

Synthese, Charakterisierung, antioxidative Eigenschaften und Anwendungen von aromatischen Carotinoiden

Inaugural – Dissertation

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

vorgelegt von

Diplom-Chemiker Sebastian Christian Kock

aus Oberhausen

Düsseldorf 2007

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

Referent: Professor Dr. H.-D. Martin

Koreferent: Professor Dr. T. J. J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 17.01.2008

Herrn Prof. Dr. H.-D. Martin danke ich für die interessante Themenstellung, zahlreiche Gutachten sowie für den mir gewährten Freiraum zur Gestaltung dieser Arbeit.
Der Hans-Böckler-Stiftung danke ich für die finanzielle und ideelle Unterstützung während der Promotion.

In Gedenken an meine liebe Mama Veronika

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Deutsche Patentanmeldung BASF Aktiengesellschaft 20060277, PF 0000058165-2
CRU/Ass 25.10.06

Verwendungen von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin und verwandter Carotinoide
Hansgeorg Ernst ¹, Sebastian Kock ², Hans-Dieter Martin ², Roger Scherrers ²

1 BASF AG, 2 Institute of Organic Chemistry and Macromolecular
Chemistry, University of Duesseldorf, Germany.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Vorkommen und Bedeutung von Carotinoiden in der Natur.....	1
1.2	Carotinoide als Nahrungsmittelzusatzstoffe.....	3
1.3	Carotinoide in der Gesundheitsprävention.....	5
1.4	Problemstellung:.....	7
2	Hauptteil.....	9
2.1	Carotinoide mit Φ, Φ -Endgruppen: Ein Überblick.....	9
2.2	Syntheseplanung.....	17
2.3	Synthesen.....	19
2.3.1	Synthese von phenolischen Carotinoiden ohne Methylgruppen in den Endgruppen.....	19
2.3.2	Synthese von BHT-Carotinoid.....	31
2.3.3	Synthese eines <i>retro</i> -Carotinoids mit BHT-Endgruppen.....	42
2.3.4	Synthese von C ₃₀ -Aldehyd mit Φ -Endgruppe.....	49
2.3.5	Darstellung von Isorenieratin.....	57
2.3.6	Synthese von (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)-triphenylphosphonium-bromid.....	60
2.3.7	Synthese von 3-Hydroxyisorenieratin.....	66
2.3.8	Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin.....	74
2.3.9	Synthese eines <i>retro</i> -Carotinoids mit Φ, Φ -Endgruppen.....	81
2.4	Antioxidative Wirkung - Messung von Cumolhydroperoxid.....	89
2.4.1	Entwicklung des Cumoltestes.....	89
2.4.2	Messung von BHT-Carotinoid.....	96
2.4.3	Messung von BHT-Chinon.....	99
2.4.4	Messung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin.....	100
2.4.5	Messung von 3,4-Dihydro-4,3'- <i>retro</i> - Φ, Φ -carotin-3,3'-dion.....	102
2.4.6	Messung von 3-Hydroxyisorenieratin.....	104
2.4.7	Messung von Isorenieratin.....	106
2.4.8	Messung von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ, Φ -carotin.....	108

2.4.9	Messung von 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin	109
2.4.10	Messung von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin	111
2.5	Diskussion der Messergebnisse des HPLC-Assays.....	112
2.6	Antioxidative Messungen mit der Sauerstoffdruckmethode.....	122
2.6.1	Das Prinzip der Druckmessung.....	122
2.6.2	Auswertung und Diskussion.....	123
2.7	Carotinoide als Singulett-Sauerstoff-Quencher	130
2.7.1	Messmethode.....	130
2.7.2	Diskussion	134
2.8	Untersuchung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin im ABTS-Assay.....	136
2.8.1	Methode nach Re et al.....	136
2.8.2	Diskussion	140
2.9	Einlagerung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin in Membranen unilamellarer Liposomen.....	142
2.9.1	Vesikel als Modellsystem für Membranen.....	142
2.9.2	Einlagerung phenolischer Carotinoide in DPPC-Vesikel	143
3	Zusammenfassung.....	149
4	Experimenteller Teil.....	151
4.1	Allgemeines.....	151
4.2	Danksagung.....	152
4.3	Versuchsbeschreibungen.....	154
4.3.1	V1: (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid 28.....	154
4.3.2	V2: 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin 17 ..	157
4.3.3	V3: (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid 32.....	160
4.3.4	V4: 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin 30 ..	163
4.3.5	V5: (3-Hydroxyphenyl)triphenylphosphonium-bromid 31a.....	166
4.3.6	V6: 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin 31 ..	169
4.3.7	V7: Benzoesäure-(2,6-di- <i>tert</i> -butyl-4-methylphenyl)ester 39	170
4.3.8	V8: (4-Benzoyloxy-3,5-di- <i>tert</i> -butylbenzyl)triphenylphosphonium- bromid 40.....	172

4.3.9	V9: 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra- <i>tert</i> -butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin	41	174
4.3.10	V10: 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra- <i>tert</i> -butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin	13	177
4.3.11	V11: 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di- <i>tert</i> -butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'- <i>retro</i> - Φ , Φ -carotin-3,3'-dion	36	180
4.3.12	V12: 2,3,6-Trimethylbenzylbromid	47	183
4.3.13	V13: (2,3,6-Trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid	42	185
4.3.14	V14: 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al	51	187
4.3.15	V15: Isorenieratin	12	190
4.3.16	V16: 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzylalkohol	56	193
4.3.17	V17: (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid	52	195
4.3.18	V18: (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid	57	197
4.3.19	V19: 3-Benzoyloxy- Φ , Φ -carotin	63	199
4.3.20	V20: 3-Hydroxy- Φ , Φ -carotin	10	202
4.3.21	V22: [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methyl-penta-2,4-dien-1-yl]triphenylphosphonium-bromid	65	205
4.3.22	V22: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin	9	207
4.3.23	V23: 3,4-Dihydro-4,3'- <i>retro</i> - Φ , Φ -carotin-3,3'-dion	11	210
4.4	Anhang		213
4.4.1	Oxidationsgeschwindigkeiten der Druckmessungen		213
5	Literatur		220

Abkürzungsverzeichnis

ABTS	2,2'-Azino-bis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonsäure)
AUC	Area Under Curve
AMD	Age-related Macula Degeneration
AMVN	2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril)
BHT	Butylated Hydroxy Toluene
CD ₂ Cl ₂	deuteriertes Dichlormethan
CDCl ₃	deuteriertes Chloroform
COSY	Correlated Spectroscopy
DC	Dünnschichtchromatographie
DHIR	3,3'-Dihydroxyisorenieratin
DIBAL	Diisobutylaluminiumhydrid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DMSO-d ₆	deuteriertes Dimethylsulfoxid
DNS	Desoxyribonukleinsäure
DPPC	1,2-Dipalmitoyl- <i>sn</i> -glycero-phosphatidylcholin
FTICR-MS	Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometer
HMBC	Heteronuclear Multiple-Bond Correlation
HMQC	Heteronuclear Multiple-Quantum Correlation
IR	Infrarot
LAH	Lithiumaluminiumhydrid
LDA	Lithiumdiisopropylamid
NBS	<i>N</i> -Bromsuccinimid
<i>n</i> -BuLi	<i>n</i> -Butyllithium
NOESY	Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy
ROS	Reactive Oxygen Species
RT	Raumtemperatur
SFB	Sonderforschungsbereich
TEAC	Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
THF	Tetrahydrofuran
THP	Tetrahydropyran
UV/VIS	Ultraviolettes und sichtbares Licht

1 Einleitung

1.1 Vorkommen und Bedeutung von Carotinoiden in der Natur

Carotinoide sind Farbstoffe, die in der Natur weit verbreitet sind. Mittlerweile sind über 700 verschiedene natürliche Carotinoide isoliert und charakterisiert worden^[1]. Sie kommen in vielen Bereichen des Pflanzen- und Tierreiches vor. Ihr Namensgeber ist das β -Carotin **1**, das unter anderem für die orange Färbung von Karotten verantwortlich ist (Abb.1). Die Nummerierung zur systematischen Benennung ist durch die IUPAC-Carotinoid-Nomenklatur festgelegt^[2].

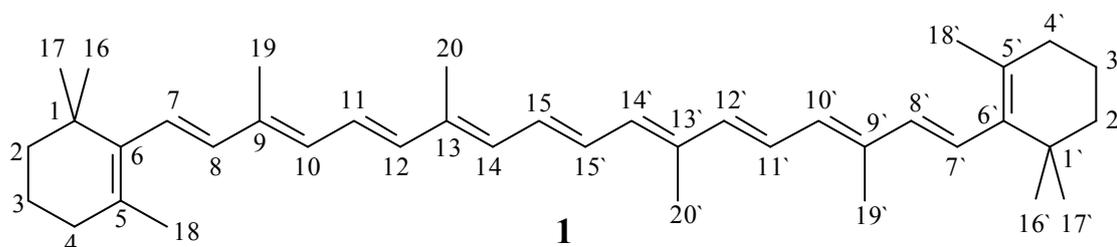


Abb.1: β -Carotin **1**

Es wird geschätzt, dass die jährliche natürliche Produktion von Carotinoiden bei ca. 100 Millionen Tonnen liegt^[3]. Ein Großteil wird dabei von Photosynthese betreibenden Pflanzen und Algen hergestellt. Carotinoide können in den unterschiedlichsten cis-trans-Isomeren vorliegen. Die Mehrzahl liegt jedoch in der all-trans Form vor, wie in der obigen Abbildung für β -Carotin **1** dargestellt.

Grundsätzlich kann man die Carotinoide in zwei Klassen einteilen^[4]. Bei den Carotinen wie β -Carotin **1** kommen keine Sauerstofffunktionen im Molekül vor. Die zweite Substanzklasse, die Xanthophylle, beinhalten Sauerstoffatome wie z. B. Hydroxy-Gruppen und/oder Ketofunktionen (Abb.2, Astaxanthin **2**).

Bei einigen wenigen Carotinoiden sind die Doppelbindungen im Vergleich zum β -Carotin **1** um eine Position verschoben. Man spricht dann von *retro*-Carotinoiden. Der bekannteste Vertreter ist das Rhodoxanthin **3** (Abb.3).

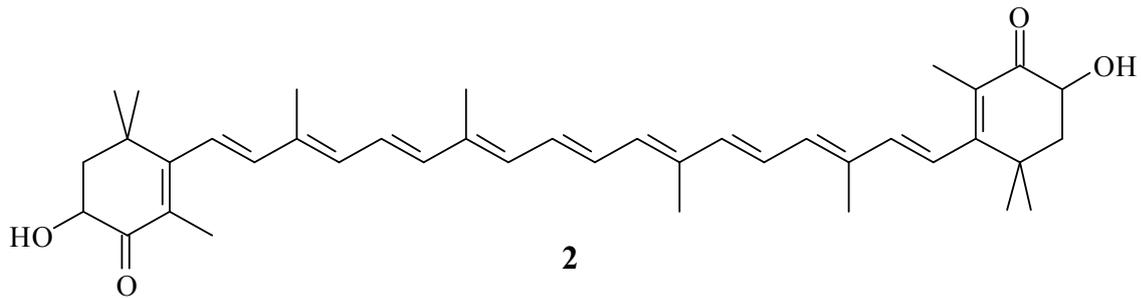


Abb.2: Astaxanthin 2, ein Xanthophyll mit Hydroxy- und Ketofunktionen

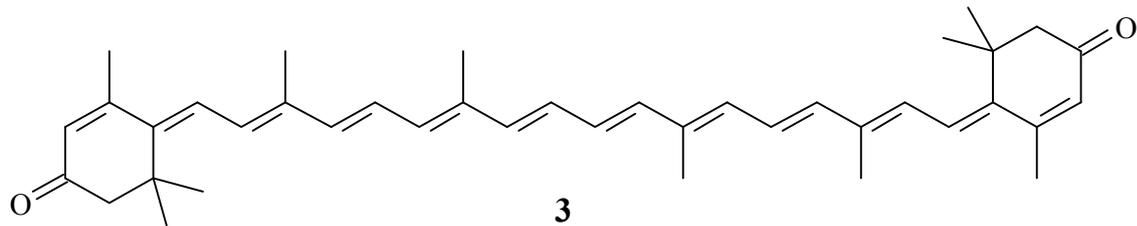


Abb.3: Rhodoxanthin 3, ein retro-Carotinoid

Carotinoide haben in der Natur vielfältige Funktionen. Im Tierreich haben sie Bedeutung als Signalfarbstoff, wenn man z. B. die rosa-leuchtenden Farben des Flamingos bedenkt. Die intensiven Farben von bestimmten Früchten und Blüten wecken in der Tierwelt die Aufmerksamkeit und gewährleisten damit die Fortpflanzung durch die Verbreitung von Samen.

Für den Menschen sind einige Carotinoide essentiell, d. h. er muss sie über die Nahrung aufnehmen. Ungefähr 50 bekannte Carotinoide haben eine Provitamin A-Aktivität von denen α -Carotin, β -Carotin **1** und β -Cryptoxanthin die am häufigsten in der Nahrung vorkommenden sind^[4]. So kann der menschliche Organismus bei Bedarf z. B. β -Carotin **1** in Vitamin A (Retinol) umwandeln, das eine wichtige Funktion im Sehprozess innehat.

Carotinoide sind gelbe bis orange gefärbte, lipophile (fettlösliche) Farbstoffe, die bei Pflanzen stets in Plastiden (Zellorganellen) lokalisiert sind. Während die Farbe der Carotinoide im grünen Blatt meist von Chlorophyll überdeckt ist, tritt sie in nichtgrünen Pflanzenteilen oft deutlich hervor. Auch die gelb-orangen Farbtöne mancher Blütenblätter oder des Herbstlaubs gehen auf Plastiden mit hohem Gehalt an Carotinoiden zurück.

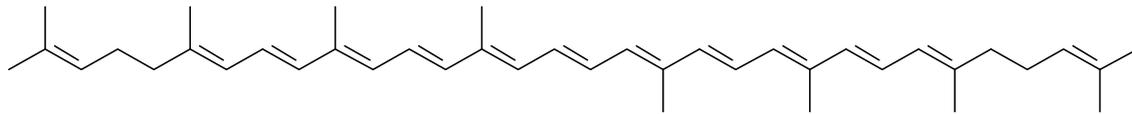
In den Pflanzen haben Carotinoide verschiedene Aufgaben. Erstens bewirken sie eine Ausweitung des absorbierten Lichtspektrums und geben diese Energie an die an der Photosynthese beteiligten Chlorophylle weiter. Diese weisen im blau-grünen Bereich eine Absorptionslücke auf. Dadurch wird die Lichtausbeute und damit die Effizienz der Photosynthese, vornehmlich bei schwachen Lichtverhältnissen, gesteigert.

Besonders wichtig ist zweitens die Deaktivierung von Triplett-Chloropyll, über den indirekt reaktiver Singulett-Sauerstoff erzeugt werden kann bzw. die direkte Deaktivierung von Singulett-Sauerstoff^[5-7]. Singulett-Sauerstoff ist dafür verantwortlich verschiedenste Zellbestandteile zu schädigen. So können DNS-Schäden zu Mutationen führen, die als ein Auslöser für Krebs belegt sind. Carotinoide schützen die DNS, weil sie allgemein als Radikalfänger und als Singulett-Sauerstoff-Löscher fungieren können. Zusätzlich haben sie eine Funktion als UV-A-Filter. So kann der verstärkte Konsum von β -Carotin **1** beim Menschen in der Haut bis zu einem Lichtschutzfaktor 2 führen.

1.2 Carotinoide als Nahrungsmittelzusatzstoffe

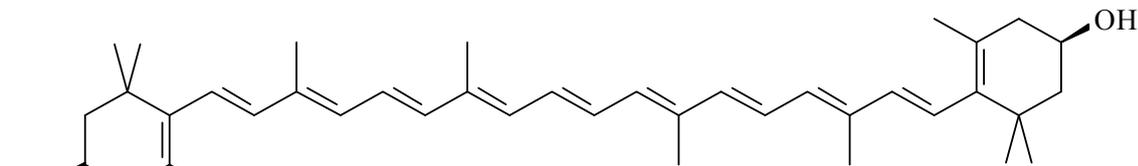
Carotinoide kommen in vielen Früchten, wie Orangen, Papayas, Mangos und Aprikosen vor. Des Weiteren sind sie in den verschiedensten Gemüsesorten anzutreffen. Sie werden für die gesundheitsfördernden Eigenschaften von Obst und Gemüse mitverantwortlich gemacht. Dabei handelt es sich vermutlich um synergetische Effekte^[8, 9]. So sind auch phenolische Substanzen, wie z. B. Vitamin E oder Flavonoide, wichtig. Carotinoide stehen dabei für eine ganze Klasse von Antioxidantien. Dies sind Stoffe, die die Oxidation von Lebensmitteln oder Werkstoffen unterdrücken und damit für eine gewisse Haltbarkeit sorgen können.

Von der Industrie werden derzeit acht naturidentische Carotinoide chemisch hergestellt^[10]. Dabei handelt es sich u. a. um die C₄₀-Carotinoide β -Carotin **1**, Astaxanthin **2**, Lycopin **4**, (3R, 3'R)-Zeaxanthin **5** und Canthaxanthin **6**. Der weltweite Marktwert aller Carotinoide wurde 2004 auf 887 Millionen Dollar geschätzt. Die Prognosen erwarten eine weitere jährliche Steigerungsrate von 2.9 %^[11]. Ein anderer Ansatz zur Synthese ist das Bestreben Carotinoide in großen Mengen auf natürlichem Wege mittels Mikroalgen herzustellen. So enthält z. B. die Mikroalge *Dunaliella salina* größere Mengen β -Carotin **1**^[12], das durch einfache Extraktion der Biomasse gewonnen werden kann.



4

Abb.4: Lycopin 4



5

Abb.5: (3R, 3R')-Zeaxanthin 5

Die Carotinoide werden im industriellen Prozess als oranges bis rotes Pulver erhalten. Da alle Carotinoide wasserunlöslich und auch in Fetten bzw. Ölen nur mäßig löslich sind, kann man sie nicht in dieser Form in Lebensmitteln einsetzen. So würde β -Carotin **1** in Limonade schlicht als Feststoff ausfallen. Die Bioverfügbarkeit wäre in diesem Zustand sehr gering^[13]. Diese Probleme kann man umgehen, indem man die Partikelgröße der Carotinoide stark herabsetzt und diese mit einem Schutzkolloid wie Gelatine oder Stärke umgibt^[14]. So ist es seit einiger Zeit möglich die Carotinoide im Nanometerbereich auszufällen und zu stabilisieren. Diese sind im Bereich Farbe, Bioverfügbarkeit und Dispergierbarkeit in Wasser größeren Partikeln überlegen^[15].

