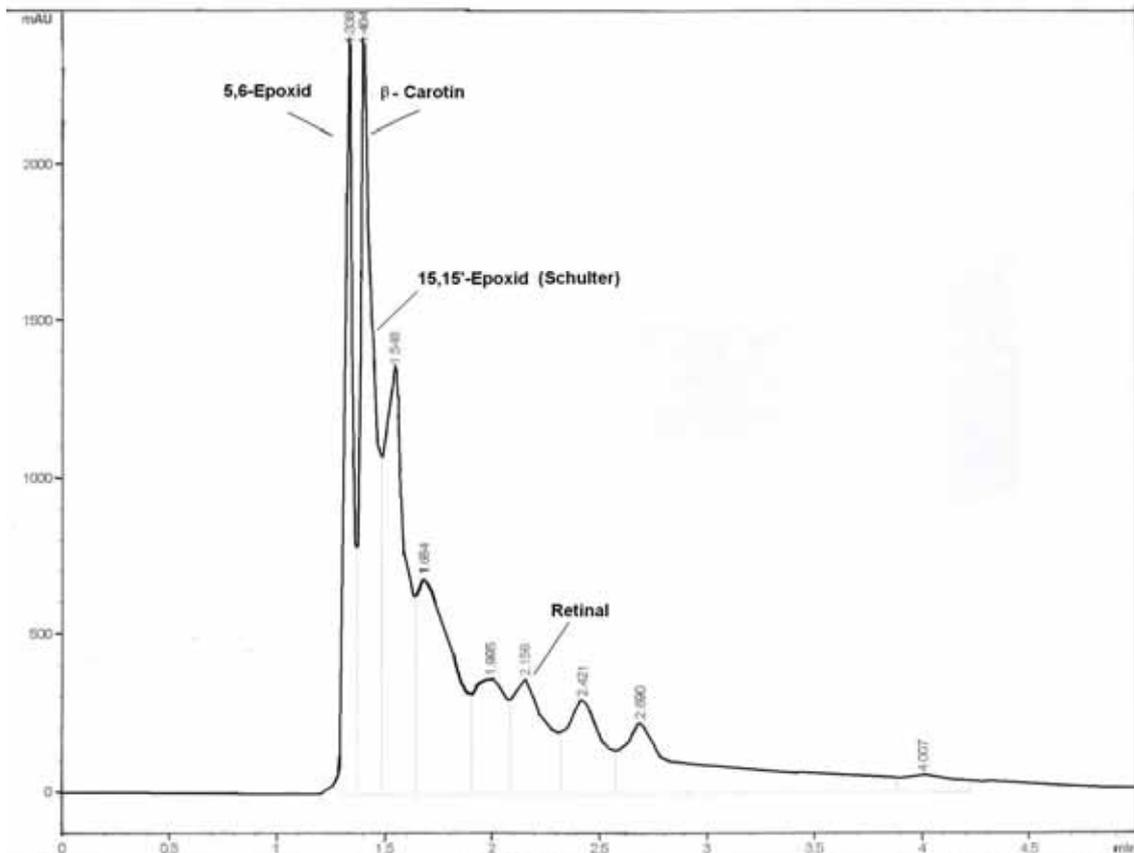


Abbildung 63: Chromatogramm nach ca. 2 h in der Messung von $2 \cdot 10^{-2}$ M β -Carotin

2. Mit Hilfe des UV-Detektors kann man die Absorptionsmaxima von den verschiedenen Peaks beobachten. Die Messung wurde bei vier verschiedenen Wellenlängen vorgenommen:

254 nm und 218 nm für das Cumol und Cumolhydroperoxid

478 nm für β -Carotin

302 nm für von Retinal

Der unpolare Peak vor β -Carotin hat sein Absorptionsmaximum bei 450nm. Dieses erste Signal kann dem 5,6-Epoxid von β -Carotin zugeordnet werden. Der dem β -Carotin zugeordnete Peak ändert sich nach einer bestimmten Zeit. Das UV-Spektrum des dem β -Carotin zugeordneten Signals ändert sich im

Verlauf der Reaktion (s. 1. Spektrum – 3. Spektrum auf den Seiten 115-116). Es hat vermutlich eine Epoxidierung der 15,15'-Doppelbindung stattgefunden. Die *cis-trans*-Isomere des 15,15'-Epoxids besitzen ein λ_{\max} von 330 nm in n-Hexan (*cis*-Isomer ist unpolarer als *trans*-Isomer^[100]).

Die Bildung des 5,6-Epoxides und das 15,15'-Epoxides wurde bei den gegebenen Bedingungen (AMVN als Radikalstarter, 37 °C) schon zuvor beschrieben^[100]. Desweiteren beschreiben die Autoren die Bildung weiterer polarer, nicht identifizierter Produkte.

Zwischen den Signalen von β -Carotin **14** und Retinal **90** treten weitere Peaks auf (s. Abb. 63), die keine Absorption über 300 nm besitzen.

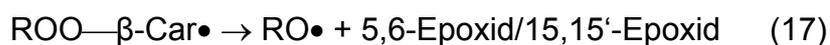
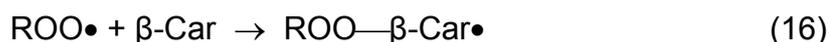
Nach dem Signal von Retinal treten noch weitere Peaks auf, die ein Absorptionsmaximum bei 340 nm und 330 nm haben. Diese Peaks könnten dem 9-*cis*-Isomer und dem 13-*cis*-Isomer von β -Carotin zugeordnet werden. Es können auch andere Abbauprodukte von β -Carotin sein, die dieses Absorptionsmaximum besitzen.

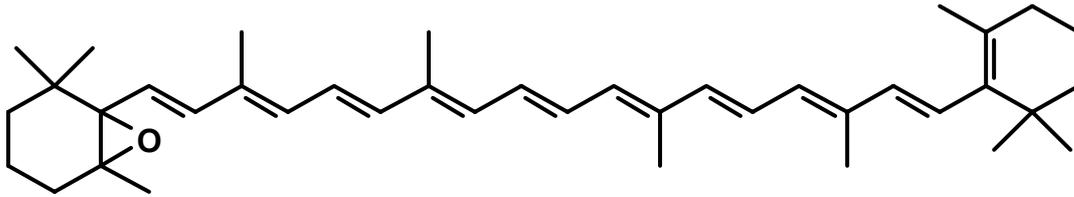
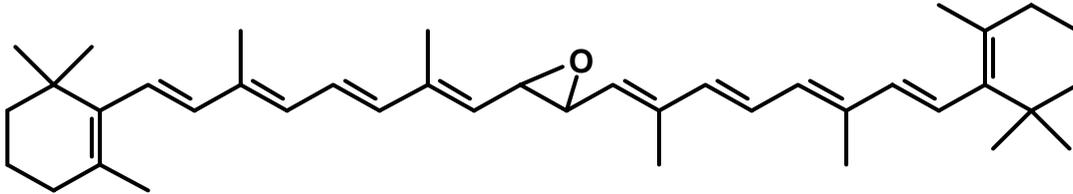
Beide Peakgruppen (vor und nach dem Signal von Retinal) müssen beim Abbau Retinal bilden, da β -Carotin schon abgebaut ist, und weil Retinal auf Kosten dieser Signale zunimmt.

Im Verlauf der Reaktion werden die Epoxide zu anderen, polareren Produkten oxidiert.

Die Epoxide erscheinen als Produkt der Peroxidradikal-Addition an β -Carotin. Sie sind zunächst für eine Weile stabil, und reichern sich während der Oxidation von β -Carotin an.

Die 15,15'-Position besitzt eine niedrigere Elektronendichte, die sterische Hinderung ist kleiner als bei der 5,6-Doppelbindung^[100].



5,6-Epoxy- β -Carotin **91**15,15'-Epoxy- β -Carotin **92**

Graphiken

Peroxidbildung

Die Peroxidbildung ist am Anfang der Reaktion sehr langsam. Nach Abbau des β -Carotin bildet sich das Cumolhydroperoxid nur sehr langsam, da die entstehende Abbauprodukte von β -Carotin die Peroxidbildung unterdrücken.

Das Peroxid wurde in der Graphik Abb. 64 auf die Peroxidbildung nach 5 h ohne Antioxidans normiert.

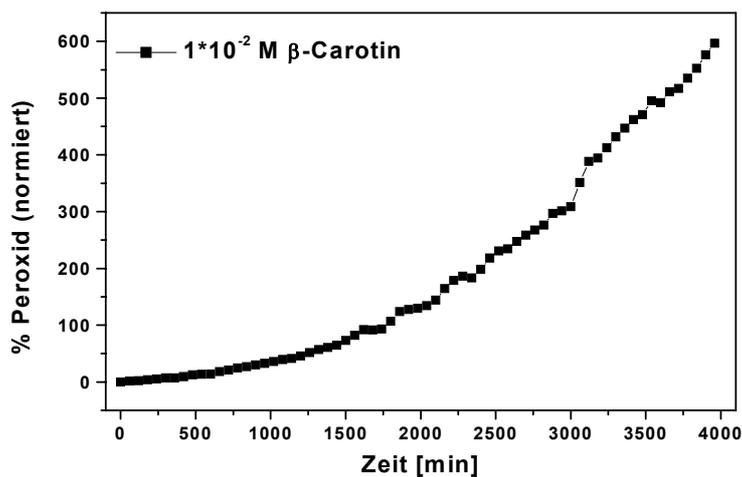


Abbildung 64: Peroxidbildung in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-2}$ M β -Carotin

Epoxide

Die Signale wurden auf die maximale Fläche (100 %) normiert.

Der Signalpeak des 5,6-Epoxids wird bei 478 nm über die Retentionszeit integriert und sein Verlauf in der nächsten Graphik Abb. 65 gezeigt:

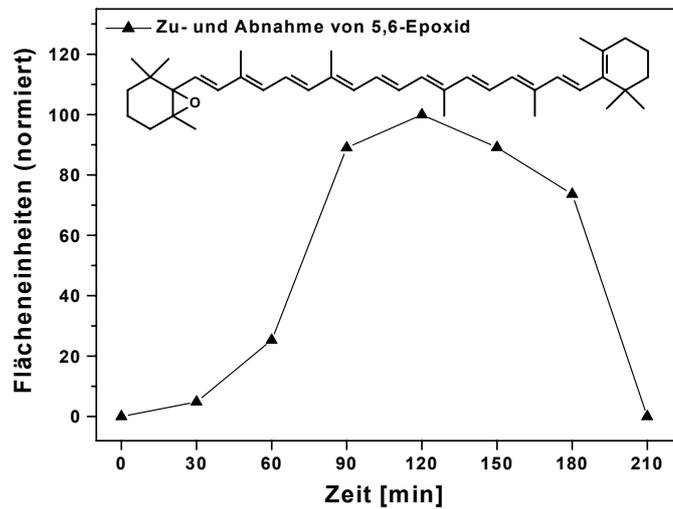


Abbildung 65: Bildung und Abbau von 5,6-Epoxid

Das Signal des 15,15'-Epoxids des β -Carotins wurde bei 302 nm über die Retentionszeit integriert. Meßbare Menge treten erst nach 180 min auf.

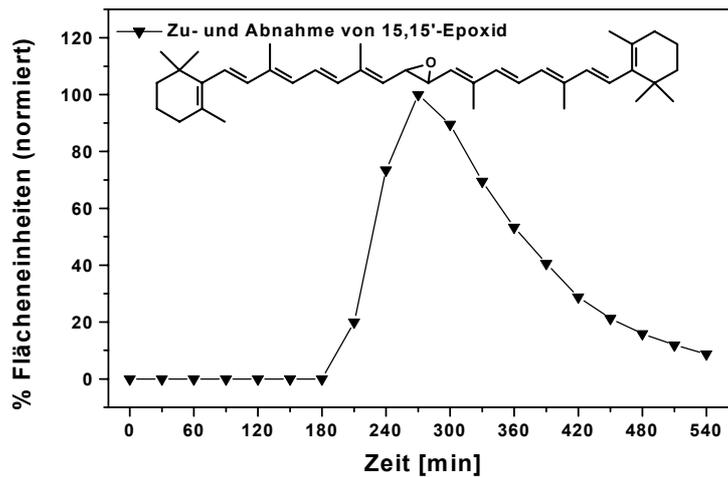


Abbildung 66: Bildung und Abbau des 15,15'-Epoxids von β -Carotin

Eine Schwierigkeit bei der Integration des β -Carotinpeaks besteht in der Wahl der Wellenlänge, bei der die Signale integriert werden, ohne das Signal des 15,15'-Epoxids von β -Carotin mit zu erfassen. Eine Wellenlänge von 528 nm ist plausibel aber nicht realistisch, da 528 nm sehr weit entfernt vom Peakmaximum von 450 nm des β -Carotins liegt.

Die nächste Abbildung zeigt den Abbau von β -Carotin und die Zu- und Abnahme der Epoxide in Abhängigkeit von der Zeit.

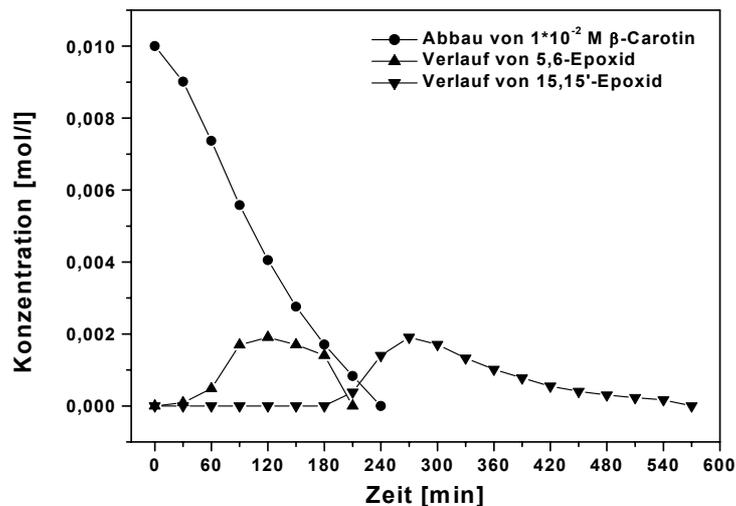


Abbildung 67: Abbau von β -Carotin (Signale bei 528 nm integriert) und Zu- und Abnahme der Epoxide

Es stellt sich hier die Frage, wie das 15,15'-Epoxid von β -Carotin entsteht. Aufgrund seiner Struktur kann das 15,15'-Epoxid nur aus einem β -Carotinmolekül entstehen.

Die Auswertung des 5,6-Epoxidpeaks ist unproblematisch. Der Peak erscheint kurz vor dem β -Carotin-Peak und ist gut integrierbar.

Die β -Carotin- und 15,15'-Epoxid-Peaks sind dagegen problematisch:

- 15,15'-Epoxid erscheint nach 180 min in meßbaren Mengen
- beide Peaks kommen im Chromatogramm zur gleichen Zeit (nur 0.1 min voneinander getrennt). Eine chromatographische Trennung ist nicht möglich

Um die Integration von anderen Signalen zusammen mit dem von β -Carotin zu vermeiden, wurden die β -Carotinpeaks bei 528 nm integriert.

Bei dieser Wellenlänge wird im Verlauf der Reaktion, wenn die Konzentration sehr gering ist, der Meßbereich sehr groß und die Konzentration des β -Carotin liegt außerhalb des Meßbereiches (s. Abb. 68).

In der nachfolgenden Graphik ist der Abbau von β -Carotin bei 302 nm, 478 nm und 528 nm abgebildet.

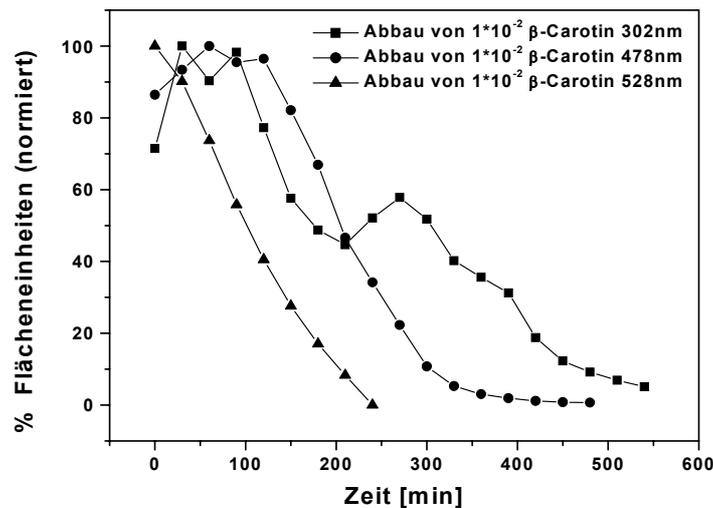


Abbildung 68: Abbau von β -Carotin bei 302 nm, 478 nm und 528 nm

Repräsentativ ist die bei 302 nm gemessene Kurve. Zunächst nimmt die Kurve kontinuierlich ab. Nach ca. 200 min steigt die Kurve jedoch wieder an, erreicht nach ca. 270 min ein Maximum und nimmt danach wieder ab. Das Maximum bei ca. 270 min zeigt eindeutig, dass eine andere Verbindung mit gemessen wird. Diese andere Verbindung sollte das 15,15'-Epoxid sein, wie unten Anhand des UV-Spektrums gezeigt wird.

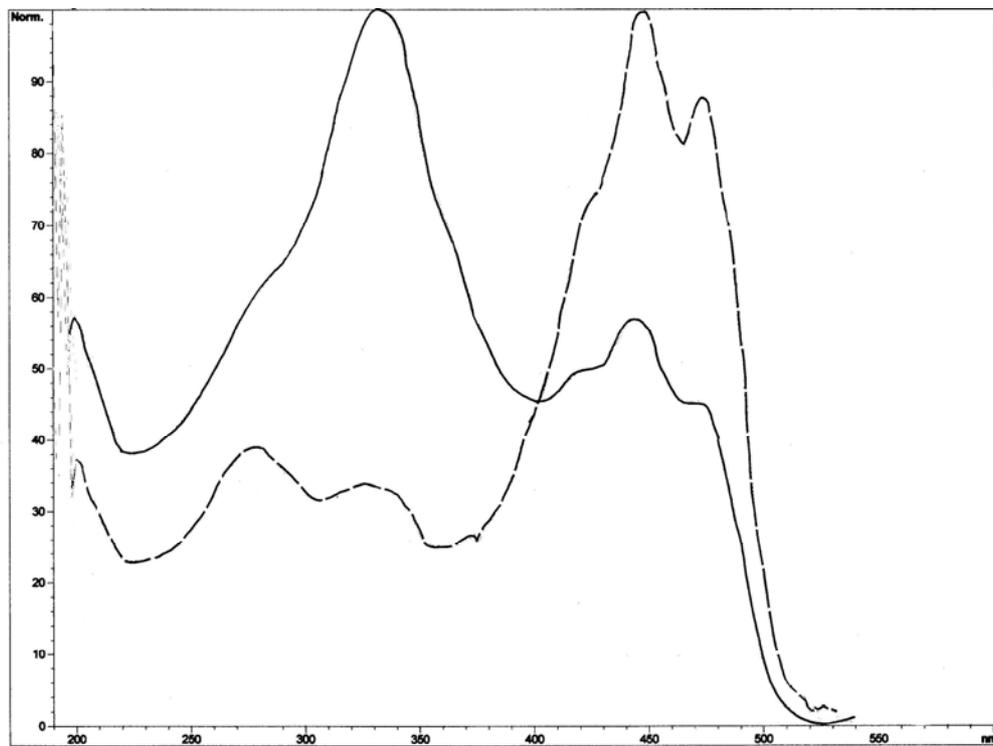
Diese andere Verbindung sollte das 15,15'-Epoxid sein. Dies läßt sich Anhand der zeitlichen Änderungen der UV-Spektren zeigen, die zu Beginn und am Ende eines engen Zeitintervalls (± 0.05 min) bei einer Retentionszeit von 1.35 min. aufgenommen wurden.

Die folgenden Spektrenpaare (1-3) wurde nach einer Reaktionszeit von 200, 300 und 400 Minuten erhalten. Die durchgezogenen Linien entsprechen dem UV-

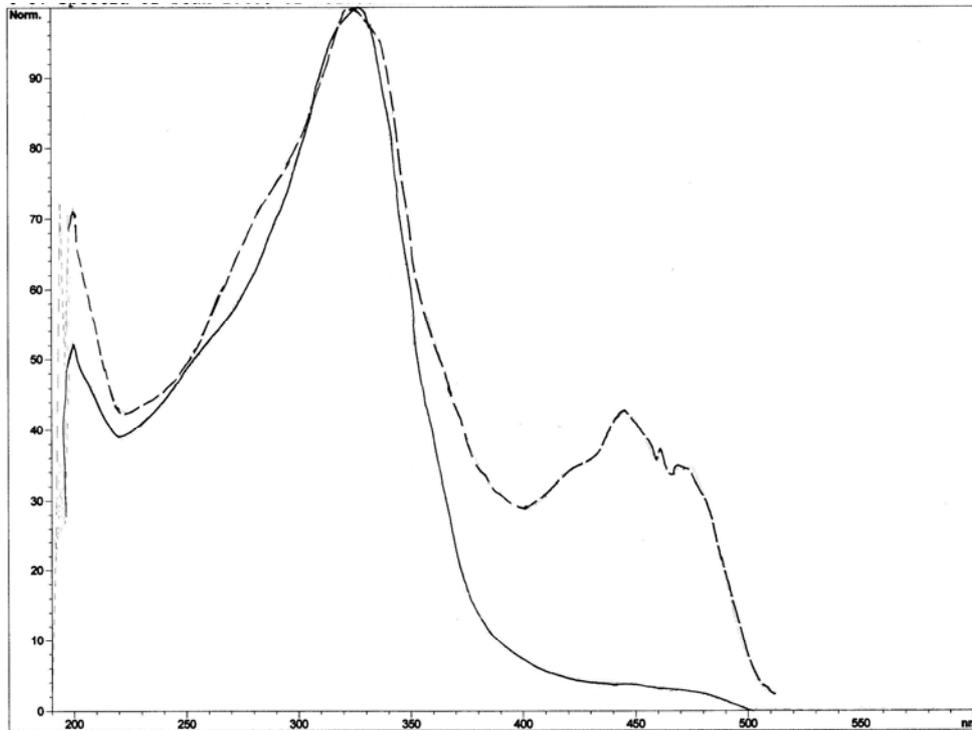
Spektrum des Epoxids mit einem variablen Anteil β -Carotin, die gestrichelten Linien dem des β -Carotins mit einem variablen Anteil Epoxid.

Im Einzelnen findet man folgendes:

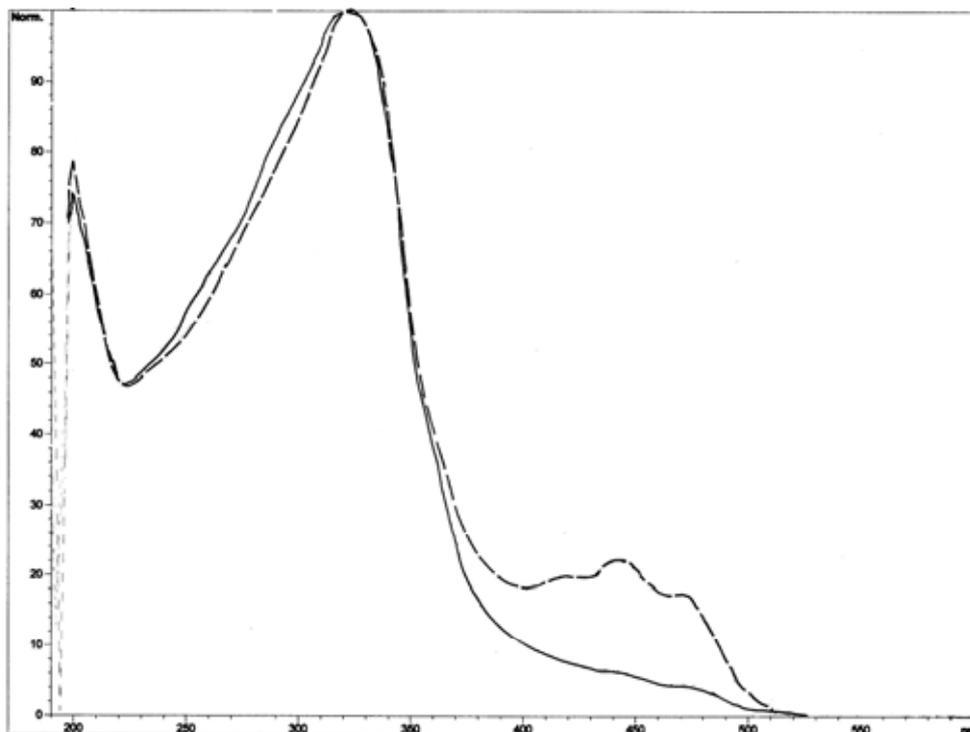
1. Nach ca. 200 min. Reaktionszeit kann neben viel β -Carotin auch das 15,15'-Epoxid detektiert werden.



2. Nach weiteren 100 min. Reaktionszeit nimmt die Konzentration an β -Carotin deutlich ab.



3. Nach ca. 400 Minuten hat sich der β -Carotin-Anteil weiter verringert.



Nach diesen Beobachtungen würde die Kurve von β -Carotin fast das Ende der Kurve von 15,15'-Epoxid erreichen. Die UV-Spektren zeigen, dass das Chromatogramm für 528 nm nicht ganz richtig ist. Zu einem besseren Ergebnis gelangt man, wenn für β -Carotin den Mittelwert der Kurven für 528 und 478 nm annimmt. Das wird in Abb. 69 dargestellt.

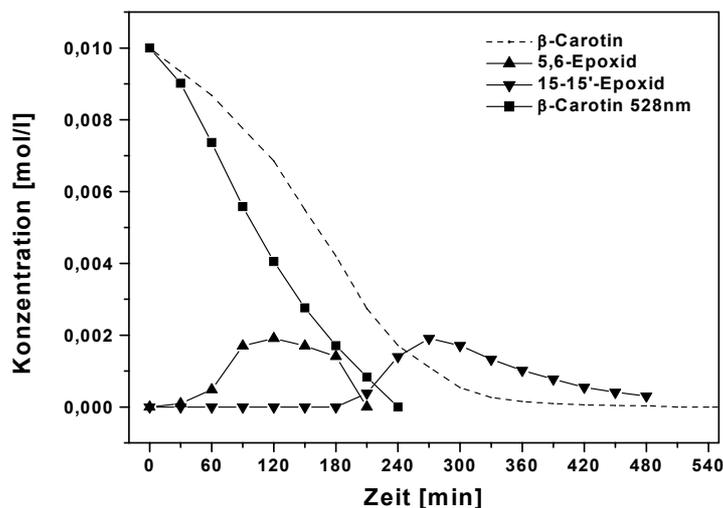


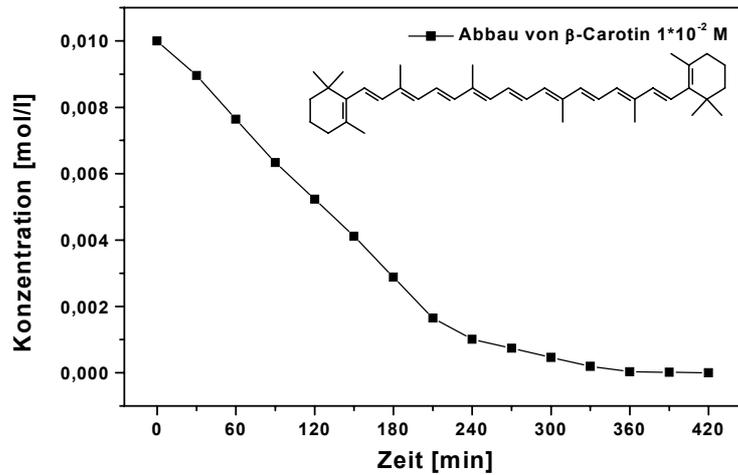
Abbildung 69: Abbau von β -Carotin als Mittelwert aus den Kurven bei 528 nm und 478 nm und Entstehung und Zerfall der Epoxide **90, 91**

Liebler^[101] schätzt den Anteil an Epoxiden an den gesamten Abbauprodukte der Oxidation von β -Carotin auf 20 %. Die Fläche der Epoxide wurden daher auf 20 % β -Carotin normiert.

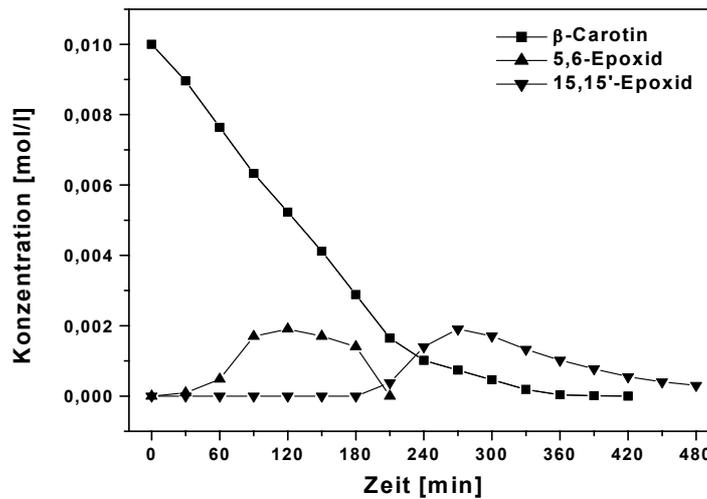
Das Ergebnis ist eine sigmoide Kurve, diese entspricht aber weder in der Form noch in ihren Werten dem richtigen Abbau von β -Carotin, wie bei den anderen unterschiedlichen Konzentrationen.

Die richtige experimentell ermittelte Kurve wird direkt beim Meßwert der Messung erstellt. Die Wellenlänge der Integration sollte nah an dem Absorptionsmaximum von β -Carotin liegen.

Eine Auswertung bei 500 nm liefert eine exponentielle Kurve, die realistischer sein sollte.

Abbildung 70: Abbau von β -Carotin bei 500 nm integriert

Ein ähnlicher Verlauf des Abbaus von β -Carotin wird auch bei der Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M beobachtet (s. u.).

Abbildung 71: Abbau von β -Carotin bei 500 nm sowie Zu- und Abnahme des Epoxids

Wie aus der Graphik zu entnehmen ist, liegt noch β -Carotin vor, während das 15,15'-Epoxid sein Maximum erreicht.

Neben den Epoxiden wird auch die Bildung und Abbau von Retinal verfolgt. Da die Konzentrationen sehr gering sind, ist die Messung sehr ungenau.

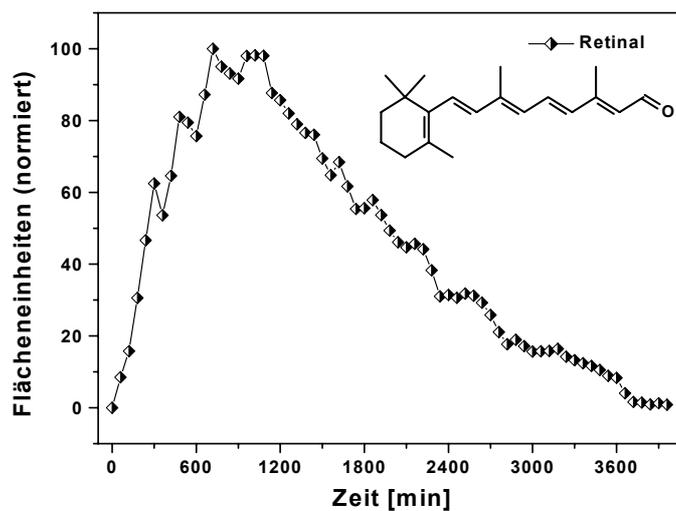


Abbildung 72: Bildung und Abbau von Retinal bei der Oxidation von β -Carotin

Es ist physiologisch bedeutend, dass das Retinal erst dann abgebaut wird, wenn kein β -Carotin mehr vorhanden ist.

Die absoluten Konzentrationen von Cumolhydroperoxid und Retinal wurde mit Hilfe von Eichkurven bestimmt.

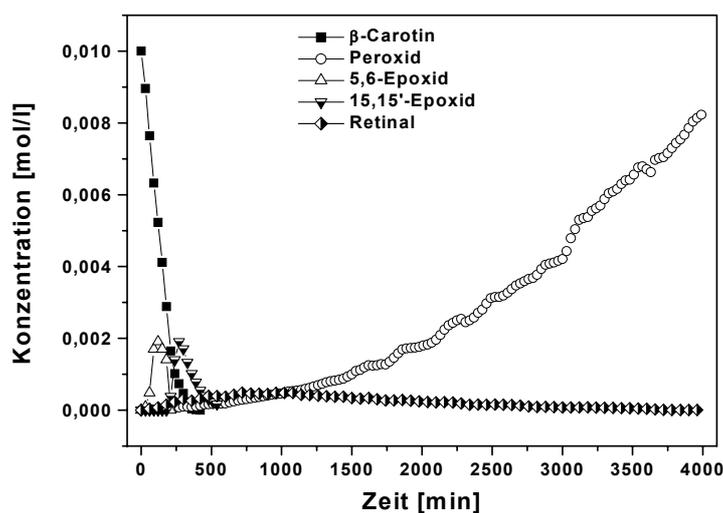


Abbildung 73: Abbau von β -Carotin, Peroxidbildung und Verlauf der Reaktionsabbauprodukte

3.2.2.5.2.2. β -Carotin $1 \cdot 10^{-3}$ M

3.2.2.5.2.2.1. Messungen mit Starter (AMVN)

Die nächste Abbildung zeigt die Bildung von Cumolhydroperoxid bei der AMVN-induzierten Oxidation von Cumol in Abwesenheit und in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin.

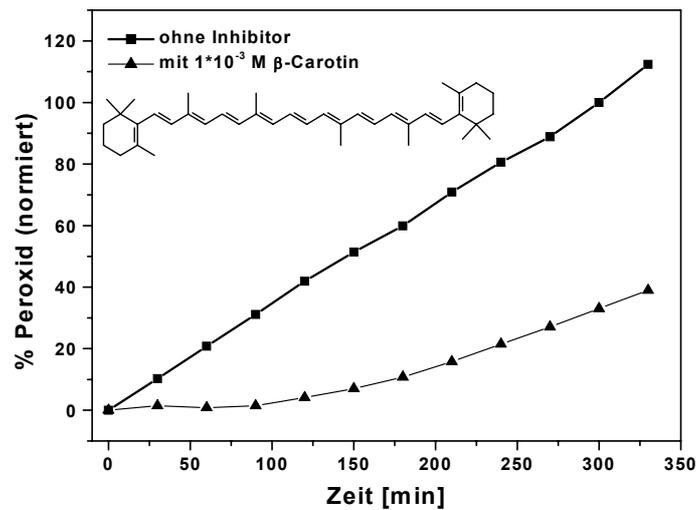


Abbildung 74: Peroxidbildung in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin

Auch bei der kleineren Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M zeigt die Abbaukurve von β -Carotin den gleichen Verlauf wie bei $1 \cdot 10^{-2}$ M. Auch die gleichen Abbauprodukte werden hier gefunden.

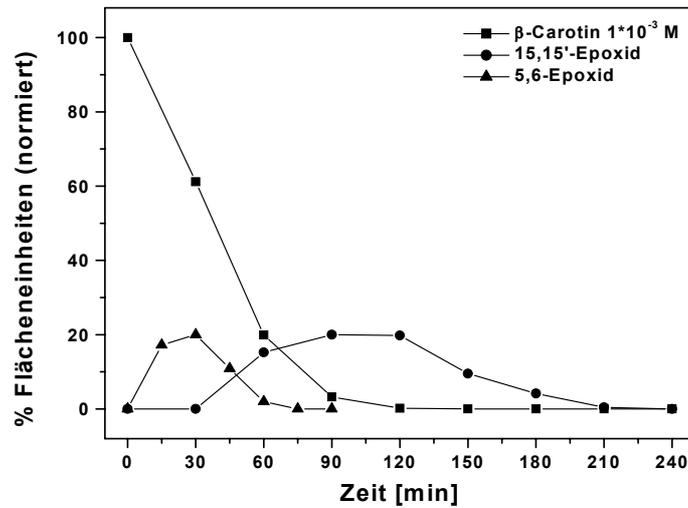


Abbildung 75: Verlauf des β -Carotinabbaus und der Epoxide

Aus den oben genannten Gründen werden die Flächeneinheiten der Epoxide auf 20 % des β -Carotin normiert.

Auf Grund der geringen Konzentrationen kann die Bildung des Retinals nicht verfolgt werden.

Messungen ohne Cumol

Die Messungen von β -Carotin bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M in Abwesenheit von Cumol, zeigen, dass Cumol eine Schutzwirkung für β -Carotin im System Cumol – β -Carotin – AMVN in Chlorbenzol besitzt. Mit und ohne Cumol werden dieselbe Abbauprodukte von β -Carotin gebildet. Dies bedeutet, dass Cumol zwar eine Schutzfunktion ausübt, aber keine Einfluß auf den Mechanismus des Carotinoidabbaus hat.