β -Carotin **1** wird seit langer Zeit als Lebensmittelfarbstoff und Antioxidans verwendet. Es verleiht z. B. Margarine und Limonade die charakteristische und ästhetische gelbe Farbe. Margarine wird aufgrund der antioxidativen Wirkung nicht so schnell ranzig. Canthaxanthin **6** wird ausschließlich als Futtermittel benutzt. Es dient zur Verbesserung der Farbe des Eigelbes, welche man je nach Anteil des Carotinoids am Futter von gelb bis rot einstellen kann. So haben verschiedene Kulturen ein unterschiedliches Empfinden, wie die Farbe des Eigelbes beschaffen sein sollte, um besonders appetitlich zu wirken. Dies hängt mit der Gewöhnung des Menschen für die optimale Farbe zusammen und wird durch die unterschiedlichen Carotinoidanteile in der Nahrungskette beeinflusst.

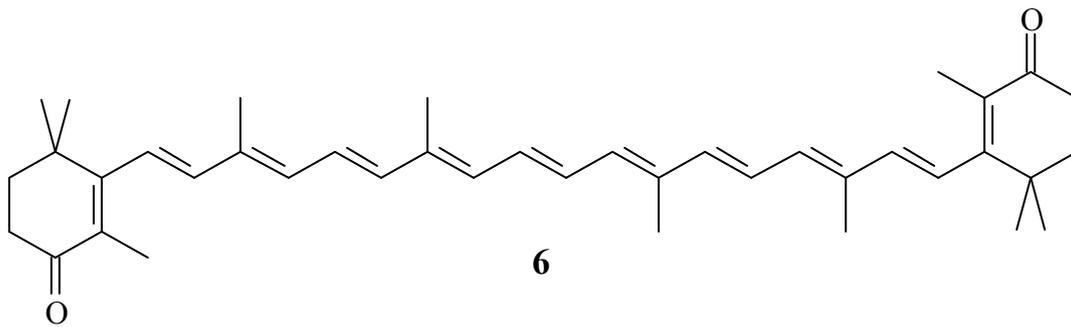


Abb.6: *Canthaxanthin 6*

Astaxanthin **2** kommt besonders häufig im Tierreich vor. Die bekanntesten Vertreter sind Lachs, Goldfisch und Hummer. In der Lachszucht wird sukzessive Astaxanthin **2** zugefüttert, um ein für den Konsument angenehmes rötliches Fleisch gleich bleibender Qualität zu gewährleisten. Interessant ist, dass Wildlachs über viele Jahre eine solche intensive Färbung durch die natürliche Ernährung (Plankton) nicht erreichen kann, aber viele Verbraucher inzwischen Farbstärke mit Qualität gleichsetzen. Im Hummer ist das Astaxanthin **2** über die Hydroxygruppen an Proteine gebunden, wodurch dieser eine bläuliche Farbe erhält. Erst beim Kochen werden die Proteinkomplexe gespalten, das Astaxanthin **2** freigesetzt und der Hummer erscheint in seiner bekannten roten Farbe.

1.3 Carotinoide in der Gesundheitsprävention

Altersbedingte Makuladegeneration (AMD) ist die häufigste Ursache für eine Erblindung in der Altersgruppe über 60 Jahren in den USA^[16]. AMD (**A**ge-related **m**acula **d**egeneration) ist im fortgeschrittenen Stadium für einen zentralen Gesichtsfeldausfall verantwortlich, der irreversibel ist.

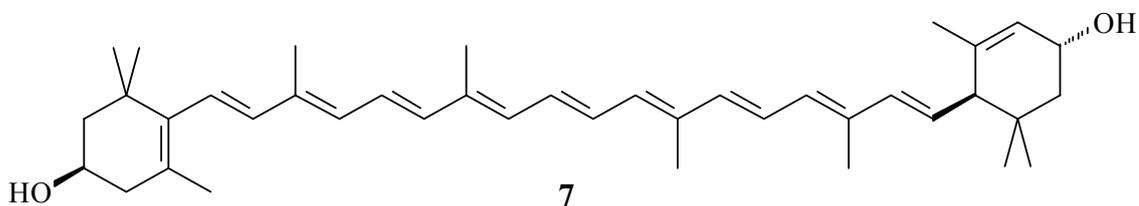


Abb.7: *(3R,3'R,6'R)-Lutein 7*

Die Makula ist der zentrale gelbe Fleck in der Mitte der Netzhaut des Auges. Dort sind besonders viele empfindliche Photorezeptoren und ungesättigte Fettsäuren lokalisiert^[1]. Die Farbe der Makula ist auf die untereinander strukturverwandten Carotinoide

(3R,3'R,6'R)-Lutein **7**, (3R,3'S)-Zeaxanthin (meso), und (3R,3'R)-Zeaxanthin **5** zurück-zuführen. Diese Carotinoide sind aufgrund ihrer Struktur optimal dafür geeignet, sich in die Membranen im Auge einzulagern^[17]. Dort sorgen sie für einen Schutz gegen Photooxidationen. Im Alter nimmt die Konzentration dieser Carotinoide im Auge und damit die protektive Wirkung ab. Durch eine erhöhte Aufnahme der Carotinoide in der Ernährung kann die Pigmentdichte im Auge wieder erhöht und so einer Erkrankung vorbeugt werden^[18].

Das Carotinoid Lycopin **4** gilt derzeit als eines der am stärksten antioxidativ wirksamen Carotinoide. Es kommt in größeren Mengen in der Tomate und entsprechenden Lebensmittelprodukten aus Tomaten wie z. B. Ketchup vor.

In vielen Studien ist durch eine verstärkte Aufnahme von Lycopin **4** ein geringeres Risiko an bestimmten chronischen Krankheiten zu erkranken belegt. Dazu gehören insbesondere Gefäßerkrankungen und Krebs^[19]. So ist gezeigt worden, dass eine hohe Aufnahme von Lycopin **4** zu einem 20 bis 30 % geringeren Risiko an Lungenkrebs zu erkranken führt. Dabei sind besonders verschiedene Abbauprodukte des Lycopins **4** in den Fokus des Interesses gerückt^[20-22].

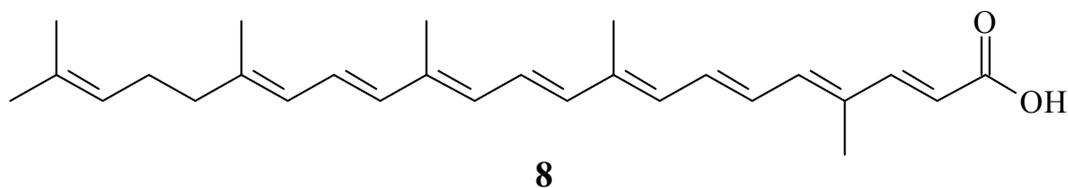


Abb.8: Apo-10'-lycopinsäure **8**, ein Abbauprodukt des Lycopins **4**

An Mäusen konnte ein inhibierender Effekt des Abbauproduktes Apo-10'-lycopinsäure **8** gegen Lungentumore festgestellt werden (Abb.8)^[21].

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Carotinoide allgemein ein hohes antioxidatives Potential haben. Die jeweilige Stärke gegenüber ROS (Reactive Oxygen Species) hängt von den unterschiedlichen funktionellen Gruppen, den Metaboliten und der jeweiligen biologischen bzw. chemischen Umgebung ab.

1.4 Problemstellung:

In Vorarbeiten offenbarte das natürlich vorkommende phenolische Carotinoid 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** ein außergewöhnlich hohes antioxidatives Potential^[23].

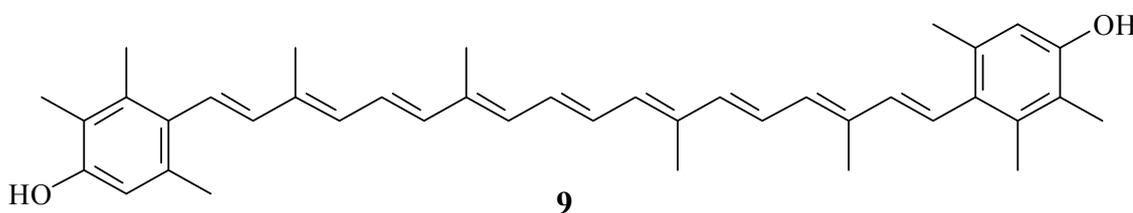


Abb. 9: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Im Rahmen dieser Arbeit soll geklärt werden, welche strukturellen Merkmale dieses Naturstoffes für die sehr guten Radikalfängereigenschaften verantwortlich sind. Dazu werden eine Reihe von Derivaten synthetisch angestrebt, um diese in antioxidativen Assays miteinander vergleichen zu können. Dabei soll erstens untersucht werden, welchen Einfluß eine Variation der Stellung der phenolischen Hydroxygruppen an den Endgruppen ausübt. Zweitens können die Methylgruppen an den Endgruppen verschiedene Funktionen haben. Diese könnten z. B. die Löslichkeiten und auch das Aggregationsverhalten in Membranen beeinflussen. Von besonderem Interesse ist der Vergleich mit den ebenfalls natürlich vorkommenden Carotinoiden Isorenieratin (ohne phenolische Hydroxygruppen) und 3-Hydroxyisorenieratin **10** (nur eine phenolische Hydroxygruppe). Für das 3-Hydroxyisorenieratin **10** (Abb.10) muss aufgrund der unsymmetrischen Struktur eine möglichst effiziente Totalsynthese entwickelt werden.

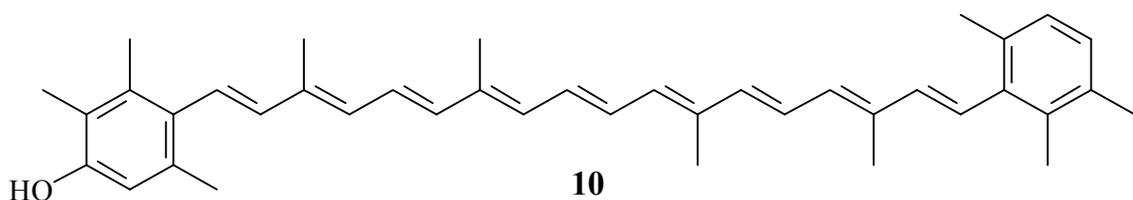


Abb.10: 3-Hydroxyisorenieratin **10**

Durch Oxidation kann sich aus dem 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** die chinoide Form bilden. Es kann vermutet werden, dass dieses *retro*-Carotinoid **11** einen maßgeblichen Anteil an der antioxidativen Wirkung hat (Abb.11). Das *retro*-Carotinoid **11** ist durch die Ausweitung des π -Systems ein blauer Farbstoff. Dadurch wäre die mögliche Farbpalette der Carotinoide, die üblicherweise von gelb nach rot reicht, erweitert. Dies

könnte für eine zukünftige Anwendung in Lebensmitteln interessant sein, da bisher nur wenige blaue Farbstoffe in Lebensmitteln verwendet werden. Blaue Gummibärchen werden z. B. mit dem synthetischen Farbstoff Indigotin (E 132) gefärbt.

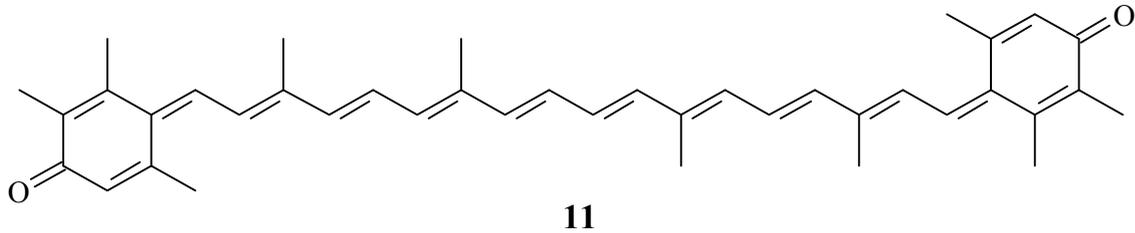


Abb.11: 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Ψ , Ψ -carotin-3,3'-dion 11

Die Synthesen der Zielverbindungen sollten jeweils idealerweise mehr als 100 mg an analysenreinen Produkten ergeben, damit für Messungen und umfassende Charakterisierungen ausreichende Mengen zur Verfügung stehen. So sollen besonders aussichtsreiche Kandidaten im Rahmen einer Kooperation innerhalb des SFB 663 auf ihre photoprotektiven Eigenschaften untersucht werden.

2 Hauptteil

2.1 Carotinoide mit Φ, Φ -Endgruppen: Ein Überblick

Yamagushi und Tsumaki haben 1954 eine Reihe von Polyenfarbstoffen aus einem orangefarbenen Meeresschwamm isoliert. Dieser Organismus heißt *Reniera japonica* und kommt in größeren Mengen im Brandungsbereich vor den Küsten der japanischen Insel Kyushu vor^[24]. Es wurden 5.7 kg des Schwamms gesammelt und anschließend zerkleinert. Die Farbstoffe wurden aus der Rohmasse extrahiert und chromatographisch getrennt. Als Hauptfraktionen konnten 93 mg bzw. 45 mg zweier bis dahin unbekannter Carotinoide gefunden werden. Als dritte Fraktion erhielt man 20 mg β -Carotin **1**. Durch ausgeklügelte chemische Abbaureaktionen, die bei den heutigen analytischen Möglichkeiten alchemistisch anmuten, konnte das aromatische Carotinoid Isorenieratin **12** (Abb.12) als zweite Fraktion identifiziert werden^[25, 26].

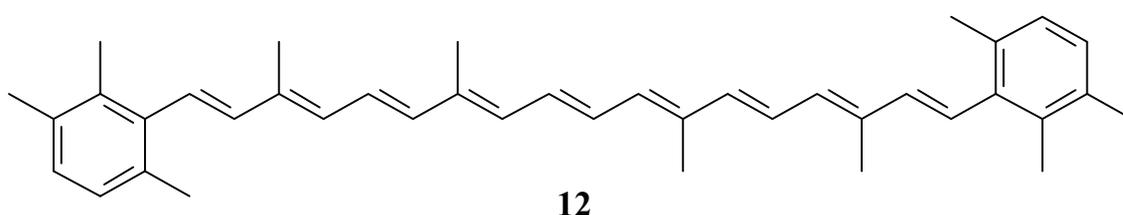


Abb.12: Isorenieratin **12**

Bis zu diesem Zeitpunkt waren keine Carotinoide mit aromatischen Endgruppen bekannt. Man unterscheidet heute in der Carotinoidnomenklatur die zwei aromatischen Endgruppen Φ und χ ^[2].



Abb.13: Φ - und χ -Endgruppe

Bei der größeren Fraktion handelt es sich um das unsymmetrische aromatische Carotinoid Renieratin (Φ, χ -Carotin). Wie man heute weiß stammt Isorenieratin **12**

(Φ,Φ -Carotin) nicht aus dem Schwamm selbst, sondern aus den mit ihm in Symbiose lebenden phototrophen Bakterien^[27-30]. Basierend auf Vorarbeiten von Karrer et al. hat Yamagushi 1959 Isorenieratin **12** erstmalig totalsynthetisch dargestellt. Karrer et al. kamen mit der Totalsynthese 1960 ein Jahr zu spät^[31,32]. Die Struktur von Isorenieratin **12** konnte u. a. durch Vergleich des UV/VIS-Spektrums mit der natürlichen Probe bestätigt werden.

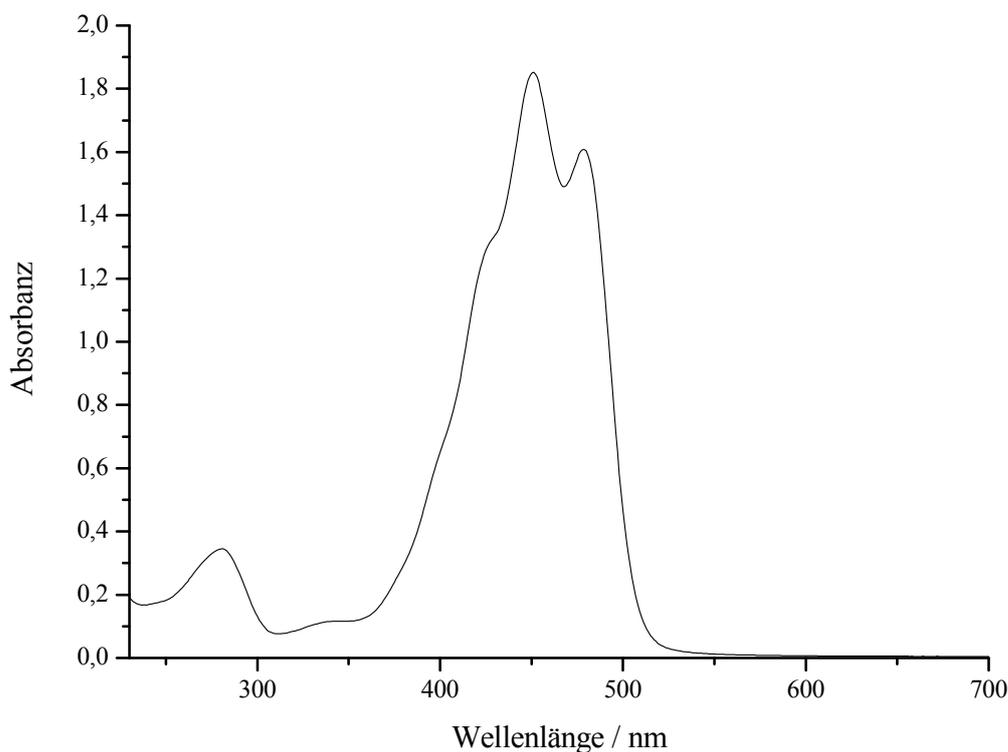


Abb.14: UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan) von Isorenieratin **12**

Schon Karrer beschrieb das Isorenieratin **12** als biogenisch interessantes Carotinoid und war der Überzeugung, dass es biologisch vom β -Carotin **1** oder α -Carotin abstammen müsse. In der Tat ist gezeigt worden, dass unter formaler Dehydrierung eine Methylgruppe im Ring von β -Carotin **1** verschoben wird (Abb.15)^[27].

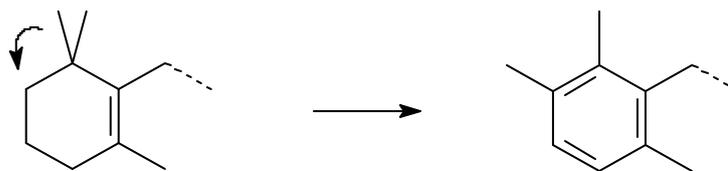


Abb.15: 1,2-Verschiebung der Methylgruppe in der Biosynthese von Isorenieratin **12**

Arcamone et al. berichteten 1969 von dem Bakterium *Streptomyces mediolani*. Neben Isorenieratin **12** fand man in dem Bakterium noch zwei interessante phenolische Carotinoide^[33]. Diese unterscheiden sich von Isorenieratin **12** durch eine bzw. zwei phenolische Gruppen in para-Position zur Polyenkette. 3-Hydroxyisorenieratin **10** (Φ, Φ -Carotin-3-ol) wurde isoliert und zur Überprüfung der physiologischen Eigenschaften an Hühner verfüttert. Dabei zeigte sich eine Verbesserung der Färbung des Eigelbes^[34]. Aufgrund der stark pigmentierenden Wirkung wurde von Arcamone et al. eine Empfehlung als Mastmittel für die Tierzucht gegeben.

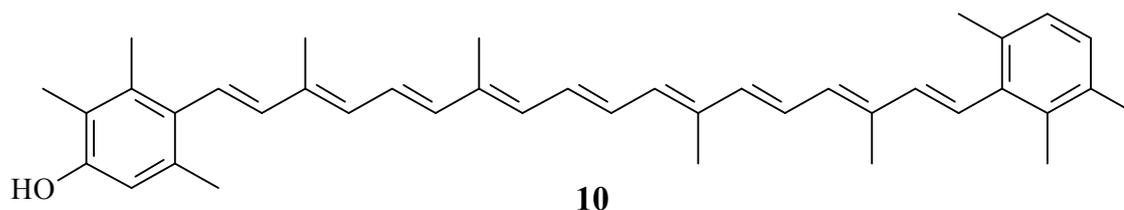


Abb.16: 3-Hydroxyisorenieratin **10** (Φ, Φ -Carotin-3-ol)

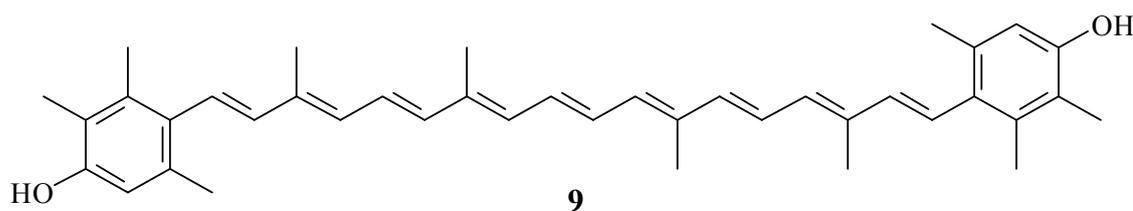


Abb.17: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (Φ, Φ -Carotin-3,3'-diol)

Beide phenolische Carotinoide wurden von Nybraaten et al. weiter untersucht^[30], vor allem um Methoden zu finden diese im Mikromaßstab nachweisen zu können. Dabei wurde eine charakteristische Farbreaktion des Diphenols **9** entdeckt. Auf Dünnschichtfolien für die Chromatographie verfärbt sich der zunächst orange Punkt des phenolischen Carotinoids an der Luft langsam blau. Diese Farbreaktion ist auf die Bildung eines chinoiden Systems **11** zurückzuführen und erfolgt mit Oxidationsmitteln, wie z. B. Iod, sehr schnell.

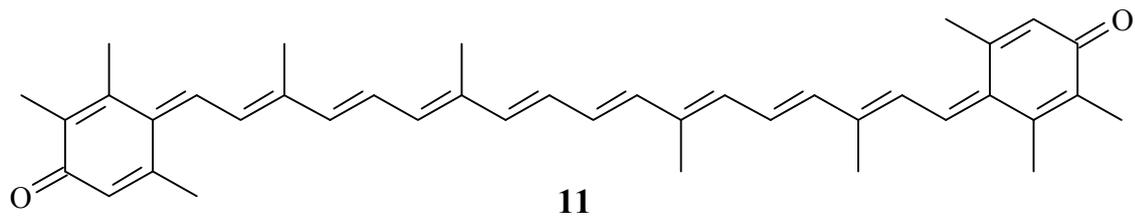


Abb.18: Chinoide Form **11** von **9**

Dack et al. beobachteten 1961 bei dem Bakterium *Brevibacterium linens* ebenfalls eine signifikante Farbreaktion^[35]. Dadurch konnte man diese von anderen Bakterienstämmen unterscheiden. Die Bakterienkolonie verfärbt sich bei Zugabe von starken Basen (z. B. 20%ige Kaliumhydroxidlösung) typischerweise von gelb-orange nach lila. Bei Zugabe von schwachen Basen wurde diese Farbreaktion nicht beobachtet. Die Farbreaktion, die bei Säurezugabe wieder reversibel ist, wurde Carotinoiden zugeordnet^[36].

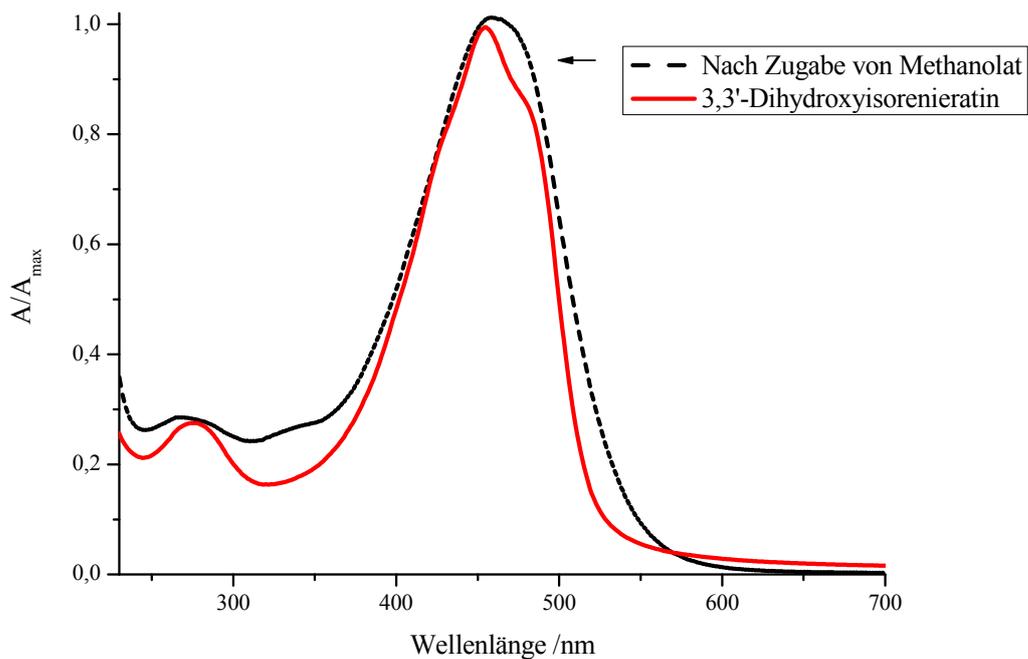


Abb.19: UV/VIS-Spektrum (Methanol) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** mit und ohne Basenzusatz

Erikson et al. konnten weiter zeigen, dass die Carotinoide größtenteils in der Membran vorliegen, während die Zellwand unpigmentiert ist. Kohl et al. belegten 1982 durch massenspektroskopische Untersuchungen, dass es sich tatsächlich ebenfalls um die drei oben beschriebenen Carotinoide **9**, **10**, und **12** handelte^[37]. Die bathochrome

Farbverschiebung um insgesamt 12 nm kommt dabei nach Kohl et al. ausschließlich von der Deprotonierung der phenolischen Gruppen des Φ, Φ -Carotin-3,3'-diol **9**.

Um dies zu überprüfen, wurde im Rahmen dieser Arbeit eine verdünnte Lösung der chemisch isolierten Verbindung **9** in Methanol angesetzt und unter photometrischer Beobachtung wurde anschließend sukzessive Natriummethanolat zugegeben. Dabei konnte gezeigt werden, dass die gering ausgeprägte Feinstruktur im UV/VIS-Spektrums des Carotinoids **9** verschwindet, ohne dass es zu einer signifikanten bathochromen Verschiebung kommt (Abb.19). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Carotinoide, durch die stark basische Zugabe der Kaliumhydroxidlösung auf die Bakterienkultur, aus der Membran freigesetzt werden und dann erst ihre volle Farbstärke entfalten können.

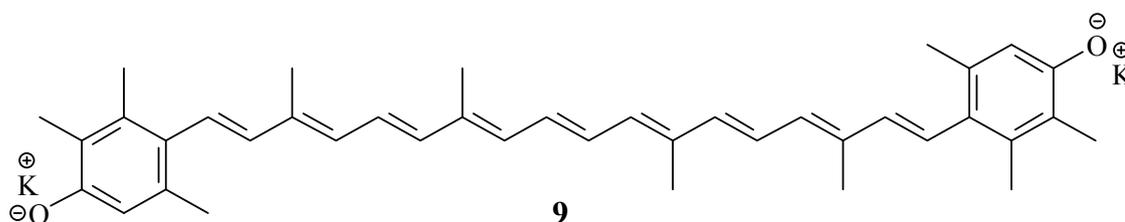


Abb.20: Deprotonierte Form von Φ, Φ -Carotin-3,3'-diol **9** nach Zugabe von Kalilauge

Ähnlich wie z. B. beim Astaxanthin **2** könnten die Hydroxygruppen verestert vorliegen^[38, 39]. Dies wird durch die beobachtete Verteilung der Carotinoide im Bakterium zugunsten der phenolischen Carotinoide unterstützt. Das Verhältnis der Carotinoide im *Brevibacterium linens* Φ, Φ -Carotin-3,3'-diol **9**: Φ, Φ -Carotin-3-ol **10**: Φ, Φ -Carotin **12** wurde von Kohl et al. im Verhältnis 9:4:3 bestimmt. Durch moderne HPLC-Methoden konnte dieses Verteilungsverhältnis der Carotinoide schließlich später noch genauer zu 9:1:0.5 zugunsten des Diphenols **9** korrigiert werden^[40].

Andererseits empfehlen Nybraaten et al. den Verseifungsschritt zur Isolierung der Carotinoide ausdrücklich nicht, da unter diesen Bedingungen fast keine phenolischen Carotinoide zu isolieren seien^[30]. So wurden die Carotinoide in späteren Arbeiten durch Zentrifugation und Methanolextraktion des Bakteriums isoliert^[37, 41]. Dies spricht gegen eine Veresterung und für eine relativ freie Einlagerung in den Membranen.

Mikroskopische Aufnahmen des *Brevibacterium linens* CNRZ 918 sind 1985 veröffentlicht worden^[42]. *Brevibacterium linens* wird in der Produktion von verschiedenen Rotschmiere-Käsesorten eingesetzt. Bei diesen handelt es sich um so

prominente Vertreter wie Tilsiter, Limburger, Romadour, Maroilles oder Münster^[41, 43]. Das Bakterium beschleunigt die Reifung und unterstützt auch das Aroma durch die Bildung von Methanthiol.

Die genaue Einhaltung von Temperatur, pH und gelöstem Sauerstoff in der Kultur ist für das Wachstum des Bakteriums in der industriellen Produktion von enormer Wichtigkeit^[44]. So wird die Pigmentierung bei Sauerstoffkonzentrationen unterhalb von 40 % und oberhalb von 60 % der Sättigungskonzentration bei Anwesenheit von Luft unterdrückt^[45]. Folglich ist das Bakterium ein streng aerob wachsender Organismus. Die phenolischen Carotinoide sind allerdings scheinbar nicht für die Farbe der Rinde der meisten fertig gereiften Käsesorten verantwortlich^[46-48]. In der Rinde der französischen Käsesorte Maroilles konnte man 2007 nur Isorenieratin **12** nachweisen^[46], wobei zur Isolierung der Farbstoffe allerdings die oben erwähnten, nicht empfohlenen drastischen Bedingungen verwendet wurden.

Dufossé et al. vermuteten wegen dem engen Zusammenhang zwischen Produktion der Carotinoide und dem Wachstum der Bakterien einen antioxidativen bzw. protektiven Effekt in der Membran. Dies wird durch die Dissertation von Scherrers^[23] unterstützt, der ein außergewöhnlich großes antioxidatives Potential von Φ,Φ -Carotin-3,3'-diol **9** im Vergleich zu anderen natürlichen Carotinoiden feststellen konnte. Im Arbeitskreis Martin wurde man auf den Naturstoff **9** aufmerksam, weil das künstliche BHT-Carotinoid **13** (Abb.21) ebenfalls sehr gute antioxidative Eigenschaften zeigte. Das BHT-Carotinoid **13** ist, mit den phenolischen Hydroxygruppen in para-Stellung zur Polyenkette, strukturverwandt mit **9**.

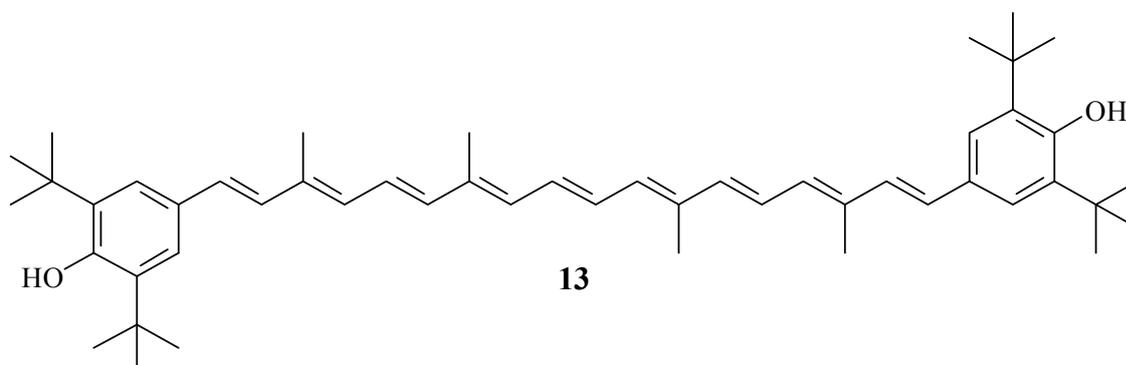


Abb.21: BHT-Carotinoid **13**

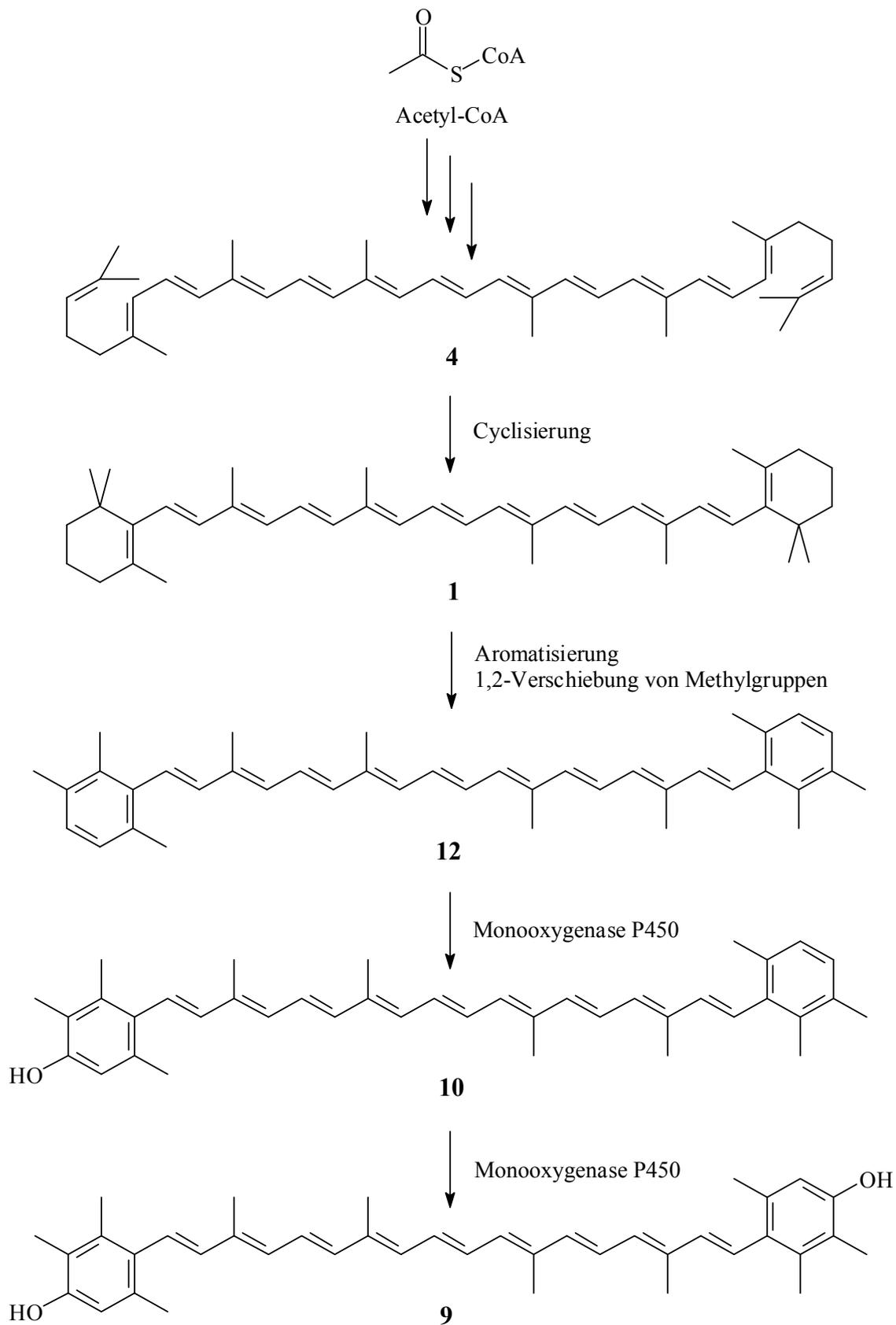


Abb.22: Biosynthese von aromatischen Carotinoiden in *Brevibacterium linens*

Die letzten Schritte in der Biosynthese der aromatischen Carotinoide in *Brevibacterium linens* sind erst in den letzten Jahren aufgeklärt worden (Abb.22)^[49-51]. Aus Lycopin **4** entsteht durch Cyclisierung der Endgruppen β -Carotin **1** (beteiligtes Enzym: Cyclase). Anschließend werden die Endgruppen des β -Carotin **1** schrittweise unter der Verschiebung einer Methylgruppe aromatisiert (beteiligte Enzyme: Desaturase und Methyl Transferase), wodurch man Isorenieratin **12** erhält. Nun entsteht durch die Oxidation des Enzyms P 450 Monooxygenase zunächst 3-Hydroxyisorenieratin **10** und dann schließlich 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**.

2.2 Syntheseplanung

Für Carotinoide sind einige Synthesewege bekannt. Die effektivsten Syntheserouten verlaufen über konvergente Strategien, die die Verknüpfung von einem Mittelbaustein mit zwei Endgruppen in einem Schritt ermöglichen. Dies ist besonders für C₄₀-Carotinoide aus Symmetriegründen ein nahe liegendes Vorgehen.

Dabei gibt es prinzipiell zwei verschiedene Strategien A und B, um den entscheidenden Kopplungsschritt zu realisieren^[52]. Bei der Methode A werden die Bausteine durch die Generierung von Doppelbindungen verknüpft. Dafür sind die Julia-Reaktion und die Wittig-Reaktion bewährt.

Methode B nutzt palladiumkatalysierte Kupplungsreaktionen (z. B. Heck-Reaktion), um eine Einfachbindung zwischen zwei Doppelbindungen aufzubauen.