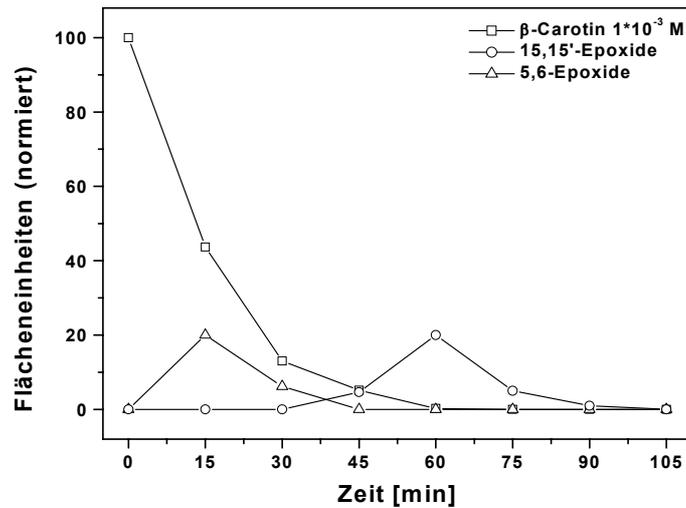


Abbildung 76: Verlauf des Abbaus von β -Carotin und Bildung und Zerfall der Epoxide bei Abwesenheit von Cumol

Zum Vergleich sind die Messungen von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin mit und ohne Cumol in folgender Graphik zusammengefasst:

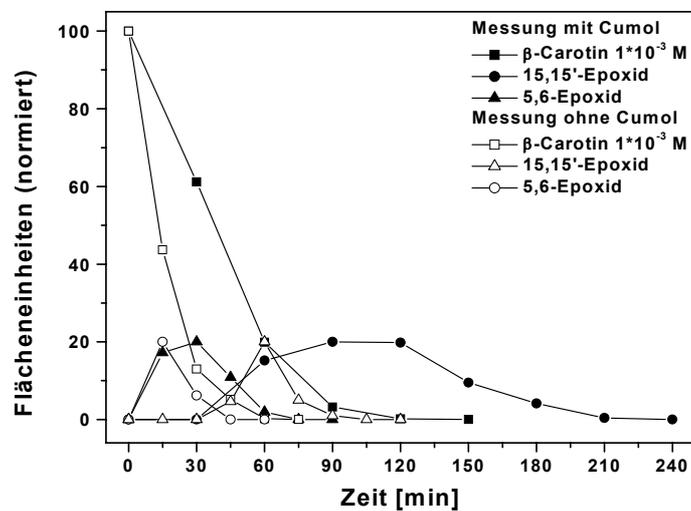


Abbildung 77: Vergleich der Messungen von β -Carotin mit und ohne Cumol

Das β -Carotin baut sich schneller ab, wenn kein Cumol vorhanden ist. Nach 1.5 h ist kein β -Carotin mehr zu beobachten.

3.2.2.5.2.2. Messungen ohne Starter

3.2.2.5.2.2.1. Messungen in Chlorbenzol

4 ml einer $2.5 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Chlorbenzol werden mit 5 ml reinem Cumol und 1 ml Chlorbenzol in einem Reaktionsgefäß aus Braunglas auf 37°C temperiert und 15 Tage lang chromatographisch verfolgt. In den ersten 10 h wurden in kurzen Intervallen Proben entnommen.

β -Carotin wird in den ersten 100 min stark abgebaut. Nach dieser Zeit nimmt jedoch aber noch nicht die Peroxidbildung zu. Nach 264 Stunden findet man eine starke Zunahme, da offensichtlich auch die aktiven Abbauprodukte des β -Carotin verbraucht sind.

Die Reaktionslösung ist nun farblos.

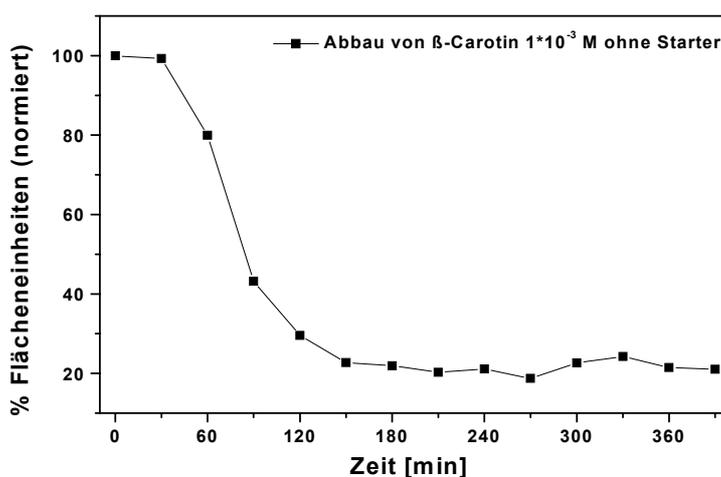


Abbildung 78: Abbau von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin ohne Starter

Die Bildung des Peroxids wurde über 15 Tagen verfolgt.

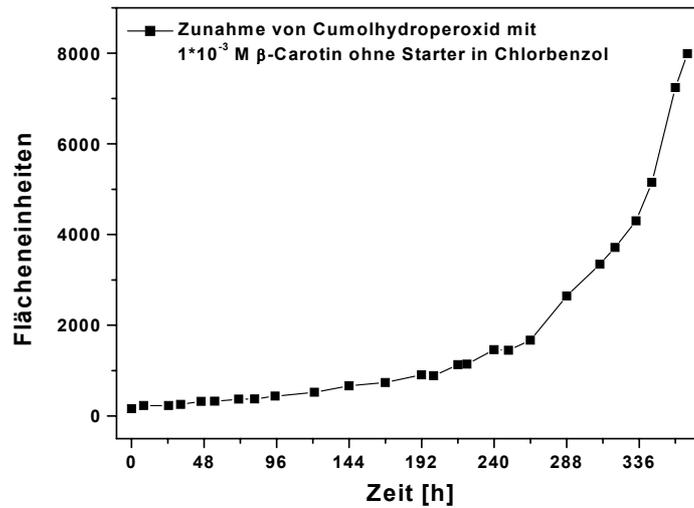


Abbildung 79: Zunahme von Cumolhydroperoxid in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Chlorbenzol ohne Starter

Die Kurve kann man in zwei Intervalle teilen. Im ersten Intervall, das sich bis zu 264 h (11 Tagen) erstreckt, bildet sich das Peroxid sehr langsam. Das β -Carotin und seine Abbauprodukte hemmen die Hydroperoxidbildung (Kurve weitgehend parallel zur x-Achse). Nach 264 h beginnt das Intervall, in welchem die Kurve parallel zur der Kurve ohne Inhibitor ansteigt.

Eine Referenzmessung mit Cumol ohne Starter in Chlorbenzol ergibt für die Bildung des Peroxid eine Gerade mit einer kurzen Induktionszeit in den ersten Stunden.

Die nächste Abbildung zeigt die Peroxidbildung ohne Starter in Chlorbenzol mit und ohne β -Carotin.

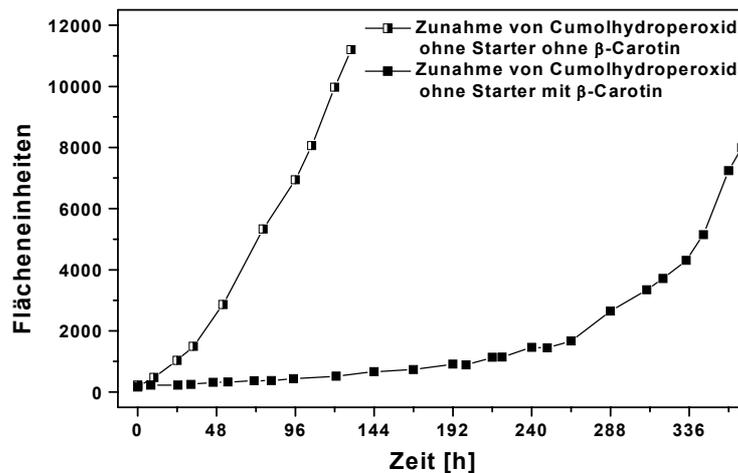


Abbildung 80: Zunahme von Cumolhydroperoxid ohne Starter in An- und Abwesenheit von β -Carotin

Interessant ist dabei, dass hierbei die gleichen Abbauprodukte von β -Carotin zu finden sind, wie bei einer radikalisch-initiierten Reaktion.

β -Carotin baut sich ab zu:

- 5,6-Epoxy- β -Carotin
- 5,6,5',6'-Diepoxy- β -Carotin. Dieses Epoxid ist wahrscheinlich auch in der radikalisch-initiierten Reaktion zu finden. Da eine schnelle Weiterreaktion erfolgt, liegt es nur in geringen Konzentration vor
- 15,15'- Epoxy- β -Carotin
- andere Verbindungen mit kürzeren Chromophoren, die bei 340, 330, 320, 280 nm absorbieren (es werden hier *cis*-Isomere vermutet)

Diese Abbauprodukte entsprechen den Beobachtungen von anderen Autoren [57],[101],[102].

Die Zeit ist der einzige Faktor, in der sich beide Reaktionen (mit und ohne Starter) unterscheiden. Während in der radikalisch-initiierten Reaktion bereits nach 2 h kein β -Carotin mehr nachzuweisen ist, verschwindet es in der nicht initiierten Reaktion erst nach 3 Tagen.

3.2.2.5.2.2.2. Messungen ohne Chlorbenzol

Um den Einfluß des Lösungsmittels Chlorbenzol zu untersuchen, wurden die Messungen mit β -Carotin ohne Chlorbenzol durchgeführt.

Im Reaktionsgefäß werden 5 ml reines Cumol gerührt und nach bestimmten Zeitintervallen gemessen.

Ohne einen Inhibitor ist die Cumolhydroperoxidbildung nicht zu stoppen.

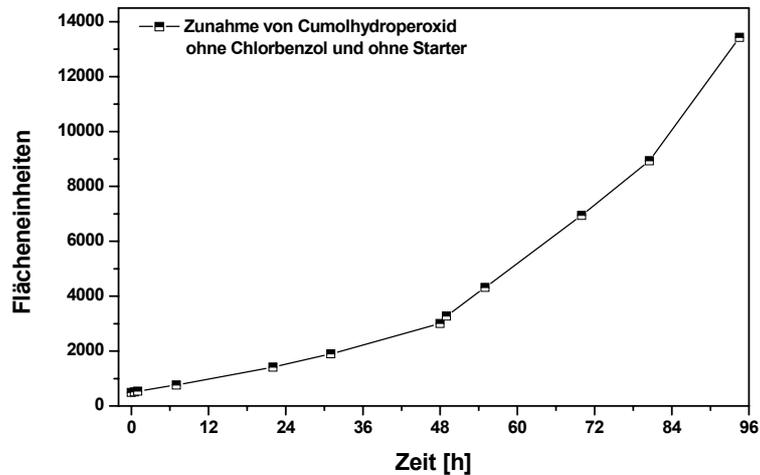


Abbildung 81: Cumolhydroperoxidbildung ohne Chlorbenzol und ohne Starter

Hier ist zu beachten, dass die Konzentration von Cumol doppelt so hoch ist, wie im Versuch mit Lösungsmittel, da kein Chlorbenzol vorhanden ist. Um beide Versuche vergleichen zu können, müssen die Werte des letzten Versuchs durch zwei dividiert werden.

Wie man aus der Graphik 81 entnehmen kann, sind beide Messungen gut zu vergleichen. Es wurde festgestellt, dass Chlorbenzol als Lösungsmittel keinen großen Einfluß auf die Peroxidbildung hat.

Eine Messung mit Cumol ohne Chlorbenzol in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin wurde durchgeführt.

Zu beachten sind auch hier die Konzentrationen im Vergleich mit der Messung in Chlorbenzol. Im Reaktionsgefäß liegen 5 ml reines Cumol und β -Carotin vor, wobei die Konzentration des β -Carotins wieder $1 \cdot 10^{-3}$ M entspricht.

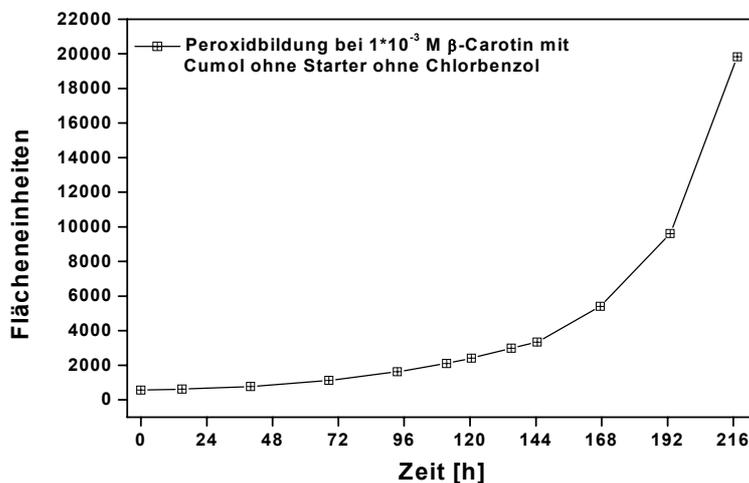


Abbildung 82: Peroxidbildung in Gegenwart von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin ohne Starter ohne Chlorbenzol

Der Kurvenverlauf sieht dem in Chlorbenzol gemessenen sehr ähnlich.

Wie in der Messung in Chlorbenzol kann man zwei Intervalle unterscheiden. Das erste Intervall endet nach 144 h (6 Tagen). Die Bildung des Peroxids wird in dieser Zeit von β -Carotin gehemmt. Diese Zeit ist aber deutlich kürzer als bei der Messung mit Chlorbenzol. Ohne Chlorbenzol ist die Peroxidbildung somit deutlich schneller.

Um dieses Ergebnis mit dem in Chlorbenzol vergleichen zu können, muß man die Peroxidbildung durch zwei teilen.

In der nächsten Abbildung werden beide Systeme verglichen.

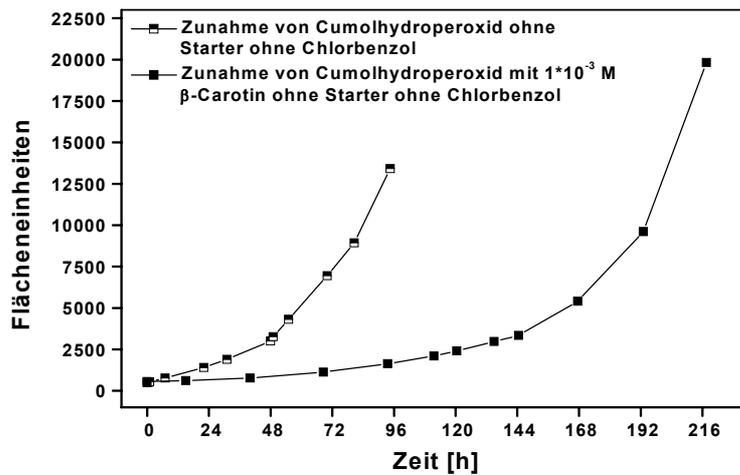


Abbildung 83: Cumolperoxidbildung mit und ohne β -Carotin im System ohne Starter/ohne Chlorbenzol

Die folgende Abbildung vergleicht die Peroxidbildung mit und ohne Lösungsmittel.

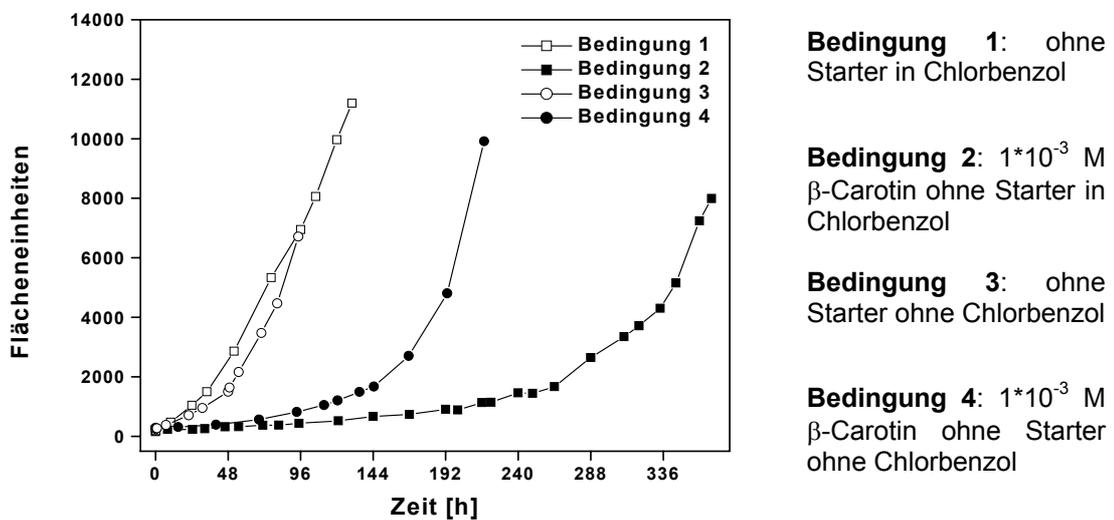
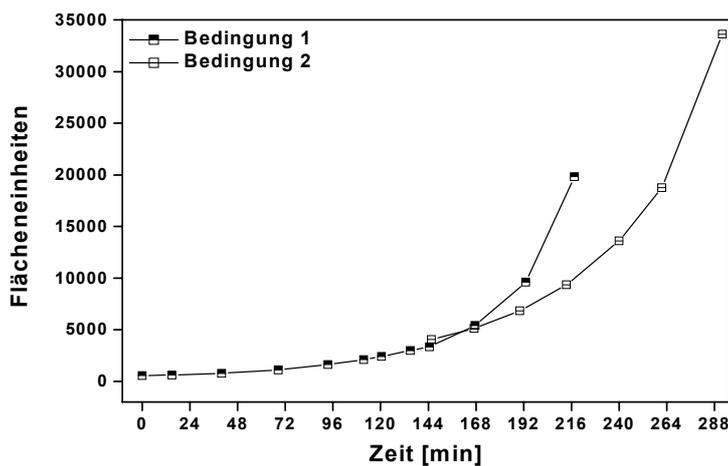


Abbildung 84: Peroxidbildung mit und ohne β -Carotin im System mit/ohne Chlorbenzol

Bei der Messung bleibt die Konzentration von β -Carotin gleich, das Reaktionsvolumen beträgt jedoch die Hälfte. Am Ende der Messung von β -Carotin ohne Chlorbenzol ist, wegen der Entnahmen der Meßproben, das gesamte Reaktionsgemisch verbraucht.

Hier wird ein Einfluß des Reaktionsvolumen vermutet. Um den Einfluß des Reaktionsvolumen festzustellen, wird der gleiche Versuch durchgeführt, wobei die erste Probe nach 144 h entnommen wird.

5 ml einer Lösung $1 \cdot 10^{-3}$ M von β -Carotin in Cumol sind im Reaktionsgefäß. Die erste Messung entspricht der vorigen Meßreihe, weitere Meßpunkte trennen sich von der ersten Messung. Wie es vermutet wurde, kann man einen Einfluß des Meßvolumens feststellen. Bei geringem Volumen im Reaktionsgefäß ist die Bildung des Peroxids schneller.



Bedingung 1: Peroxidbildung bei $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin mit Cumol ohne Starter ohne Chlorbenzol. Erste Messung schon ab 0 h in intervallen bei Anfangsvolumen von 5 ml

Bedingung 2: Peroxidbildung bei $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin mit Cumol ohne Starter ohne Chlorbenzol. Erste Messung erst ab 144 h in intervallen bei Anfangsvolumen von 5 ml

Abbildung 85: Einfluß des Meßvolumens in der Messung des β -Carotin ohne Chlorbenzol und ohne Starter

Eine realistische Kurve für die Peroxidsbildung in Abhängigkeit von der Zeit erhält man mit den Werten der ersten Messung bis 144 h und ab 144 h mit den Werten der letzten Messung.

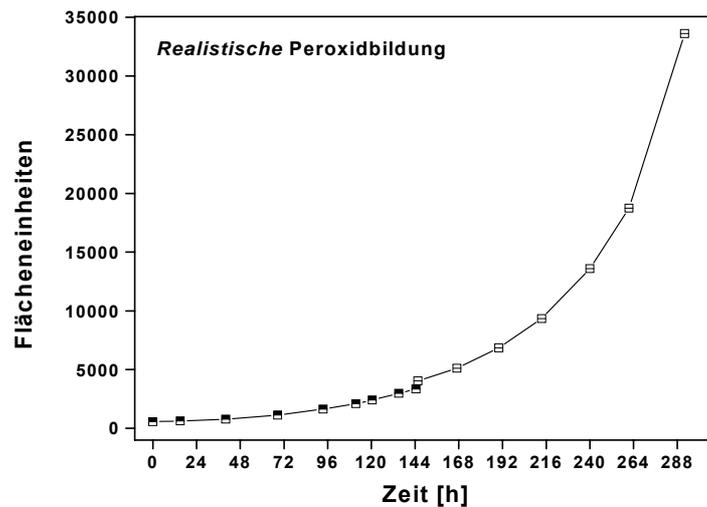
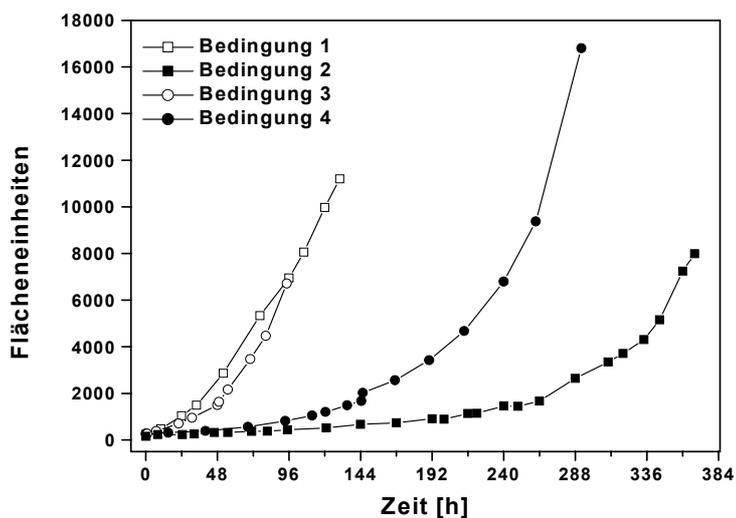


Abbildung 86: Realistische Peroxidbildung aus der Kombination zweier Meßreihen

Diese Kurve in Abb. 86 entspricht jedoch nicht der Peroxidbildung in Gegenwart von β -Carotin in Chlorbenzol (Kurve für Bedingung 2 in Abb. 87). Im letzten Fall bildet sich das Peroxid wesentlich langsamer.

Wenn die Kurven von den Messungen ohne Chlorbenzol aufgrund der verdoppelten Konzentration, durch zwei dividiert werden, können sie mit den vier durchgeführten Messungen verglichen werden.



Bedingung 1: ohne β -Carotin ohne Starter in Chlorbenzol

Bedingung 2: $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin ohne Starter in Chlorbenzol

Bedingung 3: ohne β -Carotin ohne Starter ohne Chlorbenzol

Bedingung 4: $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin ohne Starter ohne Chlorbenzol

Abbildung 87: Korrektur des Volumeneinflusses in der Messung der Peroxidbildung

In all diesen Experimenten wird versucht, die gleiche Volumenmenge wie in der systematischen Untersuchung beizubehalten, d.h. 5 ml Cumol und 5 ml Chlorbenzol. Das führt zu einem Fehler aufgrund der Verminderung des Volumens durch die Probeentnahme.

In der nächsten Graphik wird der Abbau von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Chlorbenzol unter verschiedenen Bedingungen abgebildet.

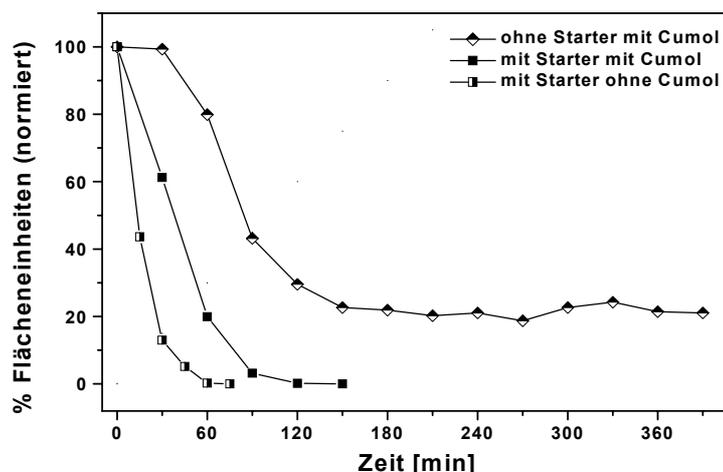


Abbildung 88: Abbau von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Chlorbenzol (gesamtvolumen 10 ml) unter verschiedenen Bedingungen

Beim Abbau von β -Carotin unter den drei Bedingungen sind die gleichen wichtigen Abbauprodukte zu finden.

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$1 \cdot 10^{-2}$ M	7.2 ± 0.1	92.8 ± 0.1
$2 \cdot 10^{-3}$ M	13.9 ± 1.3	86.1 ± 1.3
$1 \cdot 10^{-3}$ M	33.1 ± 0.3	66.9 ± 0.3

Tabelle 14: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von β -Carotin im System Cumol/AMVN/Chlorbenzol (5 ml : 45 mM : 5 ml) bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5 h.

3.2.2.5.3. Prooxidative Eigenschaften von β -Carotin. Vergleich der Messergebnisse mit den Ergebnisse von Haila

Ein Prooxidans wird nach Palozza^[103] definiert als ein Agens, das oxidativen Stress induzieren kann, der definiert ist in einer Verschiebung des prooxidativen-antioxidativen Gleichgewichtes in Richtung oxidativer Aktivität.

Prooxidative Aktivität umfasst die Eigenschaft von β -Carotin die gesamte Radikalmenge des Systems zu steigern.

Dieser prooxidative Effekt von β -Carotin wird in der Literatur intensiv diskutiert:

- Burton und Ingold^[104] beobachteten zum ersten Mal einen Effekt den sie prooxidative Aktivität nannten. Die Bedingungen waren hoher Sauerstoffdruck und hohe Carotinoidkonzentration
- Liebler^[59] behauptet, dass β -Carotin in Abhängigkeit von den Meßbedingungen prooxidativ oder antioxidativ wirken kann
- Biesalski et al.^[105] finden prooxidative Effekte von β -Carotin in Hautzellen, die einer UV-A-Strahlung ausgesetzt wurden. Bei ähnlichen Bedingungen wie bei Biesalski et al.^[105], finden Stahl et al.^[106] eine antioxidative Aktivität von β -Carotin in Hautzellen die UV-Licht ausgesetzt wurden
- Palozza et al.^[107] finden bei einem hohen Sauerstoffdruck von 760 mm Hg prooxidative Eigenschaft von β -Carotin, für einen Druck von 150 mm Hg antioxidative Eigenschaften. Bei hoher Carotinoidkonzentration finden sie auch prooxidative Eigenschaften von β -Carotin
- Die CARET-Studie (*Beta Carotene and Retinol Efficacy Trial*) und die ATBC-Studie (*α -Tocopherol, β -Carotene Cancer Prevention Trial*) berichten über prooxidative Effekte bei der zusätzlicher Aufnahme von β -Carotin bei Rauchern^{[108],[109]}

Hieraus erkennt man, dass unter Bedingungen, die vom Normalverhalten abweichen, eine prooxidative Aktivität von β -Carotin auftreten kann.

Die Ergebnisse von Haila et al.^[110] widersprechen den bis heute gefundenen prooxidativen Effekten an β -Carotin. Sie finden prooxidative Effekte bei

Normaldruck und Konzentrationen von β -Carotin bei ihren Untersuchungen von β -Carotin und Retinal im Methyllinoleatsystem bei 40 °C.

Haila et al.^[110]'s Bedingungen

Eine Lösung aus β -Carotin/Retinal mit Methyllinoleat wird bei 40 °C 168 h lang chromatographisch untersucht.

Haila et al.^[110] beobachten eine Hydroperoxid-Entwicklung nach 72 h. Die Hydroperoxidbildung in Gegenwart von β -Carotin ist um so größer, je größer die Konzentration an β -Carotin ist. Nach 144 h nimmt die Peroxidkonzentration wieder ab. Diese Zuordnung Konzentration – Peroxidbildung trifft beim Retinal nicht zu. In diesem Fall hängt die Peroxidbildung nicht von der Konzentration ab.

Haila et al.^[110] machen die Entfärbung der Lösung von β -Carotin und Retinal verantwortlich für die prooxidativen Eigenschaften.

In der nächsten Tabelle sind die unterschiedlichen Messbedingungen der HPLC-Untersuchung verschiedener Autoren zusammengefaßt.

Autor	Starter	Substrat	Verhältnis β-Carotin/Substrat	Lösungsmittel	T
Haila ^[110]	--	Methyllinoleat	5, 20, 500 μ g/g	--	40 °C
Schmidt ^[93]	AMVN	Cumol	0.25, 1.25, 2.50, 6.25 mg/g	Chlorbenzol	37 °C
Schmidt ^[93]	AMVN	Methyllinoleat	keine Angabe	Chlorbenzol	37 °C
Hernández Blanco	AMVN	Cumol	0.25, 1.25, 2.50 mg/g	Chlorbenzol	37 °C
Hernández Blanco	--	Cumol	1.25 mg/g	Chlorbenzol	37 °C
Hernández Blanco	--	Cumol	1.25 mg/g	--	37 °C
El Oualja ^{[111],[112]}	AIBN	Ethyllinoleat	keine Angabe	Chlorbenzol	50 °C
Terao ^[50]	AMVN	Methyllinoleat	268 mg/2.9 g	n-Hexan / Isopropanol	37 °C
Mordi ^[113]	--	--	587 mg	Benzol/ Chloroform	30 °C
Handelman ^[56]	AIBN	--	200 μ M	Toluol	37 °C
Liebler ^{[55],[59]}	AMVN	--	50 mg	n-Hexan	37 °C

Tabelle 15: Unterschiedliche Messbedingungen der HPLC-Untersuchung verschiedener Autoren

Alle Autoren, außer Haila et al.^[110], finden in ihren Untersuchungen antioxidative Eigenschaften von β -Carotin. Die antioxidative Fähigkeit von β -Carotin wird auch von diversen Autoren^{[104],[114],[115]} mit einer *pressure transducer*-Methode (eine Methode, bei der der Sauerstoffverbrauch im Meßsystem untersucht wird) gefunden.

Die HPLC-Daten werden in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Autor	Lösungsmittel	Verhältnis	Flow (ml/min)	UV-Detektion
Haila ^[110]	n-Hexan	88 : 12	0.4	234 nm
Schmidt ^[93]	n-Hexan/Isopropanol	99 : 1	2	254 nm
Hernández Blanco	n-Hexan/Isopropanol	99 : 1	2	254 nm
El Oualja ^{[111],[112]}	Methanol	100	?	450 nm
Terao ^[50]	Acetonitril/Isopropanol	3 : 1	3	470 nm
Mordi ^[113]	Wasser/Methanol/Acetonitril/Dichlormethan	Gradient	1	350 / 250 nm
Liebler ^{[55],[59]}	Methanol/ n-Hexan/Ethylacetat	Gradient	1.5 - 1	235 nm

Tabelle 16: HPLC-Daten der Untersuchungen

In dieser Arbeit wurden die Eigenschaften von β -Carotin bezüglich der Peroxidbildung im Substrat Cumol unter den gleichen Bedingungen wie bei Haila et al.^[110] untersucht. Es wurden die antioxidative Effekte von β -Carotin bestätigt.

Vergleich der beiden Methoden

Nach der in dieser Arbeit verwendeten Methode wurde eine Messung von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Gegenwart von Cumol ohne Starter (AMVN) untersucht (s. 3.2.2.4.2.2.2.).

Nach 144 h (6 Tagen) befinden sich noch Abbauprodukte von β -Carotin im Reaktionssystem, die auch einen Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften

haben, da das Cumolhydroperoxid nur sehr langsam entsteht. In Hailas Modell bildet sich kein Peroxid vor 72 h.

Die Entfärbung der Lösung wird durch das Verschwinden des β -Carotins und seiner Abbauprodukten erklärt. Für Haila et al.^[110] ist das Verschwinden der Farbe für den prooxidativen Effekt verantwortlich, da die Abbauprodukte von β -Carotin für die prooxidative Effekt zu rechnen sind.

Als Reaktionsprodukte von β -Carotin finden Haila et al.^[110] *cis-trans*-Isomere des β -Carotins. Bei dem während dieser Arbeit durchgeführten Versuchs sind die gleichen Abbauprodukte, die bei der radikalisch-initiierten Oxidation auftreten, zu finden.

Beide Modelle sind jedoch nicht direkt vergleichbar, da sie sich im Substrat, in der Temperatur und in der Konzentration von β -Carotin unterscheiden. Die Methode, die dieser Arbeit zugrunde liegt, nutzt Cumol als Substrat bei einer Temperatur von 37 °C, Hailas et al.^[110] benutzen ein lipophiles Substrat, das Methyl- linoleat, bei 40 °C. Die Konzentration von β -Carotin in dieser Untersuchung ist wesentlich (50 – 500 mal) höher als bei Haila et al.^[110]. Haila et al.^[110] ordnen einen prooxidativen Effekt der hohen β -Carotin-Konzentration zu, sie benutzen aber sehr kleine Konzentrationen (s. Tabelle 15).

Ein ähnliches System, in dem das Methyl- linoleat als Substrat benutzt wird, führt Terao^[50] zu antioxidativen Eigenschaften von β -Carotin. Terao^[50] benutzt einen Radikalstarter bei der Autoxidation. Haila et al.^[110] erklären den antioxidativen Effekt von β -Carotin in der Messung mit Starter als die Fähigkeit von β -Carotin die durch Azoverbindungen erzeugten Radikale abzufangen.

Einige der wichtigen Punkte beider Messungen werden in der folgenden Tabelle zusammengefaßt:

Haila et al.^[110]	Hernández Blanco
Methylinoleat	Cumol
Keine Peroxidbildung vor 72 h	Keine Peroxidbildung vor 144 h
Entfärben als prooxidativer Effekt	Entfärben als Abbau von β -Carotin in kleinere Chromophore
<i>Cis-trans</i> -Isomere	Epoxide, gleiche Abbauprodukte wie bei der radikalisch initiierten Oxidation
β -Carotin mit Radikalstarter führt zu antioxidativen Eigenschaften, da β -Carotin azo-Radikale abfängt	Im jedem Fall zeigt sich β -Carotin als antioxidativ

Tabelle 17: Zusammenfassung der wichtige Punkte der Messungen von Haila et al.^[110] und von dieser Arbeit

Die Messungen von Haila et al.^[110] führen zu kritischen Fragen:

- Können die Messungen an β -Carotin und Retinal reproduziert werden?
- Warum sind die Referenzmessungen an Methylinoleat für β -Carotin und Retinal nicht reproduzierbar?
- Bleibt das Methylinoleat die ersten 72 h stabil?

3.2.2.5.4. Natürliche Carotinoide

Capsorubin **20**, Capsanthin **16**, Zeaxanthin **93** und Lutein **94** sind vier Carotinoide, die in der roten Paprika (*Capsicum annuum* L.) zu finden sind.

Eine Säulen-Chromatographie von *Capsicum annuum* L. (rote Paprika) liefert zwei isochromatische Fraktionen^[116]:

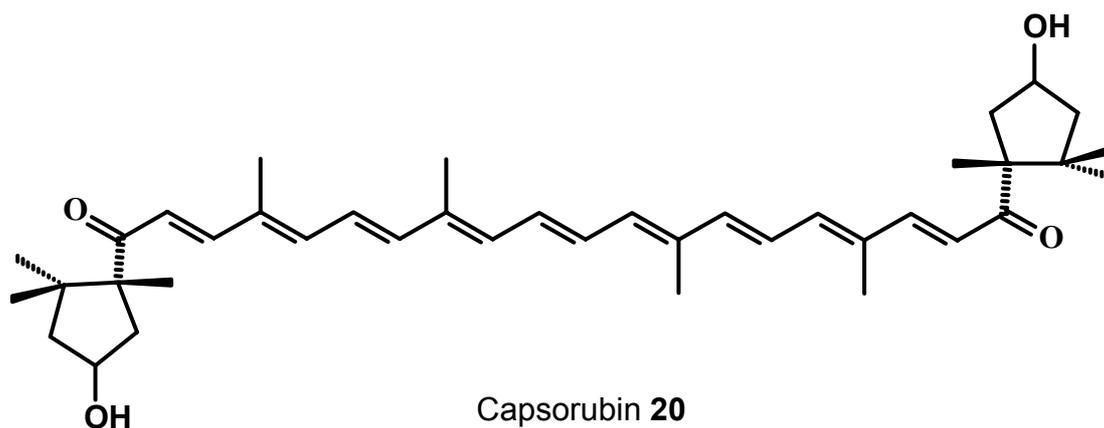
- eine rote Fraktion mit Capsorubin und Capsanthin als Hauptvertreter und
- eine gelbe Fraktion mit β -Carotin, Zeaxanthin und Lutein sowie andere Carotinoide.

Die Anwesenheit einer Ketogruppe im Molekül verleiht dem eine erhöhte Stabilität.

Die antioxidativen Eigenschaften von Capsorubin **20**, Canthaxanthin **15**, Zeaxanthin **93** und Lutein **94** wurden nach unserer Methode mit Cumol als Substrat in Chlorbenzol auf die Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung in den drei üblichen Konzentrationen ($2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-3}$ M) untersucht.

Die vier Xanthophylle wurden nach einer etablierten Methode^[117] aus der roten Paprika gewonnen.

3.2.2.5.4.1. Capsorubin (3,3'-Dihydroxy- κ,κ -carotin-6,6'-dion)



Die C₄₀-Xanthophylle mit zwei κ -Ringen zeigen sich bei jeder gemessenen Konzentration als ein erfolgreiches Antioxidans.