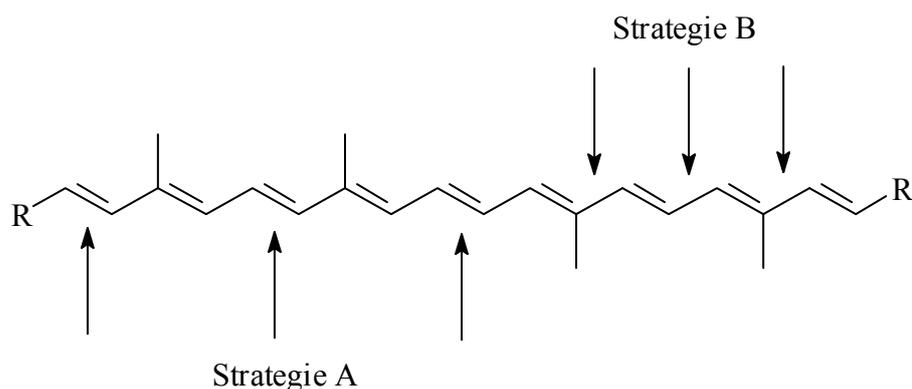


Abb.23: Mögliche Synthesestrategien zum Aufbau von Carotinoiden über Knüpfung von Einfach (Strategie B)- bzw. Doppelbindungen (Strategie A), R = Endgruppe

Die BASF-AG stellt dem Arbeitskreis einige wichtige Bausteine zur Verfügung, die die Synthese über die Strategie A ermöglichen (Abb.24).

Im Vorausblick der Möglichkeit einer späteren technischen Darstellung wird die Wittig-Reaktion im Rahmen dieser Arbeit mittels zweier Phosphoniumsalz-Bausteine und einem Dialdehyd favorisiert. Dies ist in der Industrie aus ökonomischer Sicht die bevorzugte Wahl, da ausgehend von identischen Bausteinen Carotinoide mit unterschiedlichen Endgruppen hergestellt werden können. Da die unpolaren Carotinoide aus Alkoholen auskristallisiert werden, stellt das bei der Wittig-Reaktion anfallende Triphenylphosphinoxid kein Verunreinigungsproblem dar. Triphenylphosphinoxid ist in Alkoholen gut löslich und wird technisch zum Triphenylphosphin recycelt.

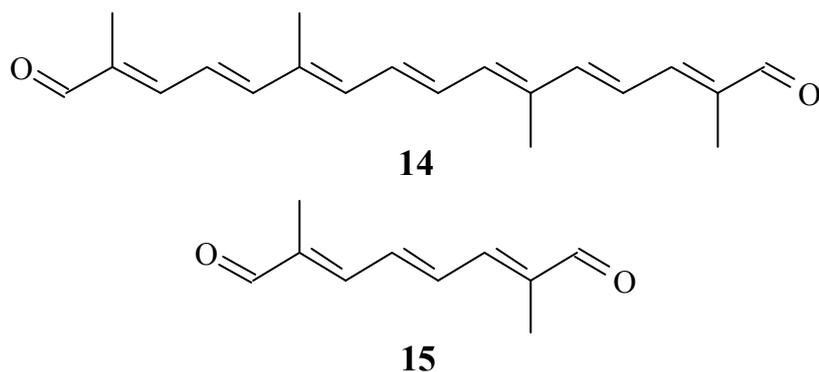


Abb.24: Die Bausteine Crocetindialdehyd (C_{20}) **14** und C_{10} -Dialdehyd **15**

Die phenolischen Endgruppen können in der Wittig-Reaktion stören^[23]. Daher muss ausgelotet werden, ob Schutzgruppen in der Darstellung der phenolischen Carotinoide benötigt werden. Dabei muss beachtet werden, dass die Entfernung von einigen Schutzgruppen, nach der Kopplung zum Carotinoid, aus Stabilitätsgründen nicht empfohlen wird^[53].

Ausgehend von den Dialdehyd-Bausteinen **14** und **15** sind zwei Routen möglich. Erstens die bekannteste und für Carotinoidsynthesen am häufigsten verwendete $C_{15}+C_{10}+C_{15}$ -Synthesevariante (Abb.25)^[54]. Dazu wird C_{10} -Dialdehyd **15** mit mindestens zwei Anteilen C_{15} -Phosphoniumsalz **16** in einer Wittig-Reaktion zum Carotinoid umgesetzt. Diese Synthese hat Wittig selbst zur Darstellung von β -Carotin **1** erfunden^[55]. Die zweite Variante nutzt analog C_{20} -Dialdehyd **14** in einer $C_{10}+C_{20}+C_{10}$ -Darstellung.

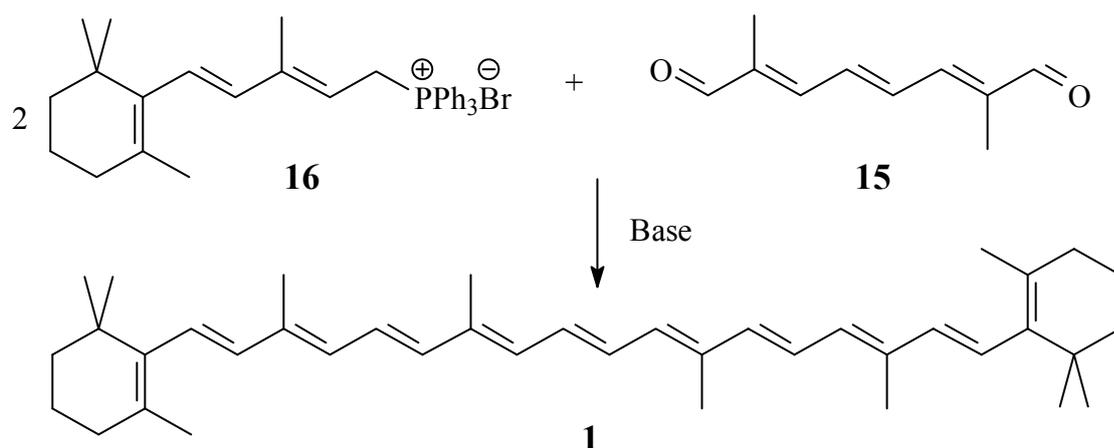


Abb.25: Synthese von β -Carotin **1** nach dem $C_{15}+C_{10}+C_{15}$ -Syntheschema

2.3 Synthesen

2.3.1 Synthese von phenolischen Carotinoiden ohne Methylgruppen in den Endgruppen

Um die antioxidativen Eigenschaften von Φ,Φ -Carotin-3,3'-diol **9** genauer zu verstehen, sind Carotinoide von Interesse, die sich nur in bestimmten Merkmalen von diesem unterscheiden. Das strukturell einfachste Derivat stellt das phenolische Carotinoid ohne Methylgruppen in den Endgruppen dar (Abb.26).

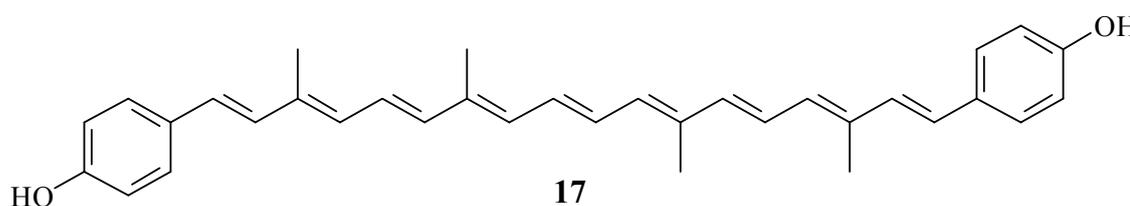


Abb.26: 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **17**

Zur Synthese sind im Arbeitskreis Martin bereits einige Versuche unternommen worden. Korger^[17] versuchte die Kopplung unter Verwendung von Endgruppen, in denen die phenolischen Gruppen geschützt waren, ausgehend von p-Kresol **18**. Als Schutzgruppe wählte er die Benzoylschutzgruppe, die durch Kopplung mit Benzoesäurechlorid eingeführt wurde. Nach anschließender Bromierung des geschützten Derivates **19** mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) und Umsetzung des entstehenden Benzylbromides mit Triphenylphosphin erhält man das Phosphoniumsalz **20** in sehr guten Ausbeuten (Abb.27).

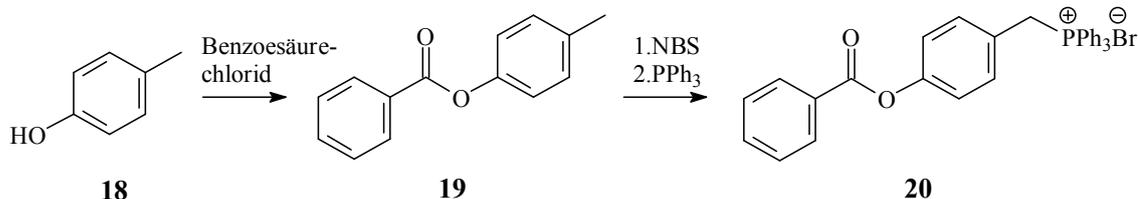


Abb.27: Syntheserversuche von Korger

Bei $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Tetrahydrofuran und *n*-Butyllithium als Base gelingt die doppelte Wittig-Reaktion mit Crocetindialdehyd **14** als Mittelbaustein zu 3,3'-Benzoyloxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **21**. Lässt man die Mischung mit einem Überschuss an Base länger bei Raumtemperatur rühren, beobachtet man eine komplette Spaltung der Esterschutzgruppen. Unter diesen Bedingungen konnte nach

anschließender Säulenchromatographie kein reines Produkt erhalten werden. Auf der Säule wurde Oxidation zur chinoiden Form beobachtet, was durch das Entstehen einer blauen Bande visuell erkennbar war. Die Isolierung des geschützten Carotinoids **21** bereitete weniger Probleme. Die anschließende Entfernung der Schutzgruppen mit z. B. Butylamin war allerdings nicht erfolgreich.

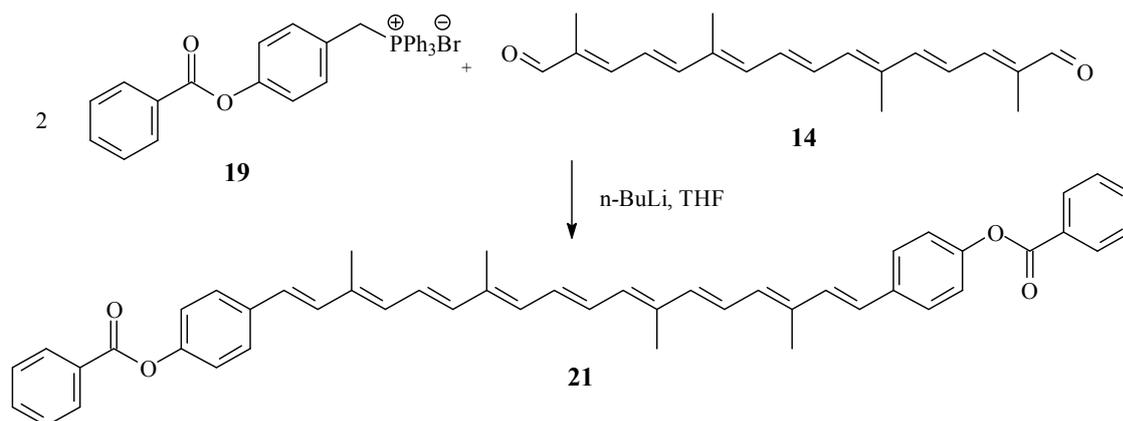


Abb.28: Synthese von 3,3'-Benzoyloxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **21**

In Vorarbeiten^[56] ist eine alternative Synthese ohne die Verwendung von Schutzgruppen mit C₁₀-Dialdehyd **15** als Mittelbaustein erprobt worden. Der Aufbau der Carotinoide über diese Variante ist der bekannteste und am häufigsten verwendete Weg^[53]. Da dieser Ansatz Erfolg versprechend ist und bei den Vorarbeiten in der letzten Stufe scheiterte, wurde erneut versucht, auf diesem Weg zum Ziel zu kommen. Die Synthese geht aus von 4-Hydroxybenzaldehyd **22**, der günstig zu erwerben ist. Im ersten Schritt wird der Aldehyd **22** in einer Wittig-Reaktion mit Acetynylid **23** umgesetzt (Abb.29).

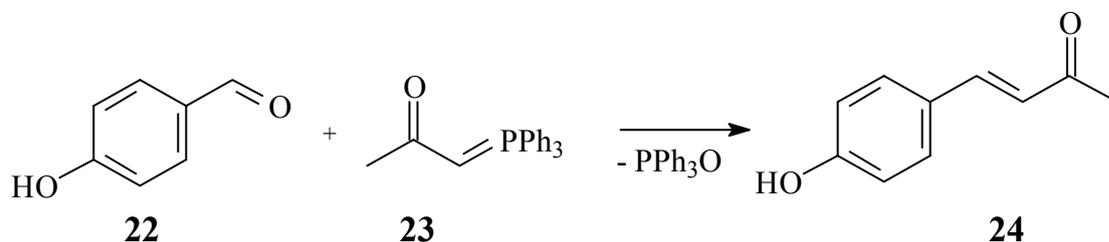


Abb.29: Wittig-Reaktion mit Acetynylid **23**

Die Edukte werden in Benzol oder Toluol zum Rückfluss erhitzt^[56, 57]. Der Umsatz in Benzol ist aufgrund besserer Löslichkeit etwas höher und läuft mit 6 statt 48 h deutlich

schneller ab. Die anschließende Aufreinigung erfolgte säulenchromatographisch. Dieser Schritt konnte vor allem unter praktischen Gesichtspunkten nochmals deutlich verbessert werden. Um einen vollständigen Umsatz des 4-Hydroxybenzaldehyds **22** zu gewährleisten, gibt man das Acetonlid **23** in leichtem Überschuss zu. Nach der Reaktion extrahiert man das Produkt mehrmals mit 3%iger Natronlauge aus dem Reaktionsgemisch, indem man sich die Wasserlöslichkeit des deprotonierten Phenols **24** zu Nutze macht. Die wässrige Lösung wird anschließend mit verdünnter Salzsäure neutralisiert, wobei das Produkt ausfällt und abgesaugt wird. Die Ausbeute liegt bei über 90 %. 4-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on **24** wird nun in einer Grignard-Reaktion mit Vinylmagnesiumbromid und anschließend als Rohprodukt **25** mit Triphenylphosphonium-bromid zum C₁₅-Phosphoniumsalz¹ **26** kettenverlängert (Abb.30).

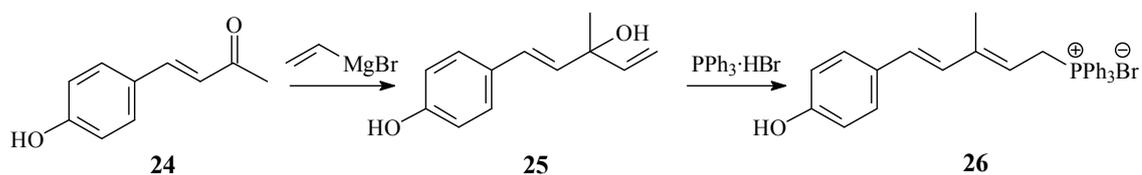


Abb.30: Synthese eines phenolischen C₁₅-Phosphoniumsalzes **26**

Die folgende abschließende Wittig-Reaktion wurde mit 1,2-Epoxybutan als milde Base erprobt^[58-61]. Dazu erhitzt man den C₁₀-Dialdehyd **15** mit mindestens zwei Äquivalenten an Phosphoniumsalz **26** in einer Ethanol/1,2-Epoxybutan-Mischung unter Rückfluss (Abb.31).

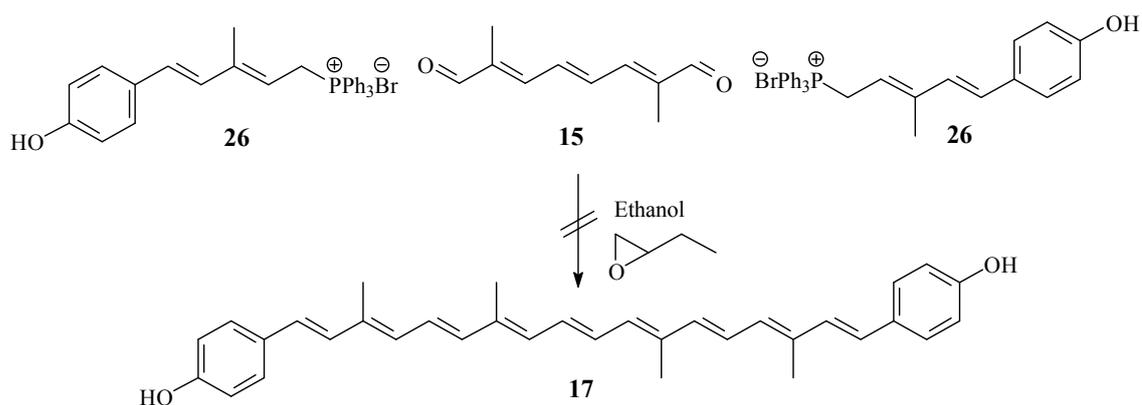


Abb.31: Fehlgeschlagende Kopplung zu 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **17**

¹ Eigentlich ein C₁₂-Baustein, der hier aus systematischen Gründen als C₁₅ bezeichnet wird.

Trotz unterschiedlicher Reaktionszeiten zwischen 8 und 48 h und unterschiedlichen Ethanol/1,2-Epoxybutan-Verhältnissen konnte kein Produkt isoliert werden. Eine mögliche Ursache könnte die sehr schlechte Löslichkeit des C₁₅-Phosphoniumsalzes **26** in der Reaktionsmischung sein. Da die geschilderten Methoden keinen Erfolg brachten, wurden Reaktionen getestet, die zwar geringe Ausbeute erwarten ließen, aber dafür nur wenige Stufen benötigen würden. 4-Hydroxybenzylalkohol **27** ist günstig erhältlich. Es lässt sich mit Triphenylphosphonium-bromid fast quantitativ zum kürzeren Phosphoniumsalz **28** in Dichlormethan oder Acetonitril bei Raumtemperatur umsetzen.

V1

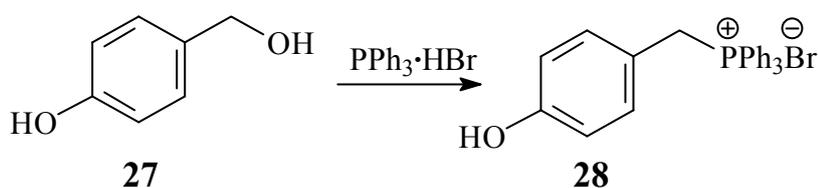


Abb.32: Synthese von (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **28**

Die Kopplung mit Crocetininaldehyd **14** wurde zunächst in Diethylether analog der Methode von Copper et al. für die Synthese von Isorenieratin **12** ^[62] getestet. Dazu wird das Phosphoniumsalz **28** im Überschuss in Diethylether vorgelegt und mit *n*-Butyllithium zum Ylid deprotoniert. Nach 90 min Rühren bei Raumtemperatur wird der Aldehyd **14** in Methylenchlorid zugetropft und anschließend 4 h unter Rückfluß erhitzt. Mittels Dünnschichtchromatographie konnte aber keine Umsetzung festgestellt werden. Den methodischen Durchbruch ergab dann der Wechsel des Lösemittels. Anstatt Diethylether verwendet man besser Tetrahydrofuran, wobei die Zugabe des *n*-Butyllithium bei ca. -5 °C erfolgt. Während der vorsichtigen Zugabe von *n*-Butyllithium verfärbt sich die Suspension stark rot. Anschließend wird Crocetininaldehyd **14** in Dichlormethan zugetropft und schon nach kurzem Rühren bei Raumtemperatur erhält man das gewünschte Produkt **17**. Der orange Punkt auf der DC-Folie verfärbt sich nach wenigen Sekunden in der Iodkammer tiefblau. Dies ist ein eindeutiger Hinweis für die Anwesenheit eines phenolischen Carotinoids mit Hydroxygruppen in para-Stellung zur Polyenkette, das durch Oxidation ein chinoides System **29** ausbilden kann (Abb.33).

V2

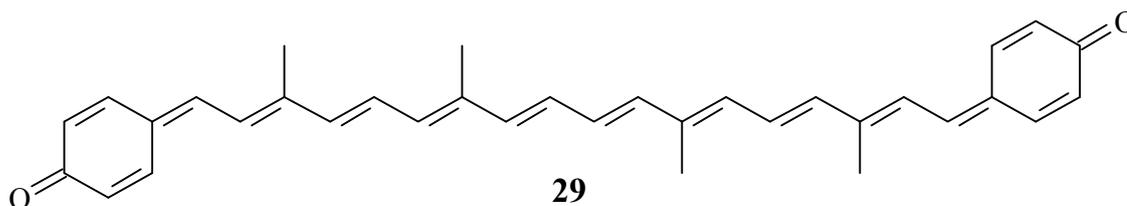


Abb.33: oxidierte blaue Form **29** von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanon- Φ,Φ -carotin **17**

Die Reaktionslösung wird mit verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert und mit Tetrahydrofuran extrahiert. Um eine geeignete Phasentrennung der THF/Wasser-Mischung zu erreichen, gibt man gesättigte Natriumchloridlösung oder Natriumhydrogencarbonatlösung hinzu. Chlorierte Lösungsmittel wie Chloroform oder Dichlormethan sind nicht zur Extraktion geeignet, da das Produkt **17** in diesen schlecht löslich ist. Anschließend ist eine säulenchromatographische Reinigung über eine kurze Säule erforderlich, um das im Überschuss eingesetzte, in Ethanol schwerlösliche Phosphoniumsalz **28** zu entfernen.

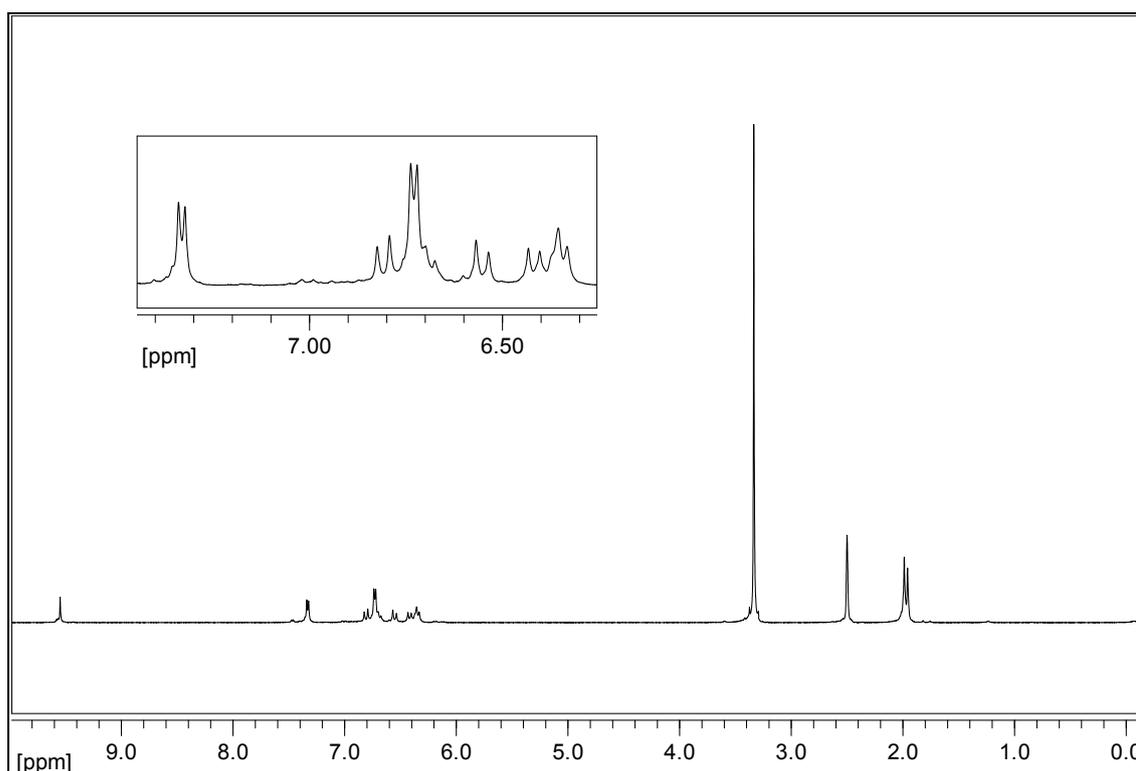


Abb.34: $^1\text{H-NMR}_{500}$ ($\text{DMSO-}d_6$) von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanon- Φ,Φ -carotin **17**

Zur weiteren Reinigung und Isomerisierung wird das vom Lösemittel befreite Rohprodukt in Ethanol 3 h zum Sieden erhitzt. Da bei der Wittig-Reaktion unter den

gewählten Bedingungen ein Gemisch aus cis- und trans-Doppelbindungen in 7,8- und 7',8'-Position entsteht, ist eine thermische Isomerisierung nötig^[63]. Nach Abkühlung der Mischung wird das Carotinoid **17** durch Filtration isoliert. Laut HPLC erhält man 97 % all-trans Produkt in 39%iger Ausbeute bezogen auf Crocetininaldehyd **14**.

Die folgenden Zuordnungen erfolgten mit den zweidimensionalen NMR-Spektroskopie-Methoden H,H-COSY, HMQC und HMBC.

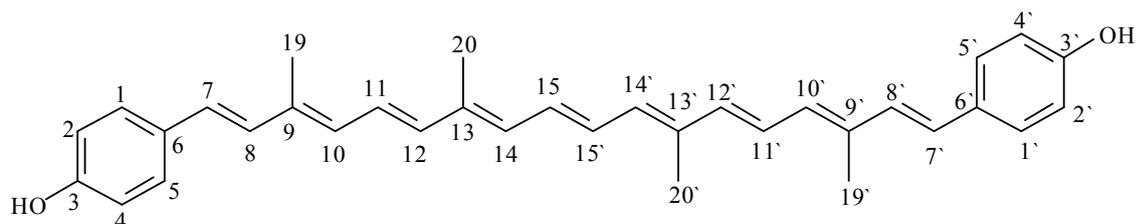


Abb.35: Nummerierung nach Carotinoidnomenklatur^[2] für 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **17**

Tabelle: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} -Daten für 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin 17 in DMSO-d_6

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1, 1'	2 H	7.33	[<u>AB</u>] ₂ ²	127.58
2, 2'	2 H	6.73	[<u>AB</u>] ₂	115.48
3, 3'	2 H	9.55	s	156.96
4, 4'	2 H	6.73	[<u>AB</u>] ₂	115.48
5, 5'	2 H	7.33	[<u>AB</u>] ₂	127.58
6, 6'				128.41
7, 7'	2 H	6.55	d, 16.0	127.49
8, 8'	2 H	6.81	d, 16.0	130.29
9, 9'				135.71
10, 10'	2 H	6.34	d, 11.5	131.53
11, 11'	2 H	6.71	m	125.29
12, 12'	2 H	6.41	d, 14.7	137.11
13, 13'				136.25
14, 14'	2 H	6.36	m	132.64
15, 15'	2 H	6.71	m	130.17
19, 19'	6 H	1.96	s	12.51
20, 20'	6 H	1.99	s	12.59

Nachdem die Synthese und Isolierung gelungen war, wurde das gewonnene Wissen für die Darstellung der phenolischen Carotinoide mit den phenolischen Gruppen in ortho-

² Spinsystem höherer Ordnung, Kopplungskonstante $N_{\text{AB}} = {}^3J_{\text{AB}} + {}^5J_{\text{AB}} = 8.3 \text{ Hz}$

V3

bzw. meta-Position zur Polyenkette genutzt. Während das „ortho-Carotinoid“ **30** in der Lage ist ein chinoides System durch Oxidation auszubilden, ist dies bei dem „meta-Carotinoid“ **31** nicht möglich. Dadurch sollte ein unterschiedliches antioxidatives Verhalten zu beobachten sein. Die Synthese von (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **32** ausgehend von 2-Hydroxybenzylalkohol verläuft in hoher Ausbeute. Die anschließende Kopplung zum „ortho-Carotinoid“ **30** erfolgt analog zu obigen phenolischen para-Carotinoid **17** mit *n*-Butyllithium in Tetrahydrofuran.

V4

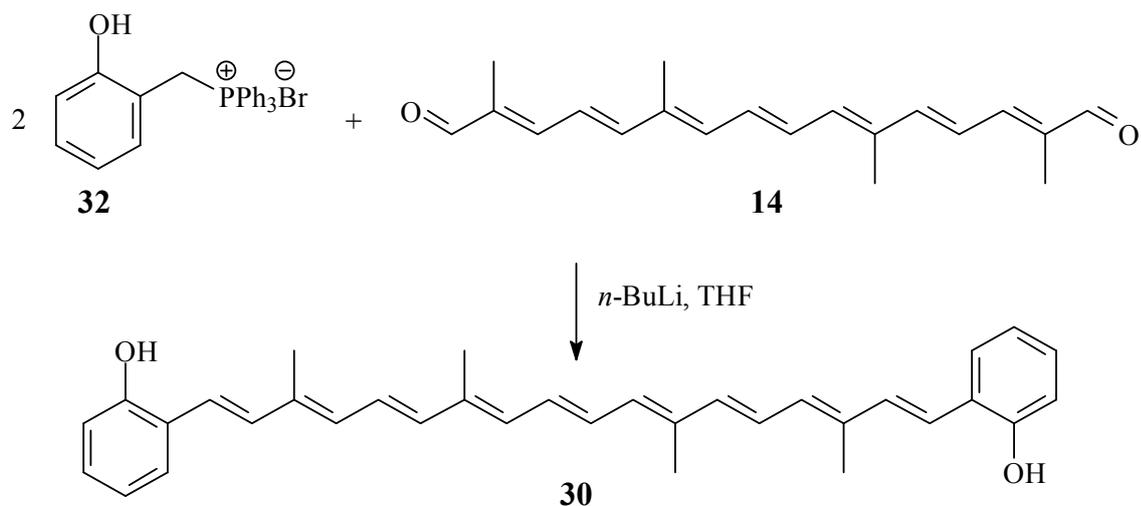


Abb.36: Erfolgreiche Kopplung zu 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **30**

Die Synthese verläuft mit 55 % Ausbeute bezogen auf Crocetinindialdehyd **14** sehr erfolgreich. Bemerkenswerter Weise hat der rote Farbstoff **30** einen ausgeprägten phenolischen Geruch. Die Verbindung konnte mit modernen NMR-Methoden vollständig charakterisiert werden.

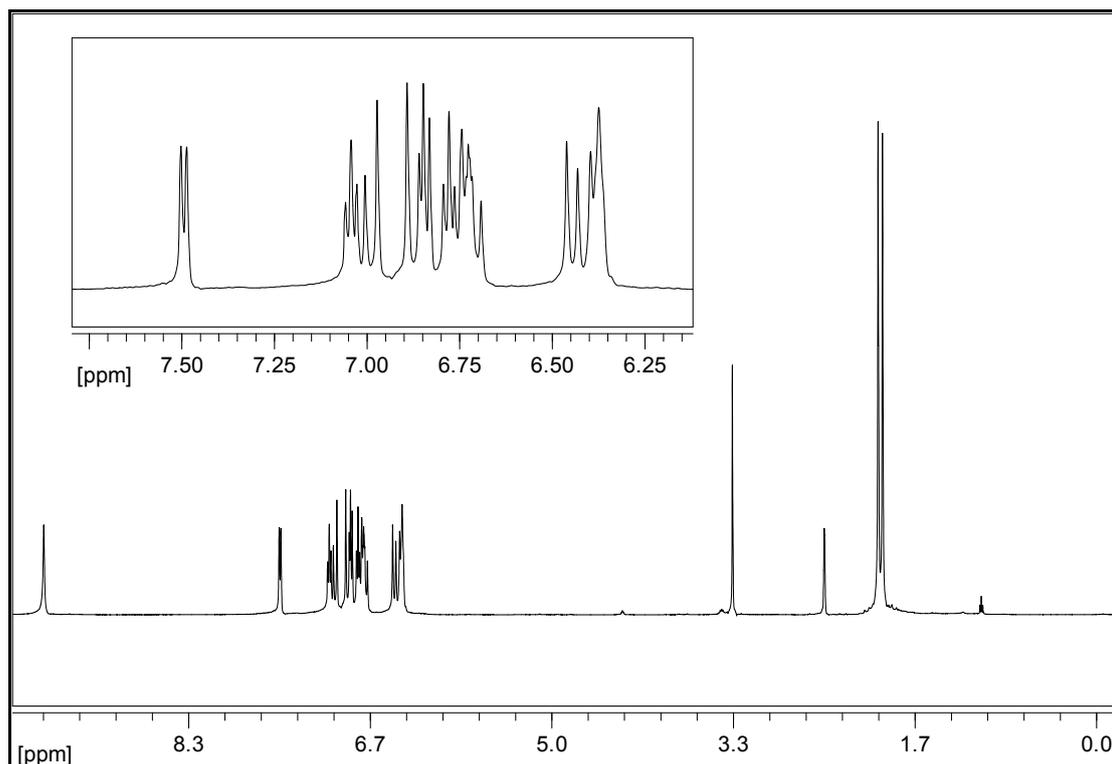


Abb.37: $^1\text{H-NMR}_{500}$ ($\text{DMSO-}d_6$) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30**

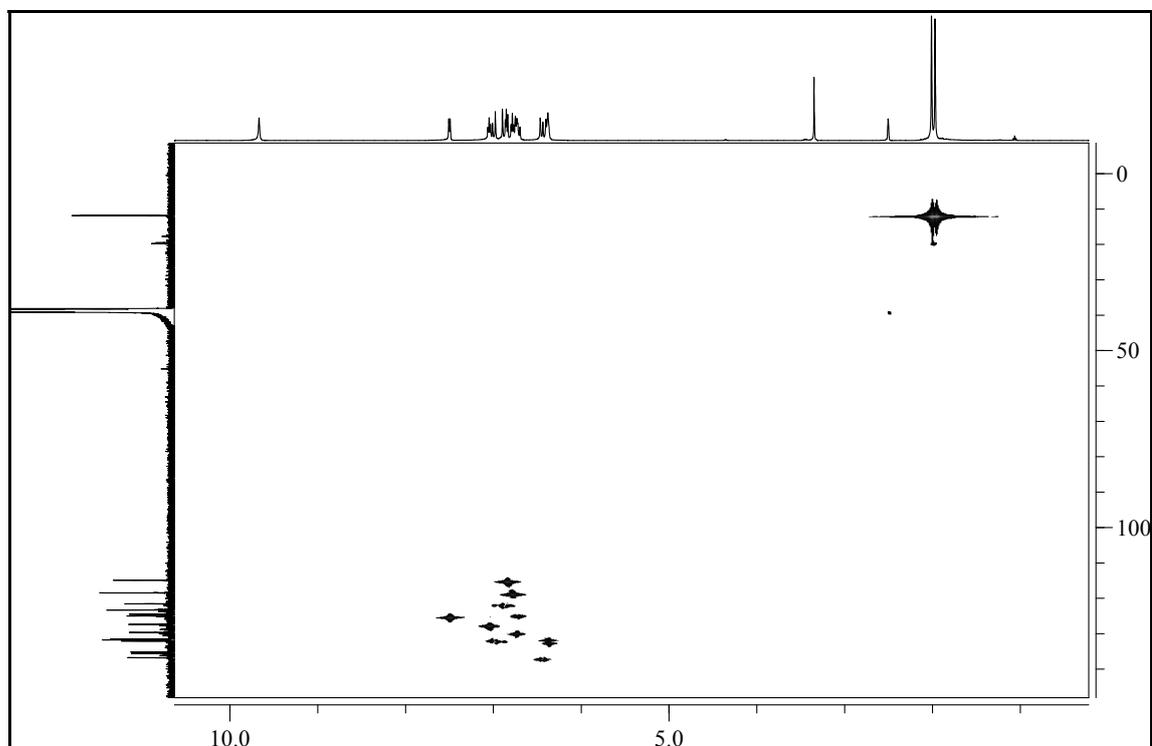


Abb.38: HMOC-Aufnahme ($\text{DMSO-}d_6$) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30** (Einheiten in ppm, vertikal ^{13}C , horizontal ^1H)

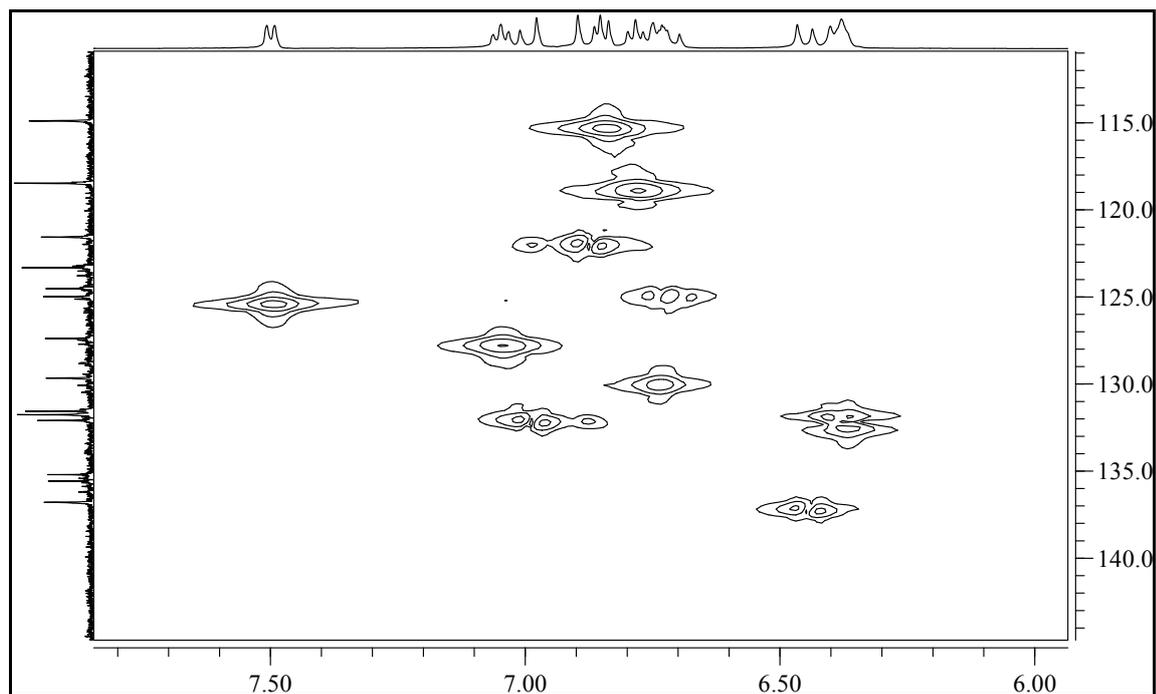


Abb. 39: Ausschnittsvergrößerung HMQC (DMSO- d_6) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30** (Einheiten in ppm, vertikal ^{13}C , horizontal ^1H)