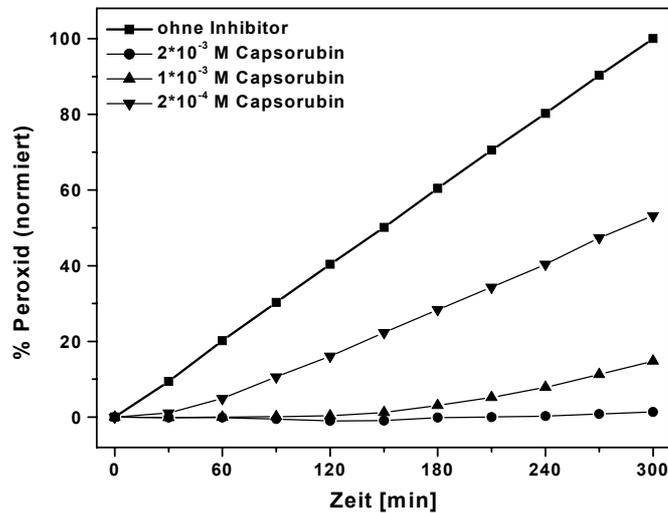


Abbildung 89: Peroxidbildung in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M Capsorubin **20** und ohne Antioxidans

In der höchsten Konzentration ($2 \cdot 10^{-3}$ M) haben sich nach 600 min im Vergleich zu der Referenzmessung (ohne Inhibitor) knapp 20 % des Peroxids gebildet.

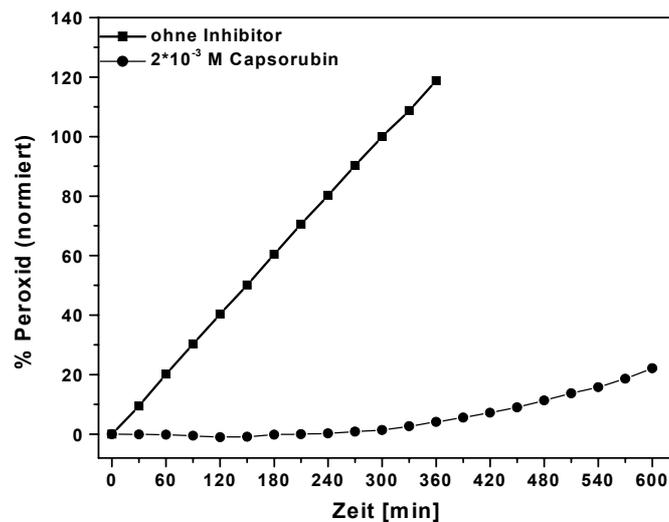


Abbildung 90: Peroxidbildung mit und ohne $2 \cdot 10^{-3}$ M Capsorubin

Etwa 210 min lang inhibiert Capsorubin bei dieser Konzentration die Peroxidbildung vollständig. Ab diesem Zeitpunkt wird langsam das Cumolhydroperoxid gebildet. Da nach 270 min kein Capsorubin mehr im Reaktionsgemisch nachgewiesen werden kann, sollten seine gebildeten Abbauprodukte an der Inhibition des Cumolhydroperoxids teilnehmen. Neben dem Peak von Capsorubin erscheinen im Chromatogramm Abbauprodukte, die bei 440 nm absorbieren. Die Nähe beider Peaks erlaubt keine saubere Integration der Fläche von Capsorubin. Dies könnte die sigmoidale Kurve in den ersten Minuten des Abbaus von Capsorubin bei dieser Konzentration erklären.

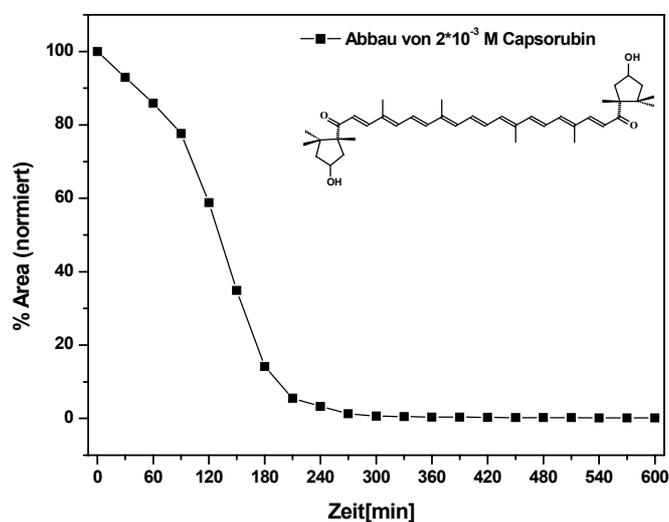


Abbildung 91: Abbau von $2 \cdot 10^{-3}$ M Capsorubin

Die nächste Graphik 92 vergleicht die Peroxidbildung in Gegenwart von Capsorubin **20** und β -Carotin **14** für eine Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M.

Nach den ersten 90 min steigt die Peroxidbildung in Gegenwart von β -Carotin **14** schneller als in Gegenwart von Capsorubin **20** bei $1 \cdot 10^{-3}$ M. Zu diesem Zeitpunkt verbleiben im Reaktionsgefäß nur 3 % β -Carotin **14** und 20 % Capsorubin **20**, die weiter die Peroxidbildung hemmen. β -Carotin **14** baut sich schneller als Capsorubin **20** ab. Carotinoide mit Ketogruppe sind somit stabiler als die, die keine Ketogruppe besitzen. Diese Beobachtung trifft auch beim Canthaxanthin **15** zu.

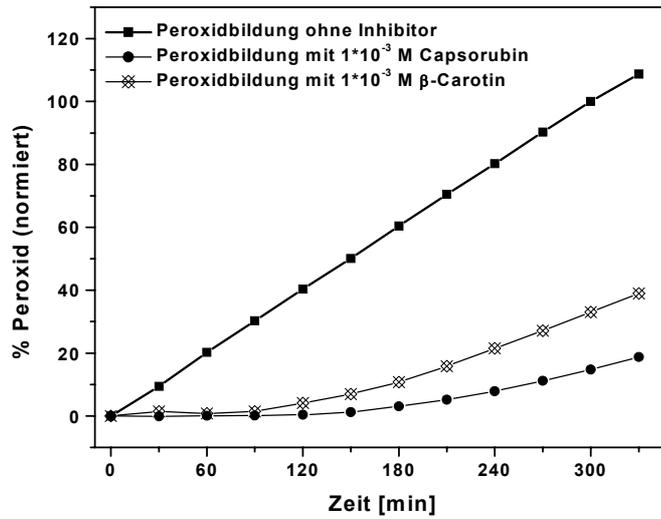


Abbildung 92: Peroxidbildung bei einer Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M von Capsorubin **20** und β -Carotin **14**

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 93 zusammengefasst.

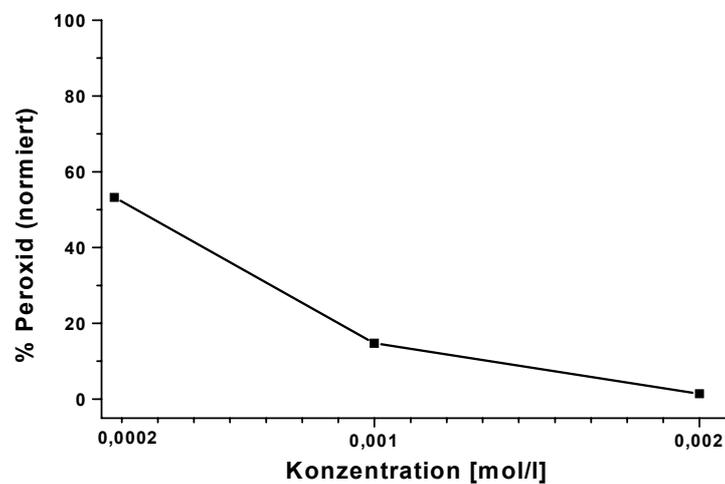
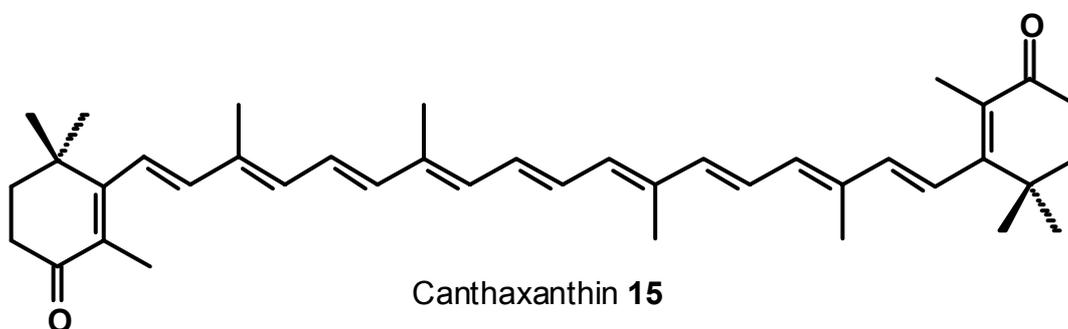


Abbildung 93: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	1.4 ± 0.7	98.6 ± 0.7
$1 \cdot 10^{-3}$ M	14.8 ± 0.7	85.2 ± 0.7
$2 \cdot 10^{-4}$ M	53.3 ± 1.3	46.7 ± 1.3

Tabelle 18: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Capsorubin bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5h.

3.2.2.5.4.2. Canthaxanthin (β , β -Carotin-4,4'-dion)



Das Canthaxanthin verhält sich in den zwei höchsten Konzentrationen wie ein erfolgreiches Antioxidans. In der kleinsten Konzentration wird die Peroxidbildung nur knapp 1 h unterdrückt.

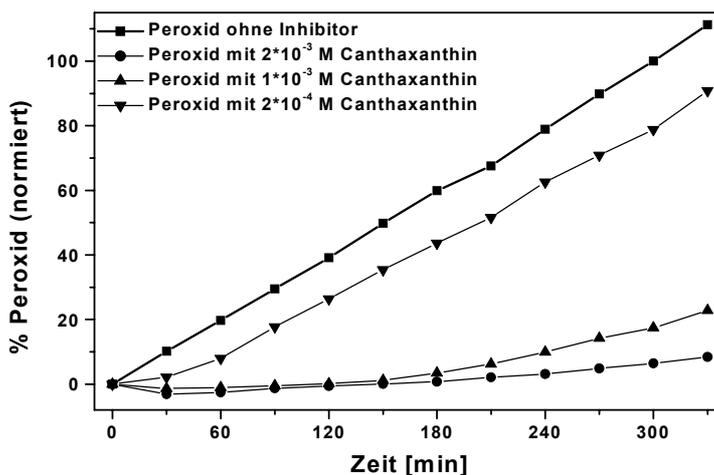


Abbildung 94: Peroxidbildung in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M Canthaxanthin 15 und ohne Antioxidans

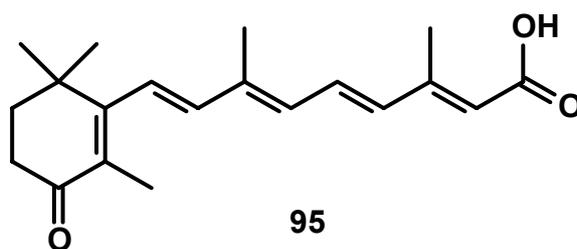
Die Messung bei der höchsten Konzentration $2 \cdot 10^{-3}$ M erlaubt die Detektion der Abbauprodukte von Canthaxanthin. Bei den anderen Konzentrationen, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M, sind die Abbauprodukte kaum zu erkennen, da sie sich in sehr kleinen Konzentrationen bilden und deshalb nicht erfaßt werden.

Bei der Messung von $2 \cdot 10^{-3}$ M Canthaxanthin **15** ist nach dem Signal von Canthaxanthin **15** ein kleines Signal zu erkennen, welches bei 400 nm absorbiert. Das Signal erscheint nach den ersten Minuten und nimmt mit der Zeit zu. Zur gleichen Zeit ist neben dem Signal von Canthaxanthin ein weiteres Signal zu finden, das bei 360-370 nm absorbiert.

Je kleiner das Signal von Canthaxanthin **15** wird, desto mehr nehmen die kleinen Peaks der Chromophoren bei 340-350 nm zu.

Die Abbauprodukte von Canthaxanthin **15** sind in der Literatur^[49] als Verbindungen beschrieben, bei denen eine Addition eines Peroxidradikals an das Doppelbindungs-System stattgefunden hat^[49]. Yamauchi und Kato^[49] benutzen Methylinoleat als Substrat und AMVN als Radikalstarter. Die berichteten Abbauprodukte haben ihre Absorptionsmaxima zwischen 400 und 330 nm.

Über die biologische Aktivität von Canthaxanthin berichten Stahl und Sies^[118]. Die Entstehung von aktiven Abbauprodukten von Canthaxanthin **15**, wie 4-Ketoretinsäure **95**, soll einen Anteil an der biologischen Aktivität von Canthaxanthin haben.



Ein direkter Vergleich mit β -Carotin folgt in der nächsten Graphik. β -Carotin baut sich schneller als Canthaxanthin ab.

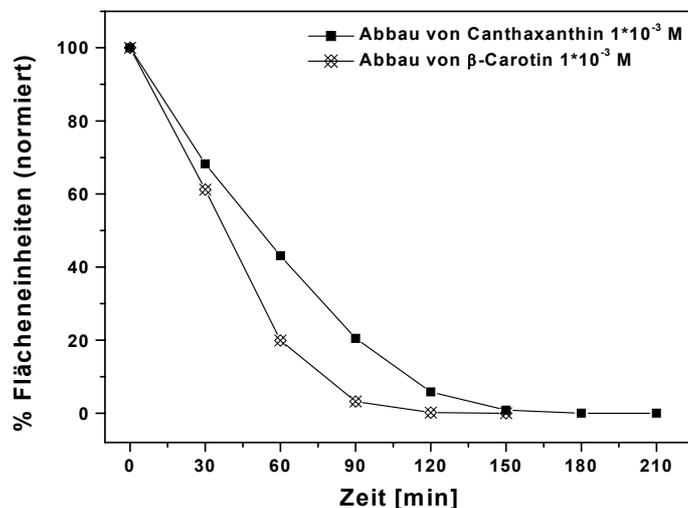


Abbildung 95: Abbau von $1 \cdot 10^{-3}$ M Canthaxanthin und $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin

Die Halbwertszeit beider Verbindungen beträgt 35.5 min für das β -Carotin **14** und 52 min für das Canthaxanthin **15**.

Der Schutz des Cumols wird in der nächsten Graphik verglichen.

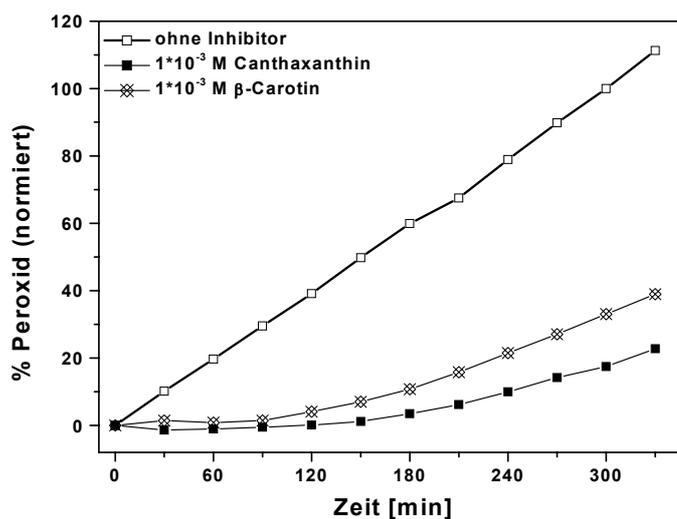


Abbildung 96: Peroxidbildung mit $1 \cdot 10^{-3}$ M Canthaxanthin und $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin

Canthaxanthin **15** schützt das Substrat Cumol länger vor der Oxidation als β -Carotin **14**. Nach 300 min werden nur 17.5 % Peroxid in Gegenwart von Canthaxanthin **15** gebildet, gegenüber 33 % in Gegenwart von β -Carotin.

Nach 150 min gibt es kein Canthaxanthin **15** mehr im Reaktionsgemisch, trotzdem wird die Peroxidbildung weiter unterdrückt. Dies bedeutet, dass es auch Abbauprodukte von Canthaxanthin **15** gibt, die antioxidative Eigenschaften besitzen.

Es spricht vieles dafür, dass das gebildete Radikal besser stabilisiert wird, wenn eine Ketogruppe am Ende der Polyenkette steht.

Die Position der Ketogruppe kann auch eine Rolle bei der Stabilisierung der gebildeten Oxidationsprodukte spielen. Der Chromophor im Capsorubin ist kleiner als Chromophor im Canthaxanthin.

Der Vorschlag von mehreren Autoren^{[50],[51],[54],[119]}, dass Keto-Carotinoide effektiver gegen Lipidperoxidation wirken, wird in dieser Arbeit bekräftigt:

Für den Schutz des Substrats Cumol sind die Keto-Carotinoide effektivere Antioxidantien als die Carotinoide, die keine Ketogruppe besitzen.

Diese Beobachtung wurde bei der Messung von Capsorubin bestätigt (s. oben 3.2.2.4.4.1).

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min werden für die drei Konzentrationen in Abbildung 97 zusammengefaßt.

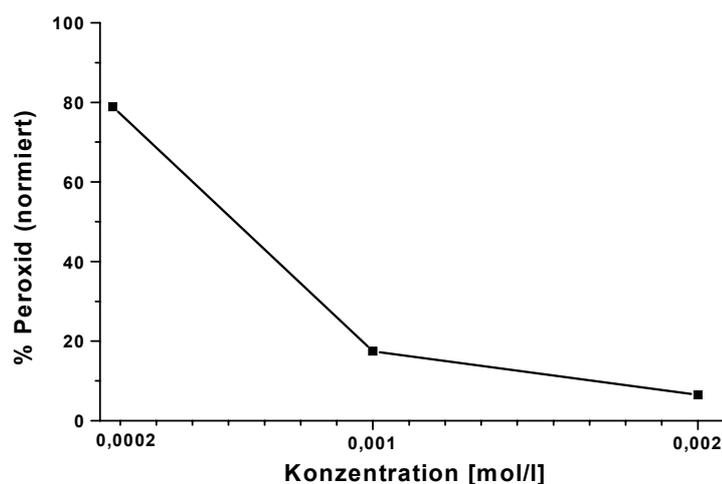


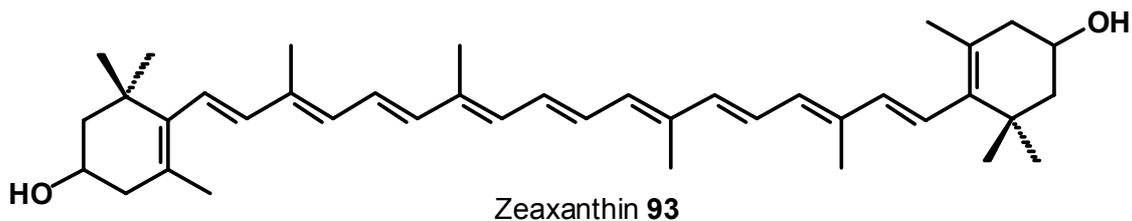
Abbildung 97: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration von Canthaxanthin **15**

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	6.5 ± 1.8	93.5 ± 1.8
$1 \cdot 10^{-3}$ M	17.5 ± 1.7	82.5 ± 1.7
$2 \cdot 10^{-4}$ M	78.9 ± 3.8	21.1 ± 3.8

Tabelle 19: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Canthaxanthin bei den drei gemessene Konzentrationen nach 5h.

3.2.2.5.4.3. Zeaxanthin (β , β -Carotin-3,3'-diol)

Zeaxanthin **93** zusammen mit Lutein **94** sind wichtige Carotinoide, die für das Sehvermögen der Menschen eine entscheidende Bedeutung haben^[120].



Folgende Graphik zeigt die Inhibition der Bildung von Cumolhydroperoxid in Gegenwart von $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M, $2 \cdot 10^{-4}$ M Zeaxanthin und ohne Inhibitor.

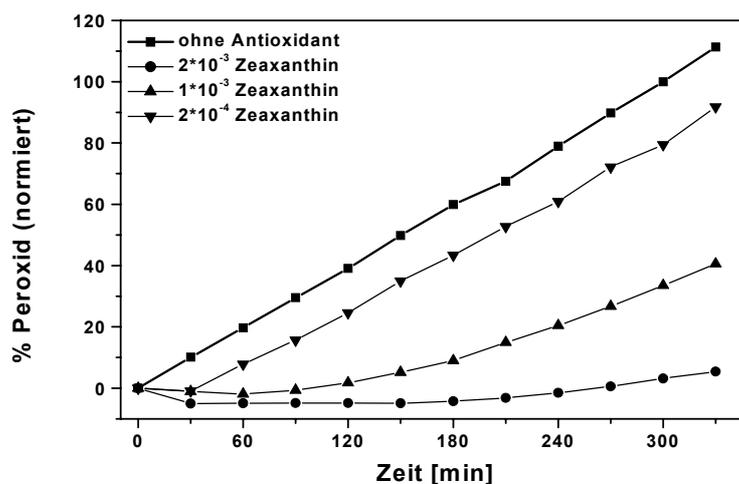


Abbildung 98: Peroxidinhibition in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Zeaxanthin **93**

Zeaxanthin hat einen inhibierenden Effekt gegenüber der Bildung von Cumolhydroperoxid. Es unterdrückt bei jeder Konzentration nicht nur die Peroxidbildung, sondern fängt auch die Cumolhydroperoxide ab, die sich schon in den ersten Minuten der Reaktion in der Lösung befinden.

Dieser Effekt trifft sehr selten auch für recht gute Antioxidanten zu.

Im der nächsten Graphik wird der Einfluß von Zeaxanthin und β -Carotin für eine Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M auf die Peroxidbildung verglichen.

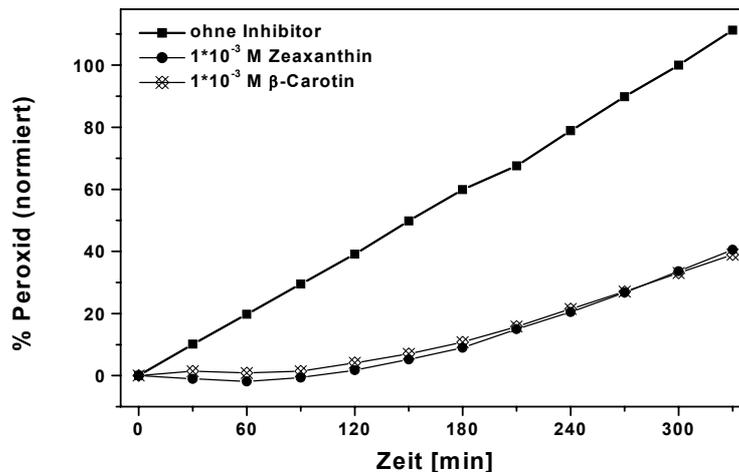


Abbildung 99: Peroxidbildung mit $1 \cdot 10^{-3}$ M Zeaxanthin **93** und $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin **14**

Man findet keinen Unterschied in beiden Messungen. Während das β -Carotin die Peroxidbildung stoppt, fängt das Zeaxanthin die schon im Reaktionsgefäß befindlichen Peroxidradikale ab.

Der Verlauf beider Kurven ist identisch, dies bedeutet, dass es für beide Verbindungen die gleiche Kinetik gibt. Da Abbauprodukte des β -Carotins zu den antioxidativen Eigenschaften beitragen, kann man schlußfolgern, dass die Abbauprodukte von Zeaxanthin **93** auch an der Inhibierung der Peroxidbildung teilnehmen.

Nach den ersten Minuten zeigen beide Kurven den gleichen Verlauf.

Die ähnlichen antioxidativen Eigenschaften von Zeaxanthin **93** und β -Carotin **14** wurden von Pérez-Gálvez et al. ^[121] und Britton et al. ^[122] beobachtet.

Der Abbau von Zeaxanthin wurde ebenso verfolgt. Zeaxanthin baut sich schneller als β -Carotin ab. Dies spricht dafür, dass Abbauprodukte von Zeaxanthin ihre antioxidative Wirkung zeigen, wenn kein Zeaxanthin mehr vorhanden ist.

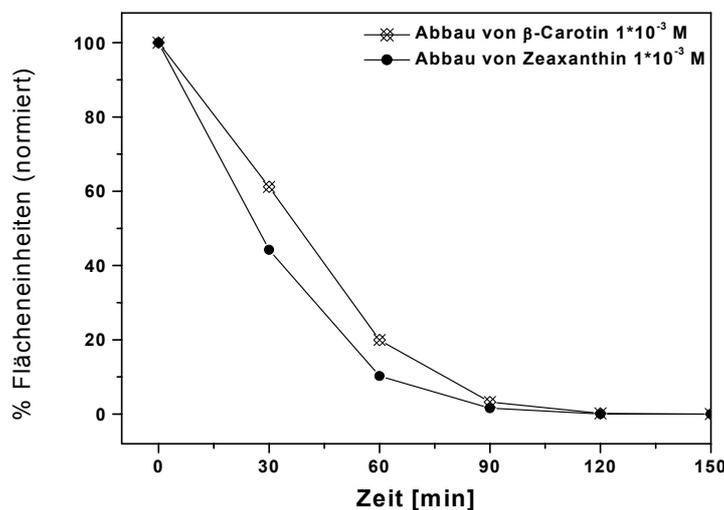


Abbildung 100: Abbau von Zeaxanthin **93** und β -Carotin **14** bei $1 \cdot 10^{-3}$ M

Die Halbwertszeit für Zeaxanthin beträgt 27 min gegenüber die 38.5 min von β -Carotin.

In der nächsten Graphik wird der Abbau von β -Carotin und Zeaxanthin zusammen mit der Peroxidbildung für beide Verbindungen abgebildet. Die Peroxidbildung wird auf das Referenzexperiment normiert, der Abbau auf 100 % Flächeneinheiten.

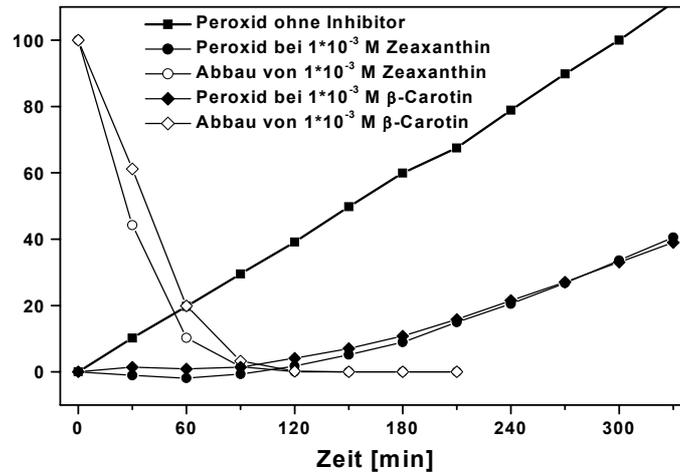


Abbildung 101: Vergleich von Peroxidbildung und Abbau von Zeaxanthin und β -Carotin für $1 \cdot 10^{-3}$ M

Zeaxanthin zeigt sich bei einer höheren Konzentration ($2 \cdot 10^{-3}$ M) als besseres Antioxidans.

Für $2 \cdot 10^{-3}$ M laufen die Peroxidbildungskurven parallel. Die Messung in dieser höchsten Konzentration zeigt Zeaxanthin **93** als ein besseres Antioxidans als β -Carotin **14**.

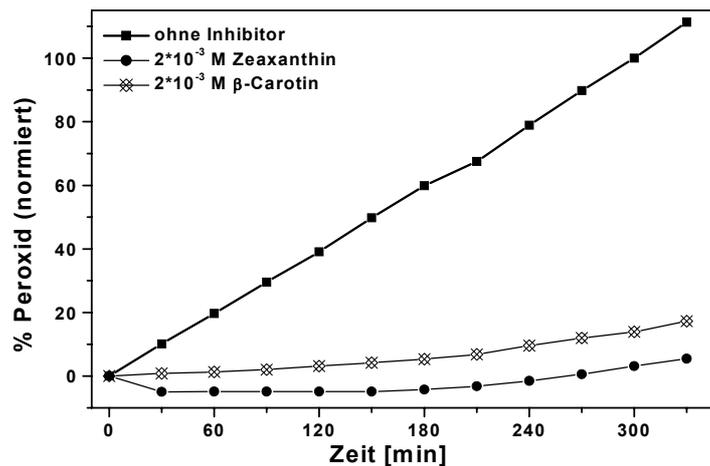


Abbildung 102: Vergleich der Peroxidbildung bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin **14** und Zeaxanthin **93**

Der Abbau von beiden Verbindungen für diese Konzentration wird in der nächsten Graphik abgebildet.

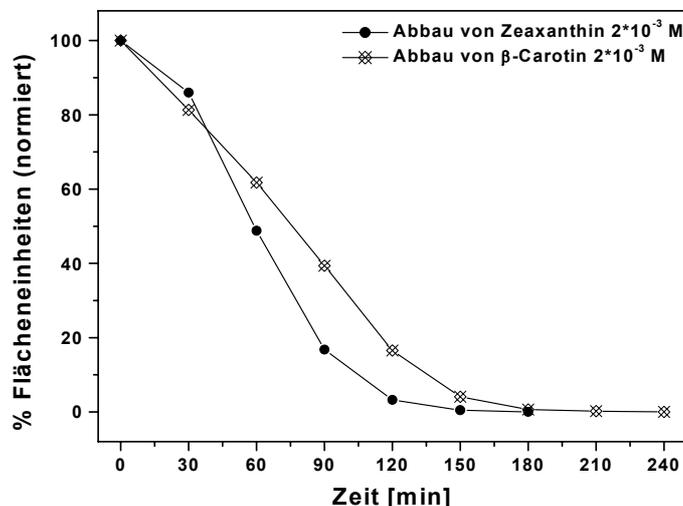


Abbildung 103: Abbau von Zeaxanthin und β -Carotin für $2 \cdot 10^{-3}$ M

Zeaxanthin **93** baut sich schneller ab, aber seine Abbauprodukte sind effektiver als die von β -Carotin, da sie die Peroxidbildung länger hemmen können.

Die Halbwertszeit für Zeaxanthin bei dieser Konzentration beträgt 59 min und für β -Carotin 76 min.

Nach 270 Minuten kann Cumolhydroperoxid nachgewiesen werden.

Bei dieser Konzentration verhindert das Zeaxanthin die Peroxidbildung länger als β -Carotin. Beide Kurven verlaufen nahezu parallel.

Der Mechanismus des antioxidativen Schutzes scheint für Zeaxanthin und β -Carotin der gleiche zu sein.

Verschiedene Peaks von Abbauprodukten erscheinen im Chromatogramm. Es konnte kein Peak zugeordnet werden. In der Literatur gibt hierzu kaum Daten.

Als natürliche Produkte werden in der Literatur^[123] das Violaxanthin **96** (5,5',6,6'-Diepoxid von Zeaxanthin) und das Antheraxanthin **97** (5,6-Epoxid von Zeaxanthin), mit den Absorption bei 419 nm, 440 nm, 470 nm für das Violaxanthin und bei 425 nm, 450 nm, 478 nm für das Antheraxanthin, beschrieben. Beide Carotinoidepoxide absorbieren wenig hypsochromer als Zeaxanthin (425, 450 und 478 nm). Es wurden keine Peaks in den

Chromatogrammen bei den genannten Wellenlängen beobachtet. Es wurden nur Peaks mit kleiner Integrationsfläche beobachtet, deren Auf- und Abbau deshalb nicht verfolgt werden konnte.

Derartige Beobachtungen im Verlauf der Messung sprechen für das Auftreten sehr kurzlebiger Abbauprodukte.

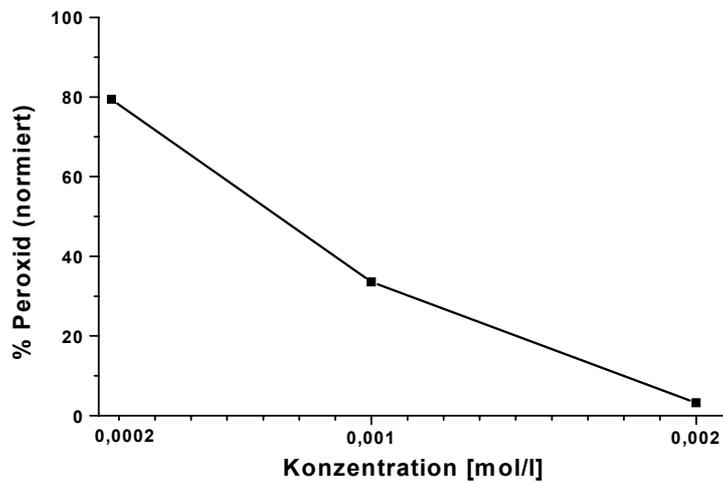
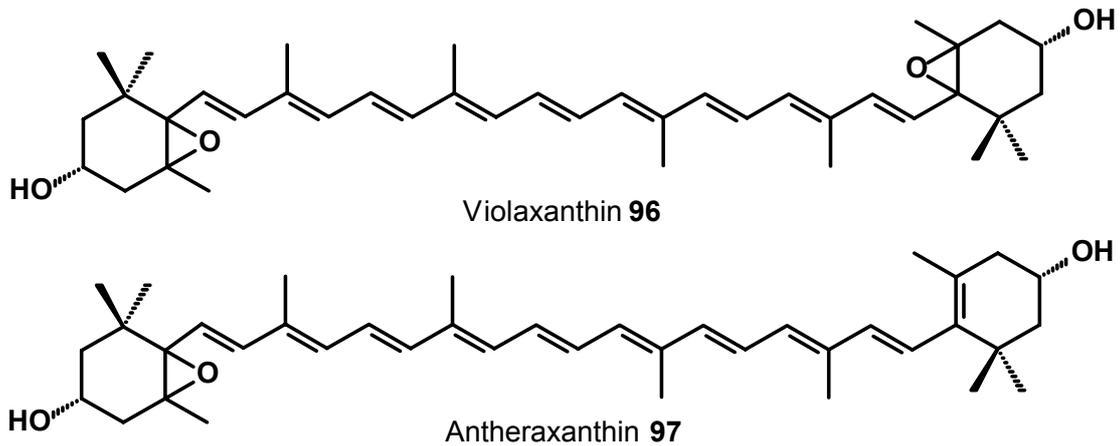
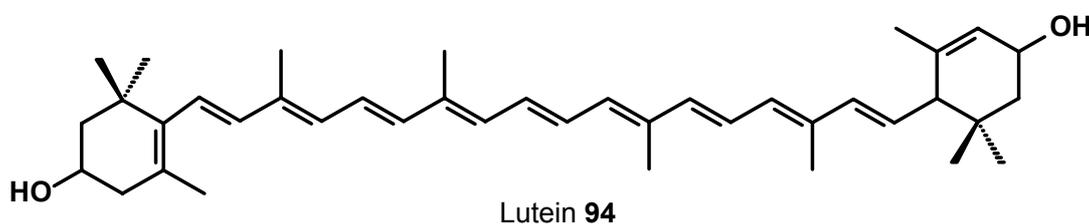


Abbildung 104: Auftragung der Peroxidbildung nach 300 min gegen die Konzentration von Zeaxanthin **93**

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	3.2 ± 0.9	96.8 ± 0.9
$1 \cdot 10^{-3}$ M	33.6 ± 2.3	66.4 ± 2.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	79.4 ± 3.2	20.6 ± 3.2

Tabelle 20: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Zeaxanthin bei den drei gemessene Konzentrationen nach 5h.

3.2.2.5.4.4. Lutein (β, ϵ -Carotin-3,3'-diol)



Neben Zeaxanthin ist Lutein die Hauptkomponente in der Macula Lutea im Auge. Beide agieren wie ein natürliches Sonnenschutzmittel im Auge gegen zu viel Licht.

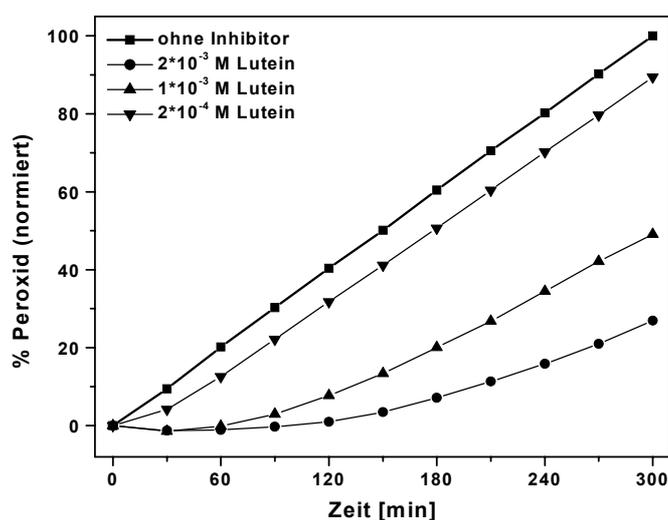


Abbildung 105: Peroxidbildung mit Lutein **94** bei $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M und ohne Antioxidant

Lutein ist das bisher schlechteste Antioxidans von allen nach dieser Methode untersuchten Carotinoiden. Lutein inhibiert in der höchsten gemessenen Konzentration $2 \cdot 10^{-3}$ M die Peroxidbildung ziemlich gut, in der mittleren Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M verhält es sich als mittelmäßig gutes Antioxidans und in der kleinsten Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ M inhibiert es die Peroxidbildung nur in einem kurzen Zeitintervall.