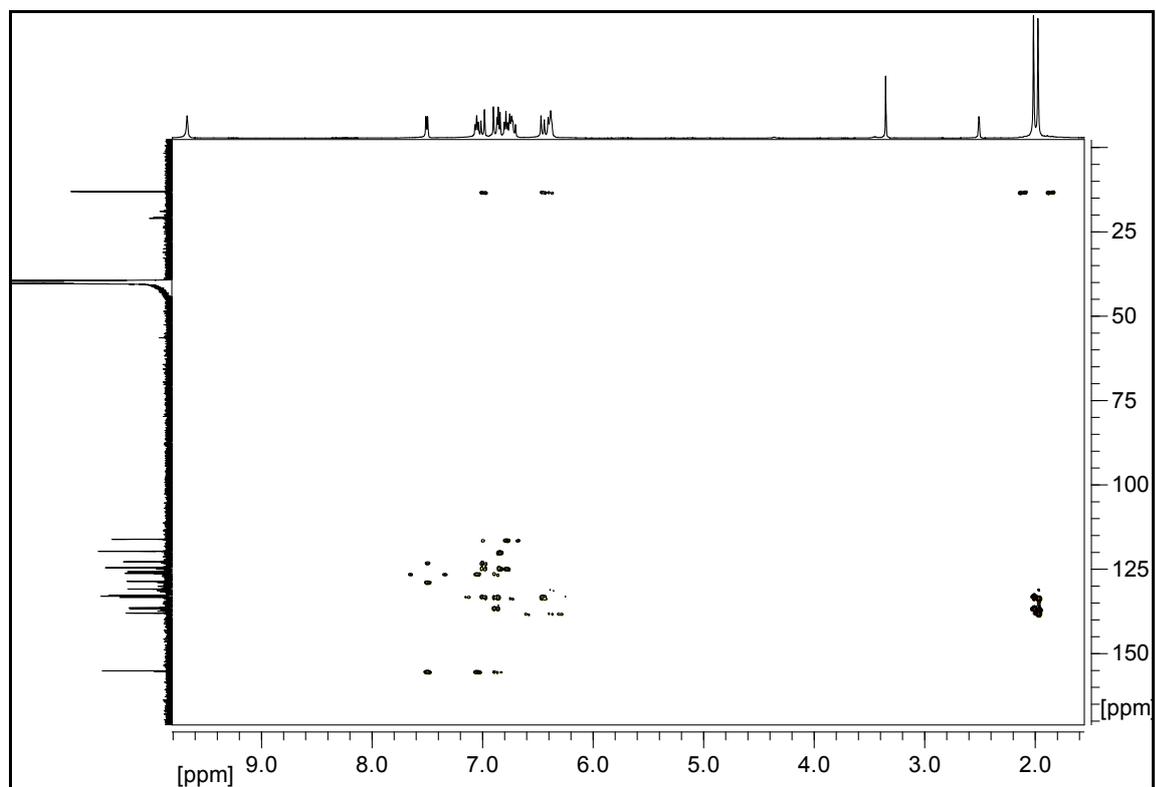


Abb. 40: HMBC-Spektrum (DMSO- d_6) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30** (vertikal ^{13}C , horizontal ^1H)

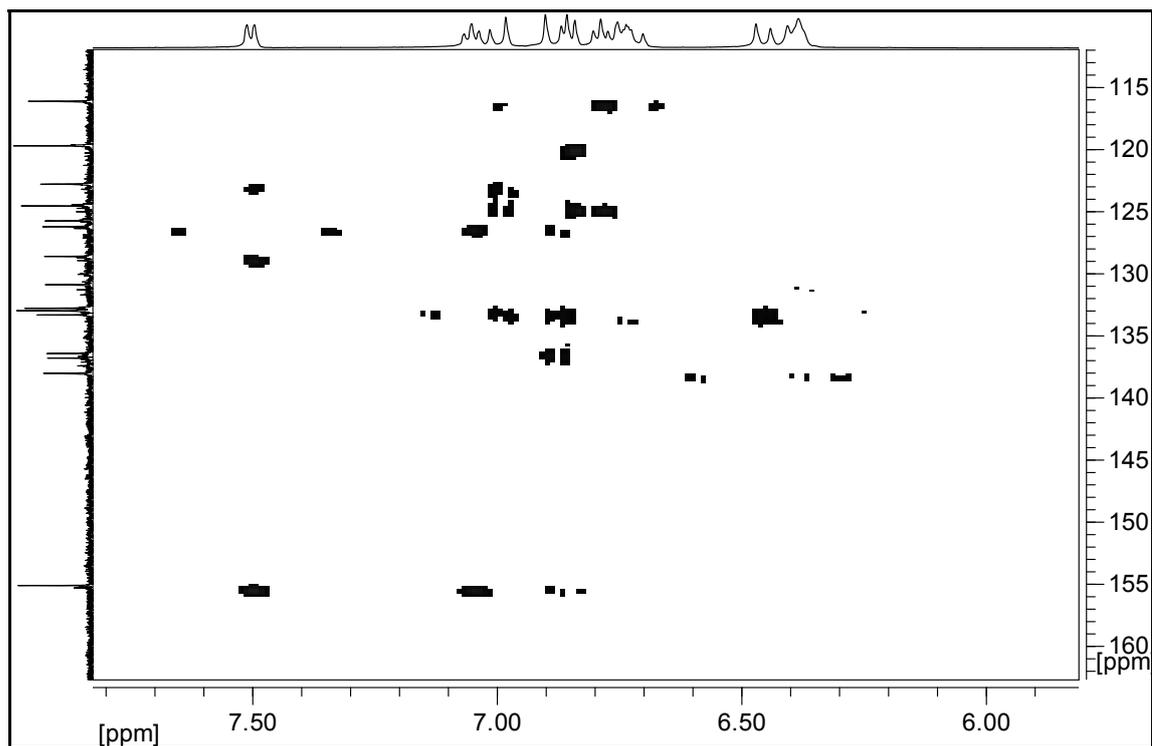


Abb.41: Ausschnittsvergrößerung HMBC-Spektrum (DMSO- d_6) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30** (vertikal ^{13}C , horizontal ^1H)

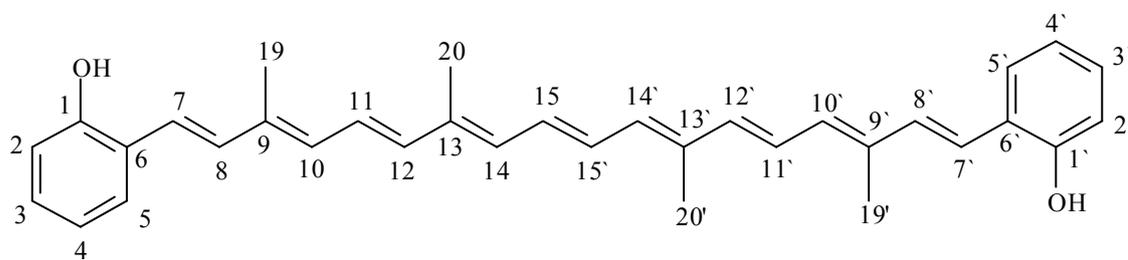


Abb.42: Nummerierung nach Carotinoidnomenklatur^[2] für 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30**

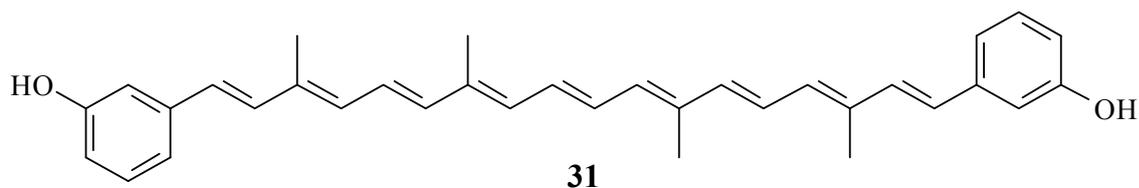
Tab.2: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30** in DMSO- d_6

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1, 1'	2 H	9.67	s	154.65
2, 2'	2 H	6.84	d, 8.1	115.67
3, 3'	2 H	7.04	t, 7.6	128.15
4, 4'	2 H	6.78	t, 7.5	119.24
5, 5'	2 H	7.49	d, 7.7	125.29
6, 6'				124.09
7, 7'	2 H	6.87	d, 16.2	122.34
8, 8'	2 H	6.99	d, 16.2	132.53
9, 9'				135.97
10, 10'	2 H	6.39	m	132.32
11, 11'	2 H	6.72	m	125.76
12, 12'	2 H	6.45	d, 14.8	137.56
13, 13'				136.34
14, 14'	2 H	6.39	m	132.86
15, 15'	2 H	6.72	m	130.43
19, 19'	6 H	2.01	s	12.54
20, 20'	6 H	1.97	s	12.63

V5

V6

Das phenolische Carotinoid **31** mit phenolischen Endgruppen in meta-Position zur Polyenkette konnte auf analogem Weg synthetisiert werden. Die spektroskopischen Daten sind bereits von Korger^[17] veröffentlicht worden, der das Carotinoid unter Verwendung von Benzoylschutzgruppen darstellte.

Abb.43: 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **31**

2.3.2 Synthese von BHT-Carotinoid

Butyliertes-Hydroxy-Toluol (BHT) 33 ist ein stark antioxidativer Wirkstoff. Er wird in großen Mengen industriell eingesetzt und verbessert die Stabilitäten von pharmazeutischen und kosmetischen Produkten^[64]. Des Weiteren wird er in Verpackungsmaterialien und als Lebensmittelzusatzstoff E321 in Kaugummis und Frittierfett verwendet. In Frittierfett verhindert er das ranzig werden durch den Luftsauerstoff. Allgemein wird er besonders fetthaltigen Nahrungsmitteln oder Arzneimitteln zugefügt. Dadurch werden übelriechende und gesundheitsschädliche Produkte der Lipidperoxidation vermieden. In einigen Studien wird berichtet, dass sehr hohe Mengen von BHT **33** über einen längeren Zeitraum zu Leberschäden bei Ratten führten^[65]. Im Allgemeinen wird es aber als für den Menschen unbedenklich eingestuft, da die Mengen in den entsprechenden Produkten außerordentlich gering sind und die positiven Eigenschaften überwiegen. Andere Studien kommen zu der Erkenntnis, dass **33** DNS-Mutationen in menschlichen Zellen senkt, die zu Krebs führen können^[66]. Insgesamt ist BHT **33** eines der am Besten untersuchten Antioxidantien.

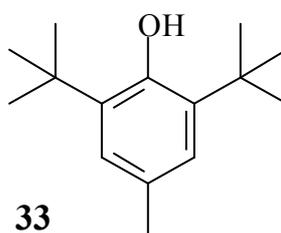


Abb.44: BHT = **Butyliertes Hydroxy Toluol (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) 33**

Die Chemie dieser Verbindung unterscheidet sich ganz erheblich von anderen Phenolen. Durch die beiden *tert*-butyl-Gruppen in ortho-Position zur phenolischen Funktion, ist diese in ihrer Reaktivität stark gehindert. So ist es z. B. nicht möglich die phenolische Hydroxygruppe mittels Williamson-Reaktion in einen Ether zu überführen^[67]. Des Weiteren löst sich die Verbindung nicht in alkalischer Alkohollösung. Es ist aber sehr gut möglich das phenolische Wasserstoffatom mittels Radikalen abzuspalten, da dann ein stark mesomeriestabilisiertes und damit weniger reaktives Radikal **34** entsteht.

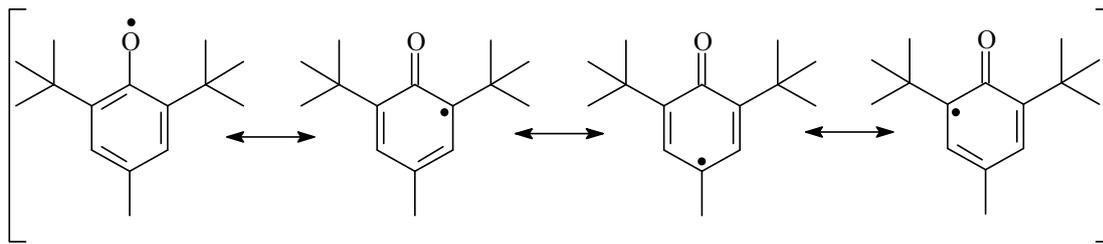


Abb.45: Mesomeriestabilisiertes BHT-Phenoxyradikal **34**

Das Phenoxyradikal **34** kann nun mit einem weiteren Radikal z.B. einem Peroxyradikal unter Addition reagieren. Des Weiteren können zwei Phenoxyradikale **34** dimerisieren, wobei das Gleichgewicht in Lösung auf der Seite der Radikale liegt bzw. irreversibel in BHT **33** und Chinonmethid **35** disproportionieren (Abb.46)^[68].

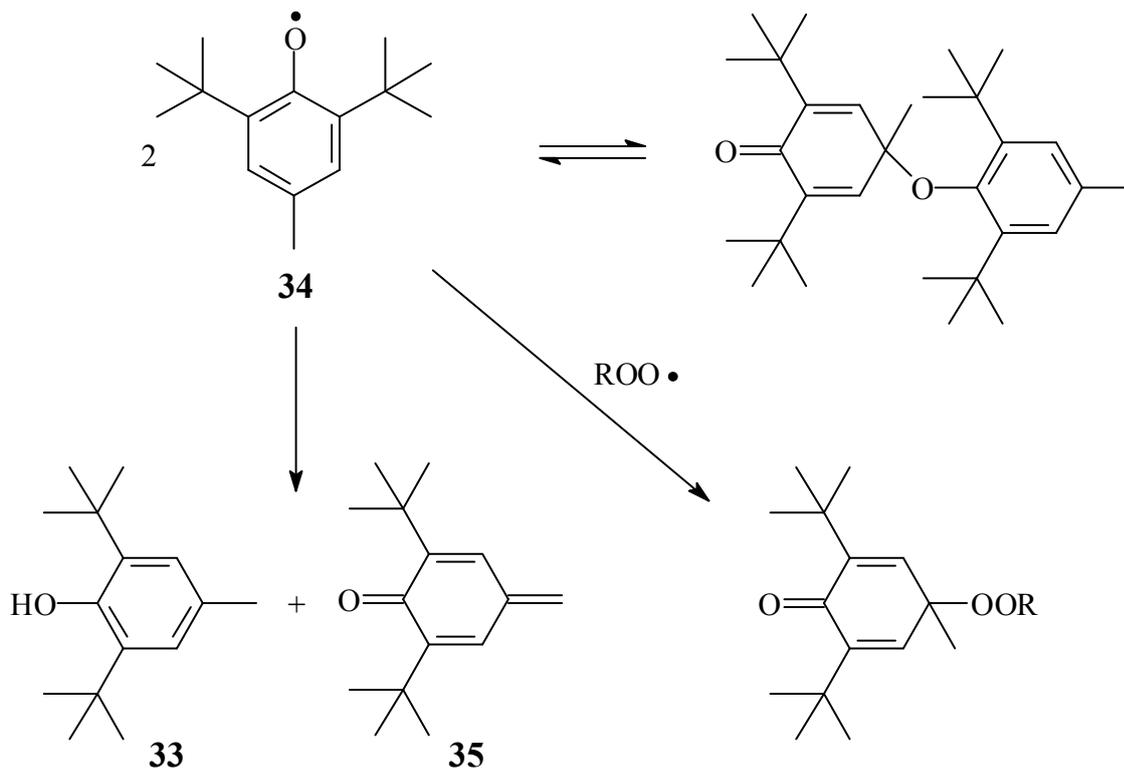


Abb.46: Mögliche Reaktionen des BHT-Phenoxyradikals **34**^[68]

Das Chinonmethid **35** ist instabil und bildet wiederum 1,2-Bis(4-hydroxyphenyl)ethan und 4,4'-Stilbenquinon (nicht abgebildet). Ein Carotinoid **13** mit BHT-Endgruppen ist bei Schmidt beschrieben worden (Abb.47)^[69].

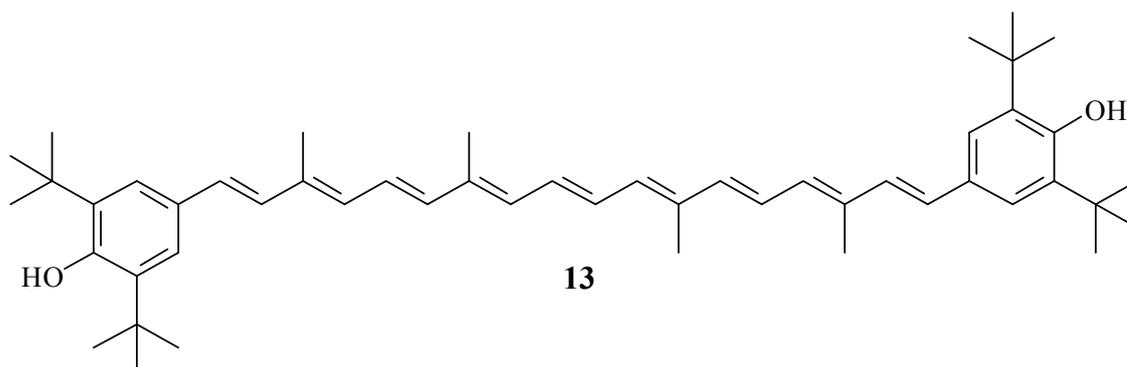


Abb.47: BHT-Carotenoid **13**

In dem von Schmidt entwickelten antioxidativen Assay war **13** deutlich stärker antioxidativ wirksam als natürliche Carotinoide wie Astaxanthin **2** oder Lycopin **4**, welche selbst schon sehr gut wirksame Radikalfänger darstellen. Das Carotenoid **13** ist an der Luft ziemlich oxidationsempfindlich und kann in das in Lösung blaue Chinon **36** übergehen, das wie Rhodoxanthin **3** ein *retro*-Carotenoid darstellt (Abb.48).

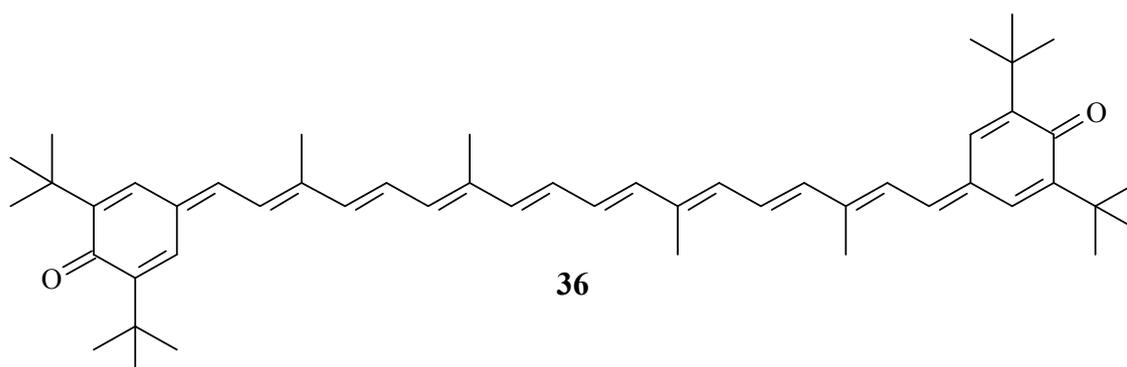


Abb.48: *retro*-BHT-Carotenoid **36**

Frixel hat basierend auf ihren Messungen vermutet^[70], dass diese Form an der antioxidativen Wirkung stark beteiligt sein sollte. Da diese Substanz bisher nicht isoliert wurde, aber außerordentliche Eigenschaften erwarten ließ, wurde die Synthese des BHT-Carotinoids **13** als Vorstufe des *retro*-Carotinoids **36** im Rahmen dieser Arbeit erneut in Angriff genommen. Schmidt hat die Synthese über ein BHT-Derivat mit Benzoylschutzgruppe durchgeführt. Da phenolische Carotinoide, wie im vorherigen Kapitel vorgestellt, auch ohne Schutzgruppen darstellbar sind, wurde dies zunächst auch hier getestet. 4-Hydroxy-3,5-di-*tert*-butyl-benzylalkohol ist günstig erhältlich. Die Umsetzung mit Triphenylphosphonium-bromid in Acetonitril, aus dem das Phosphoniumsalz **37** ($^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR₂₀₂ = 23.7 ppm in DMSO- d_6) ausfällt, verläuft

nahezu quantitativ. Gibt man zu dem Phosphoniumsalz **37** in Tetrahydrofuran langsam *n*-Butyllithium verfärbt sich die Mischung jeweils nur für einige Sekunden rötlich, um sich dann direkt wieder zu entfärben. Zuerst wird die phenolische Hydroxygruppe bei Zugabe von Base abstrahiert, wodurch dann wie spektroskopisch nachweisbar ist, Triphenylphosphin **38** eliminiert wird (Abb.49). Das Phenolat **37** ist durch die *tert*-butyl-Gruppen destabilisiert. Im direkten Vergleich zu dem phenolischen Analogon **28** ohne Alkylgruppen am Aromaten verläuft diese unerwünschte Eliminierung zum Chinonmethid **35** deshalb vermutlich deutlich schneller.

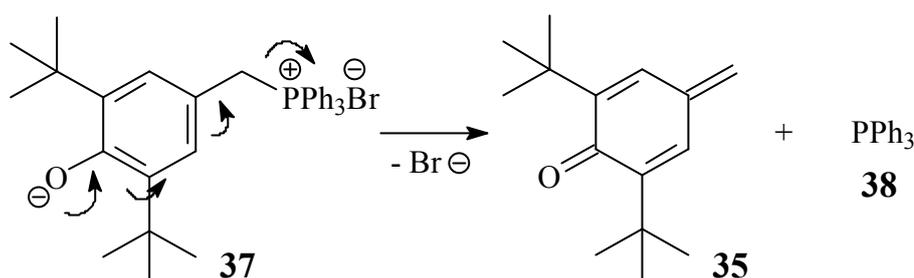
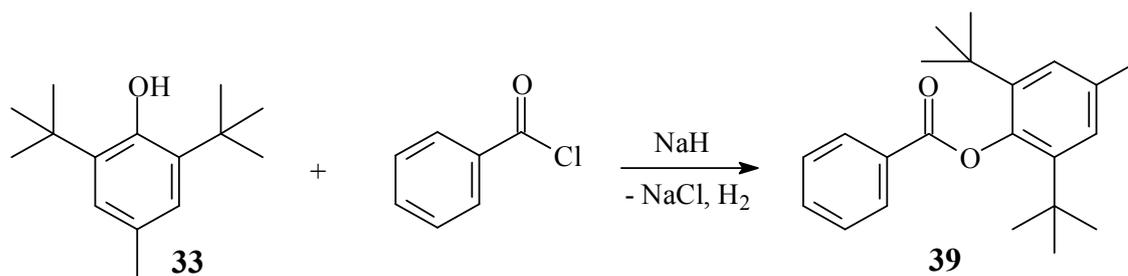


Abb.49: Eliminierung von Triphenylphosphin **38** nach Deprotonierung von **37**

Die nachträgliche Einführung einer passenden Schutzgruppe im Phosphoniumsalz **37** war aufgrund des sterischen Anspruchs der Substituenten wenig erfolgreich. Zwar war es möglich die phenolische Hydroxygruppe Acetyl zu schützen, doch waren die Ausbeuten schlecht reproduzierbar. Dazu wurde das Phosphoniumsalz **37** in Essigsäureanhydrid mit wasserfreiem Natriumacetat zum Rückfluss erhitzt. Das Acetyl geschützte Phosphoniumsalz ($^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{202} = 25.2 \text{ ppm}$ in DMSO-d_6) war für die Wittig-Reaktion mit *n*-Butyllithium als Base sehr gut geeignet, da die *tert*-butyl-Gruppen die Spaltung des Esters unterdrücken.

Die Synthese nach Schmidt geht von BHT **33** aus. Dazu wird das Phenol **33** zuerst mit Natriumhydrid in Tetrahydrofuran zum Rückfluss erhitzt, bis kein Wasserstoff mehr entsteht. Das entstandene Phenolatanion wird anschließend mit Benzoylchlorid zu Benzoesäure-(2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenyl)ester **39** umgesetzt. Die analoge Reaktion mit Pyridin statt Natriumhydrid als Base war nicht erfolgreich, wahrscheinlich aufgrund der oben genannten sterischen Gründe.



V7

Abb.50: Synthese von Benzoessäure-(2,6-di-tert-butyl-4-methylphenyl)ester **39**

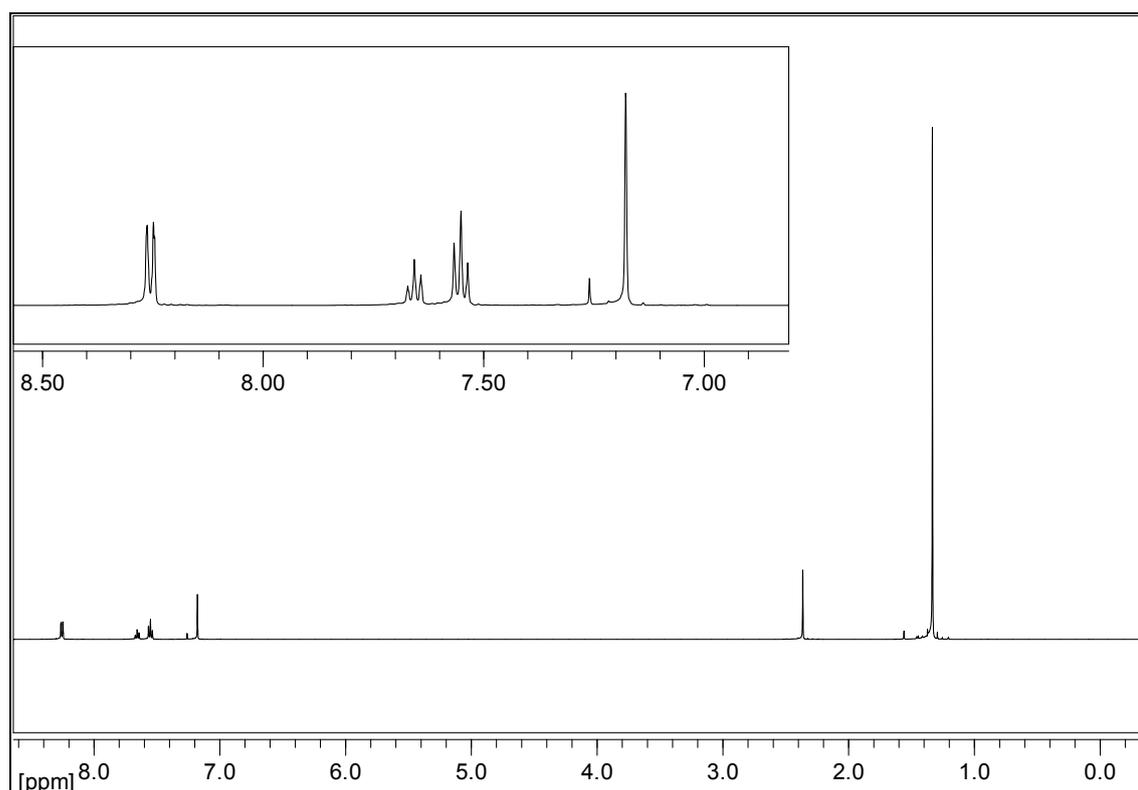
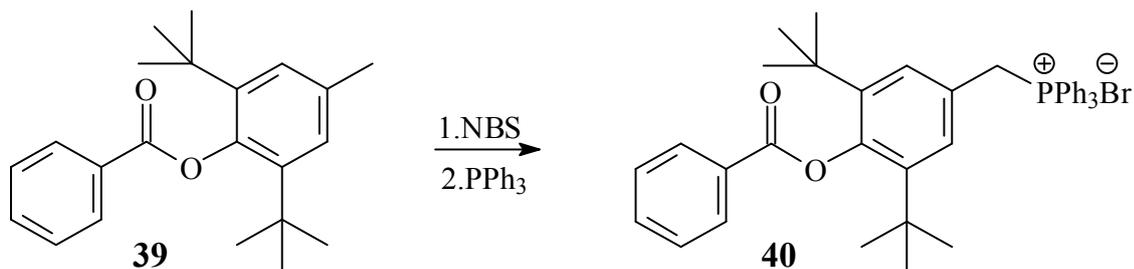
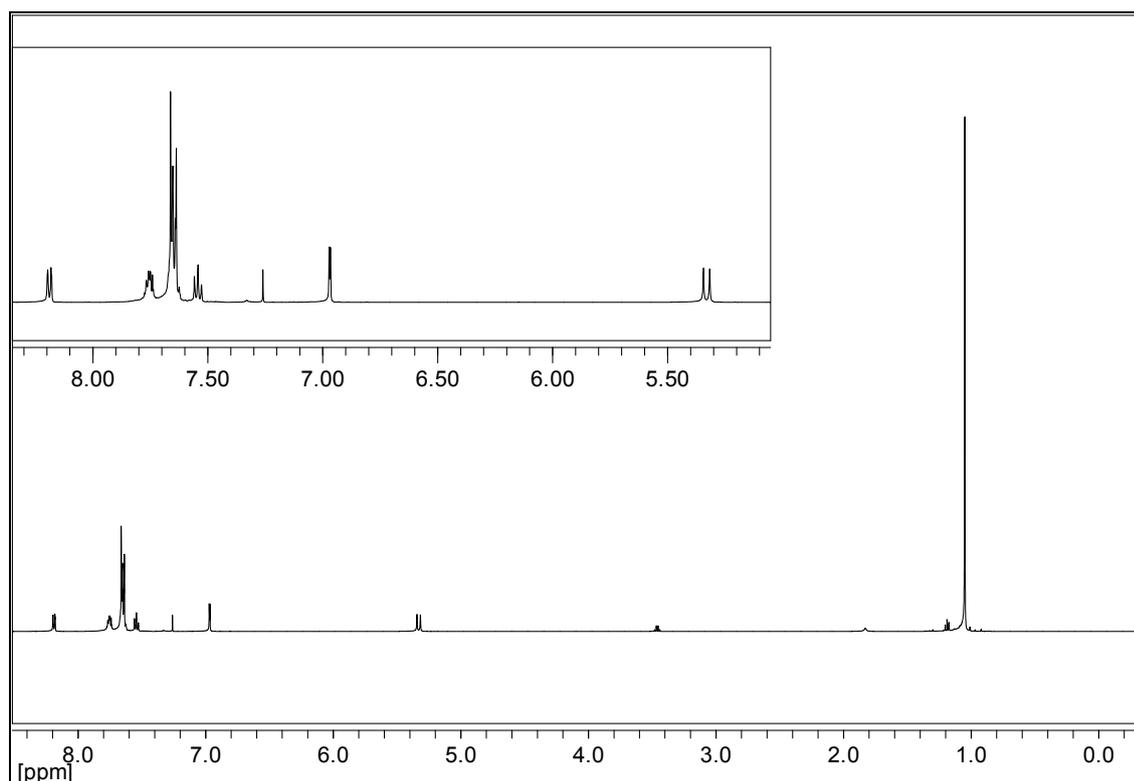


Abb.51: ¹H-NMR₅₀₀-Spektrum (CDCl₃) von Benzoessäure-(2,6-di-tert-butyl-4-methylphenyl)ester **39**

Anschließend wird die Methylgruppe mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) in Tetrachlorkohlenstoff bromiert. Um größtmögliche Ausbeuten zu erzielen ist es nötig, die Mischung gleichzeitig sowohl unter Rückfluss zu erhitzen, als auch mit der UV-Lampe zu bestrahlen. Das entstandene Benzylbromid wird ohne besondere Reinigung direkt mit Triphenylphosphin zum entsprechenden Phosphoniumsalz **40** umgesetzt (Abb.52).

V8

Abb.52: Synthese von (4-Benzoyloxy-3,5-di-tert-butylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **40**Abb.53: $^1\text{H-NMR}_{500}$ -Spektrum (CDCl_3) von (4-Benzoyloxy-3,5-di-tert-butylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **40**

Die Umsetzung des Phosphoniumsalzes **40** mit Crocetininaldehyd **14** wurde bei Schmidt mittels 1,2-Epoxybutan durchgeführt, wobei es erforderlich war 50 h in einem Gemisch mit Dichlormethan zum Rückfluss zu erhitzen^[69]. Alternativ konnte auch mit Natriummethanolat als Base gearbeitet werden, ohne dass die Schutzgruppen verseift wurden. Im Rahmen dieser Arbeit konnten die Reaktionszeiten auf 1 bis 2 h drastisch verkürzt werden. Dazu wird die Reaktion in Tetrahydrofuran bei $-5\text{ }^\circ\text{C}$ mit *n*-Butyllithium durchgeführt. Eine Esterspaltung wird auch dabei nicht beobachtet. Die Synthese des Carotinoids **41** gelingt in 76%iger Ausbeute bezogen auf Crocetininaldehyd **14**.

V9

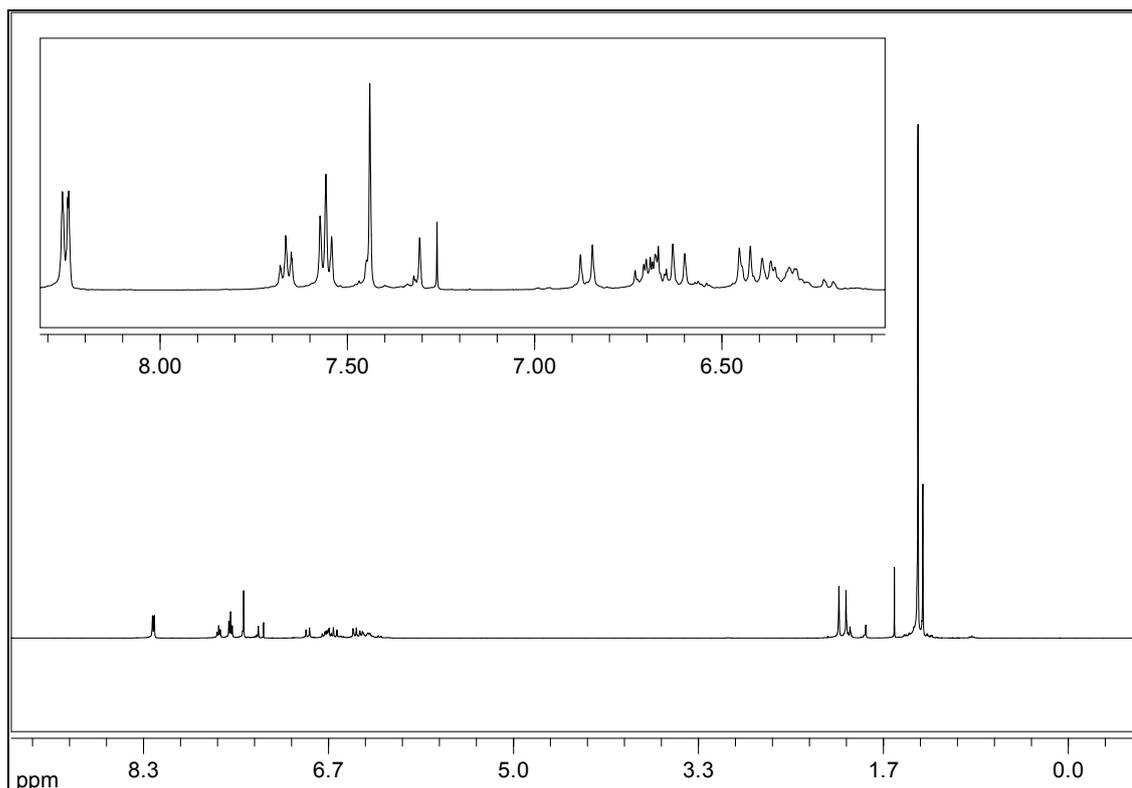


Abb.54: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3) von 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **41**

Die genaue Zuordnung der NMR-Daten erfolgte mit den zweidimensionalen NMR-Experimenten HMQC und HMBC.