Ein direkter Vergleich der Peroxidbildung in Gegenwart von β -Carotin bzw. Lutein für $2 \cdot 10^{-3}$ M wird in der nächsten Graphik abgebildet:

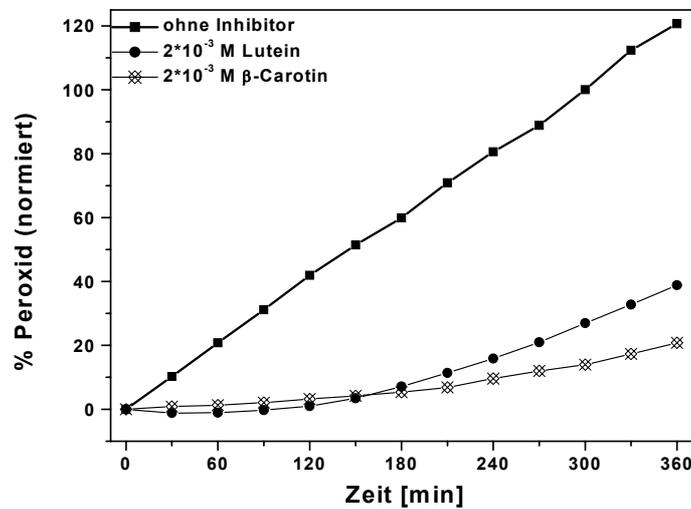


Abbildung 106: Vergleich der Peroxidbildung von Lutein mit β -Carotin für $2 \cdot 10^{-3}$ M und ohne Antioxidans

Nach den ersten 150 min nimmt die Peroxidbildung bei Lutein **94** schneller als bei β -Carotin **14** zu. Die Abbauprodukte von Lutein **94** sind nicht so effektiv wie die von β -Carotin **14**. Dafür spricht, dass Lutein **94** sich dreimal schneller als β -Carotin **14** bei dieser Konzentration abbaut.

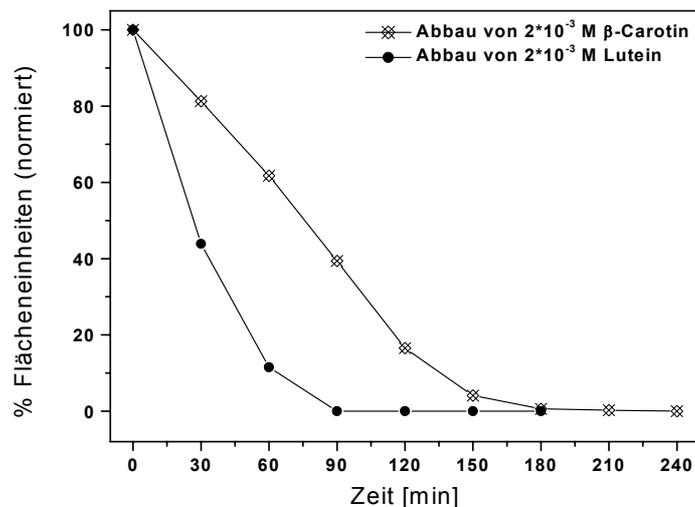
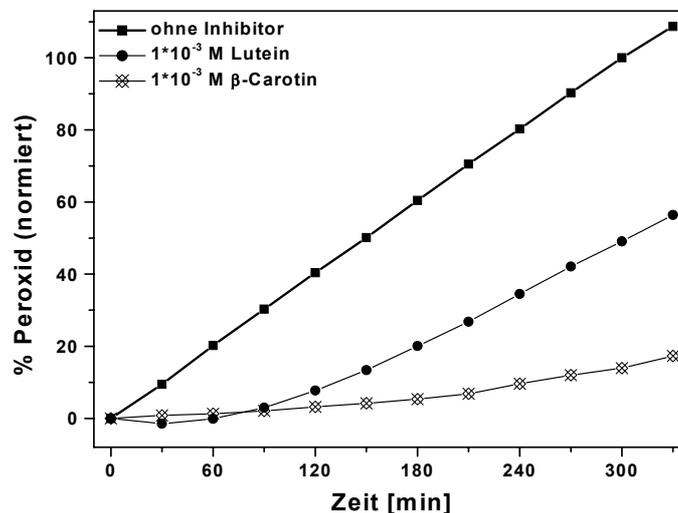


Abbildung 107: Abbau von Lutein **94** im Vergleich zu β -Carotin **14** für $2 \cdot 10^{-3}$ M
 Die Halbwertszeit beträgt 27 min für Lutein **94** gegenüber 76 min für β -Carotin **14**.

In der mittleren Konzentration ist der Peroxidbildung für Lutein und β -Carotin



sehr unterschiedlich.

Abbildung 108: Peroxidbildung von Lutein und β -Carotin für $1 \cdot 10^{-3}$ M

Bei dieser Konzentration ist der Abbau von beiden Verbindungen wesentlich schneller. Die Halbwertszeit beträgt für diese Konzentration 21 min für Lutein **94** gegenüber 38.5 min für β -Carotin **14**.

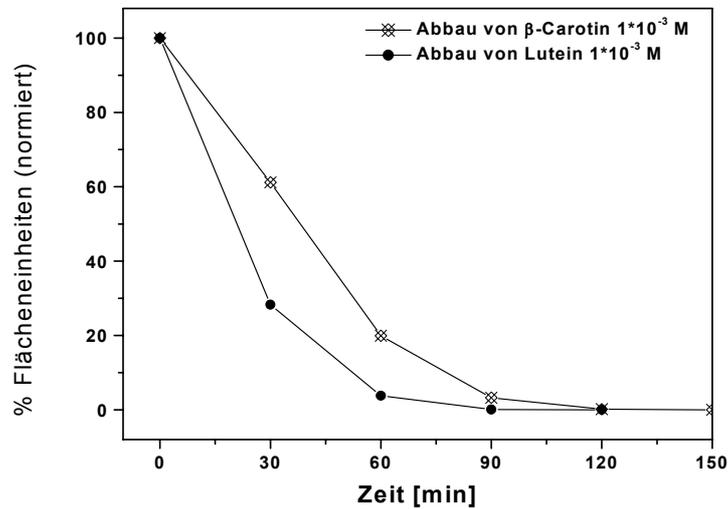


Abbildung 109: Abbau von **94** und **14** für eine Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min sind für die drei Konzentrationen in der folgenden Graphik zusammengefaßt.

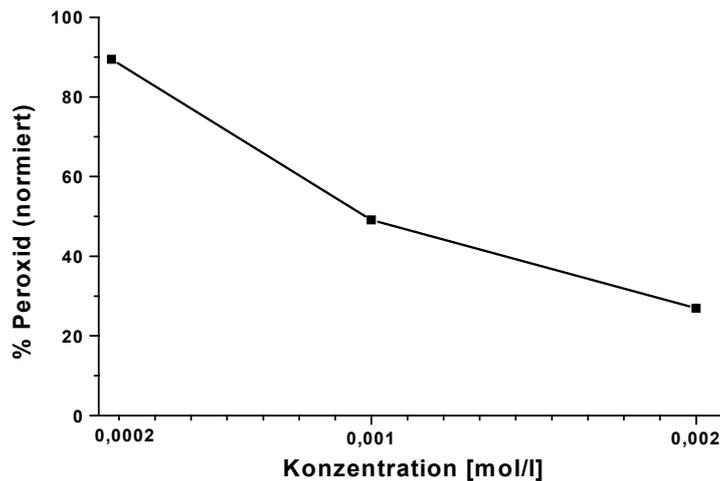


Abbildung 110: Peroxidbildung nach 300 min in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Lutein **94**

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	26.9 ± 0.6	76.0 ± 0.6
$1 \cdot 10^{-3}$ M	49.1 ± 1.3	50.9 ± 1.3
$2 \cdot 10^{-4}$ M	89.4 ± 0.7	10.6 ± 0.7

Tabelle 21: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Lutein **94** bei den drei gemessene Konzentrationen nach 5h.

3.2.2.5.5. Vergleich der gemessenen Carotinoide

Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung

In der nächsten Graphik wird die Fähigkeit zur Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung der fünf gemessenen Carotinoide verglichen. In der mittleren Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M zeigen β -Carotin **14** und Zeaxanthin ein ähnliches Verhalten.

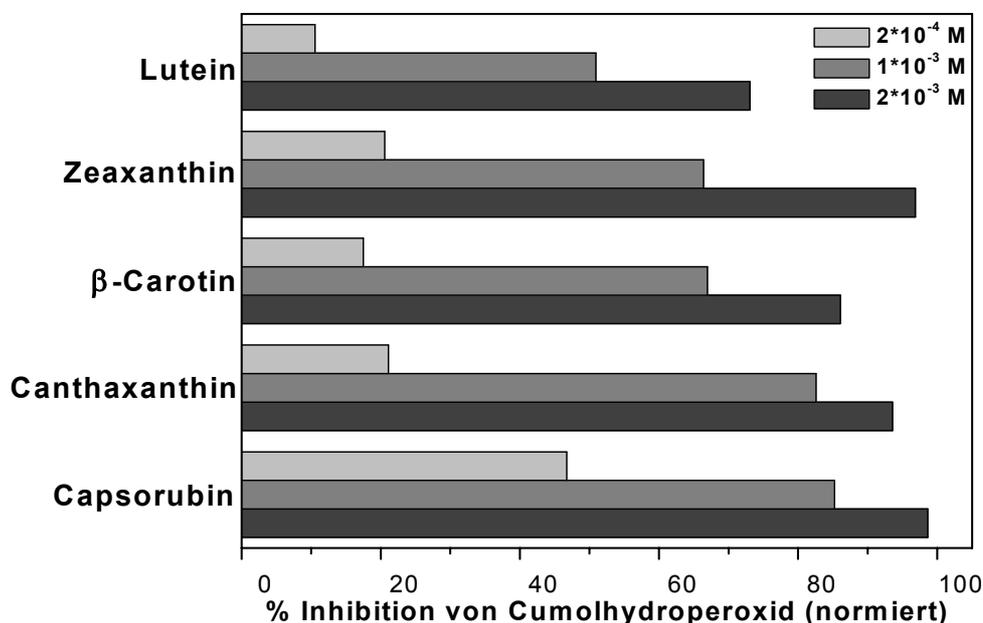


Abbildung 111: Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung durch verschiedenen Carotinoide nach 5h

Das antioxidative Verhalten von Capsorubin **20** und Canthaxanthin **15** ist ähnlich in den zwei höchsten, gemessenen Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M. In der Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ M zeigt sich Capsorubin als das bessere Antioxidans.

Keto-Carotinoide besitzen besserer antioxidative Eigenschaften als andere Carotinoide, die keine Ketogruppe haben. Das Peroxidradikal, das bei der Addition an die Doppelbindung entsteht, wird besser stabilisiert, wenn sich eine Ketogruppe am Ende der Polyenkette steht.

Der Schutz des Substrates Cumol durch β -Carotin **14** ist ebenso gut wie durch Zeaxanthin **93** und besser als der Schutz durch Lutein **94**. Diese größere Schutzwirkung konnte auf die Bildung von antioxidativ wirkenden Abbauprodukten des β -Carotins zurückgeführt werden.

Die antioxidativen Eigenschaften von β -Carotin **14** und Zeaxanthin **93** sind sehr ähnlich.

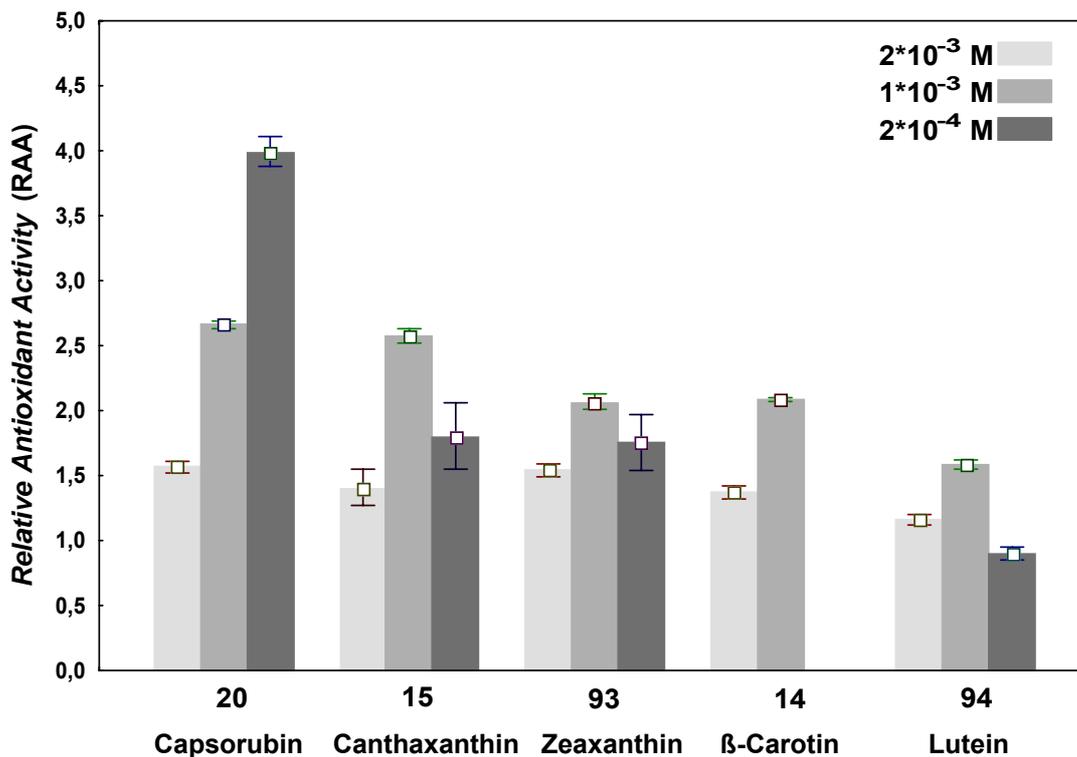
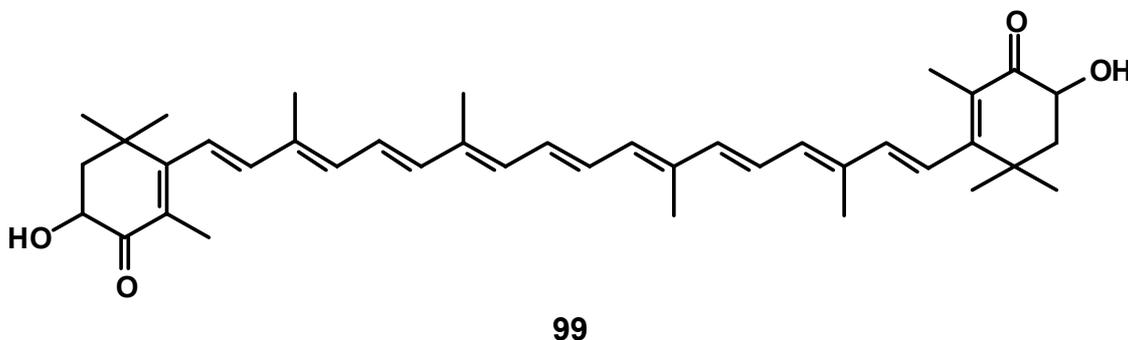
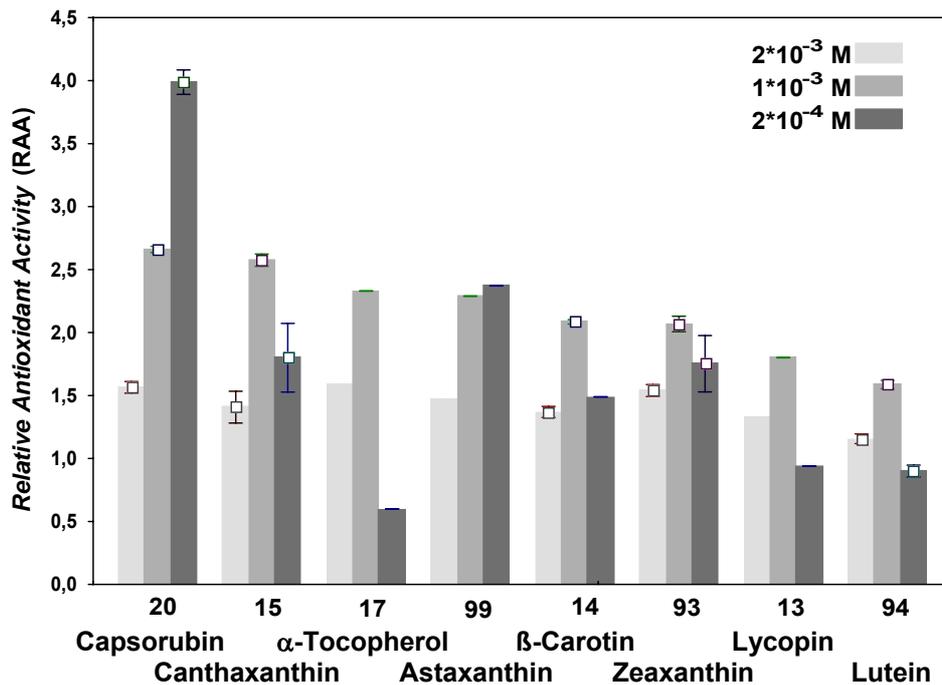
Relative Antioxidant Activity (RAA) (Definition von RAA s. 3.2.2.2.)

Abbildung 112: *Relative Antioxidant Activity* aller in dieser Arbeit gemessener Carotinoide bei den drei gemessene Konzentrationen

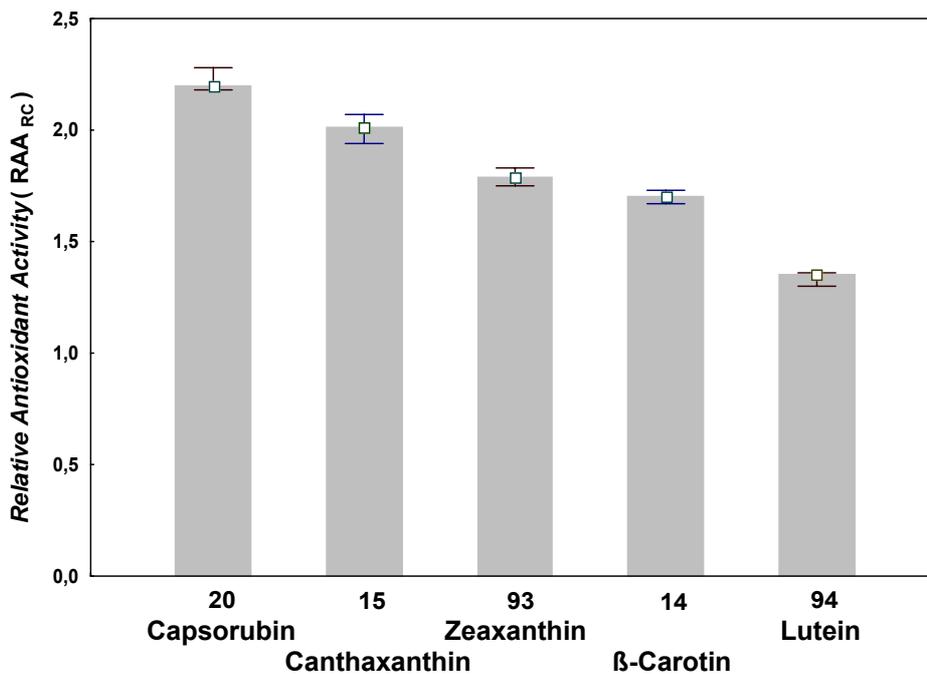
Der Vergleich der in dieser Arbeit untersuchten Carotinoide mit anderen nach dieser Methode von M. Schmidt^[93] gemessenen Verbindungen (Astaxanthin **99**, α-Tocopherol **17** und Lycopin **13**) wird in der folgenden Graphik gezeigt.



Abbildung 113: *Relative Antioxidant Activity* der Carotinoide nach 5h

Relative Antioxidant Activity im Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-4}$ M – $2 \cdot 10^{-3}$ M (RAA_{RC}) (Definition von RAA_{RC} s. 3.2.2.2.)

Die *Relative Antioxidant Activity* im Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-4}$ M – $2 \cdot 10^{-3}$ M beträgt für die nach dieser Methode gemessenen Carotinoide:

Abbildung 114: RAA_{RC} der gemessenen Carotinoide

Abbau der Carotinoide

Um den Abbau der gemessenen Carotinoide vergleichen zu können, werden alle Signale im Absorptionsmaximum integriert.

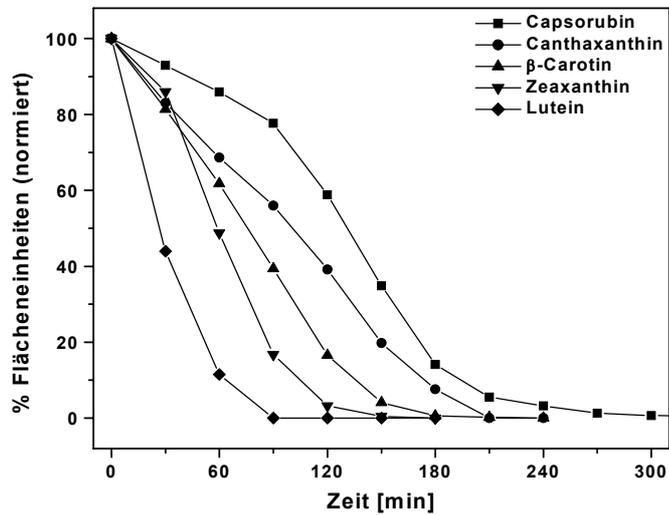


Abbildung 115: Abbau der Carotinoide bei $2 \cdot 10^{-3}$ M im System Cumol/AMVN/Chlorbenzol

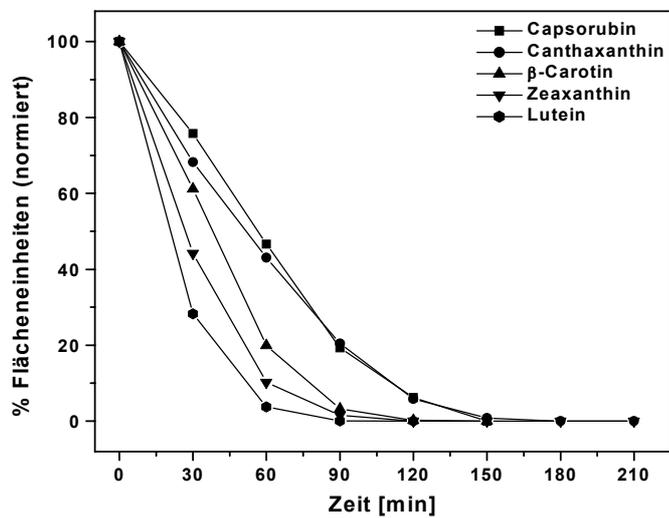


Abbildung 116: Abbau der Carotinoide bei $1 \cdot 10^{-3}$ M im System Cumol/AMVN/Chlorbenzol

Der Abbau der Keto-Carotinoide unterscheidet sich bei dieser Konzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M nicht viel.

Die nächste Tabelle listet die Halbwertszeiten für die fünf gemessenen Carotinoide in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M auf.

	Halbwertszeit [min]	
	$1 \cdot 10^{-3}$ M	$2 \cdot 10^{-3}$ M
Capsorubin 20	56.5 ± 0.5	130 ± 9.8
Canthaxanthin 15	51.3 ± 1.6	100.6 ± 1.3
β-Carotin 14	38.3 ± 0.7	76.0 ± 19.1
Zeaxanthin 93	26.8 ± 0.7	58.7 ± 3.6
Lutein 94	21.0 ± 0.3	26.4 ± 0.01

Tabelle 22: Halbwertszeiten der fünf gemessenen Carotinoide in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M

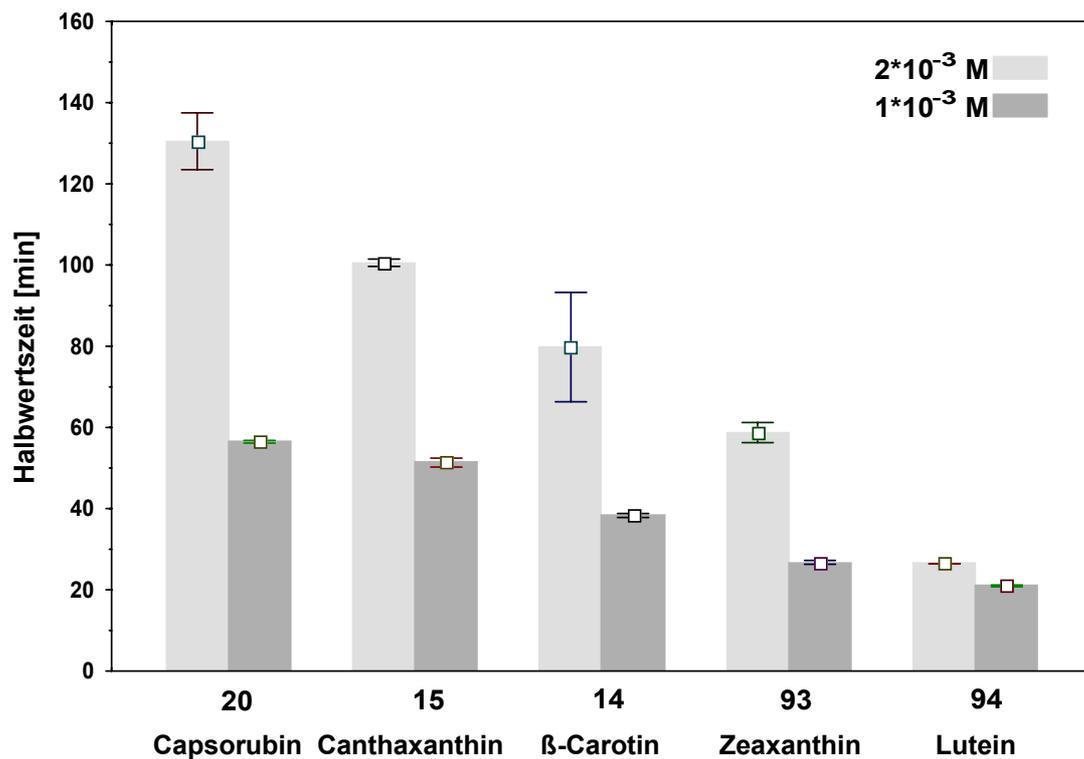


Abbildung 117: Halbwertszeiten der gemessenen Carotinoide in den Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M

3.2.2.5.6. Einfluß der Abbauprodukten auf die antioxidativen Eigenschaften des β -Carotins nach Britton

Britton stellt in seinem Artikel *Functionalities of pigment in food*^[124] die Frage, ob die Abbauprodukte von β -Carotin mit für die antioxidativen Effekte des β -Carotins verantwortlich sind.

β -Carotin agiert als Antioxidans gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) und wird dabei selbst oxidiert und in kleine Chromophore abgebaut.

In Abhängigkeit von dem verwendeten Oxidans kommt es zur Bildung unterschiedlicher Abbauprodukte. In jedem Fall findet ein Bleichen (*Bleaching*) statt.

Bei der Oxidation mit Peroxidradikalen werden u. a. Epoxide als Abbauprodukte gefunden.

Der Nachweis von Epoxiden zeigt an, dass diese Verbindungen stabil genug sind, um sich während der Oxidation anzusammeln. β -Carotin oder andere Abbauprodukte reagieren schneller mit ROS.

Ein Maß dieses antioxidativen Effekts ist die verlangsamte Bildung von Cumolhydroperoxid.

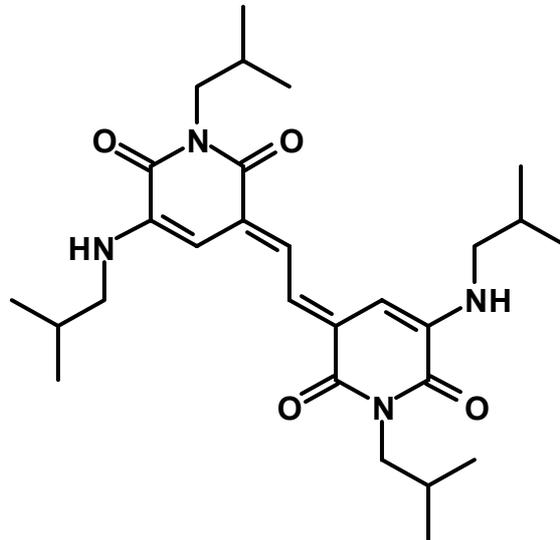
Nach dem Abbau von β -Carotin und seinen Epoxiden wird die Peroxidbildung weiterhin durch andere Abbauprodukte gehemmt. Diese Abbauprodukte können sich nicht anreichern, sie werden gebildet und reagieren sofort weiter.

Solche Verbindungen wurden in den Chromatogrammen beobachtet, sie erscheinen mit Retentionszeiten zwischen β -Carotin und Retinal, und verschwinden in Laufe der Reaktion.

Ein direkter Beweis, dass der antioxidative Effekt dem β -Carotin oder aber seinen Abbauprodukten zuzuordnen ist, kann nicht gefunden werden. Daher sollte man diese Produkte isolieren, identifizieren und nach der Methode untersuchen, wie es im Fall von Retinal geschehen ist. Wenn die Bildung des Cumolhydroperoxids genauso wie in der Messung von β -Carotin inhibiert wird, sind die antioxidative Eigenschaften von β -Carotin den Abbauprodukten zuzuordnen.

3.2.2.5.7. Vergleich der antioxidativen Eigenschaften von Flavonoiden, Carotinoiden und Indigoiden gegenüber Cumolhydroperoxidbildung

Um einen Überblick der antioxidativen Eigenschaften verschiedener Farbstoffklassen zu erhalten, wurde in dieser Arbeit auch das Indigoidin **98** gemessen. Die Quenchfähigkeit der Verbindung **98** gegenüber Singulett-Sauerstoff wurde schon nachgewiesen^[125], sie erreicht den Bereich der Diffusionskontrolle. Das Indigoidin **98** wirkt hervorragend als Singulett-Sauerstoff-Quencher, wie andere Indigoide^{[125],[126]} und Carotenoide^[127]. Deswegen ist es von Interesse zu vergleichen, wie diese Farbstoffklassen sich gegenüber der Inhibition der Cumolhydroperoxidbildung verhalten.



1,1'-Di-iso-butyl-5-5'-di-iso-butylamino-3,3'-ethandiylidendipyridin-2,6(1*H*,3*H*)dion **98**

Das Indigoidin **98** erweist sich als hervorragender Inhibitor der Cumolhydroperoxidbildung. In den beiden Konzentrationen $2 \cdot 10^{-3}$ M und $1 \cdot 10^{-3}$ M inhibiert **98** in den ersten 5 h die Cumolhydroperoxidproduktion vollständig. Die Hemmung der Cumolhydroperoxidbildung ist in der Konzentration $2 \cdot 10^{-4}$ M nicht sehr gut.

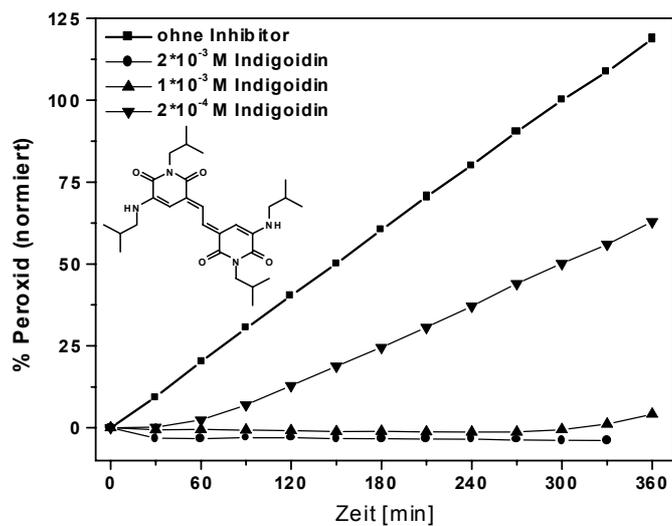


Abbildung 118: Peroxidbildung in Gegenwart von Indigoidin **98** bei $2 \cdot 10^{-3}$ M, $1 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M und ohne Antioxidans

Die Werte der Peroxidbildung nach 300 min sind für die drei Konzentrationen in der folgenden Graphik zusammengefasst.

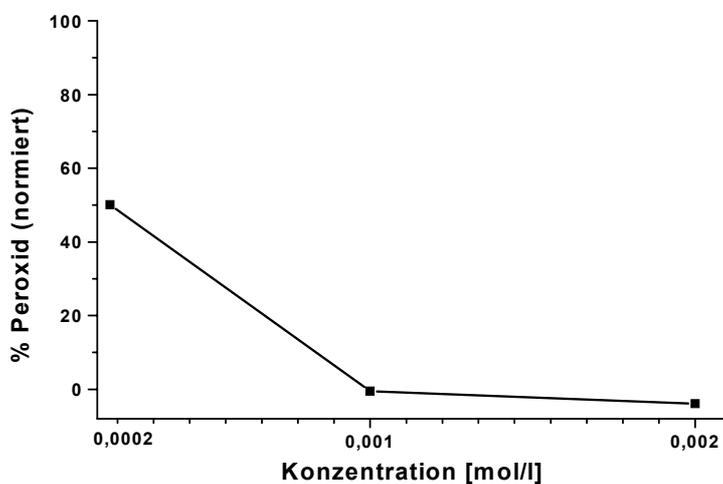


Abbildung 119: Peroxidbildung nach 300 min in Gegenwart unterschiedlicher Konzentrationen von Indigoidin **98**

Konzentration	% Peroxidbildung	% Peroxidinhibition
$2 \cdot 10^{-3}$ M	-3.8 ± 0.2 (-4.0 ± 0.1 nach 6 h)	103.8 ± 0.2 (104 ± 0.1 nach 6 h)
$1 \cdot 10^{-3}$ M	-0.5 ± 0.1 (8.3 ± 0.7 nach 6.5 h)	100.5 ± 0.1 (91.7 ± 0.7 nach 6.5 h)
$2 \cdot 10^{-4}$ M	50.1 ± 0.04	49.9 ± 0.04

Tabelle 23: Peroxidbildung und Peroxidinhibition in Gegenwart von Indigoidin **98** bei den drei gemessenen Konzentrationen nach 5h.

Folgendes Bild vergleicht jeweils die beste Verbindungen bei allen untersuchten Farbstoffklassen: Capsorubin **20**, Flavonoid **43**, Resveratrol **12**, Indigoidin **98**, β -Carotin **14** und α -Tocopherol **17** (von M. Schmidt^[93] nach dieser Methode gemessen).

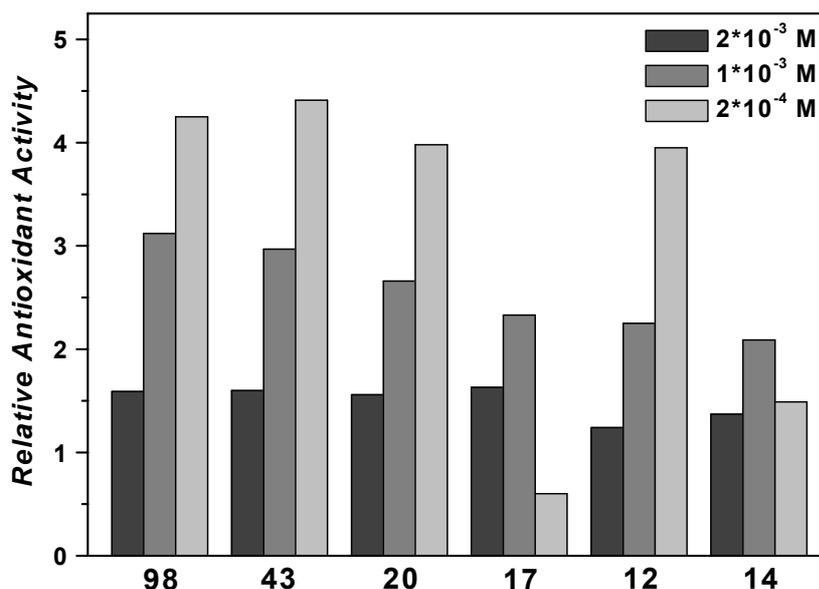


Abbildung 120: *Relative Antioxidant Activity* der Verbindungen **98**, **43**, **20**, **17**, **12**, **14** bei den drei gemessenen Konzentrationen

In der nächsten Graphik wird die *Relative Antioxidant Activity* für den Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-3}$ M und $2 \cdot 10^{-4}$ M (RAA_{RC}) der gleichen Verbindungen abgebildet.

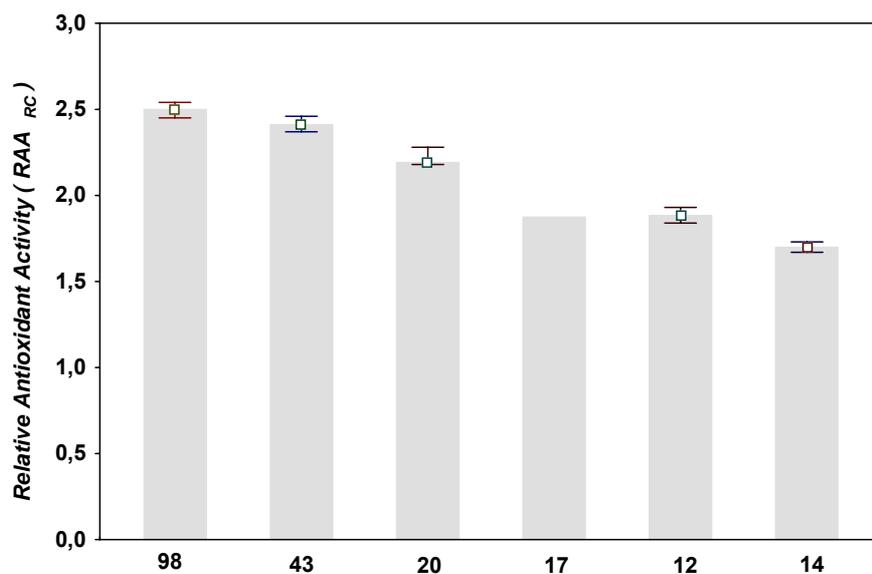
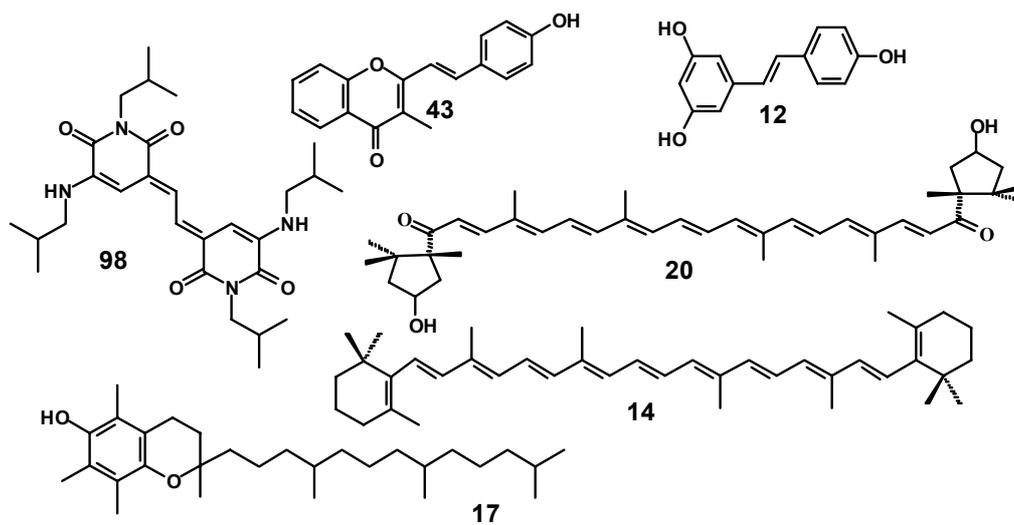


Abbildung 121: RAA_{RC} der Verbindungen **98**, **43**, **20**, **17**, **12**, **14**



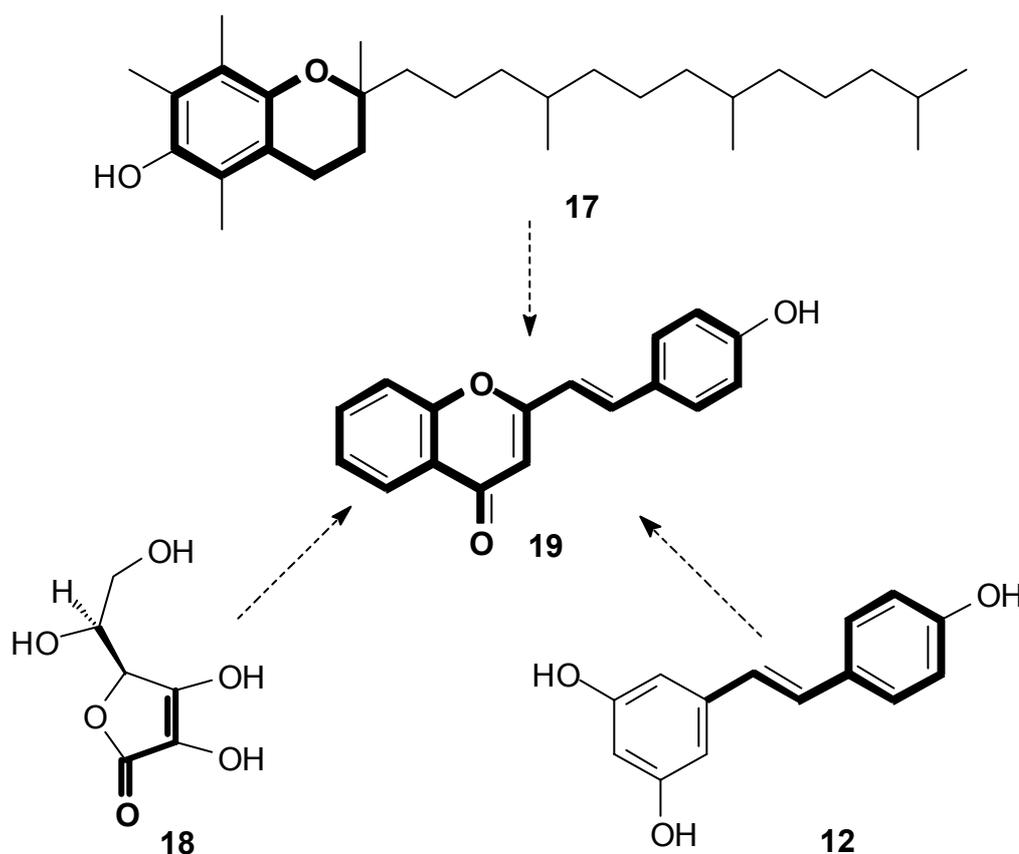
Das Indigoidin **98** erweist sich als das beste Antioxidans der gemessenen Verbindungen.

Das Indigoidin **98** kann von der Struktur her nicht mit den anderen *Nutraceuticals* unmittelbar verglichen werden.

4. Zusammenfassung

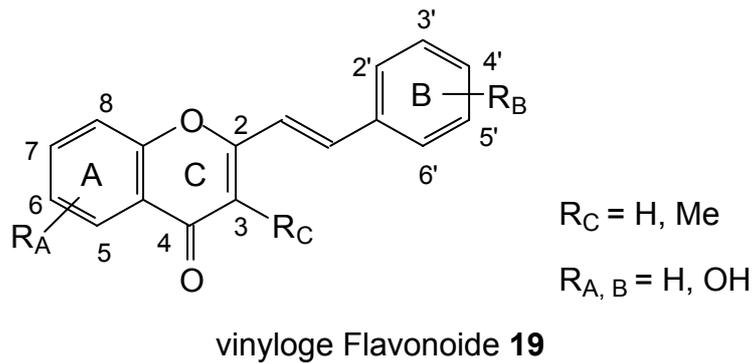
In Rahmen dieser Arbeit wurden vinylog verlängerte Analoge der Flavonoide mit dem Grundgerüst **19** synthetisiert.

Die Struktur kann auf die Strukturen dreier bedeutender, antioxidativer Nahrungsmittelinhaltstoffen abgeleitet werden: Vitamin E **17**, Vitamin C **18** und Resveratrol **12**.



Schema 16: Vinylog verlängerte Flavonoide **19** mit Strukturbausteinen aus Vitamin E **17**, Vitamin C **18** und Resveratrol **12**

Die synthetisierten vinylogenen Verbindungen sind der Klasse der Flavonoide zuzuordnen, da sie sich aufgrund ihrer antioxidativen Eigenschaften wie die typischen Flavonoide verhalten. Es wird die gleiche Terminologie für die Benennung der Ringe verwendet.



Die Ergebnisse der **Messungen** der antioxidativen Eigenschaften an vinylog-verlängerten Flavonoiden entsprechen denen in der Literatur für die natürlich vorkommenden Flavonoide.

- Das unsubstituierte Vinylflavon zeigt keine antioxidativen Eigenschaften.
- Eine Methoxygruppe im B-Ring erbringt keine antioxidative Wirkung.
- Hydroxygruppen im A-Ring sind nicht wichtig und spielen keine Rolle, wenn keine Hydroxygruppen im B-Ring auftreten.
- Eine Hydroxygruppe im B-Ring hat großen Einfluß auf die antioxidativen Eigenschaften.
- Zwei Hydroxygruppen im B-Ring zeigen einen großen Einfluß auf die Hemmung der Cumolhydroperoxidbildung.
- Eine Hydroxygruppe in der C5-Position bringt keine zusätzliche Wirkung, wenn die Verbindung eine Hydroxygruppe in der C4'-Position hat.

Außerdem wurde für die synthetisierten Flavonoide gefunden:

- Ein Methylgruppe in der C3-Position in Kombination mit einer Hydroxygruppe in der C4'-Position (B-Ring) hat eine außergewöhnlich große Wirkung.
- Eine Hydroxygruppe in der C6-Position des A-Rings spielt eine gewisse Rolle für die antioxidative Wirkung, obwohl keine Hydroxygruppen im B-Ring auftreten.

Die ideale Struktur für vinylog verlängerte Flavonoide ist:

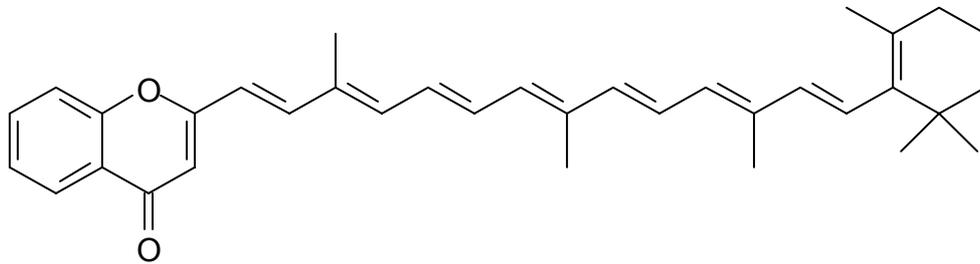
- Catechol-Struktur im B-Ring

- C2-C3-Doppelbindung mit Ketogruppe im C-Ring
- Methylgruppe in C3-Position

Die Anzahl der Hydroxygruppen ist nicht der entscheidende Faktor für die antioxidativen Eigenschaften, entscheidend ist die Positionierung im Molekül.

Die neu synthetisierten Verbindungen wirken als Radikalfänger durch Wasserstoffdonation.

Die Kupplungen von **Methylchromonen mit Carotinoidresten** führt zu Systemen, die eine kleine Wirkung bei der Hemmung der Cumolhydroperoxidbildung zeigen. Der antioxidative Effekt wird dem Carotinoidrest zugeordnet.



73

Resveratrol, eine im Wein enthaltene polyphenolische Substanz, zeigt sich trotz seiner geringer Löslichkeit im Versuch als guter Quencher der Cumolhydroperoxidbildung.

Die Untersuchungen der Kinetik des Abbaus von **β -Carotin 14** bestätigen die Beobachtungen anderer Studien^{[100]-[102]}. Die Abbauprodukte von **β -Carotin 14** sollen an seinen antioxidativen Eigenschaften teilnehmen.

Die antioxidativen Eigenschaften von **β -Carotin 14** wurden unter verschiedenen experimentellen Bedingungen geprüft. Unter allen unterschiedlichen Bedingungen zeigt sich **β -Carotin 14** als gutes Antioxidans.

Untersuchungsbedingungen:

- mit Starter/ohne Starter
- mit Substrat (Cumol)/ohne Substrat
- mit Lösungsmittel (Chlorbenzol)/ohne Lösungsmittel
- mit **β -Carotin**/ohne **β -Carotin**

Bei jeder möglichen Kombination der Untersuchungsbedingungen wurden das 5,6-Epoxid **91** und das 15,15'-Epoxid **92** als Abbauprodukte von β -Carotin **14** nachgewiesen.

Das Retinal **90** wurde als Abbauprodukt von β -Carotin **14** gefunden und seine antioxidativen Eigenschaften separat untersucht. Es zeigt sich als gutes Antioxidans und ist demzufolge auch bei der Schutzwirkung des β -Carotin **14** beteiligt.

An den antioxidativen Eigenschaften von β -Carotin **14** sind auch weitere Abbauprodukte beteiligt, denn wenn durch Verbrauch kein β -Carotin **14** mehr im Reaktionsgemisch nachgewiesen werden kann, wird die Peroxidbildung weiter behindert.

Eine Messung von $1 \cdot 10^{-3}$ M β -Carotin in Gegenwart von Cumol ohne Starter (AMVN) wurde durchgeführt. Unter ähnlichen Bedingungen, aber in einem anderen System, dem Methylolinoleatsystem bei 40 °C, finden Haila et al.^[110] einen prooxidativen Effekt von β -Carotin.

Andere Autoren^{[59],[104],[105],[107]} finden bei Untersuchungen, die von den Normalbedingungen abweichen, die prooxidative Aktivität von β -Carotin **14**.

Die Ergebnisse von Haila et al.^[110] widersprechen den anderen bislang gefundenen Ergebnissen von prooxidativen Effekten an β -Carotin **14**, d.h. sie finden prooxidative Effekte bei normalen Druck und Konzentrationen von β -Carotin **14**. Obwohl das in dieser Arbeit verwendete Meßsystem und das von Haila nicht direkt vergleichbar sind, erwartet man doch in beiden Modellen ähnliche Ergebnisse. Es gelang zu zeigen, dass β -Carotin **14** in Gegensatz zu den Aussagen von Haila unter Normalbedingungen von Druck und Konzentration keinen prooxidativen Effekt besitzt.

Die Untersuchung mit Xanthophyllen, die aus der Paprika gewonnen worden sind, zeigen, dass Ketocarotinoide (Capsorubin **20** und Canthaxanthin **15**) effektivere Antioxidantien gegenüber der Cumolperoxidbildung sind als β -Carotin **14**, Zeaxanthin **93** und Lutein **94**. Das entspricht den Ergebnissen von

Terao^[50], Micki^[119], Palozza und Krinski^[51], Palozza^[54], Yamauchi^[49], Perez-Galvez und Minguez-Mosquera^[128].

In dem nachfolgenden Tabellen sind alle Verbindungen aufgenommen worden, die bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-3}$ M mindestens zu 10 % die Bildung des Cumolhydroperoxid erschweren.

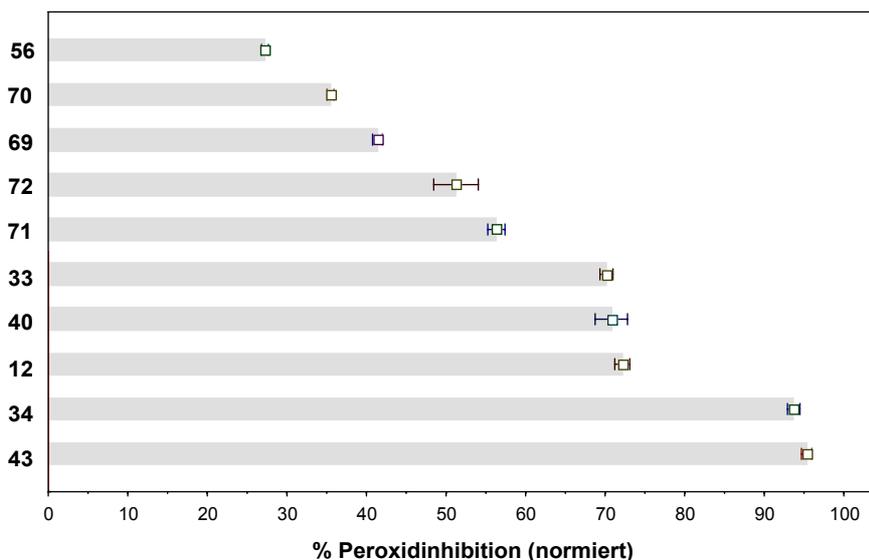


Abbildung 122: Peroxidinhibition nach 5 h für einige Flavonoide und Resveratrol (Formelbilder siehe rechts)

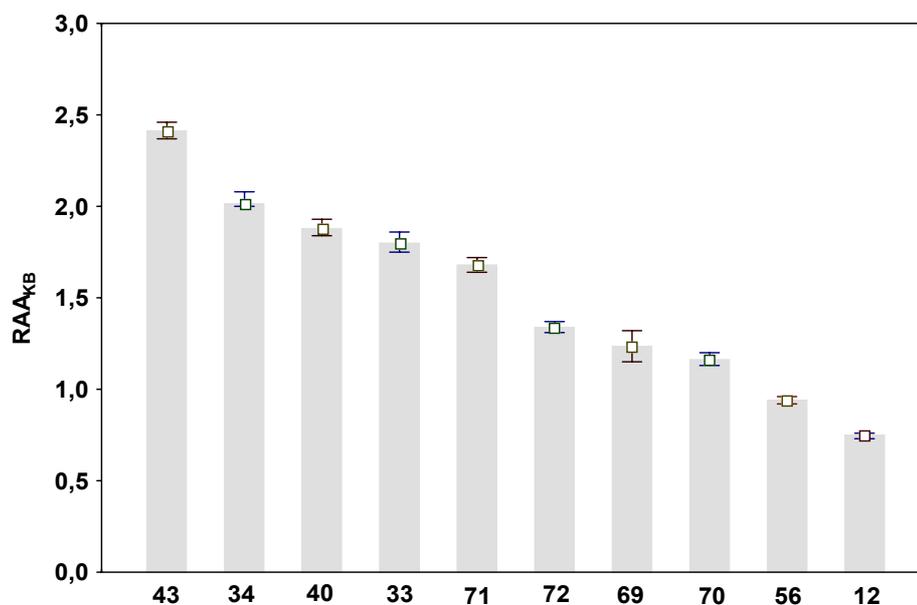
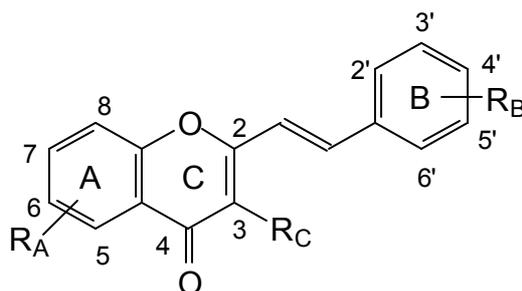


Abbildung 123: *Relative Antioxidant Activity* bei den Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-3}$ M – $2 \cdot 10^{-4}$ M nach 5 h für einige Flavonoide und Resveratrol **12**. (Formelbilder siehe rechts)



Verbindung	R _A	R _B	R _C	% Peroxid-inhibition (1*10 ⁻³ M)	RAA _{RC}
43	--	OH-C4	Me	95.3 ± 0.9	2.41
34	--	OH-C3, OH-C4	--	93.7 ± 1.1	2.03
40	--	<i>i</i> -Pr	Me	70.7 ± 2.9	1.80
33	--	OH-C4	--	70.2 ± 1.1	1.68
71	OH-C6	OH-C3, OMe-C4	Me	56.3 ± 1.5	1.18
72	OH-C6	OH-C3, OH-C4	Me	49.2 ± 1.3	1.21
69	OH-C6	OMe	--	41.4 ± 0.9	1.16
70	OH-C6	OMe-C3, OMe-C4	Me	36.0 ± 1.3	0.95
56	OH-C5	CN	--	27.2 ± 0.6	0.74
12	Resveratrol			72.2 ± 1.3	1.88

Tabelle 24: % Peroxid-inhibition bei der Referenzkonzentration 1*10⁻³ M und *Relative Antioxidant Activity* im Konzentrationsbereich 2*10⁻³ - 2*10⁻⁴ M (RAA_{RC}) der Verbindungen in den Graphiken 122 und 123

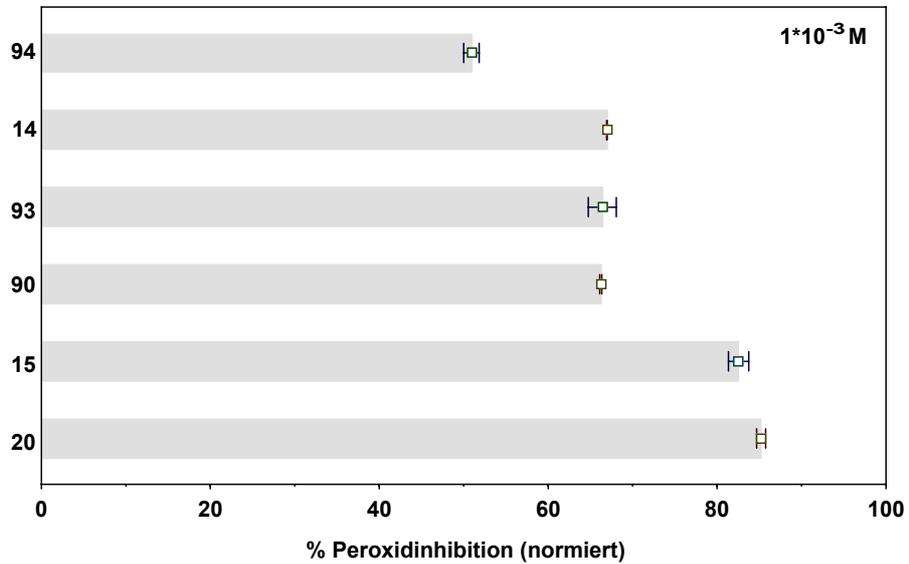


Abbildung 124: Peroxidinhibition nach 5 h für die gemessenen Carotenoide und Retinal **90** (Name siehe rechts)

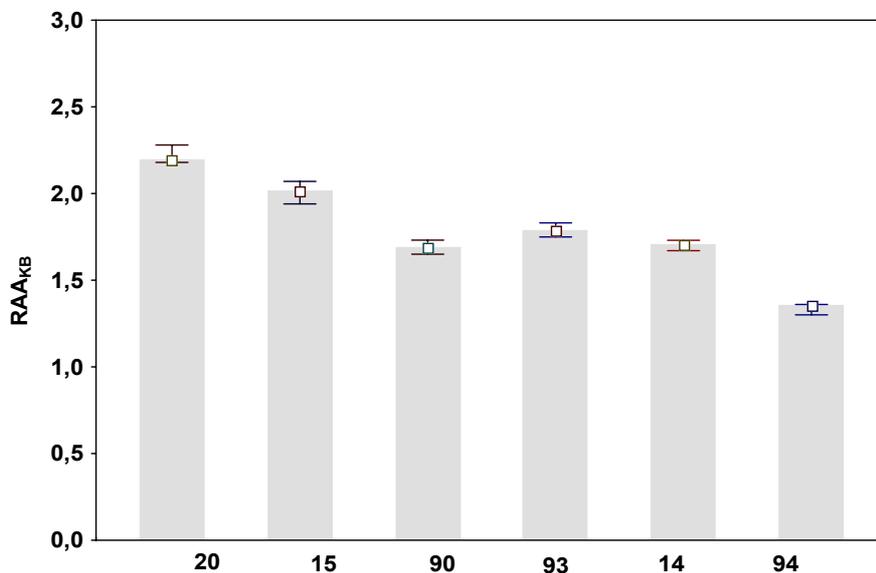


Abbildung 125: *Relative Antioxidant Activity* bei den Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-3}$ M – $2 \cdot 10^{-4}$ M nach 5 h gemessener Carotenoide und Retinal **90**. (Name siehe rechts)

Verbindung	% Peroxidinhibitor ($1 \cdot 10^{-3}$ M)	RAA _{RC}
20 Capsorubin	85.2 ± 0.7	2.22
15 Canthaxanthin	82.6 ± 1.7	2.00
94 Zeaxanthin	66.4 ± 2.3	1.80
14 β-Carotin	66.9 ± 0.03	1.70
90 Retinal	66.2 ± 0.2	1.47
94 Lutein	50.9 ± 1.3	1.33

Tabelle 25: % Peroxidinhibition bei der Referenzkonzentration $1 \cdot 10^{-3}$ M und *Relative Antioxidant Activity* im Konzentrationsbereich $2 \cdot 10^{-3}$ – $2 \cdot 10^{-4}$ M (RAA_{RC}) der Verbindungen in den Graphiken 124 und 125

5. Experimenteller Teil

5.1. Allgemeines

Folgende Materialien, Geräte und Hilfsmittel wurden zur Reaktionskontrolle, Darstellung und Charakterisierung der Produkte verwendet:

Schmelzpunkte (unkorrigiert):	Reicherdt Thermovar, Büchi 510
Infrarotspektroskopie:	Bruker Vektor 22
¹ H-NMR - Spektroskopie:	200 MHz, Bruker Avance DRX 200 300 MHz, Varian VXR 300 500 MHz, Bruker AM 500
¹³ C-NMR – Spektroskopie	75 MHz, Varian VXR 300
UV-Vis-Spektroskopie:	Zeiss DMR 21 M4 QIII Perkin Elmer Lambda 19
Massenspektrometrie:	Varian MAT 311 A , 70 eV, 100 µA,
Dünnschichtchromatographie:	Merck DC-Folien, Kieselgel 60 auf Aluminium, UV-Indikator F ₂₅₄ (0.2 mm)
Säulenchromatographie:	Merck Kieselgel 60, Korngröße 0.04-0.063 mm
Elementaranalysen:	Institut für pharmazeutische Chemie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
HPLC:	Pumpe : Hewlett Packard Chemstation1050 Detektor: Hewlett Packard 1040M Series II HPLC-DAD-Detector-System Säule: YMC SIL-ASP, 150x6 mm, S-5 µM, 60 Å Laufmittel: n-Hexan : Isopropanol : 99 :1 Flußrate: 2 ml/min

An dieser Stelle möchte ich folgenden Damen und Herren, die zum Gelingen dieser Arbeit beitragen, ganz herzlich danken:

- Herrn Dr. B. Mayer für die Durchsicht des Manuskripts, seine Diskussionsbereitschaft und seine Hilfe mit dem Messprogramm.
- Herrn Dr. K. Schaper für die Durchsicht des Manuskripts, seine Hilfe mit der HPLC und die Bereitstellung verschiedener, chemischer Programme.
- Herrn Dr. M. Schmidt für die Einweisung in die Messmethode.
- Herrn Dr. A. Pérez Gálvez für die Bereitstellung der Carotinoide **15**, **20**, **93** und **94**, sowie die fruchtbaren Diskussionen über Carotinoide.
- Frau I. Menzel und Frau H. Webers für die Aufnahme der UV-VIS- und IR-Spektren.
- Herrn P. Behm für die Aufnahme der 200 MHz-¹H-NMR-Spektren, Frau Beuer und Herrn Dr. Steigel für die Messung der 300 MHz-¹NMR-Spektren,
- Bei Herrn R. Bürgel und Herrn Dr. P. Tommes für die Aufnahme der Massenspektren.
- Frau Dr. S. Frixel für ihre Freundschaft und die gute Zusammenarbeit bei der Posterherstellung und im Messraum.
- Frau I. Reinartz für die freundliche Unterstützung bei allen Sekretariatsangelegenheiten und die Ausleihe mehrere CD's unserer gemeinsame Leidenschaft.
- Herrn Dipl.-Chem. R. Scherrers für seine Hilfe mit den HPLC und die Bereitstellung verschiedenen Programme.
- Frau Dipl.-Chem. S. Köhn, Dr. M. Smouchkine, Dipl.-Chem. P. Kolsouzidis und Dipl.-Chem. O. Keray für die freundliche Arbeitsatmosphäre auf dem Chefgang. Meine Laborkollege Dipl.-Chem. F. Bley und Herrn Dr. A. Madani werde ich aufgrund Ihrer besonderen Art nie vergessen.

Mein besonderer Dank gilt allen ehemaligen und jetzigen MitarbeiterInnen, insbesondere Herrn Dr. G. Brozeit, Herrn Dr. P. Sauer und Herrn Dr. J. Schmitz, für die freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis und die angenehme Atmosphäre.

Der größte Dank an Herrn Chem.-Ing. F. Alfery für seine Liebe, seine Unterstützung zu jedem Zeitpunkt und seine Geduld.

5.2. Versuchsbeschreibung

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat (Kupplung von 2-Methylchromon-Derivaten mit verschiedenen Aldehyden)

In einem Kolben wird elementares Natrium mit Ethanol zu Natriumethanolat umgesetzt. Nach Abkühlung der Lösung wird Methylchromon zugegeben. Die Zugabe des Aldehydes erfolgt anschließend. Die Reaktion wird bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktionszeit hängt von der Konzentration des Aldehydes ab.

Wenn die Kupplung stattgefunden hat, wird die Reaktionsmischung in Eiswasser gegossen und mit Wasser gewaschen. Das rohe Vinylflavonoid wird mittels eines Büchnertrichters abfiltriert. Das Lösungsmittel wird mit einer Ölpumpe abgezogen. Zuletzt wird das Rohprodukt aus Methanol umkristallisiert.

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit TiCl_4 (Kupplung von 2-Methylchromon-Derivaten mit verschiedenen Aldehyden)

In einem 3-Halsrundkolben wird unter Stickstoffatmosphäre und Eiskühlung auf eine Lösung von 2.2 ml Titan-tetrachlorid in THF zu absoluten Tetrachlorkohlenstoff tropfenweise zugesetzt. Es bildet sich dabei ein gelber Niederschlag. Dazu wird eine Lösung von äquimolaren Mengen Chromon und Aldehyd in THF getropft. Man lässt das Reaktionsgemisch bei 0 °C 2 h rühren. Dann wird *N*-Methylmorpholin sehr langsam zugetropft. Man erwärmt die Reaktionsmischung auf Raumtemperatur.

Am Ende der Reaktion wird die Lösung mit der gleichen Menge Wasser und Diethylether versetzt. Die ätherische Phase wird getrennt. Die wässrige Phase wird zweimal mit Diethylether extrahiert und zuletzt mit einer gesättigten Natriumchlorid-Lösung gewaschen. Die vereinigte organische Phase wird über

Magnesiumsulfat getrocknet am Rotationsverdampfer unter verminderten Druck eingeengt.

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe

Unter Stickstoffatmosphäre und Kühlung auf 0 °C wird in einem Kolben das Methoxyvinylchromon in Methylenchlorid gelöst. Eine Lösung von Bortribromid in Methylenchlorid (1 M) wird zur abgekühlten Lösung mittels einer Spritze zugegeben.

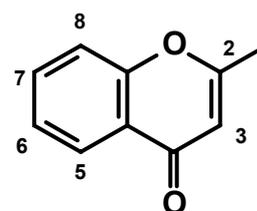
Die Reaktion wird weitere zwei Stunden bei einer Temperatur von 0 °C gerührt. Nach dieser Zeit wird die Reaktionsmischung langsam auf Raumtemperatur gebracht und ca. eine Woche gerührt.

Das Reaktionsmischung wird in Eiswasser gegossen und ausgeschüttelt. Der Feststoff wird mit einem Büchnertrichter abgesaugt und aus einem geeigneten Lösungsmittel umkristallisiert.

Versuch 1

2-Methylchromon 23

Zu einer Lösung von 40.0 g (0.29 mol) 2-Hydroxyacetophenon **21** in 108.0 g (1.20 mol) Essigsäureethylester werden 16.0 g (0.70 mol) Natrium zugegeben. Nach 30 min ist die Umsetzung beendet und das Reaktionsgemisch wird 4 h zum Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlung



23

der Reaktionsmischung werden 600 ml abs. Diethylether zugegeben. Das Natriumsalz wird über einen Büchnertrichter von der Lösung abgetrennt, zweimal mit abs. Ether gewaschen und getrocknet. Das Pulver wurde in 210 ml eine 2N Essigsäure-Lösung suspendiert und kräftig geschüttelt. Nach 30 min wurde das Diketon 1-(2-Hydroxyphenyl)-butan-1,3-dion **22** abfiltriert, dreimal mit destilliertem Wasser gewaschen und im Ölpumpenvakuum getrocknet.

22 wird 5 min in 45 ml konzentrierter Salzsäure zum Rückfluß erhitzt. Die gelbe Lösung wird in 300 ml Eiswasser gegossen und mit 180 ml einer 2N Natronlauge neutralisiert. Das kristalline Rohprodukt wird aus der Mutterlauge mittels Büchnertrichter abgetrennt, im Ölpumpenvakuum getrocknet und aus Toluol umkristallisiert.



Ausbeute : 11.3 g (70.6 mmol) (24 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3H, CH_3); 6.18 (s, 1H, H-C3); 7.35 - 7.42 (m, 2H, H-C7 , H-C8); 7.64 (t, 1H, $\text{J}=8$ Hz, H-C6); 8.17 (d, 1H, $\text{J}=8$ Hz, H-C5)

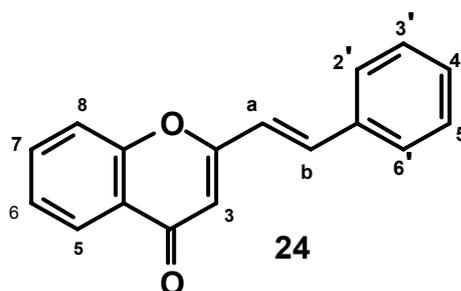
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[63] überein.

Versuch 2

2-Styrylchromon 24

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit Benzaldehyd)

Ansatz: 0.40 g (2.5 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.31 g (3.0 mmol) Benzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 24 h



Ausbeute: 0.58 g (2.4 mmol) (93 % der Theorie)

UV-VIS (0.22 mg **24** / 10 ml CHCl₃)

λ_{\max} (log ϵ) = 259 nm (4.85), 327 nm (5.44)

IR (fest in KBr)

ν [cm⁻¹] = 3059 (=C-H arom.), 1665 (-C=C-), 1624 (C=O), 1397 (-C-O-C-), 969 (-C=C- *trans*)

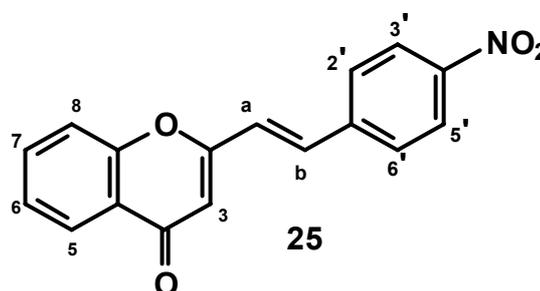
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[64] überein.

Versuch 3

2-(4-Nitrostyryl)chromon 25

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 4-Nitrobenzaldehyd)

Ansatz: 0.40 g (2.5 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.45 g (3.0 mmol) 4-Nitrobenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 7 d

C₁₇H₁₁NO₄ (M=293.27 g/mol)

Ausbeute: 0.53 g (1.8 mmol) (72 % der Theorie)

Smp: 275 °C

¹H-NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 6.41 (s, 1H, H-C3); 6.94 (d, 1H, J=16 Hz, H-Cb); 7.43 (t, 1H, J=8 Hz, H-C7); 7.55 (d, 1H, J=8, H-C8); 7.66 (d, 1H, J=16 Hz, H-Ca); 7.69-7.76 (m, 3H, H-C2', H-C6', H-C6); 8.21 (d, 1H, J=8, H-C5); 8.28-8.31 (m, 2H, B-Teil eines [AB]₂-Systems, H-C3', H-C5')

UV-VIS (0.40 mg **25**/25 ml CHCl₃)

λ_{\max} (log ϵ) = 278 nm (5.03), 338 nm (5.56)

IR (fest in KBr)

ν [cm⁻¹] = 1653 (-C=C-), 1626 (C=O), 1563 u. 1513 u. 1224 (-NO₂), 1341 (-C-O-C-), 975 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

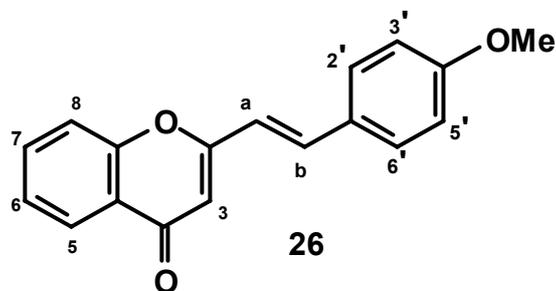
m/z (%) = 293 (100) [M⁺], 292 (65), 246 (35), 218 (20), 121 (43), 120 (43), 120 (43), 92 (70), 77 (16), 64 (20), 39 (10)

Versuch 4

2-(4-Methoxystyryl)chromon **26**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 4-Methoxybenzaldehyd)

Ansatz: 0.24 g (1.5 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.23 g (2.3 mmol) 4-Methoxybenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 24 h

C₁₈H₁₄O₃ (M=278.30 g/mol)

Ausbeute: 0.40 g (14 mmol) (85 % der Theorie)

Smp: 136 °C

UV-VIS (0.27 mg **26** / 25 ml Methanol)

λ_{\max} (log ϵ) = 245 nm (4.20), 360 nm (4.57)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 1650 (-C=C-), 1638 (C=O), 1392 (-C-O-C-), 1266(-OMe), 966 (-C=C-*trans*)

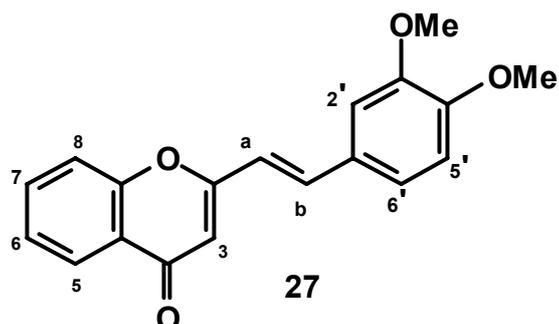
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[64] überein.

Versuch 5

2-(3,4-Dimethoxystyryl)chromon 27

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 3,4-Dimethoxybenzaldehyd)

Ansatz: 1.6 g (10 mmol) 2-Methylchromon **23**
 2.0 g (12 mmol) 3,4-Dimethoxybenzaldehyd
 ca. 0.44 g Natrium (20 mmol)



Reaktionszeit: 2 d

	$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$	(M=308.33 g/mol)
Ausbeute:	2.43 g (7.9mmol)	(79 % der Theorie)

UV-VIS (0.13 mg **27** / 10 ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 259 nm (4.24), 368 nm (4.54)

IR (fest in KBr)

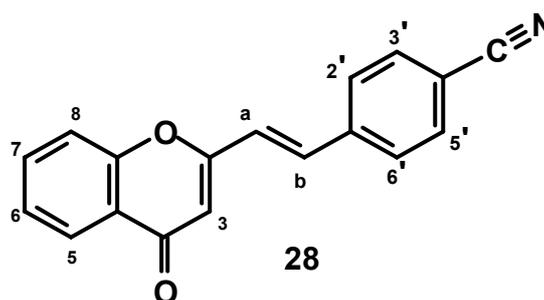
ν [cm^{-1}] = 3002 (=C-H arom.), 1625 (-C=C-), 1620 (C=O), 1384 (-C-O-C-), 1264 (-=Me), 966 (-C=C- *trans*)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[64] überein.

Versuch 6**2-(4-Cyanstyryl)chromon 28**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 4-Methoxybenzaldehyd)

Ansatz: 0.82 g (5.0 mmol) 2-Methylchromon **3**
 0.87 g (6.4 mmol) 4-Cyanbenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 3 d

	$C_{18}H_{14}O_3$	(M=273.30 g/mol)
Ausbeute:	1.2 g (4.5 mmol)	(90 % der Theorie)
Smp:	234 °C	

1H -NMR₃₀₀ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 6.53 (s, 1H, H-C3); 7.43, 7.76 (2d, 2H, J=16 Hz, H-Ca, H-Cb); 7.49 (t, 1H, J=7.5 Hz, H-C7); 7.71 (d, 1H, J=7.5 Hz, H-C8); 7.85 (t, 1H, J=7.5 Hz, H-C6); 7.72 (s, 4H, H-C2', H-C3', H-C5', H-C6'); 8.03 (d, 1H, J=6, H-C5)

UV-VIS (0.13 mg **28** / 10 ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.11), 328 nm (4.52)

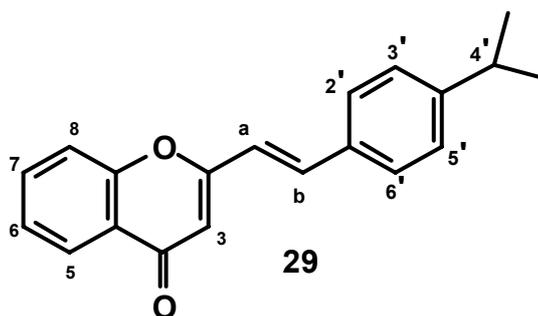
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 273 (88) [$M+1$]⁺, 272 (100) [M]⁺, 256 (54), 121 (33), 120 (42), 92 (75), 64 (28), 63 (20)

Versuch 7**2-(4-Isopropylstyryl)chromon 29**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 4-Isopropylbenzaldehyd)

Ansatz: 0.25 g (2.5 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.45 g (6.4 mmol) 4-Isopropylbenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 3 d

	$C_{20}H_{18}O_2$	(M=290.36 g/mol)
Ausbeute:	0.61 g (2.1 mmol)	(84 % der Theorie)
Smp:	101 °C	

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 1.26 (d, 6H, J=7 Hz, 2 H_3C -C4'); 2.95 (sept, 1H, J=7 Hz, H -C4'); 6.33 (s, 1H, H -C3); 6.76 (d, 1H, J=16 Hz, H -Cb); 7.39 (t, 1H, J=7.5 Hz, H -C7); 7.30 (m, 2H, A-Teil eines [AB]₂-Systems, H -C3', H -C5'); 7.52 – 7.58 (m, 3H, H -C2', H -C8, H -C6'); 7.61 (d, 1H, J=16 Hz, H -Ca); 7.68 (t, 1H, J=7.5 H -C6); 8.20 (d, 1H, J=8, H -C5)

UV-VIS (0.30 mg **29** / 25 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 241 nm (4.19), 345 nm (4.63)

MS (EI / 70 eV)

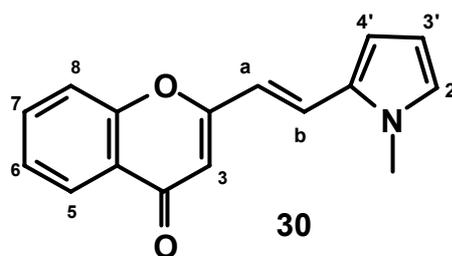
m/z (%) = 291 (22) $[M+1]^+$, 290 (100) $[M]^+$, 275 (39), 273 (49), 248 (20), 247 (99), 170 (29), 165 (26), 155 (25), 149 (23), 128 (24), 121 (67), 120 (25), 116 (12), 115 (22), 92 (35), 77 (25), 65 (21), 43 (97), 39 (22)

Versuch 8

2-[2-(1-Methylpyrr-2-yl)vinyl]chromon 30

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit 1-Methylpyrrol-2-carbaldehyd)

Ansatz: 0.44 g (2.7 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.74 g (3.0 mmol) 1-Methylpyrrol-2-carbaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 4 d

	$C_{16}H_{13}NO_2$	(M=251.28 g/mol)
Ausbeute:	0.50 g (2.0 mmol)	(79 % der Theorie)
Smp:	135 °C	

1H -NMR₃₀₀ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 3.79 (s, 3H, \underline{H}_3C-N); 6.16 (dd, 1H, J=4 Hz, J=2 Hz, $\underline{H}-C2'$); 6.38 (s, 1H, $\underline{H}-C3$); 6.77 (dd, 1H, J=4 Hz, J=2 Hz, $\underline{H}-C4'$); 6.78 (d, 1H, J=16 Hz, $\underline{H}-Cb$); 7.01 (t, 1H, J=2 Hz, $\underline{H}-C3'$); 7.47 (t, 1H, J=8 Hz, $\underline{H}-C7$); 7.61 (d, 1H, J=16 Hz, $\underline{H}-Ca$); 7.71 (d, 1H, J=8 Hz, $\underline{H}-C8$); 7.80 (t, 1H, J=8 Hz, $\underline{H}-C6$); 8.00 (d, 1H, J=8, $\underline{H}-C5$)

UV-VIS (0.25 mg **30** / 25 ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 245 nm (3.99), 312 nm (3.86), 404 (4.54)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 1621 (C=O), 1275 u. 1055 (-C-N), 1384 (-C-O-C-), 966 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 251 (85) [M^+], 250 (62), 222 (26), 194 (6), 181 (7), 158 (14), 131 (100), 130 (59), 112 (12), 77 (19), 63 (17), 39 (16)

Versuch 9

2-(2-Fur-2-ylvinyl)chromon 31

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit Furfural)

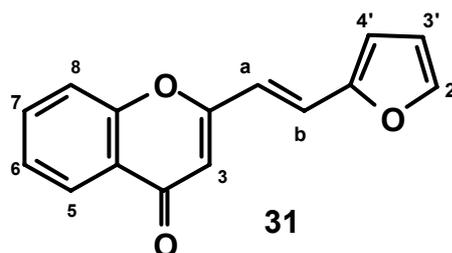
Ansatz: 3.2 g (20 mmol) 2-Me-

thylchromon **23**

3.0 g (30 mmol) Furfural

ca. 1.0 g Natrium (40 mmol)

Reaktionszeit: 7 d



$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_3$ (M=238.24 g/mol)

Ausbeute: 3.00 g (12.6 mmol) (63 % der Theorie)

UV-VIS (0.25 mg **31** / 25 ml Methanol; U-Bad)

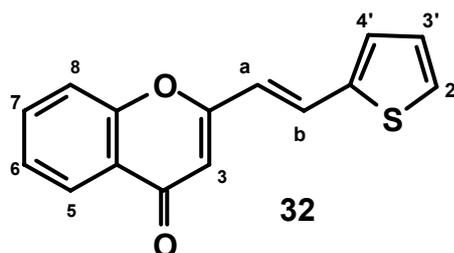
λ_{max} (log ϵ) = 256 nm (3.95), 357 nm (4.54)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[129] überein.

Versuch 10**2-(2-Thien-2-ylvinyl)chromon 32**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit Thiophen-2-aldehyd)

Ansatz: 0.40 g (2.5 mmol) 2-Methylchromon **23**
 0.34 g (3.0 mmol) Thieryl-2-aldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 5 d

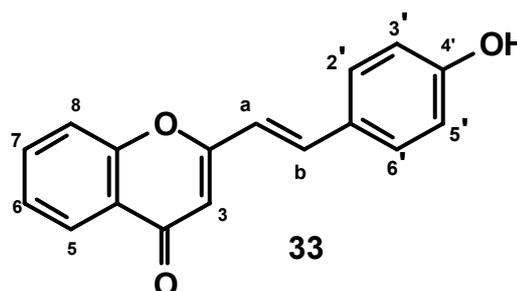
	$C_{15}H_{10}O_2S$	(M=254.31 g/mol)
Ausbeute:	0.28 g (1.1 mmol)	(44 % der Theorie)
Smp:	110 °C	

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[129] überein.

Versuch 11**2-(4-Hydroxystyryl)chromon 33**

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe.

Ansatz: 8 ml Methylenchlorid
 0.18 g (0.66 mmol) **26**
 2 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Methylenchlorid



Reaktionszeit: 4 d

$C_{17}H_{12}O_3$ (M=264.28 g/mol)
 Ausbeute: 0.12 g (0.44 mmol) (66 % der Theorie)
 Smp: 287 °C

UV-VIS (0.25 mg **33** / 25ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 246 nm (4.18), 365 nm (4.55)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3445 (OH), 3068 (=C-H arom.), 1623 (C=O), 1397 u. 1248 (C-OH),
 971 (-C=C- *trans*)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[131] überein.

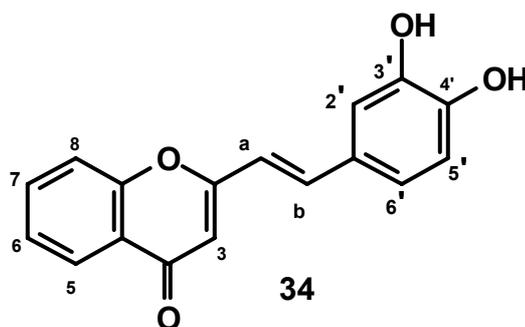
Versuch 12

2-(3,4-Dihydroxystyryl)chromon 34

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe.

Ansatz: 40 ml Methylenchlorid
 2.23 g (7.23 mmol) **27**
 12 ml 1 M-Lösung Bortri-
 bromid in Methylenchlorid

Reaktionszeit: 10 d



$C_{17}H_{12}O_4$ (M=280.28 g/mol)
 Ausbeute: 0.55 g (2.0 mmol) (27 % der Theorie)
 Smp: 243 °C

$^1\text{H-NMR}_{200}$ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 6.30 (s, 1H, $\underline{\text{H-C3}}$); 6.99 (d, 1H, $J=15.8$ Hz, $\underline{\text{H-Cb}}$); 6.83 (d, 1H, $J=8.2$ Hz, $\underline{\text{H-C5'}}$); 6.98 (dd, 1H, $J=8.2$ Hz, $J=1.8$ Hz, $\underline{\text{H-C6'}}$); 7.13 (d, 1H, $J=1.8$ Hz, $\underline{\text{H-C2'}}$); 7.41 (t, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H-C6}}$); 7.51 (d, 1H, $J=15.8$ Hz, $\underline{\text{H-Ca}}$); 7.60 (d, 1H, $J=7.8$, $\underline{\text{H-C8}}$); 7.74 (t, 1H, $J=7.8$, $\underline{\text{H-C7}}$); 8.07 (d, 1H, $J=7.8$, $\underline{\text{H-C5}}$); 8.99, 9.31 (2s, 2H, $\underline{\text{OH-C3'}}$, $\underline{\text{OH-C4'}}$)

UV-VIS (0.31 mg **34** / 25 ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 252 nm (4.20), 378 nm (4.54)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3430 (OH), 3125 (=C-H arom.), 1607 (C=O), 1396 (-C-O-C-), 1286 (C-OH), 973 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 308 (42), 294 (35), 280 (100) [M^+], 263 (36), 233 (14), 205 (11), 188 (26), 160 (25), 131 (9), 121 (15), 76 (15), 44 (22), 42 (37)

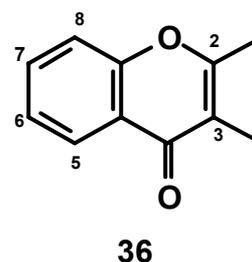
Versuch 13

2,3-Dimethylchromon 36

Eine Mischung aus 15 g (0.010 mol) o-Hydroxypropio-phenon **35**, 25 g Natriumtriacetat und 150 g Essigsäureanhydrid wird 10 h auf 170 – 180 °C erhitzt.

Die warme Lösung wird in verdünnte Salzsäure gegossen.

Am nächsten Tag wird die Lösung mit Natriumhydroxid neutralisiert. Der organische Teil wird dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigten ätherischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt.



$C_{11}H_{10}O_2$ (M=174.20 g/mol)

Ausbeute : 3,9 g (0.023 mol) (11 % der Theorie)

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 2.06 (s, 3H, \underline{H}_3C -C3), 2.41 (s, 3H, \underline{H}_3C -C2), 7.34 (t, 1H, J=8, \underline{H} -C6), 7.37 (d, 1H, J=8, \underline{H} -C8), 7.58 (t, 1H, J=8, \underline{H} -C7), 8.20 (d, 1H, J=8, \underline{H} -C5)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[67] überein.

Versuch 14

3-Methyl-2-styrylchromon 37

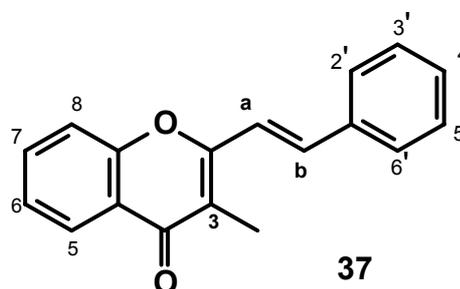
Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2,3-Dimethylchromon **36** mit Benzaldehyd)

Ansatz: 0.43 g (2.5 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**

0.32 g (3.0 mmol) Benzaldehyd

ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)

Reaktionszeit: 4 d



$C_{18}H_{14}O_2$ (M=262.31 g/mol)

Ausbeute: 0.55 g (2.1 mmol) (83 % der Theorie)

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 2.19 (s, 3H, \underline{H}_3C -C3); 7.45 (d, 1H, J=16 Hz, \underline{H} -Cb); 7.41 - 7.50 und 7.69 - 7.85 (2m, 3H bzw. 5H: \underline{H} -C2', \underline{H} -C3', \underline{H} -C4', \underline{H} -C5', \underline{H} -C6, \underline{H} -C6', \underline{H} -C7, \underline{H} -C8); 7.74 (d, 1H, J=16 Hz, \underline{H} -Ca); 8.04 (d, 1H, J=8, \underline{H} -C5)

UV-VIS (0.10 mg **37** / 10 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 238 nm (4.12), 260 nm (4.05), 338 nm (4.53)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 1631 (C=O), 1465 (-CH₃), 1391 (-C-O-C-), 969 (-C=C- *trans*), 757 u. 689 (=C-H)

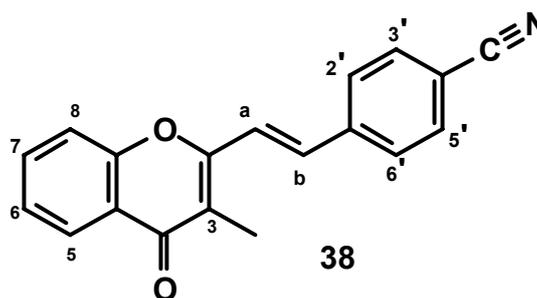
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[69] überein.

Versuch 15

2-(4-Cyanstyryl)-3-methylchromon 38

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2,3-Dimethylchromon **36** mit 4-Cyanbenzaldehyd)

Ansatz: 0.43 g (2.5 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**
0.39 g (3.0 mmol) 4-Cyanbenzaldehyd
ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 2 d

	$\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{O}_2$	(M=287.32 g/mol)
Ausbeute:	0.64 g (2.2 mmol)	(89 % der Theorie)
Smp:	240 °C	

¹H-NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 2.27 (s, 3H, H₃C-C3); 7.27 (d, 1H, J=16 Hz, H-Cb); 7.39 (t, 1H, J=8 Hz, H-C6); 7.41 (d, 1H, J=8, H-C8); 7.62 (d, 1H, J=16 Hz, H-Ca); 7.68 (t, 1H, J=8, H-C7); 7.71 (s, 4H, H-C2', H-C3', H-C5', H-C6'); 8.21 (d, 1H, J=8, H-C5)

UV-VIS (0.22 mg **38** / 25 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 268 nm (4.18), 338 nm (4.64)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 2225 (C≡N), 1627 (C=O), 1469 (-CH₃), 1396 (-C-O-C-), 760 u. 695 (=C-H), 966 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 287 (100) [M^+], 273 (11), 258 (2), 240 (2), 215 (1), 190 (1), 186 (11), 185 (72), 166 (12), 140 (9), 121 (14), 101 (3), 92 (11), 64 (8), 39 (6)

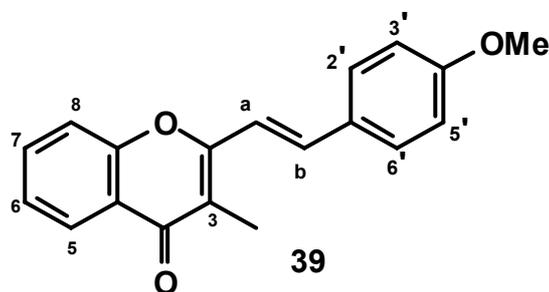
Versuch 16

2-(4-Methoxystyryl)-3-methylchromon 39

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2,3-Dimethylchromon **36** mit 4-Methoxybenzaldehyd)

Ansatz: 0.47 g (2.7 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**
 0.44 g (3.2 mmol) 4-Methoxybenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)

Reaktionszeit: 2 d



$\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_3$ (M=292.33 g/mol)

Ausbeute: 0.62 g (2.1 mmol) (78 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.24 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C3}$); 3.86 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-O-}$); 6.95 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\text{H-C2}'$, $\text{H-C6}'$); 7.03 (d, 1H, $J=16$ Hz, H-Cb); 7.35 (t, 1H, $J=8$ Hz, H-C6); 7.49 (d, 1H, $J=8$, H-C8); 7.57 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\text{H-C3}'$, $\text{H-C5}'$); 7.59 (d, 1H, $J=16$ Hz, H-Ca); 8.21 (d, 1H, $J=8$, H-C5)

UV-VIS (0.172 mg **39** / 50 ml Methanol)

λ_{\max} (log ϵ) = 245 nm (4.19), 364 nm (4.57)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 1631 (C=O), 1600 (-C=C-), 1467 (-CH₃), 1393 (-C-O-C-), 1174 (-OMe), 964 (-C=C- *trans*)

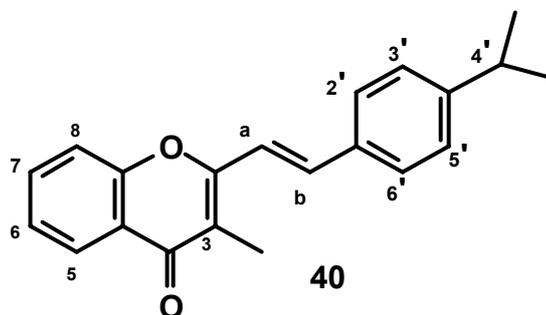
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[69] überein.

Versuch 17

2-(4-Isopropylstyryl)-3-methylchromon **40**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 2-Methylchromon **36** mit 4-Isopropylbenzaldehyd)

Ansatz: 0.26 g (1.5 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**
0.30 g (2.0 mmol) 4-Isopropylbenzaldehyd
ca. 0.07 g Natrium (3 mmol)



Reaktionszeit: 7 d

$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_2$ (M=304.39 g/mol)

Ausbeute: 0.35 g (1.2 mmol) (77 % der Theorie)

Smp: 145°C

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 1.28 (d, 6H, J=7 Hz, 2 $\text{H}_3\text{C-C4}'$); 2.25 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C3}$); 2.95 (sept, 1H, J=6.8 Hz, $\text{H-C4}'$); 7.13 (d, 1H, J=16 Hz, H-Cb); 7.29 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\text{H-C3}'$, $\text{H-C5}'$); 7.36 (t, 1H, J=8 Hz, H-C6); 7.50 (d, 1H, J=8 Hz,

$\underline{\text{H-C8}}$); 7.55 (d, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\underline{\text{H-C2'}}$, $\underline{\text{H-C6'}}$); 7.63 (d, 1H, $\text{J}=16 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-Ca}}$); 7.66 (t, 1H, $\text{J}=8$, $\underline{\text{H-C7}}$); 8.21 (dd, 1H, $\text{J}=8$, $\text{J}=1.6$, $\underline{\text{H-C5}}$)

UV-VIS (0.37 mg **40** / 25 ml Methanol)

λ_{max} ($\log \epsilon$) = 242 nm (4.16), 348 nm (4.58)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 2963 u. 1467 ($-\text{CH}_3$), 1627 ($\text{C}=\text{O}$), 1378 (*i*-Pr), 1397 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 961 ($-\text{C}=\text{C}-$ *trans*), 768 u. 684 ($=\text{C}-\text{H}$)

MS (EI / 70 eV)

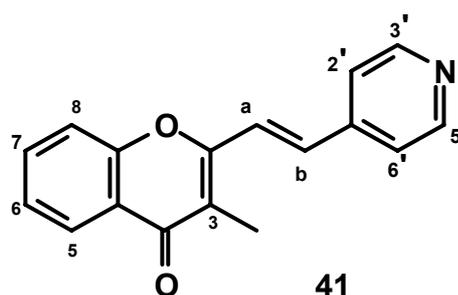
m/z (%) = 305 (22) $[\text{M}+1]^+$, 304 (100) $[\text{M}^+]$, 303 (57), 263 (2), 261 (32), 231 (1), 215 (2), 185 (47), 169 (7), 137 (17), 121 (32), 105 (5), 77 (5), 65 (5), 43 (6)

Versuch 18

3-Methyl-2-(2-pyrid-4-ylvinyl)chromon 41

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2,3-Dimethylchromon **36** mit 4-Pyridylaldehyd)

Ansatz: 0.35 g (2.0 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**
 0.44 g (1.3 mmol) 4-Pyridylaldehyd
 0.08 g NaOH (5 mmol) statt Natrium



Reaktionszeit: 2 d

	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{N}$	($M=262.29 \text{ g/mol}$)
Ausbeute:	0.39 g (1.5 mmol)	(74 % der Theorie)
Smp:	193 °C	

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.27 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C3}$); 7.32 (d, 1H, $\text{J}=16$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-Ca}$); 7.38 (t, 1H, $\text{J}=8$, $\underline{\text{H}}\text{-C6}$); 7.46 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\underline{\text{H}}\text{-C2}'$, $\underline{\text{H}}\text{-C6}'$); 7.48 (d, 1H, $\text{J}=8$, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$); 7.55 (d, 1H, $\text{J}=16$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-Ca}$); 7.68 (t, 1H, $\text{J}=8$, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$); 8.21 (d, 1H, $\text{J}=8$, $\underline{\text{H}}\text{-C5}$); 8.68 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\underline{\text{H}}\text{-C3}'$, $\underline{\text{H}}\text{-C5}'$)

UV-VIS (0.21 mg **41** / 25 ml Methanol; U-Bad)

λ_{max} ($\log \epsilon$) = 266 nm (4.13), 322 nm (4.46)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3051 u. 3071 ($=\text{C-H}_{\text{Aryl}}$), 1631 ($-\text{C}=\text{C}-$), 1619 ($\text{C}=\text{O}$), 1598 u. 1565 ($\text{C}=\text{N}$), 1470 ($-\text{CH}_3$), 1395 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 971 ($-\text{C}=\text{C}-$ *trans*), 764 ($=\text{C}-\text{H}$)

MS (EI / 70 eV)

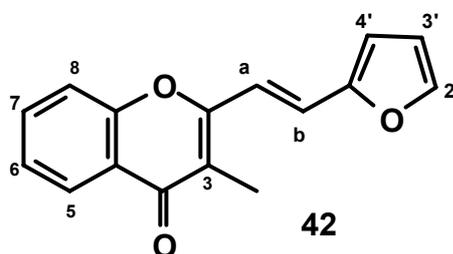
m/z (%) = 263 (64) $[\text{M}+1]^+$, 264 (40) $[\text{M}^+]$, 248 (8), 235 (2), 220 (1), 204 (2), 115 (16), 103 (3), 92 (21), 64 (9), 51 (6)

Versuch 19

2-(2-Fur-2-ylvinyl)-3-methylchromon **42**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 2,3-Dimethylchromon **36** mit Furfural)

Ansatz: 0.26 g (1.5 mmol) 2,3-Dimethylchromon **36**
 0.19 g (20 mmol) Furfural
 ca. 0.10 g Natrium (3.0 mmol)



Reaktionszeit: 4 d

$\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{O}_3$ (M=254.27 g/mol)

Ausbeute: 0.34 g (1.3 mmol) (89 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.24 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C3}$); 6.51 (t, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C3'}$); 6.62 (d, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C4'}$); 7.08 (d, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-Cb}$); 7.35 (t, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C6}$); 7.40 (d, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-Ca}$); 7.45 (d, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$); 7.52 (d, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C2'}$); 7.64 (t, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$); 8.20 (dd, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C5}$)

UV-VIS (0.07 mg **42** / 10 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 260 nm (3.89), 364 nm (4.46)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 1638 (-C=C-), 1621 (C=O), 1466 (-CH_3), 1392 (-C-O-C-), 952 (-C=C- *trans*)

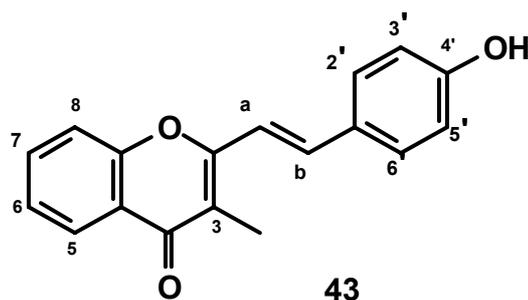
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[69] überein.

Versuch 20

2-(4-Hydroxystyryl)-3-methylchromon 43

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe

Ansatz: 8 ml Methylenchlorid
0.29 g (1.0 mmol) **39**
3 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Dichlormethan



Reaktionszeit: 6 d

	$\text{C}_{18}\text{H}_{14}\text{O}_3$	($M=278.30$ g/mol)
Ausbeute:	0.19 g (0.7 mmol)	(70 % der Theorie)
Smp:	273 °C	

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 2.14 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C3}$); 6.80 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\text{H-C2}'$, $\text{H-C6}'$); 7.04 (d, 1H, $J=16$ Hz, H-Cb); 7.35 (t, 1H, $J=8$ Hz, H-C6); 7.53 (d, 1H, $J=16$ Hz, H-Ca); 7.53 - 7.58 (m, 3H, $\text{H-C3}'$, $\text{H-C5}'$, H-C8); 7.68 (t, 1H, $J=8$ Hz, H-C7); 8.01 (d, 1H, $J=8$ Hz, H-C5); 8.08 (s, 1H, $\text{OH-C4}'$)

UV-VIS (0.40 mg **43** / 25ml Methanol, U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 246 nm (4.13), 369 nm (4.47)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3423 (C-OH), 1598 (C=O), 1466 ($-\text{CH}_3$), 1400 ($-\text{C-O-C-}$), 9733 ($-\text{C=C-}$ *trans*)

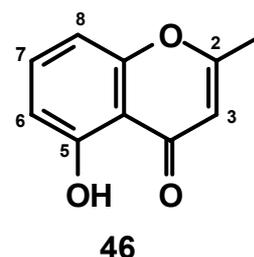
MS (EI / 70 eV)

M/z (%) = 279 (18) $[\text{M}+1]^+$, 278 (100) $[\text{M}^+]$, 263 (43), 261 (8), 234 (3), 218 (1), 205 (1), 185 (42), 157 (19), 131 (5), 121 (31), 101 (4), 77 (6), 65 (8), 40 (10), 39 (7)

Versuch 21

5-Hydroxy-2-methylchromon **46**: Route 1

In einem Einhalsrundkolben mit Rückflußkühler wird zu einer Mischung von 5.60 g (37 mmol) 2,5-Dihydroxyacetophenon **44** und 13.5 g (153 mmol) Ethylacetat, 2.0 g (87 mmol) Natrium langsam zugegeben. Nach 30 min hat sich das Natrium umgesetzt, anschließend wird die Reaktion 4.5 h unter Rückfluß erhitzt. Nach Abkühlen wird 75 ml abs. Diethylether zugegeben. Das Feststoff wird mittels einem Büchnertrichter abgetrennt und zweimal mit Diethylether gewaschen.



Das trockene Pulver wird mit 35 ml einer 2 N Essigsäurelösung geschüttelt. Die Suspension wird 30 min stehen gelassen, bevor das gebildete Diketon **45** abfiltriert wird.

Das Ringschluß zum Chromon erfolgt unter Zugabe von 19 ml konzentrierter Salzsäure. Die saure Lösung wird auf 125 ml Eiswasser gegossen und mit 105 ml eine 2 N Natronlauge neutralisiert. Der Feststoff wird filtriert und durch Sublimation im Hochvakuum erhält man das reine 5-Hydroxy-2-methylchromon **46**.



Ausbeute : 0,31 g (1.8 mmol) (14 % der Theorie über zwei Stufe)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.39 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$), 6.11 (s, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C3}$), 6.77 (d, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C6}$); 6.85 (d, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$), 7.49 (t, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$), 12.56 (s, 1H, $\underline{\text{H}}\text{O-C5}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[72] überein.

Versuch 22

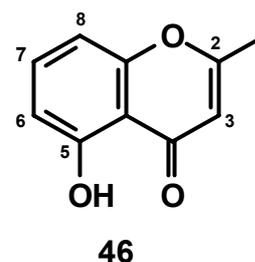
5-Hydroxy-2-methylchromon **46**: Route 2

In einem 1-Halskolben mit Rückflußkühler werden 15.2 g (100 mmol) 2,5-Dihydroxyacetophenon **44**, 16.4 g (200.0 mmol) Natriumacetat und 28.4 g (320 mmol) Essigsäureanhydrid 5 h auf 140 °C erhitzt. Nach kurzen Abkühlen wird die braune Lösung in ca.

200 ml destilliertes Wasser gegossen. Die gebildeten gelben Kristalle werden abfiltriert und getrocknet.

Anschließend wird das Rohprodukt 1 h in einer wäßrigen Natriumcarbonat-Lösung zum Sieden erhitzt.

Das rohe Chromon wird abfiltriert und durch Sublimation im Hochvakuum erhält man das reine 5-Hydroxy-2-methylchromon **46**.





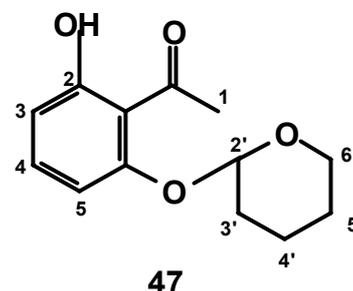
Ausbeute : 10,62 g (0.06 mol) (60 % der Theorie)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[71] überein.

Versuch 23

2-Hydroxy-6-(tetrahydropyran-2-yloxy)acetophenon 47

9.8 g (64.2 mmol) 2,5-Dihydroxyacetophenon **44** werden in 40 ml trockenem Dioxan gelöst, dazu werden 34.4 g (410 mmol) Dihydro-2H-pyran zugegeben und über einen Tropftrichter wird eine Lösung aus 40 mg (0.23 mmol) p-Toluolsulfonsäure in 40 ml Dioxan zugetropft.



Die Reaktionsmischung wird 3 h unter Rückfluß erhitzt.

Nach dieser Zeit wird die Lösung auf eine 5%ige Kaliumcarbonat-Lösung gegossen und mit Diethylether extrahiert.

Die etherische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer unter verminderten Druck eingeeengt, wobei das Produkt kristallisiert.



Ausbeute : 10.66 g (45.00 mmol) (70 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 1.67 – 1.96 (m, 6H, $\underline{\text{H}}_2\text{-C3}'$, $\underline{\text{H}}_2\text{-C4}'$, $\underline{\text{H}}_2\text{-C5}'$); 2.75 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C1}$); 3.70 (m, 2H, $\underline{\text{H-C6}}$); 5.53 (m, 1H, $\underline{\text{H-C2}}'$); 6.58 (d, 1H, $\text{J}=8 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C5}}$), 6.70 (d, 1H, $\text{J}=8 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C2}}$); 7.32 (t, 1H, $\text{J}=8 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C4}}$), 13.11 (s, 1H, $\underline{\text{HO-C2}}$)

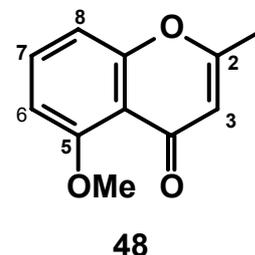
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[73] überein.

Versuch 24**5-Methoxy-2-methylchromon 48**

In einem 2-Halskolben mit 20 ml Aceton werden 2.11 g (12 mmol) 5-Hydroxy-2-methylchromon **46** und 2.65 g (19 mmol) Kaliumcarbonat vorgelegt. Aus einem Tropftrichter werden 2.72 g (19 mmol) Methyljodid in 20 ml Aceton gelöst zugetropft. Die Mischung wird unter Rückfluß 5 h erhitzt.

Nach Abkühlen wird der Feststoff abfiltriert und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt.

Der gelbe Rückstand wird säulenchromatographisch mit Methylchlorid/Diethylether 3 : 1 gereinigt.



Ausbeute : 1,07 g (5,6 mmol) (47 % der Theorie)

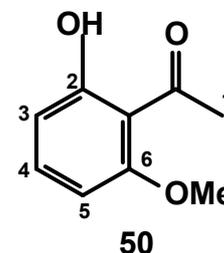
$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.31 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 3.97 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-O-C5}$); 6.08 (s, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C3}$); 7.79 (d, 1H, $\text{J}=7.5$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C6}$); 7.98 (d, 1H, $\text{J}=7.5$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$); 7.52 (t, 1H, $\text{J}=7.5$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[75] überein.

Versuch 25**2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon 50**

8.31 g (50.0 mmol) 2,6-Dihydroxyacetophenon **44** werden in 50 ml einer 20%igen Natronlauge gelöst und mit 9.53 g (500 mmol) Dimethylsulfat geschüttelt. Es bildet sich nach 3 h ein Feststoff, der abgetrennt wird und anschließend wird die Lösung kurze Zeit zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit Salzsäure angesäuert. Das 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon **50** wurde mit Wasserdampf abdestilliert. Das Destillat wurde mit Diethylether extrahiert, mit Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampf vom Lösungsmittel befreit.

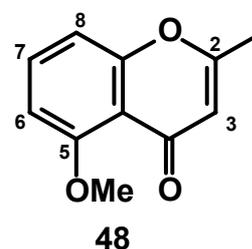


Ausbeute : 3,8 g (23 mmol) (46 % der Theorie)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[75] überein.

Versuch 26**5-Methoxy-2-methylchromon 48**

3.8 g (0.023 mol) 2-Hydroxy-6-methoxyacetophenon **50** werden mit 24 ml trockenem Ethylacetat umgesetzt. Ca. 2 g Natrium werden in der Lösung zugegeben und diese wird 1 h zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wurde durch Austausch des Rückfluß-



kühlers gegen eine Destillierbrücke entfernt. Reste von Natrium werden mit Ethanol zersetzt. Die Lösung wird mit verdünnter Essigsäure behandelt. Da kein Feststoff sich aus der Lösung trennt, wird eine Extraktion mit Diethylether durchgeführt.

Die etherische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, wobei das Diketon **51** kristallisiert (2.73 g, 13.9 mmol, 57 %).

Das Diketon **51** wird in abs. Ethanol gelöst und wird mit 15 Tropfen konzentrierter Salzsäure 30 min zum Rückfluß erhitzt.

Das erhaltene Feststoff wird abgetrennt und durch Sublimation gereinigt.



Ausbeute : 0,62 g (33 mmol) (25 % der Theorie über zwei Stufen)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 2.31 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C2}$); 3.97 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-O-C5}$); 6.08 (s, 1H, H-C3); 7.79 (d, 1H, $J=7.5$ Hz, H-C6); 7.98 (d, 1H, $J=7.5$ Hz, H-C8); 7.52 (t, 1H, $J=7.5$ Hz, H-C7)

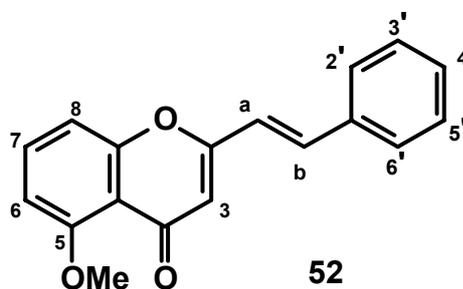
Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[72] überein.

Versuch 27

5-Methoxy-2-styrylchromon 52

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinyogl-verlängerter Flavonoide mit Natriumethanolat. (Kupplung von 5-Methoxy-2-methylchromon **48** mit Benzaldehyd)

Ansatz: 0.28 g (1.5 mmol) 5-Methoxy-2-methylchromon **48**
 0.21 g (2.0 mmol) Benzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)



Reaktionszeit: 2 d

$C_{18}H_{14}O_3$ (M=278.30 g/mol)

Ausbeute: 0.19 g (0.68 mmol) (46 % der Theorie)

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 3.99 (s, 3H, \underline{H}_3C -O-C5); 6.25 (s, 1H, H-C3); 6.47 (d, 1H, J=16 Hz, \underline{H} -Cb); 6.81 (d, 1H, J=8 Hz, \underline{H} -C6); 7.11 (d, 1H, J=8 Hz, \underline{H} -C8); 7.37 - 7.45 und 7.52 - 7.59 (2m, 3H bzw. 4H: \underline{H} -C2', \underline{H} -C3', \underline{H} -C4', \underline{H} -C5', \underline{H} -C6', \underline{H} -C7, \underline{H} -Ca)

UV-VIS (0.19 mg **52** / 10 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 285 nm (4.19), 328 nm (4.50)

IR (fest in KBr)

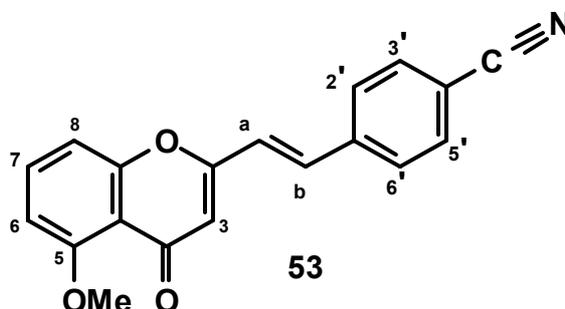
ν [cm⁻¹] = 3061 (=C-H arom.), 1605 (-C=C-), 1644 (C=O), 1391 (-C-O-C-), 1265 u. 1084 (-OMe), 982 (-C=C- *trans*)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[130] überein.

Versuch 28

2-(4-Cyanostyryl)-5-methoxychromon 53

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat (Kupplung von 5-Methoxy-2-methylchromon **48** mit 4-Cyanobenzaldehyd)



Ansatz: 0.28 g (1.5 mmol) 5-Methoxy-2-methylchromon **48**

0.26 g (2.0 mmol) 4-Cyanobenzaldehyd

ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)

Reaktionszeit: 2 d

$C_{19}H_{13}O_3N$ (M=303.32 g/mol)
Ausbeute: 0.23 g (0.77 mmol) (51 % der Theorie)
Smp: 200 °C

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 3.99 (s, 3H, H₃C-O-C5); 6.29 (s, 1H, H-C3); 6.80 (d, 1H, J=16 Hz, H-Cb); 6.83 (d, 1H, J=8 Hz, H-C6); 7.10 (d, 1H, J=8 Hz, H-C8); 7.53 (d, 1H, J=16 Hz, H-Ca) ; 7.60 (t, 1H, J=8 Hz, H-C7); 7.67 - 7.69 (m, 4H, A- und B-Teile des [AB]₂-Systems, H-C2', H-C3', H-C5', H-C6')

UV-VIS (0.13 mg **53** / 10 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 223 nm (4.26), 326 nm (4.54)

IR (fest in KBr)

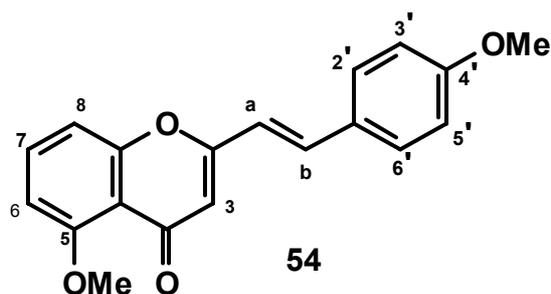
ν [cm⁻¹] = 2226 (C≡N), 1640 (C=O), 1605 (-C=C-), 1393 (-C-O-C-), 1267 u. 1084 (OMe), 951 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 303 (78) [M⁺], 286 (6), 257 (47), 228 (5), 201 (4), 190 (5), 152 (10), 128 (8), 107 (35), 92 (26), 55 (21), 44 (100)

Versuch 29**5-Methoxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 54**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 5-Methoxy-2-methylchromon **48** mit 4-Methoxybenzaldehyd)



Ansatz: 0.19 g (1.0 mmol) 5-Methoxy-2-methylchromon **48**
 0.19 g (1.4 mmol) 4-Methoxybenzaldehyd
 ca. 0.11 g Natrium (5.0 mmol)

Reaktionszeit: 3 d

$C_{19}H_{16}O_4$ (M=308.33 g/mol)

Ausbeute: 0.22 g (0.73 mmol) (73 % der Theorie)

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 3.85 (s, 3H, \underline{H}_3C -O-C4'); 3.99 (s, 3H, \underline{H}_3C -O-C5); 6.21 (s, 1H, H-C3); 6.59 (d, 1H, J=16 Hz, \underline{H} -Cb); 6.80 (d, 1H, J=8.5 Hz, \underline{H} -C6); 6.94 (m, 2H, A-Teil des [AB]₂-Systems, \underline{H} -C3', \underline{H} -C5'); 7.09 (d, 1H, J=8.5 Hz, \underline{H} -C8); 7.47 - 7.57 (m, 4H, \underline{H} -C2', \underline{H} -C6', \underline{H} -C7, \underline{H} -Ca)

UV-VIS (0.27 mg **54** / 25 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 357 nm (4.50)

IR (fest in KBr)

ν [cm⁻¹] = 2936 (=C-H arom.), 2836 (-OMe), 1604 (-C=C-), 1637 (C=O), 1388

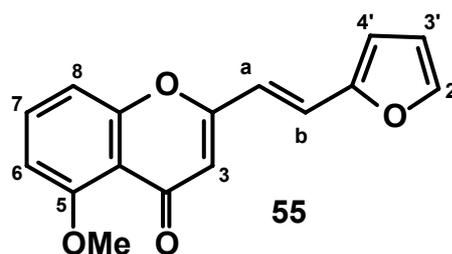
(-C-O-C-), 1263 u. 1085 (C5-OMe), 951 (-C=C- *trans*)

Versuch 30

2-(2-Fur-2-ylvinyl)-5-hydroxychromon 55

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 5-Methoxy-2-methylchromon **48** mit Furfural)

Ansatz: 0.19 g (1.0 mmol) 2,3-Dimethylchromon **48**
 0.12 g (12 mmol) Furfural
 ca. 0.1 g Natrium (3 mmol)



Reaktionszeit: 7 d

$C_{16}H_{12}O_3$ (M=252.27 g/mol)

Ausbeute: 0.15 g (0.59 mmol) (59 % der Theorie)

Smp: 154 °C

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

δ [ppm] = 3.98 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-O-C5}$); 6.21 (s, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C3}$); 6.49 (dd, 1H, $J=4$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C3'}$); 6.59 (d, 1H, $J=4$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C4'}$); 6.62 (d, H, $J=16$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-Cb}$); 6.79 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C6}$); 7.05 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$); 7.30 (d, 1H, $J=16$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-Ca}$); 7.50 (d, 1H, $J=4$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C2'}$); 7.54 (t, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$);

UV-VIS (0.35 mg **55** / 25 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 266 nm (4.06), 356 nm (4.58)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 2959 (=C-H arom.), 1629 (C=O), 1391 (-C-O-C-), 1264 u. 1087 (-OMe), 963 (-C=C- *trans*)

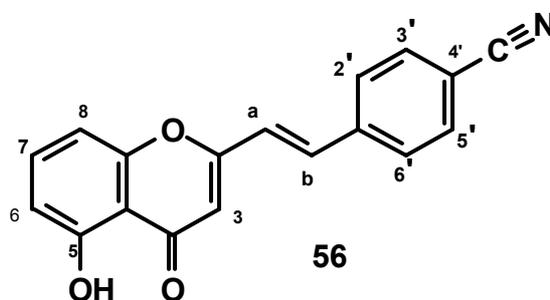
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 268 (100) [M^+], 251 (7), 239 (23), 222 (39), 196 (3), 184 (7), 165 (3), 134 (5), 120 (7), 107 (9), 89 (10), 63 (6), 39 (6)

Versuch 31

2-(4-Cyanstyryl)-5-hydroxychromon 56

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe



Ansatz: 10 ml Methylenchlorid
 0.10 g (0.33 mmol) **53**
 2 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Dichlormethan

Reaktionszeit: 3 d

$C_{18}H_{11}O_3N$ (M=289.29 g/mol)
 Ausbeute: 30 mg (0.10 mmol) (30 % der Theorie)
 Smp: 240 °C

1H -NMR₂₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 6.31 (s, 1H, H-C3); 6.82 (d, 1H, J=8.28 Hz, H-C6); 6.90 (d, H, J=16 Hz, H-Cb); 6.98 (d, 1H, J=8.5 Hz, H-C8); 7.56 (t, 1H, J=8.28 Hz, H-C7); 7.61 (d, H, J=16 Hz, H-Ca); 7.45 – 7.76 (m, 4H, A- und B-Teile eines [AB]₂-Systems, H-C2', H-C3', H-C5', H-C6'); 12.47 (s, 1H, OH-C4')

UV-VIS (0.25 mg **56** / 25 ml Methanol, U-Bad)

λ_{\max} (log ϵ) = 325 nm (4.62)

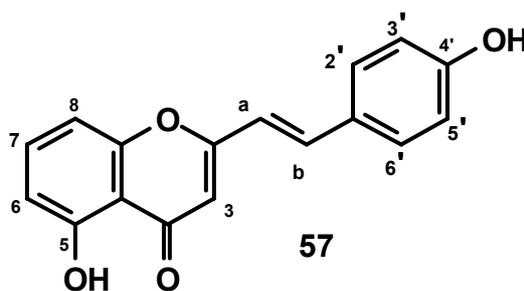
IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3400 (OH), 2225 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1654 ($-\text{C}=\text{C}-$), 1607 ($\text{C}=\text{O}$), 1420 ($\text{C}-\text{OH}$), 1255 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 969 ($-\text{C}=\text{C}-$ *trans*)

Versuch 32

5-Hydroxy-2-(4-hydroxystyryl)chromon **57**

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe



Ansatz: 8 ml Methylenchlorid

0.071 g (0.23 mmol) **54**

1 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Dichlormethan

Reaktionszeit: 7 d

$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{O}_4$ (M=280.28 g/mol)

Ausbeute: 0.20 g (0.71 mmol) (3 % der Theorie)

Smp: 299 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6 / TMS)

δ [ppm] = 6.20 (s, 1H, $\underline{\text{H}}-\text{C}3$); 6.67 (d, 1H, $\text{J}=8.2$ Hz, $\underline{\text{H}}-\text{C}6$); 6.74 (d, H, $\text{J}=16.4$ Hz, $\underline{\text{H}}-\text{C}b$); 6.79 (m, 2H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\underline{\text{H}}-\text{C}3'$, $\underline{\text{H}}-\text{C}5'$); 6.96 (d, 1H, $\text{J}=8.2$ Hz, $\underline{\text{H}}-\text{C}8$); 7.45 (m, 2H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, $\underline{\text{H}}-\text{C}2'$, $\underline{\text{H}}-\text{C}6'$); 7.51

(t, 1H, J=8.8 Hz, \underline{H} -C7); 7.54 (d, H, J=16.4 Hz, \underline{H} -Ca); 7.95 (s, 2H, \underline{OH} -C4', \underline{OH} -C5)

UV-VIS (0.16 mg **57** / 10 ml Methanol, U-Bad)

λ_{\max} (log ϵ) = 251 (4.13), 371 nm (4.54)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3221 (OH), 1650 (-C=C-), 1600 (C=O), 1257 (-C-O-C-), 965 (-C=C-*trans*)

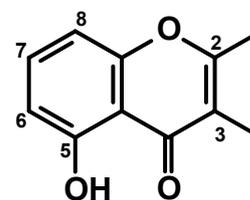
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 281 (17) $[M+1]^+$, 280 (100) $[M]^+$, 262 (22), 234 (3), 223 (2), 205 (2), 171 (3), 165 (2), 144 (30), 115 (20), 108 (10), 89 (4), 65 (4), 39 (6)

Versuch 33

5-Hydroxy-2,3-dimethylchromon 59

3.65 g (220 mmol) 2,6-Dihydroxypropiophenon **58** werden mit 25.52 g (250 mmol) Essigsäureanhydrid und 4.20 g (660 mmol) Natriumacetat 6 h unter Rückfluß erhitzt.



59

Nachdem die Lösung abgekühlt ist, wird Base abfiltriert und die Lösung auf 5%ige Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegossen. Am nächsten Tag wird die Lösung mit 2 N Salzsäure neutralisiert und dreimal mit Diethylether extrahiert. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer eingeeengt.

Nach Sublimation erhält man das Produkt im Form blass-gelbe Kristalle.

$\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_3$ (M=190.20 g/mol)

Ausbeute : 4,29 g (15.0 mmol) (66 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

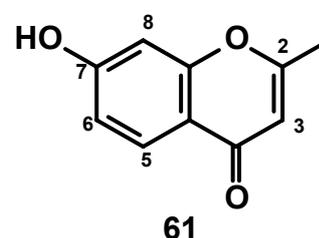
δ [ppm] = 1.99 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C3}$); 2.38 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 6.95 (d, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C6); 7.28 (d, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C8); 7.57 (t, 1H, $\text{J}=8$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C7); 12.81 (s, $\underline{\text{H}}\text{O-C5}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[77] überein.

Versuch 34

7-Hydroxy-2-methylchromon **61**

10 g (0.022 mol) 2,4-Dihydroxyacetophenon **60** werden in 20 g (4.4 mol) Essigsäureanhydrid gelöst und mit 10 g (0.12 mol) Natriumacetat 3 h unter Rückfluß erhitzt. Auf die erkalte Reaktionsmischung wird Wasser gegossen, um das restliche



Natriumacetat zu lösen. Die braune Masse wird mit 5%ige Ammoniaklösung gewaschen und mit einem Büchnertrichter abgesaugt.

Der braune Pulver wird 15 min mit 100 ml eine 5%ige Natriumcarbonat-Lösung erwärmt. Die Lösung wird mit 2N Salzsäure angesäuert. Beim Abkühlen fallen Kristalle von **61** aus.

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_3$ (M=176.17 g/mol)

Ausbeute : 1,2 g (6.7 mmol) (10 % der Theorie)

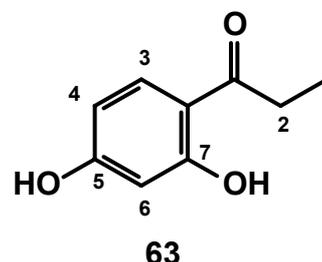
$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS):

δ [ppm] = 2.34 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 6.10 (s, 1H, $\underline{\text{H}}$ -C3); 6.81 (d, 1H, $\text{J}=3$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C8); 6.89 (dd, 1H, $\text{J}=8.5$ Hz, $\text{J}=3$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C6); 7.84 (d, 1H, $\text{J}=8.5$ Hz, $\underline{\text{H}}$ -C5); 10.9 (s, breite Bande $\underline{\text{H}}\text{O-C7}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[78] überein.

Versuch 35**2,4-Dihydroxypropiophenon 63**

100 g (730 mmol) frisches Zinkchlorid wurde mit 100 g (1.35 mol) zum Sieden erhitzt, bis das Zinkchlorid aufgelöst wurde. Man läßt die Mischung abkühlen und gibt 50 g (0.45 mol)



Resorcin **62** zu. Die Mischung wird wieder zum Sieden erhitzt und 15 min unter Rückfluß gehalten. Danach wird sie in 1 l kaltes Wasser gegossen. Die Lösung wurde abdekantiert und der Feststoff mit Wasser gewaschen bis er kein Zinkchlorid mehr enthält. Der Feststoff wird in 2 N Natriumlauge gelöst und auf 1 l verdünnt. Die basische Lösung wird langsam in 1 l Salzsäure 2 N getropft. Die saure Lösung wird über Nacht auf unter 10 °C abgekühlt.

Helle Kristalle und ein roter Niederschlag fallen aus. Nach Entfernen der Kristallen, wird der rote Niederschlag in Natronlauge und mit Salzsäure neutralisiert, um das Propiophenon **63** zu gewinnen.

$C_9H_{10}O_3$ (M=166.17 g/mol)

Ausbeute : 66 g (0.40 mol) (88 % der Theorie)

Smp: 88 °C

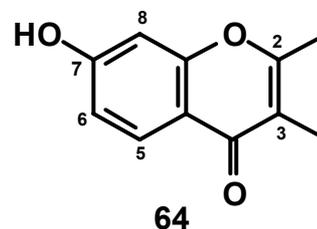
1H -NMR₂₀₀ (CDCl₃ / TMS)

δ [ppm] = 1.23 (t, 3H, J=7.5 Hz, H_3 -C1); 2.95 (q, 2H, J=7.5 Hz, H_2 -C2); 6.36 – 6.42 (m, 2H, H -C4, H -C6); 7.66 (d, 1H, J=6 Hz, H -C3); 12.82 (s, HO -C5, HO -C7)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[80] überein.

Versuch 36**7-Hydroxy-2,3-dimethylchromon 64**

5.22 g (31.0 mmol) 2,4-Dihydroxypropiophenon **63** werden mit 14.43 g (160 mmol) Essigsäureanhydrid und 7.80 g (0.095 mmol) Natriumacetat 3 h unter Rückfluß erhitzt. Die heiße Reaktionsmischung wird auf Eiswasser gegossen und die



ölige Phase mit Diethylether extrahiert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer eingeeengt und das erhaltene ölige Produkt wird mit einer Natriumacetat-Lösung (12.3 g $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 50 ml H_2O) 30 min erwärmt.

Mit einem Büchnertrichter trennt man ein braunes Pulver ab, dass an der Ölpumpe getrocknet wird. Das Filtrat wird mit Salzsäure angesäuert und der ausgefallene Feststoff wird zusammen mit den braunen Pulver gesammelt. Das rohe Chromon **64** wird aus Methanol kristallisiert.



Ausbeute : 4.67 g (25.0 mmol) (79 % der Theorie)

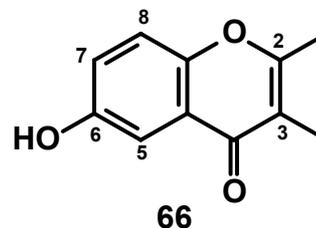
$^1\text{H-NMR}_{200}$ (DMSO- d_6)

δ [ppm] = 1.92 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C3}$); 2.38 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C2}$); 6.78 (d, 1H, $\text{J}=2.2$ Hz, H-C8); 6.88 (dd, 1H, $\text{J}=8.8$ Hz, $\text{J}=2.2$ Hz, H-C6); 7.86 (d, 1H, $\text{J}=8.8$ Hz, H-C5); 3.35 (s, breite Bande HO-C7)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[81] überein.

Versuch 37**2,3-Dimethyl-6-hydroxychromon 66**

50 g (0.35 mol) 2-Methylacetessigsäure-ethylester werden mit 50 g (0.45 mol) Hydrochinon **65** und 80 ml absolutem Ethanol versetzt. Die Lösung wird auf 0 °C gekühlt und 60 g (0.42 mol) Phosphorpentoxid werden zugegeben. Die Temperatur wird langsam auf 100 °C erhöht und bei dieser Temperatur wird 30 min weiter erhitzt. 50 g (0.45 mol) Hydrochinon **65** und 80 g (0.56 mol) Phosphorpentoxid werden zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird 2 min erhitzt. Die ölige Lösung wird in warmen Wasser gelöst. Bei der Zugabe von 2 N Natronlauge scheidet sich das Chromon **66** ab.



Ausbeute : 14 g (0.074 mol) (21 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{200}$ (DMSO- d_6)

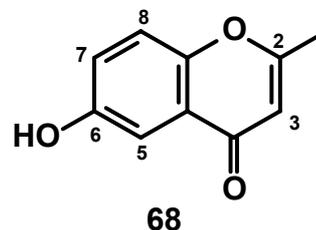
δ [ppm] = 1.94 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C3}$); 2.39 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 7.18 (dd, 1H, $\text{J}=8 \text{ Hz}$, $\text{J}=3 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C7}}$); 7.30 (d, 1H, $\text{J}=3 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C5}}$); 7.43 (d, 1H, $\text{J}=9 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H-C8}}$); 3.6 (s, breite Bande $\underline{\text{HO-C6}}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[83] überein.

Versuch 38**6-Hydroxy-2-methylchromon 68**

10 g (0.066 mol) 2,5-Dihydroxyacetophenon **67** werden in 20 g (4.4 mol) Essigsäureanhydrid gelöst und mit 16 g (0.19 mol) Natriumacetat 3 h unter Rückfluß erhitzt. Auf die erkaltete Reaktionsmischung wird Wasser gegossen, um das restlichen Natriumacetat zu lösen. Die braune Masse wird mit 5%ige Ammoniaklösung gewaschen und mit einem Büchnertrichter abgesaugt.

Das braune Pulver wird 15 min mit 50 ml eine 5%ige Natriumacetatlösung erwärmt. Die Lösung wird mit 2 N Salzsäure angesäuert. Das braune Pulver wird abgesaugt und an der Ölpumpe getrocknet.



Ausbeute : 3.3 g (0.019 mmol) (29 % der Theorie)

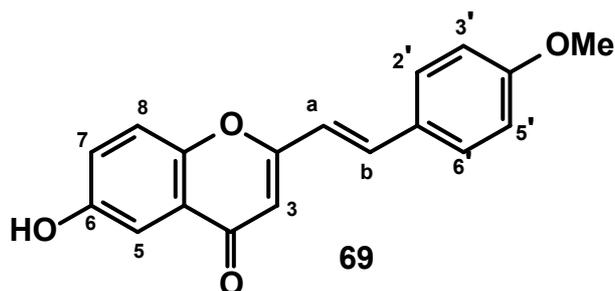
$^1\text{H-NMR}_{200}$ (DMSO- d_6)

δ [ppm] = 2.38 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 6.17 (s, 1H, $\underline{\text{H}}\text{-C3}$); 7.22 (dd, 1H, $\text{J}=8.9 \text{ Hz}$, $\text{J}=2.9 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$); 7.29 (d, 1H, $\text{J}=2.9 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}\text{-C5}$); 7.48 (d, 1H, $\text{J}=8.9 \text{ Hz}$, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$); 9.96 (s, breite Bande $\underline{\text{H}}\text{O-C6}$)

Spektroskopische Daten stimmen mit der Literatur^[78] überein.

Versuch 39**6-Hydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 69**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Natriummethanolat. (Kupplung von 6-Hydroxy-2-methylchromon **68** mit 4-Methoxybenz-aldehyd)



Ansatz: 0.18 g (10 mmol) 6-Hydroxy-3-methylchromon **68**
 0.15 g (11 mmol) 4-Methoxybenzaldehyd
 ca. 0.050 g Natrium (2.0 mmol)

Reaktionszeit: 6 d

$C_{18}H_{14}O_4$ (M=294.30 g/mol)
 Ausbeute: 0.15 g (0.5 mmol) (49 % der Theorie)
 Smp: 235 °C

1H -NMR₂₀₀ (DMSO- d_6)

δ [ppm] = 3.38 (s, 3H, $H_3C-O-C4'$); 6.36 (s, 1H, $H-C3$); 7.04 (m, 2H, A-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $H-C3'$, $H-C5'$); 7.06 (d, 1H, J=16 Hz, $H-Cb$); 7.25 (dd, 1H, J=8.8 Hz, J=2.9 Hz, $H-C7$); 7.31 (d, 1H, J=2.9 Hz, $H-C5$); 7.59 (d, 1H, J=8.8 Hz, $H-C8$); 7.64 (d, 1H, J=16 Hz, $H-Ca$); 7.70 (m, 2H, B-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $H-C2'$, $H-C6'$); 10.00 (s, 1H, $HO-C6$)

UV-VIS (1.01 mg **69** / 10 ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 227 (3.23), 252 nm (3.15), 352 nm (3.38)

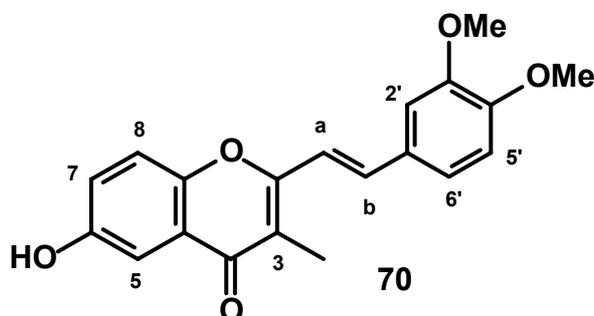
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 294 (94) [M⁺], 277 (29), 250 (3), 234 (4), 205 (1), 185 (6), 158 (100), 136 (11), 115 (33), 89 (5), 80 (5), 52 (6), 39 (3)

Versuch 40

6-Hydroxy-2-(3,4-dimethoxystyryl)-3-methylchromon 70

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit TiCl₄.
(Kupplung von 2-Methylchromon mit verschiedene Aldehyde)



Ansatz: 40 ml THF
2.2 ml Titan-tetrachlorid in 5 ml Tetrachlormethan
1.90 g (0.0100 mol) **66** und 1.66 g (0.0100 mol) 3,4-Dimethoxybenzaldehyd
8 ml *N*-Methylmorpholin

Reaktionszeit: 9 d

	C ₂₀ H ₁₈ O ₅	(M=338.38 g/mol)
Ausbeute:	2.53 g (7.5 mmol)	(75 % der Theorie)
Smp:	246 °C	

¹H-NMR₂₀₀ (DMSO-d₆)

δ [ppm] = 2.16 (s, 3H, H₃C-O-C3); 3.84, 3.88 (2s, 6H, H₃C-O-C3', H₃C-O-C4'); 6.91 (d, 1H, J= 8.28 Hz, H-C5'); 7.07 (d, 1H, J=16 Hz, H-Cb); 7.10 - 7.22 (m, 2H, H-C2', H-C6'); 7.13 (dd, 1H, J=9 Hz, J=3 Hz, H-C7); 7.31 (d, 1H, J=3 Hz, H-

C5); 7.39 (d, 1H, J=9 Hz, $\underline{\text{H-C8}}$); 7.52 (d, 1H, J=16 Hz, $\underline{\text{H-Ca}}$); 8.00 (s, breites Signal, $\underline{\text{H-O-C6}}$)

UV-VIS (0.40 mg **70** / 25 ml Methanol, U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 267 nm (3.87), 368 nm (4.25)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3302 (OH), 2834 (O-Me), 1632 (C=O), 1474 (-CH₃), 1265 (-C-O-C-), 1228 u. 1093 (C-OH), 958 (-C=C- *trans*)

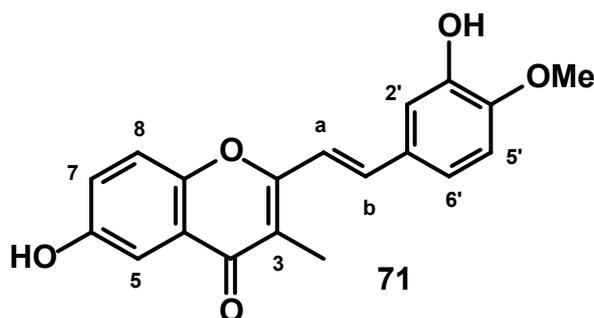
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 338 (82) [M^+], 323 (100), 293 (4), 263 (4), 234 (2), 202 (32), 182 (29), 165 (24), 137 (31), 115 (12), 77 (12), 51 (11), 44 (53)

Versuch 41

6-Hydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxystyryl)-3-methylchromon 71

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe



Ansatz: 6 ml Methylenchlorid

1.70 g (0.05 mol) **70**

5 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Dichlormethan (nach 96 h wurden weitere 5 ml zugespritzt)

Reaktionszeit: 7 d

C₁₉H₁₆O₅ (M=324.33 g/mol)
Ausbeute: 0.9 g (2.8 mmol) (55 % der Theorie)
Smp: 301 °C

¹H-NMR₅₀₀ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 2.12 (s, 3H, H₃C-C3); 3.16 (s, 3H, H₃C-O-C4'); 6.79 (d, 1H, J=8.28 Hz, H-C2'); 7.05 (d, 1H, J=15.8 Hz, H-Cb); 7.09 (d, 1H, J=7.78 Hz, H-C5'); 7.19 (d, 1H, J=8.03 Hz, H-C6'); 7.20 (d, 1H, J=9.03 Hz, H-C7); 7.29 (d, 1H, J=2.76 Hz, H-C5); 7.51 (d, 1H, J=15.8 Hz, H-Ca); 7.55 (d, 1H, J=9.03 Hz, H-C8); 3.19 (s, breite Bande HO-C6, HO-C3')

UV-VIS (0.10 mg **71** / 10ml Methanol)

λ_{max} (log ε) = 268 nm (3.84), 376 nm (4.20)

IR (fest in KBr)

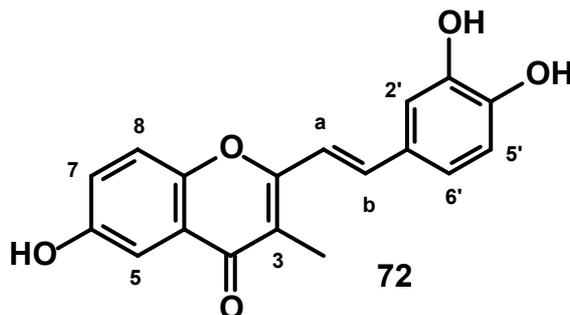
ν [cm⁻¹] = 3314 (OH), 1609 (C=O), 1285 (-C-O-C-), 1225 u. 1091 (C-OH), 959 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 310 (81), 295 (43), 263 (6), 239 (3), 201 (56), 190 (6), 173 (18), 137 (56), 128 (15), 109 (13), 80 (12), 44 (100), 43 (19)

Versuch 422-(3,4-Dihydroxystyryl)-6-hydroxy-3-methylchromon 72

Allgemeine Vorschrift zur Freisetzung einer Hydroxygruppe aus einer Methoxygruppe



Ansatz: 10 ml Methylenchlorid
 0.15 g (0.46 mmol) **70**
 6 ml 1 M-Lösung Bortribromid in Dichlormethan

Reaktionszeit: 12 d

$C_{18}H_{14}O_5$ (M=310.30 g/mol)

Ausbeute: 60 mg (0.20 mmol) (42 % der Theorie)

Smp: 216 °C

1H -NMR₅₀₀ (DMSO / TMS)

δ [ppm] = 2.12 (s, 3H, H_3C -C3); 6.79 (d, 1H, J=8 Hz, H -C5'); 7.04 (1d, 1H, J=15.8 Hz, H -Cb); 7.09 (dd, 1H, J=8 Hz, J=2 Hz, H -C7); 7.11 (d, 1H, J=2 Hz, H -C2'); 7.22 (2, 1H, J=2 Hz, H -C6'); 7.28 (d, 1H, J=2 Hz, H -C5); 7.51 (d, 1H, J=15.8 Hz, H -Ca); 7.55 (d, 1H, J=9 Hz, H -C8); 3.43 (s, breites Signal OH -Gruppen)

UV-VIS (0.21 mg **72** / 10ml Methanol)

λ_{max} (log ϵ) = 224 (4.30), 261 nm (4.13), 376 nm (4.47)

IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3386 (OH), 1603 (C=O), 1475 ($-\text{CH}_3$), 1250 (C-OH), 1092 ($-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 963 ($-\text{C}=\text{C}-$ *trans*)

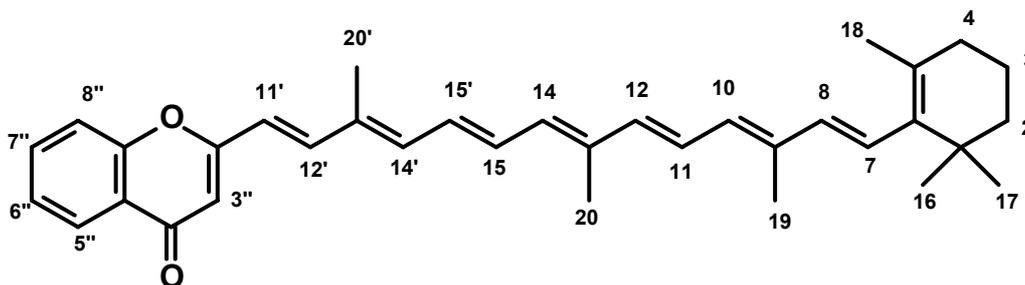
MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 344 (2), 310 (13) [M^+], 295 (5), 280 (6), 249 (1), 220 (1), 190 (2), 173 (2), 137 (6), 121 (4), 109 (2), 82 (100), 44 (8), 40 (7)

Versuch 43

2-[3,8,12-Trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]chromon 73

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Titan-tetrachlorid . (Kupplung von 2-Methylchromon **23** mit C_{25} - β -Carotinaldehyd)



73

Ansatz: 20 ml THF
 1.1 ml (0.010 mol) Titan-tetrachlorid in 2.5 ml Tetrachlorkohlenstoff
 0.80 g (0.0050 mol) 2-Methylchromon **23**
 1.75 g (0.00500 mol) C_{25} - β -Carotinaldehyd
 2.2 ml (0.02 mol) *N*-Methylmorpholin

Reaktionszeit : 47 h

Reinigung durch Säulechromatographie Methylchlorid / Diethylether 3 : 1

	$\text{C}_{35}\text{H}_{40}\text{O}_2$	($M=492.70$ g/mol)
Ausbeute:	1.6 g (3.2 mmol)	(64 % der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

1.04 (s, 6H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C16}$, $\underline{\text{H}}_3\text{-C17}$); 1.72 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C18}$); 1.42 – 1.49 (m, 2H, $\underline{\text{H}}_2\text{-C2}$);
 1.58 – 1.73 (m, 4H, $\underline{\text{H}}_2\text{-C3}$, $\underline{\text{H}}_2\text{-C4}$); 1.99, 2.02 (2s, 3H + 6H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C19}$, $\underline{\text{H}}_3\text{-C20}$,
 $\underline{\text{H}}_3\text{-C20}'$); 6.11 – 6.40, 6.57 – 6.87 und 7.32 – 7.39 (3m, 13H (7H, 4H, bzw. 2H),
 $\underline{\text{H}}\text{-C3}''$, $\underline{\text{H}}\text{-C6}''$, $\underline{\text{H}}\text{-C7}$, $\underline{\text{H}}\text{-C8}$, $\underline{\text{H}}\text{-C10}$, $\underline{\text{H}}\text{-C11}$, $\underline{\text{H}}\text{-C11}'$, $\underline{\text{H}}\text{-C12}$, $\underline{\text{H}}\text{-C12}'$, $\underline{\text{H}}\text{-C14}$, $\underline{\text{H}}\text{-C14}'$,
 $\underline{\text{H}}\text{-C15}$, $\underline{\text{H}}\text{-C15}'$); 7.48 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C8}''$); 7.65 (t, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C7}''$);
 8.18 (d, 1H, $J=8$ Hz, $\underline{\text{H}}\text{-C5}''$)

UV-VIS (0.20 mg **73** / 10 ml Methanol, U-Bad)

λ_{max} ($\log \epsilon$) = 247 nm (4.16), 296 nm (4.14), 445 nm (4.02)

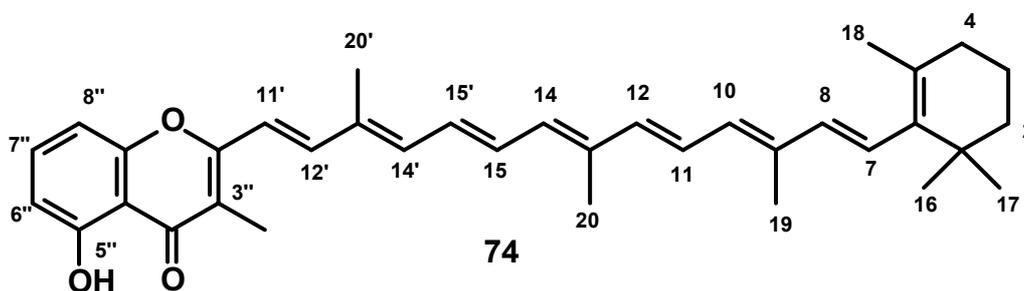
IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 2932 (- CH_3), 1624 (- $\text{C}=\text{C}$ -), 1466 (- CH_3), 970 (- $\text{C}=\text{C}$ - *trans*)

Versuch 44

5-Hydroxy-3-methyl-2-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)-tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]chromon **74**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Titan-tetrachlorid . (Kupplung von 2,3-Dimethyl-5-hydroxycromon **59** mit C_{25} - β -Carotinaldehyd)



Ansatz: 20 ml THF

1.1 ml (0.010 mol) Titan-tetrachlorid in 2.5 ml Tetrachlorkohlenstoff

0.95 g (0.0050 mol) 2,3-Dimethyl-5-hydroxycromon **59**

1.8 g (0.0050 mol) C_{25} - β -Carotinaldehyd

2.2 ml (0.020 mol) N-Methylmorpholin

Reaktionszeit : 43 h

Reinigung durch Säulechromatographie Dichlormethan / Diethylether 20 : 1 und

Diethylether / Dichlormethan 5 : 2

$C_{36}H_{42}O_3$ (M=522.72 g/mol)
Ausbeute: 0.6 g (1.2 mmol) (23 % der Theorie)
Smp: 100 °C

1H -NMR₃₀₀ (CDCl₃ / TMS)

1.04 (s, 6H, H_3 -C16, H_3 -C17); 1.45 – 1.51 (m, 2H, H_2 -C2); 1.58 – 1.66 (m, 4H, H_2 -C3, H_2 -C4); 1.99 – 2.04 (3s, 12H (3H + 6H + 3H), H_3 -C18, H_3 -C19, H_3 -C20, H_3 -C20'); 2.14 (s, 3H, H_3 C-C3''); 6.11 – 6.80 und 7.35 (m + s (10H + 1H), H -C7, H -C8, H -C10, H -C11, H -C11', H -C12, H -C12', H -C14, H -C14', H -C15, H -C15'); 6.85 (d, 1H, J=8 Hz, H -C6''); 6.88 (d, 1H, J=8 Hz, H -C8''); 7.46 (t, 1H, J=8 Hz, H -C7''); 12.93 (s, 1H, H -O-C5)

UV-VIS (0.32 mg **74** / 25 ml Methanol, U-Bad)

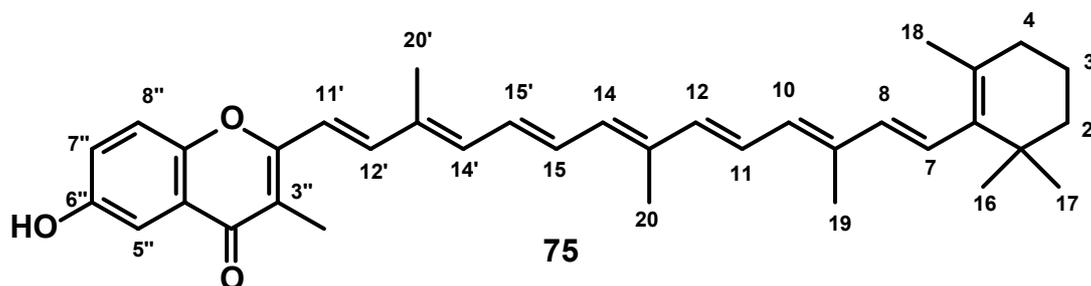
λ_{max} (log ϵ) = 271 nm (4.03), 340 nm (4.02), 470 nm (4.43)

IR (fest in KBr)

ν [cm⁻¹] = 3418 (OH), 2927 (-CH₃), 1638 (-C=C-), 1602 (C=O), 1486 (-CH₃), 1260 (C-OH), 973 (-C=C- *trans*)

Versuch 456-Hydroxy-3-methyl-2-[3,8,12-trimethyl-14-(2,6,6-trimethylcyclohex-1-enyl)tetradeca-1,3,5,7,9,11,13-heptaenyl]chromon 75

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Titan-tetrachlorid . (Kupplung von 2,3-Dimethyl-6-hydroxycromon **66** mit C₂₅-β-Carotinaldehyd)



Ansatz: 20 ml THF
 1.1 ml (0.010 mol) Titan-tetrachlorid in 2.5 ml Tetrachlorkohlenstoff
 0.95 g (0.0050 mol) 2,3-Dimethyl-6-hydroxycromon **66**
 1.8 g (0.0050 mol) C₂₅-β-Carotinaldehyd
 2.2 ml (0.02 mol) *N*-Methylmorpholin

Nach 48 h werden 2.2 ml (0.020 mol) *N*-Methylmorpholin in 5 ml THF zugetropft und es werden 0.53 g (0.0010 mol) 2,3-Dimethyl-5-hydroxycromon **66** in ca. 10 ml THF zugegeben.

Reaktionszeit : 5 d

Reinigung durch Säulechromatographie Dichlormethan / Diethylether 3 : 1 und Diethylether / Dichlormethan 5 : 2

	C ₃₆ H ₄₂ O ₃	(M=522.72 g/mol)
Ausbeute:	1.2 g (2.3 mmol)	(46 % der Theorie)
Smp:	131 °C	

$^1\text{H-NMR}_{300}$ (CDCl_3 / TMS)

1.04 (s, 6H, $\text{H}_3\text{-C16}$, $\text{H}_3\text{-C17}$); 1.43 – 1.49 (m, 2H, $\text{H}_2\text{-C2}$); 1.58 – 1.65 (m, 4H, $\text{H}_2\text{-C3}$, $\text{H}_2\text{-C4}$); 1.99 - 2.03 (3s, 9H, $\text{H}_3\text{-C19}$, $\text{H}_3\text{-C20}$, $\text{H}_3\text{-C20}'$); 2.08 (s, 3H, $\text{H}_3\text{-C18}$); 2.43 (s, 3H, $\text{H}_3\text{C-C3}''$); 6.11 – 6.87, 7.20 – 7.39 und 8.05 – 8.26 (3m, 7H, 3H bzw. 4H, $\text{H-C5}''$, H-C7 , $\text{H-C7}''$, H-C8 , $\text{H-C8}''$, H-C10 , H-C11 , $\text{H-C11}'$, H-C12 , $\text{H-C12}'$, H-C14 , $\text{H-C14}'$, H-C15 , $\text{H-C15}'$); 2.20 (s, 1H, H-O-C6)

UV-VIS (0.25 mg **75** / 25 ml Methanol, U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 227 nm (4.55), 278 nm (4.20), 335 nm (4.26), 464 nm (4.49)

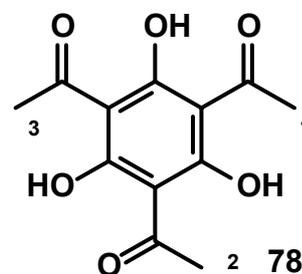
IR (fest in KBr)

ν [cm^{-1}] = 3441 (OH), 2924 ($-\text{CH}_3$), 1645 ($-\text{C}=\text{C}-$), 1585 (C=O), 1474 ($-\text{CH}_3$), 1237 (C-OH), 969 ($-\text{C}=\text{C}-$ *trans*)

Versuch 46

2,4,6-Triacetyl-1,3,5-trihydroxybenzol 78

In einem 500 ml Einhalsrundkolben werden ca. 100 ml Essigsäureanhydrid und 49.00 g Zinkchlorid gemischt. Dazu werden 46.68 g (370.0 mmol) Phloroglucinol **76**, und zuletzt der Rest von 20 ml Essigsäureanhydrids ($3 \cdot 0.37$ mol insgesamt) und 102,3 g Zinkchlorid ($3 \cdot 0.37$ mol insgesamt) zugegeben.



Sobald das Reaktionsgemisch 150 °C erreicht hat, wechselt die gelbe Farbe auf rot-orange und dann wird die Lösung 15 min zum Rückfluß gebracht.

200 ml 2N Salzsäure werden im Kolben zugegeben und die gelb-orangen Kristalle durch einen Büchnertrichter abfiltriert und an der Ölpumpe getrocknet.

$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_6$ (M=252.22 g/mol)

Ausbeute: 79.95 g (0.3000 mmol) (80% der Theorie)

$^1\text{H-NMR}_{200}$ (CDCl_3)

δ [ppm] = 2.77 (s, 9H, $\text{H}_3\text{C1}$, $\text{H}_3\text{C2}$, $\text{H}_3\text{C3}$)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 253 (11) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 237 (3), 212 (5), 195 (2), 180 (6), 154 (100), 136 (70), 120 (11), 107 (26), 77 (33), 63 (16), 39 (23), 37(4)

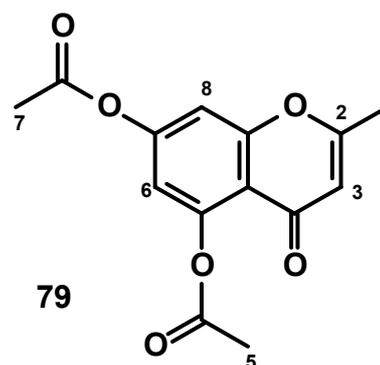
Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[88] überein.

Versuch 47

5,7-Diacetoxy-2-methylchromon 79

5.04 g (0.0200 mol) **78** werden mit 12.3 g (0.120 mol) Essigsäureanhydrid und 9.84 (0.120 mol) Natriumacetat 5 h auf 180 °C unter Rückflußkühler erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird das restliche Natriumacetat aus dem Reaktionsgemisch mit destilliertem Wasser herausgelöst. Der Feststoff wird durch einen Büchnertrichter

abgetrennt und getrocknet. Er wird 1h in einer basische Lösung aus 12.2 g Natriumcarbonatmonohydrat und 25 ml dest. Wasser erwärmt. Der Niederschlag wird abgesaugt und über einen Soxhlet-Extraktor 8 h mit Diethylether extrahiert. Das extrahierte Gemisch wird säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Diethylether 20 : 1 getrennt. Es werden drei Fraktionen erhalten. Die mittlere Fraktion besteht aus einem Gemisch.



Die spektroskopischen Daten der ersten Fraktion werden in diesen Versuch beschrieben.

$\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{O}_6$ (M=276.24 g/mol)

Ausbeute : 100 mg (0.36 mmol) (0.36 % der Theorie)

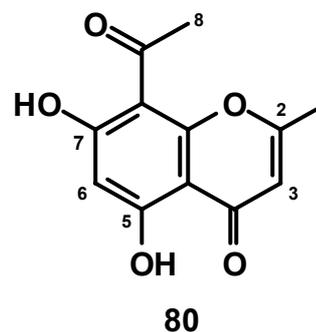
$^1\text{H-NMR}_{200}$ (CDCl_3)

δ [ppm] = 2.44 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 2.79, 2.84 (2s, 6H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C5}$, $\underline{\text{H}}_3\text{-C7}$); 6.28 (s, 1H, $\underline{\text{H-C3}}$); 6.96 (s, 1H, $\underline{\text{H-C6}}$); 7.08 (s, 1H, $\underline{\text{H-C8}}$)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[132] überein.

Die dritte Fraktion erweist sich als:

8-Acetyl-5,7-dihydroxy-2-methylchromon 80



$\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_5$

($M=234.21$ g/mol)

Ausbeute : 100 mg (0.43 mmol)

(0.43 % der Theorie)

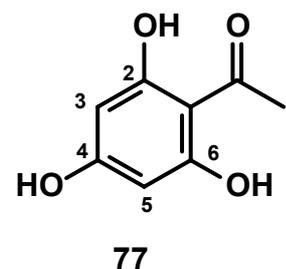
$^1\text{H-NMR}_{200}$ (CDCl_3)

δ [ppm] = 2.36 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 2.77 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C8}$); 6.05 (s, 1H, $\underline{\text{H-C3}}$); 6.30 (s, 1H, $\underline{\text{H-C6}}$); 14.10, 15.13 (2s, 2H, $\underline{\text{H-O-C5}}$, $\underline{\text{H-O-C7}}$)

Versuch 48

2,4,6-Trihydroxyacetophenon 77

In die auf 0 °C abgekühlte Lösung aus 20 g (0.16 mol) Phloroglucinol **76**, 13 g (0.32 mol) Acetonitril und 4.0 g (0.030 mol) Zinkchlorid in 80 ml Diethylether wird mittels eines Glasrohrs 2 h Chlorwasserstoff eingeleitet. Nach 24 h bei -2°C wird weitere 2 h Chlorwasserstoff eingeleitet und schließ-



lich der Kolben 3 d in den Kühlschrank gestellt.

Der Diethylether wird abdekantiert und der Niederschlag zweimal mit Diethylether gewaschen.

Das Ketimid **81** wird 2 h mit 1 l destillierten Wasser zum Sieden erhitzt.

Die hellgelben Kristalle werden abgesaugt und im Trockenschrank 4-5 h bei 120 °C getrocknet.



Ausbeute: 26.3 g (15.6 mmol) (98% der Theorie)

$^1\text{NMR}_{500}$ (DMSO- d_6 / TMS)

δ [ppm] = 2.59 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{-C1}$); 5.84, 5.84 (2s, 2H, $\underline{\text{H}}\text{-C3}$, $\underline{\text{H}}\text{-C5}$)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[89] überein.

Versuch 49

5,7-Dihydroxy-2-methylchromon 82

26.3 g (0.146 mol) 2,4,6-Trihydroxyacetophenon

77 werden in 61.4 g ($4 \cdot 0.146 \text{ mol} = 0.584 \text{ mol}$)

Essigsäureanhydrid gelöst und mit 47.9 g

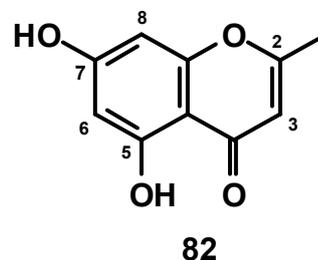
($4 \cdot 0.146 \text{ mol} = 0.584 \text{ mol}$) Natriumacetat 6 h 45

min unter Rückfluß erhitzt. Das restliche Natriumacetat wird nach kurzen Abkühlen bei Zugabe von Wasser gelöst. Die Reaktionsmischung wird auf Eiswasser gegossen und mit ca. 10 Tropfen 2 N Salzsäure wird die Lösung neutral eingestellt.

Der abgesaugte Feststoff wird 1 h mit einer Sodalösung (40 g $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} + 200 \text{ ml}$ Wasser) erhitzt, um die als Acetal geschützte Hydroxygruppe freizusetzen.

Die Mutterlauge wird auf einen leicht sauren pH eingestellt. Es trennt sich ein oranger Feststoff, der abgesaugt wird.

Das Chromon wird gesammelt und aus Methanol umkristallisiert.



$C_{10}H_8O_4$ (M=192.17 g/mol)
 Ausbeute : 2.8 g (0.015 mmol) (10 % der Theorie)

Elementaranalyse: C (ber.): 62.48 H (ber.): 4.20
 C (gef.): 62.37 H (gef.): 4.20

1H -NMR₂₀₀ (DMSO- d_6)

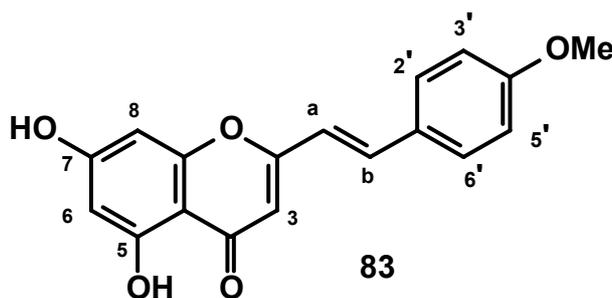
δ [ppm] = 2.35 (s, 3H, H_3C -C2); 6.16 (s, 1H, H -C3); 6.18 (d, 1H, J=2.1 Hz, H -C6); 6.34 (d, 1H, J=2.1 Hz, H -C8); 12.82, 3.57 (s, H O-C5, H O-C6)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[133] überein.

Versuch 50

5,7-Dihydroxy-2-(4-methoxystyryl)chromon 83

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Titan-tetrachlorid . (Kupplung von 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon **82** mit 4-Methoxybenzylaldehyd)



Ansatz: 20 ml THF
 3.3 ml (30 mmol) Titan-tetrachlorid in 2.5 ml Tetrachlormethan
 0.48 g (2.5 mmol) 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon **82**
 0.41 g (3.0 mmol) 4-Methoxybenzaldehyd
 2.2 ml (20 mmol) *N*-Methylmorpholin

Reaktionszeit : 8 Tage

Reinigung durch Säulenchromatographie Dichlormethan / Diethylether 3 : 1

$C_{18}H_{14}O_5$ (M=310.30 g/mol)

Ausbeute: 0.11 g (0.35 mmol) (14 % der Theorie)

Smp: 276 °C

1H -NMR₅₀₀ (DMSO- d_6)

δ [ppm] = 3.81 (s, 3H, $H_3C-O-C4'$); 6.18 (d, 1H, J=2.2 Hz, $H-C6$) 6.31 (s, 1H, $H-C3$); 6.44 (d, 2H, J=2.2 Hz, $H-C8$); 7.00 (d, 1H, J=16 Hz, $H-Cb$); 7.01 (m, 1H, A-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $H-C2'$, $H-C6'$); 7.62 (d, 1H, J=16 Hz, $H-Ca$); 7.68 (m, 2H, B-Teil eines $[AB]_2$ -Systems, $H-C3'$, $H-C5'$); 10.9 (breite Bande der OH-Gruppe in C5- und C7-Positionen)

UV-VIS (0.27 mg **84** / 10 ml Methanol, U-Bad)

λ_{max} (log ϵ) = 272 nm (4.07), 365 nm (4.46)

IR (fest in KBr)

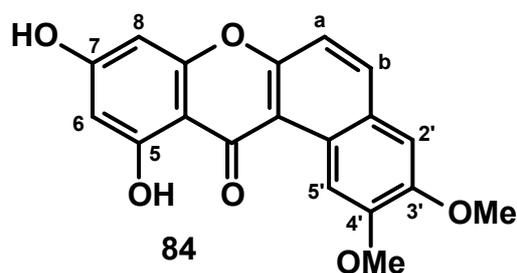
ν [cm^{-1}] = 3400 (OH), 3148 (=C-H arom.), 1653 (-C=C-), 1601 (C=O), 1510 (Ringschwingung), 1256 (OMe), 1168 (C-OH), 966 (-C=C- *trans*)

MS (EI / 70 eV)

m/z (%) = 310 (100) [M^+], 292 (18), 266 (5), 237 (1), 221 (1), 185 (4), 158 (46), 141 (21), 115 (26), 77 (5), 69 (10), 39 (5)

Versuch 51**9,11-Dihydroxy-2,3-dimethoxybenzo[a]xanthen-12-on 84**

Allgemeine Vorschrift zur Darstellung vinylog-verlängerter Flavonoide mit Titan-tetrachlorid . (Kupplung von 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon **82** mit 3,4-Dimethoxybenzaldehyd)



Ansatz: 20 ml THF
 1.1 ml (0.010 mol) Titan-tetrachlorid in 2.5 ml Tetrachlormethan
 1.92 g (0.010 mol) 5,7-Dihydroxy-2-methylchromon **82**
 2.0 g (0.012 mol) 3,4-Dimethoxybenzaldehyd
 ca. 6 ml *N*-Methylmorpholin

Reaktionszeit : 5 Tage

Reinigung durch Sublimation im Hochvakuum

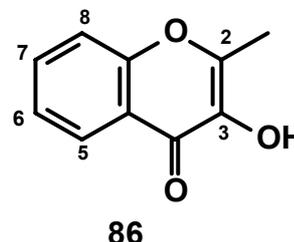
	$C_{19}H_{14}O_6$	(M=338.32 g/mol)
Ausbeute:	0.90 g (2.7 mmol)	(27 % der Theorie)
Smp:	204 °C	

1H -NMR₅₀₀ (DMSO- d_6)

δ [ppm] = 3.93, 3.96 (2s, 6H, $\underline{H}_3C-O-C3'$, $\underline{H}_3C-O-C4'$); 6.95 (s, 1H, $\underline{H}-C6$); 6.99 (s, 1H, $\underline{H}-C8$); 7.40, 7.40 (2s, 2H, $\underline{H}-C2'$, $\underline{H}-C5'$); 7.44 (d, 1H, J=1.7 Hz, $\underline{H}-Cb$); 7.48 (d, 1H, J=2.0 Hz, $\underline{H}-Ca$)

Versuch 52**2-Methylchromonol 86**

In einem 500 ml Dreihalsrundkolben werden 5.0 g (0.030 mol) 2-Methylchromon **23** in 200 ml Aceton mittels Eisbad auf 0 °C gebracht. 18 ml einer 10%igen Natronlauge und 13 ml eine 6%iger Wasserstoffperoxidlösung werden abwechselnd



zugetropft. Nach 15 h wird die Lösung auf 1 l destillierten Wasser gegossen. Die wässrige Phase wird dreimal mit Diethylether extrahiert. Die vereinigte organische Phase wird mit Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer verbleiben 12.7 g einer gelben Flüssigkeit, die das 2,3-Epoxid des Chromons enthält.

Ohne das Epoxid **85** zu isolieren, werden die 12.7 g in 200 ml Benzol mit 10 ml Bortrifluorid-Diethylether-Komplex 30 min erhitzt. Man lässt die Lösung kurz auskühlen und gießt dann auf 300 ml destilliertes Wasser. Die organische Phase wird dreimal mit Benzol extrahiert und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Die gelbe Lösung wird unter verminderten Druck am Rotationsverdampfer vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung erfolgt säulenchromatographisch mit Dichlormethan / Diethylether 20 : 1 und Dichlormethan / Diethylether 3 : 1. Die größere Fraktion enthält das Edukt **23** und eine kleinere Fraktion enthält das Epoxid **85**.



Ausbeute : 20 mg (< 1 mmol) (< 1 % der Theorie über zwei Stufen)

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3)

δ [ppm] = 2.27 (s, 3H, $\underline{\text{H}}_3\text{C-C2}$); 6.91 (t, 1H, $\text{J}=8.2$ Hz, $\underline{\text{H-C7}}$); 6.97 (d, 1H, $\text{J}=8.2$ Hz, $\underline{\text{H-C8}}$); 7.47 (t, 1H, $\text{J}=8.8$ Hz, $\underline{\text{H-C6}}$); 7.837 (d, 1H, $\text{J}=8.0$ Hz, $\underline{\text{H-C5}}$); 12.0 (s, 1H, $\underline{\text{H-O-C3}}$)

6. Literaturverzeichnis

- [1] K. Böhm, Die Flavonoide, **1967**, Ed.Cantor KG – Aulendorf i. Württ.
- [2] J. V. Formica, W. Regelson, *Fd. Chem. Toxic.* **1995**, 12, 1061-1080.
- [3] J. B. Harborne, C. A. Williams, *Phytochemistry*, **2000**, 55, 481-504.
- [4] H. Böhm, B. Boeing, J. Hempel, B. Raab, A. Kroke, *Z. Ernährungswiss.* **1998**, 37, 147-163.
- [5] P.-G. Pietta, *J. Nat. Prod.* **2000**, 63, 1035-1042.
- [6] W. Heller, G. Forkmann. *Biosynthesis*. In J. B. Harborne, Ed. *The Flavonoids*. Advances in Reseach Since 1986. London: Chapman and Hall, **1988**: 399-425.
- [7] K. B. Storey, *J. Braz. Med. Biol. Res.* **1996**, 29, 1715-1733.
- [8] W. A. Pryor *Free Radicals*, **1966**, McGraw-Hill Book Company.
- [9] Sies H., *European Journal of Biochemistry*, **1993**, 215, 213-219.
- [10] W. Bors, W. Heller, C. Michael, M. Saran, *Methods Enzymol.*, **1990**, 186, 343-355.
- [11] A. S. Pannala, T. S. Chan, P. J. O'Brian, C. A. Rice-Evans, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **2001**, 282, 1162-1168.
- [12] S. A. B. E. v. Acker, M. J. de Groot, D.-J. van den Berg, M. N. J. L. Tromp, G. D.-O. den Kelder, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, 9, 1305-1312.
- [13] G. Sichel, C. Corsaro, M. Scalia, A. J. Di Bilio, R. P. Bonomo, *Free Radical Biol. Med.* **1991**, 11, 1-8.
- [14] G. Cao, E. Sofic, R. L. Prior, *Free Radical Biol. Med.* **1997**, 22, 749-760.
- [15] H. Y. Zhang, *Science in China Serie B Chem. Feb* **1999**, 42, 106-112.
- [16] S. V. Jovanovic, S. Steenken, M. Tomic, B. Marjanovic, M. G. Simic, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 4846-4851.
- [17] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganda, *Free Radical Biol. Med.* **1996**, 20, 933-956.
- [18] P. K. Agrawal, H. J. Schneider, *Tetrahedron Lett* **1983**, 24, 177-180.
- [19] V. A. Belyakov, V. A. Roginsky, W. Bors, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, **1995**, 2319-2326.

- [20] I. Morel, P. Cillard, J. Cillard. In *Flavonoids in Health and Disease*; C. A. Rice-Evans, L. Packer, Eds.; Marcel Dekker: New York **1998**: 163-177.
- [21] G. Paganda, H. Al-Hashim, H. Khodr, B. C. Scott, O. I. Aruoma, R. C. Hider, B. Halliwell, C. A. Rice-Evans, *Redox. Report*, **1996**, 2, 359-364.
- [22] J. E. Brown, H. Khodr, R. C. Hider, C. A. Rice-Evans, *Biochem. J.* **1998**, 330, 1173-1178.
- [23] W. Bors, W. Heller, C. Michel. In *Flavonoids in Health and Disease*; C. A. Rice-Evans, L. Packer, Eds.; Marcel Dekker: New York **1998**, 111-136.
- [24] N. Sugihara, T. Arakawa, . Ohnishi, K. Furuno, *Free Rad. Biol. Med.* **1999**, 27, 1313-1323.
- [25] W. F. Hodnick, S. Ahmad, R. S. Pardini, *Adv. Exp. Med. Biol.* **1998**, 439, 131-150. In J. D. Kirsch, *Flavonoids: the good, the bad and the ugly*, **2001**.
- [26] S. C. Sahu, G. C. Gray, *Cancer Letters*, **1996**, 104, 193-196.
- [27] G. Cao, E. Sofic, R. Prior, *Free Rad. Bio. Med.* **1997**, 5, 749-760.
- [28] S. A. B. E. van Acker, A. Bast, W. J. F. van der Vijgh. In *Flavonoids in Health and Disease*; C. A. Rice-Evans, L. Packer, Eds.; Marcel Dekker: New York **1998**, 221-251.
- [29] J. Lebeau, C. Furman, J.-L. Bernier, P. Duriez, E. Teissier, N. Cotelle, *Free Rad. Bio. Med.* **2000**, 29, 900-912.
- [30] F. A. A. van Acker, J. A. Hageman, G. R. M. M. Haenen, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, W. M. P. B. Menge, *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3752-3760.
- [31] F. A. A. van Acker, O. Schouten, G. R. M. M. Haenen, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, *FEBS Letters*, **2000**, 473, 145-148.
- [32] F. A. A. van Acker, J. W. Hulshof, G. R. M. M. Haenen, W. M. P. B. Menge, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, *Free Rad. Bio. Med.* **2001**, 31, 31-37.
- [33] L. Costantino, G. Rastelli, M. C. Gamberini, J. A. Vinson, P. Bose, A. Iannone, M. Staffieri, L. Antolini, A. Del Corso, U. Mura, A. Albasini, *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 1881-1893.

-
- [34] J. Burns, P. T. Gardner, J. O'Neil, S. Crawford, I. Morecroft, D. B. McPhail, C. Lister, D. Matthews, M. R. MacLean, M. E. Lean, G. G. Duthie, A. Crozier, *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 220-230.
- [35] D. K. Das, M. Sato, P. S. Ray, G. Maulik, R. M. Engelman, A. A. E. Bertelli, A. Bertelli, *Drugs under Experimental and Clinical Research*, **1999**, *25*, 115-120.
- [36] P. S. Ray, G. Maulik, G. A. Cordis, A. A. E. Bertelli, A. Bertelli, D. K. Das, *Free Rad. Biol. Med.* **1999**, *27*, 160-169.
- [37] J. Martinez, J. J. Moreno, *Biochem-Pharmacol*, **2000**, *59*, 865-870.
- [38] G. J. Soleas, E. P. Diamandis, D. M. Goldberg, *J. Clin. Lab. Anal.* **1997**, *11*, 287-313.
- [39] G. J. Soleas, E. P. Diamandis, D. M. Goldberg, *Clinical Biochem.* **1997**, *30*, 91-113.
- [40] M.-V. Clément, J. L. Hirpara, S.-H. Chawdhury, S. Pervaiz, *Blood*, **1998**, *92*, 996-1002.
- [41] M. Jang, J. M. Pezzuto, *Drugs Exp. Clin. Res.* **1999**, *25*, 65-67.
- [42] M. Asensi, J. Medina, A. Ortega, J. Carretero, M. C. Bano, E. Obrador, J. M. Estrela, *Free Rad. Bio. Med.* **2002**, *33*, 387-398.
- [43] T. Ito, Y. Akao, H. Yi, K. Ohguchi, K. Matsumoto, T. Tanaka, M. Iinuma, Y. Nozawa, *Carcinogenesis*, **2003**, *24*, 1489-1487.
- [44] E. H. Siemann, L. L. Creasi, *Am. J. Enol. Vitic.* **1992**, *43*, 49-52.
- [45] L. A. Stivala, M. Savio, F. Carafoli, P. Perucca, L. Bianchi, G. Maga, L. Forti, U. M. Pagnoni, A. Albin, E. Prospero, V. Vannini, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 22586-22594.
- [46] S. Stojanovic, J. Sprinz, O. Brede, *Arch. Biochem. Biophys.* **2001**, *391*, 79-89.
- [47] M. F. Wang, J.-Y. Jin, C. T. Ho, *J. Agric. Food Chem.* **1999**, *47*, 3974-3977.
- [48] G. Britton, A. Young. *Carotenoids in Photosynthesis*, Eds. Chapman & Hall, London, **1993**.
- [49] R. Yamauchi, K. Kato, *J. Agric. Food Chem.* **1998**, *46*, 5066-5071
- [50] J. Terao, *Lipids* **1989**, *24*, 659-661.

-
- [51] P. Palozza, N. I. Krinsky, *Methods Enzymol.* **1992**, *213*, 403-419.
- [52] A. Mortesen, L. H. Skibsted, J. Sampson, C. Rice-Evans, S. A. Everett, *FEBS Lett.* **1997**, *418*, 91-97.
- [53] H. Tsuchihashi, M. Kigoshi, M. Iwatsuki, E. Niki, *Arch. Biochem. Biophys.* **1995**, *323*, 137-47.
- [54] P. Palozza, C. Liberto, P. Ricci, E. Sgarlata, G. Calviello, G. M. Bartoli, *Arch. Biochem. Biophys.* **1996**, *325*, 145-151.
- [55] T. A. Kennedy, D. C. Liebler, *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, *4*, 290-295.
- [56] G. J. Handelsmann, F. J. G. M. van Kuijk, A. Chatterjee, N. I. Krinski, *Free Rad. Bio. Med.* **1991**, *10*, 427-437.
- [57] R. C. Mordi, J. C. Walton, G. W. Burton, S. Hughes, K. U. Ingold, D. A. Lindsay, J. Moffat, *Tetrahedron* **1993**, *49*, 911-928.
- [58] R. Yamauchi, N. Miyake, H. Inoue, K. Kato, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1993**, *691*, 20-31.
- [59] D. C. Liebler, T. C. McClure, *Chem. Res. Toxicol.* **1996**, *9*, 8-11.
- [60] A. A. Woodall, S. W.-M. Lee, R. J. Weesi, M. J. Jackson, G. Britton, *Biochim. Biophys. Acta*, **1997**, *1336*, 33-42.
- [61] M. Sun, R. Yamauchi, H. Ashida, K. Kanazawa. *Biosci Biotechnol Biochem* **2002**, *66*, 363-72.
- [62] I. Schülke, Staatsarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2000**
- [63] U. Sequin, *Helv. Chim. Acta* **1981**, *64*, 2654-3664.
- [64] I. Yokoe, K. Higuchi, Y. Shirataki, M. Komatzu, *Chem. Pharm. Bull.* **1981**, *29*, 2670-2674.
- [65] T. Heinrich, Diplomarbeit, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1998**.
- [66] J. J. Ares, P. E. Outt, J. L. Randall, P. D. Murray, P. S. Weisshaar, L. M. O'Brien, B. L. Ems, S. V. Kakodkar, G. R. Kelm, *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 4937 – 4943.
- [67] A. Robertson, W. F. Sandrock, C. B. Hendry, *J. Chem. Soc.* **1931**, 2426-2432.
- [68] E. Petschek, H. Simonis, *Chem. Ber.* **1913**, *46*, 2014-2020.
- [69] I. M. Heilbron, H. Barnes, R. A. Morton, *J. Chem. Soc.* **1923**, 2558-2569
- [70] K. Sen, P. Bagchi, *J. Org. Chem.* **1959**, *24*, 316-319.

-
- [71] D. B. Limaye, G. R. Kelkar, *J. Ind. Chem. Soc.* **1935**, *12*, 788-780.
- [72] C. R. Rao, V. Venkateswarlu, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas*, **1956**, *75*, 1312-1326.
- [73] C. O. Miles, L. Main, B. K. Nicholson, *Aust. J. Chem.* **1989**, *42*, 1103-1113.
- [74] C. J. Adams, L. Main, *Tetrahedron*, **1991**, *47*, 4959-4978.
- [75] R. D. H. Murray, P. H. McCabe, *Tetrahedron*, **1969**, *25*, 5819-5837.
- [76] K. Wallenfels, *Chem. Ber.* **1942**, *75*, 785-793.
- [77] R. D. Desai, B. M. Desai, J.I. Desai, *Jour. Indian Chem. Soc.* **1960**, *37*, 491-495.
- [78] Y. Tahara, *Chem. Ber.* **1892**, *25*, 1292-1306.
- [79] S. Kostanecki, A. Różycki, *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 102-112.
- [80] B. H. Gnagy, *J. Am. Chem. Soc.* **1923**, *45*, 805-808.
- [81] G. Wittig, *Chem. Ber.* **1926**, *59*, 116-119.
- [82] Y. J. Rao, G. L. Krupadanam, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1994**, *67*, 1972-1994.
- [83] H. Simonis, C. B. A. Lehmann, *Chem. Ber.* **1914**, *47*, 692-699.
- [84] W. Lehnert, *Tetrahedron Letters*, **1970**, *54*, 4723-4724.
- [85] W. Lehnert, *Tetrahedron*, **1972**, *28*, 663-666.
- [86] W. Lehnert, *Tetrahedron*, **1973**, *29*, 635-638.
- [87] W. Lehnert, *Tetrahedron*, **1974**, *30*, 301-305.
- [88] G. Heller, *Chem. Ber.* **1912**, *45*, 418-427.
- [89] K. Hoesch, *Chem. Ber.* **1915**, *48*, 1129-1133.
- [90] K. C. Gulati, S. R. Seth, K. Venkataraman, *Org. Synth.* **1935**, *70*, 522-525.
- [91] J. A. Donnelly, J. R. Keegan, K. Quigley, *Tetrahedron* **1980**, *36*, 1671-1680.
- [92] F. A. A. van Acker, J. A. Hageman, G. R. M. M. Haenen, W. J. F. van der Vijgh, A. Bast, W. M. P. B. Menge, *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3752-3760.
- [93] M. Schmidt, Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **2001**.
- [94] G. W. Burton, K. U. Ingold, *Science* **1984**, *224*, 569-573.

-
- [95] W. J. Wedenejew, L. W. Gurwitsch, W. H. Kondratjew, W. A. Medwedew, E. L. Frankewitsch, *Energien chemischer Bindungen, Ionisationspotentiale und Elektronenaffinitäten*. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie Leipzig **1971**.
- [96] H. A. Staab, *Einführung in die theoretische organische Chemie*. Verlag Chemie Weinheim / Bergstr. **1960**.
- [97] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, G. Paganda, *Free Rad. Biol. Med.* **1996**, *20*, 933-956.
- [98] C. Rice-Evans, N. J. Miller, *Methods Enzymol.* **1994**, *234*, 279-283.
- [99] B. Tadolini, C. Juliano, L. Piu, F. Franconi, L. Cabrini, *Free Radic. Res.* **2000**, *33*, 105-114.
- [100] T. A. Kennedy, D. C. Liebler, *Chem. Res. Toxicol.* **1991**, *4*, 290-295.
- [101] D. C. Liebler, *Ann. NY Ac. Sci.* **1993**, *669*, 20-31.
- [102] A. H. El-Tinay, C. O. Chichester, *J. Org. Chem.* **1970**, *35*, 2290-2293.
- [103] P. Palozza, *Nutr. Rev.* **1998**, *56*, 257-265
- [104] G. W. Burton, K. U. Ingold, *Science*, **1984**, *224*, 569-573.
- [105] U. C. Obermüller-Jevic, P. I. Francz, J. Frank, A. Flaccus, H. K. Biesalski, *FEBS Letters* **1999**, *460*, 212-216.
- [106] W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies, H. Tronnier, *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *71*, 795-795.
- [107] P. Palozza, G. Calviello, G. M. Bartoli, *Free Radical Biology Medicine* **1995**, *19*, 887-892.
- [108] R. Edge, D. J. Mc Garvey, T. G. Truscott, *J. Photochem. Photobiol. B: Biologie* **1997**, 189-200.
- [109] C. A. Rice-Evans, J. Sampson, P. M. Bramley, D. E. Holloway, *Free Rad. Res.* **1997**, *26*, 381-398.
- [110] K. Haila, A. Hopia, M. Heinonen, *Eur. J. Lipid Techno.* **2000**, 31-36.
- [111] H. El Oualja, D. Perrin, R. Martin, *New J. Chem.* **1995**, *19*, 863-872.
- [112] H. El Oualja, D. Perrin, R. Martin, *New J. Chem.* **1995**, *19*, 1187-1198.
- [113] R. C. Mordi, J. C. Walton, G. W. Burton, S. Hughes, K. U. Ingold, D. A. Lindsay, *Tetrahedron* **1991**, *32*, 4203-4206.
- [114] S. Frixel, Dissertation, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf **2002**.

-
- [115] C. Ruck, Dissertation in Vorbereitung.
- [116] A. Pérez-Gálvez, M. I. Mínguez-Mosquera, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4864-4869.
- [117] M. I. Mínguez-Mosquera, D. Hornero-Méndez, *J. Agr. Food Chem.* **1993**, *43*, 1616-1620.
- [118] W. Stahl, H. Sies, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **1998**, *68*, 354-359.
- [119] W. Miki, *Pure Appl. Chem.* **1991**, *63*, 141-146.
- [120] J. A. Mares-Perlman, A. E. Millen, T. L. Ficek, S. E. Hankinson, *J. Nutr.* **2002**, *132*, 518-524.
- [121] A. Pérez-Gálvez, M. I. Mínguez-Mosquera, *Biochem. Biophys. Acta* **2002**, *1569*, 31-34.
- [122] E. O. Farombi, G. Britton, *Food Chemistry* **1999**, *64*, 315-321.
- [123] M. I. Mínguez-Mosquera, D. Hornero-Méndez, A. Pérez-Gálvez, *Methods of Analysis for Functional Foods and Nutraceuticals*, CRC Press **2002**, Kapitel 3: Carotenoids and Provitamin A in Functional Foods, 101-157.
- [124] B. Britton, Functionalities of pigment in food, International Congress on Pigments in food PFII Lisabon Portugal, 11-14 Juni **2002**, 33-40.
- [125] I. Hernández Blanco, Thesis, Heinrich-Heine Universität Düsseldorf, **1997**.
- [126] D. Kersting, Dissertation Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, **1996**.
- [127] D. Baltschun, S. Beutner, K. Briviba, H. D. Martin, J. Paust, M. Peters, S. Röver, H. Sies, W. Stahl, A. Steigel, F. Stenhorst, *Liebigs Ann./Recueil*, **1997**, 1887-1893.
- [128] A. Pérez-Gálvez, M. I. Mínguez-Mosquera, *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4864-4869.
- [129] R. M. Letcher, T.-Y. Roy, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1992**, *18*, 1310-1311.
- [130] A. S. Kelkar, R. M. Letcher, K.-K. Cheung, K.-F. Chiu, G. D. Brown, *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **2000**, *22*, 3732-3741.
- [131] E. T. Oganessian, A. S. Sarafi, A. V. Ivchenko, *Pharm. Chem. J.* **1993**, *27*, 52-54.
- [132] Y. Le Floc'h, M. Lefevre, *Tetrahedron Letters*, **1986**, *24*, 2751-2752.

[133] H. Schmid, Th. M. Meijer, *Helv. Chim. Acta*, **1948**, 31, 748-52.