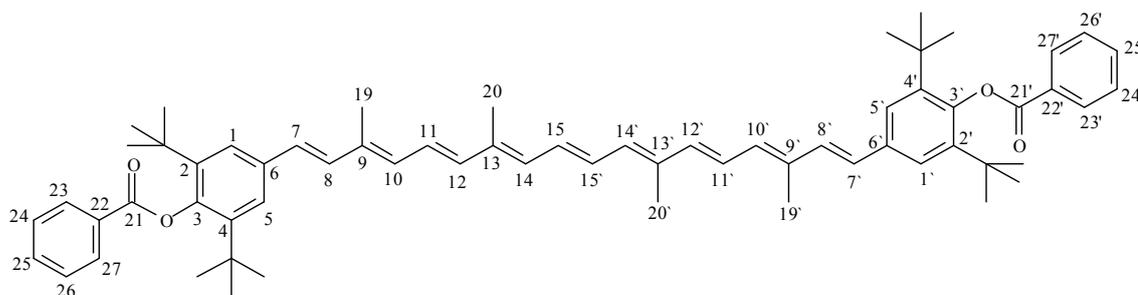


Abb.55: Nummerierung nach Carotinoidnomenklatur^[2] für 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **41**

Tab.3: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **41** in CDCl_3

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1, 1'	2 H	7.44	s	124.39
2, 2'				142.90
3, 3'				147.64
4, 4'				142.90
5, 5'	2 H	7.44	s	124.39
6, 6'				134.76
7, 7'	2 H	6.61	d, 15.9	127.78
8, 8'	2 H	6.86	d, 15.9	133.19
9, 9'				135.69
10, 10'	2 H	6.38	d, 11.4	132.85
11, 11'	2 H	6.71	m	125.08
12, 12'	2 H	6.44	d, 14.6	138.04
13, 13'				136.61
14, 14'	2 H	6.31	m	132.97
15, 15'	2 H	6.67	m	130.25
19, 19'	6 H	2.01	s	12.81
20, 20'	6 H	2.08	s	12.96
21, 21'				166.75
22, 22'				130.49
23, 23'	2 H	8.25	[AB] $_2$ C	130.39
24, 24'	2 H	7.55	[AB] $_2$ C	128.82
25, 25'	2 H	7.67	[AB] $_2$ C	133.45
26, 26'	2 H	7.55	[AB] $_2$ C	128.82
27, 27'	2 H	8.25	[AB] $_2$ C	130.39
C(CH $_3$) $_3$	36 H	1.36	s	31.52
C(CH $_3$) $_3$				35.48

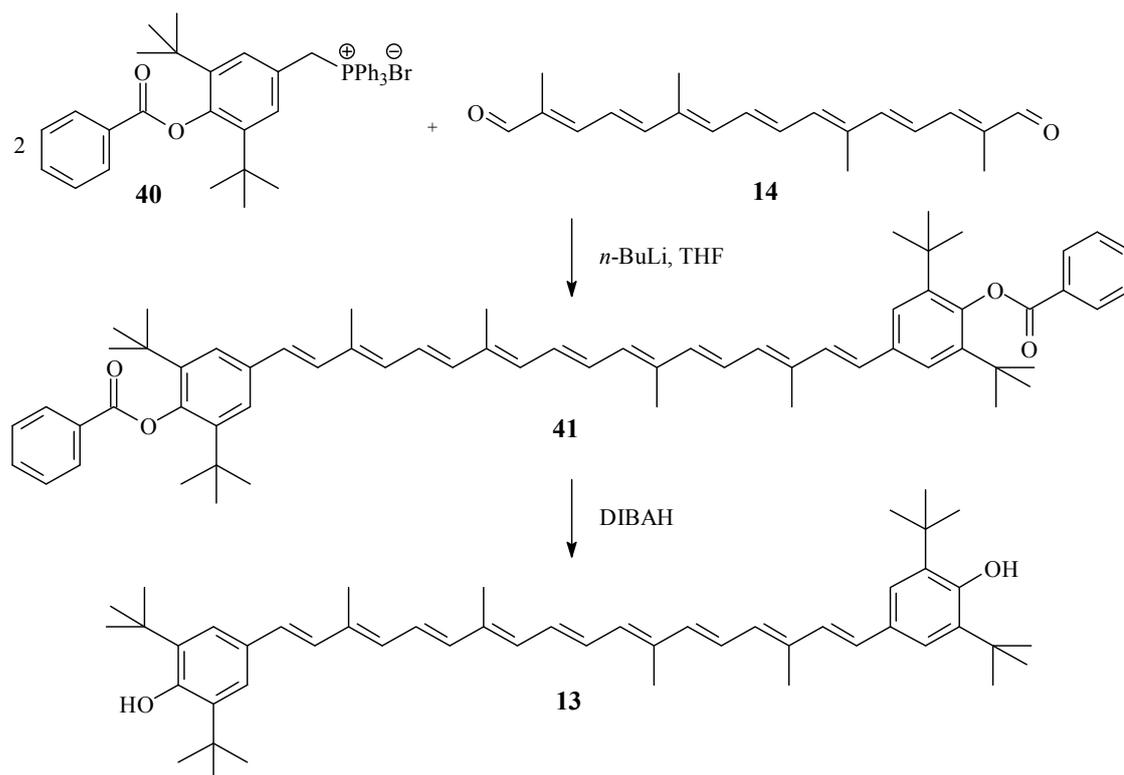


Abb.56: Synthese von BHT-Carotenoid **13**

Das Entfernen der Schutzgruppen gestaltete sich recht schwierig, da der Ester eine große Stabilität gezeigt hat^[69]. Mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH) gelingt die Spaltung unter milden Bedingungen problemlos und die Polyenkette bleibt intakt. Dazu legt man das Carotenoid **41** in trockenem Dichlormethan unter Schutzgas vor. Gibt man das DIBAH im Überschuss hinzu, ist die Reaktion innerhalb 1 h laut HPLC quantitativ abgelaufen. Zur Hydrolyse schüttet man den Ansatz auf Eis und löst die amphoteren Aluminiumverbindungen sorgfältig mit verdünnter Schwefelsäure auf. Man erhält sonst anschließend keine homogenen Phasen bei der Extraktion und verliert an Ausbeute. Nach säulenchromatographischer Aufreinigung erhält man das phenolische BHT-Carotenoid **13** in 89%iger Ausbeute bezogen auf **41**.

V10

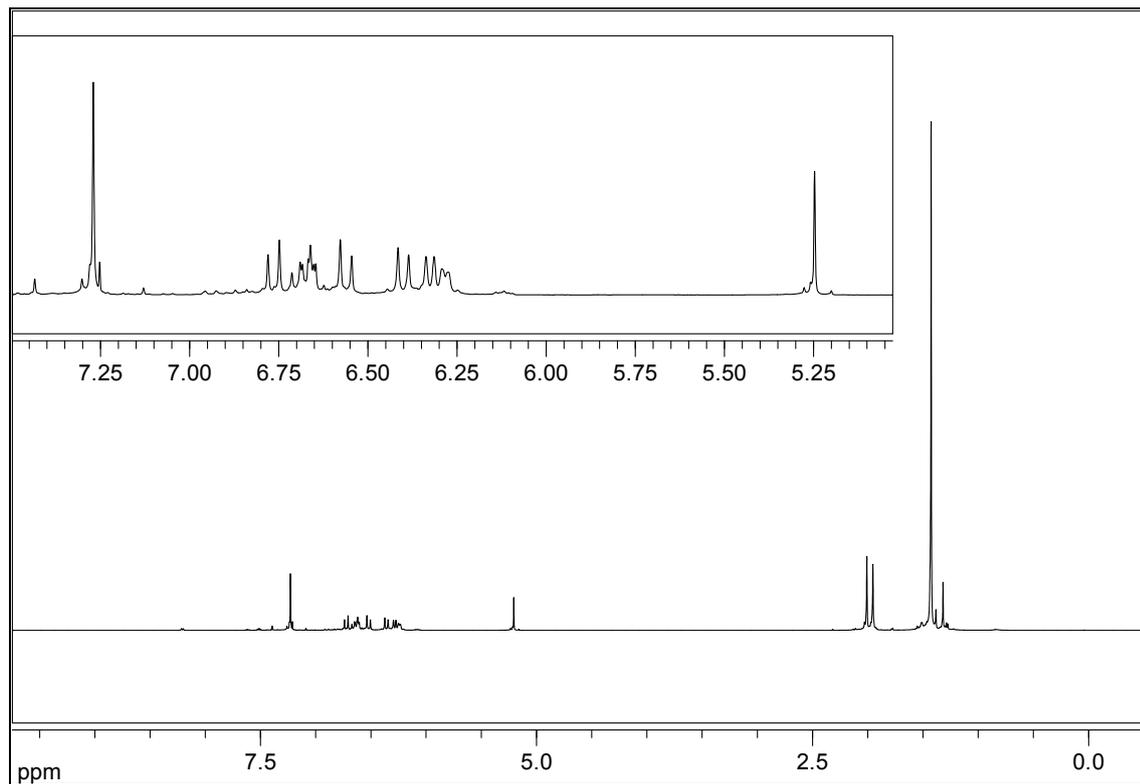


Abb.57: $^1\text{H-NMR}_{500}$ -Spektrum (CDCl_3) von 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **13**

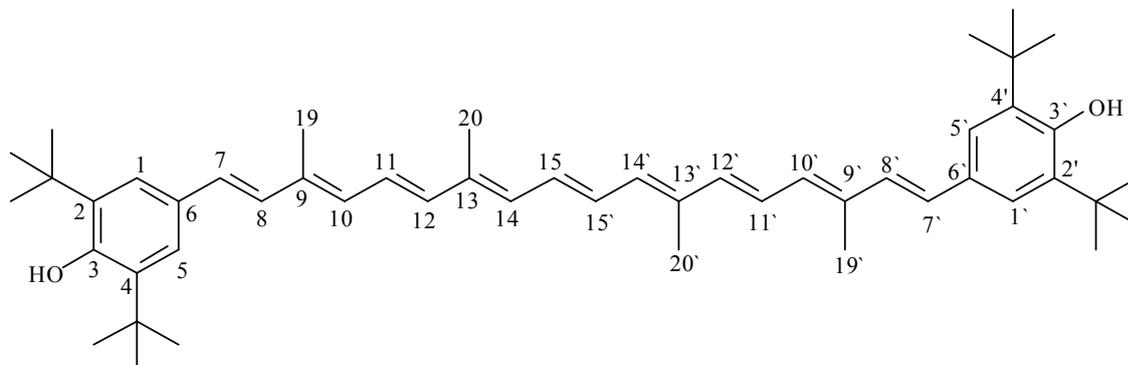


Abb.58: Nummerierung nach Carotinoidnomenklatur^[2] für 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **13**

Tab.4: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **13** in CDCl_3

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1, 1'	2 H	7.27	s	123.24
2, 2'				136.09
3, 3'	2 H	5.25	s	153.69
4, 4'				136.09
5, 5'	2 H	7.27	s	123.24
6, 6'				129.06
7, 7'	2 H	6.56	d, 15.9	128.36
8, 8'	2 H	6.76	d, 15.9	130.95
9, 9'				135.98
10, 10'	2 H	6.33	d, 11.4	131.75
11, 11'	2 H	6.70	m	125.16
12, 12'	2 H	6.40	d, 14.9	137.39
13, 13'				136.55
14, 14'	2 H	6.28	m	132.64
15, 15'	2 H	6.58	m	130.08
19, 19'	6 H	1.99	s	12.80
20, 20'	6 H	2.05	s	12.97
$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	36 H	1.47	s	30.26
$\text{C}(\text{CH}_3)_3$				34.34

Die chemische Verschiebung der phenolischen OH-Gruppe in deuteriertem Chloroform liegt bei 5.25 ppm.

2.3.3 Synthese eines *retro*-Carotinoids mit BHT-Endgruppen

Von den mittlerweile über 700 bekannten natürlichen Carotinoiden gibt es nur wenige mit einer *retro*-Struktur^[71]. Dabei sind die Doppelbindungen in der Polyenkette, im Vergleich zum β -Carotin **1**, um eine Bindung verschoben. Der bekannteste Vertreter ist das Rhodoxanthin **3**.

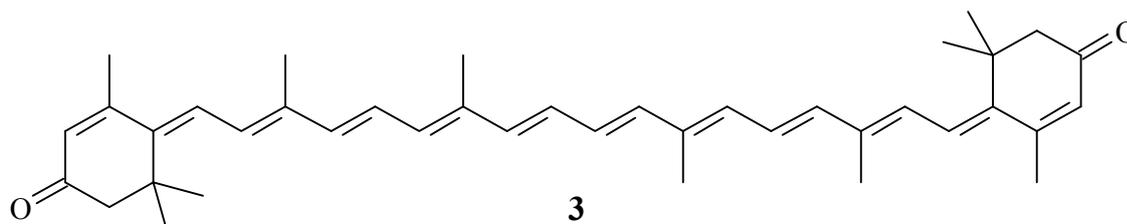


Abb.59: Rhodoxanthin **3**

Dieser Farbstoff kommt in vielen Pflanzen und auch im Gefieder einiger Vögel vor^[72-74]. Durch das ausgedehnte π -System (zwölf C=C-Doppelbindungen in Konjugation mit zwei Carbonylgruppen) absorbiert **3** mit 511 nm (in Chloroform) deutlich bathochromer als z. B. β -Carotin **1** mit elf Doppelbindungen (ca. 465 nm). In Schwefelkohlenstoff erscheint es bläulich rot^[75]. Durch die Ausweitung des Farbspektrums für Carotinoide in Lebensmitteln hatte die Industrie ein gewisses Interesse an der Darstellung dieses Naturstoffes. Trotz beschriebener technischer Synthesen^[76, 77] wurde es aber nie großtechnisch produziert. In bestimmten Pflanzen wird Rhodoxanthin **3** eine große Rolle in der Photoprotektion zugeschrieben^[78, 79]. Durch Oxidation kann das synthetisierte BHT-Carotinoid **13** auch in ein *retro*-Carotinoid **36** mit Ketostruktur übergehen (Abb..60).

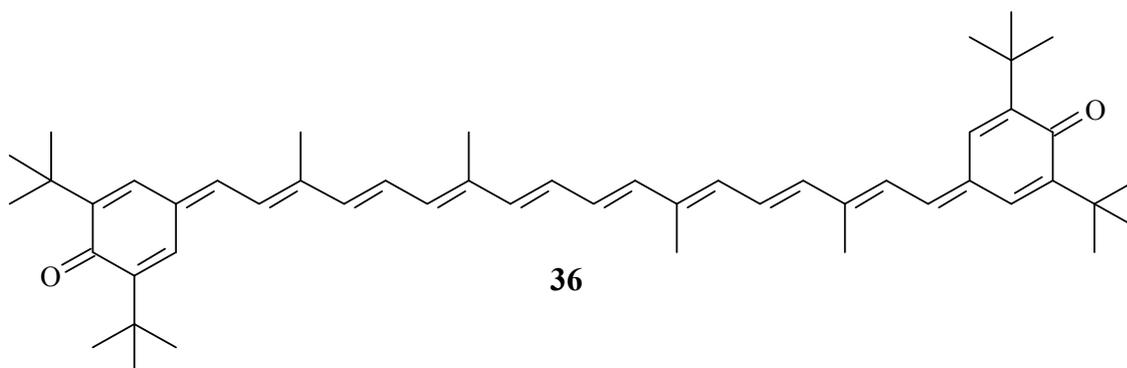


Abb..60: *retro*-Struktur **36** des BHT-Carotinoids **13**

Zur Darstellung von **36** wird das BHT-Carotinoid **13** in Aceton vorgelegt und bei Raumtemperatur mit auf Celite feinverteiltem Silbercarbonat^[80] 1 h gerührt. Das entstandene *retro*-Carotinoid **36** ist in kaltem Aceton schlecht löslich. Es fällt aus und kann zusammen mit dem Oxidationsmittel über eine Fritte abfiltriert werden. Anschließend gibt man Dichlormethan hinzu, um das Produkt aus dem Feststoffgemisch herauszulösen. Nach chromatographischer Reinigung erhält man das BHT-Chinon **36** in sehr guter Ausbeute von 95 % bezogen auf **13**.

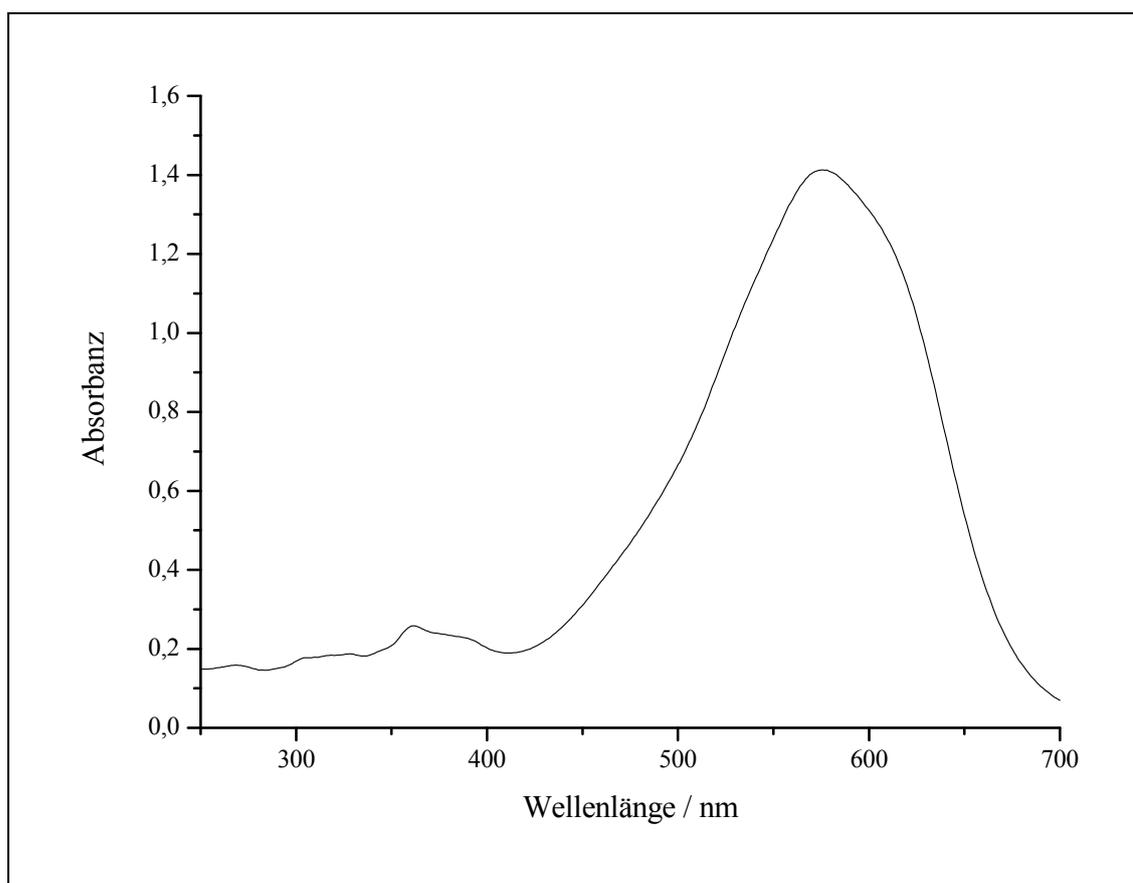


Abb.61: UV/VIS-Spektrum (CH_2Cl_2) von 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **36**

Im Vergleich zum Rhodoxanthin **3** liegen in den cyclischen Endungen jeweils eine Doppelbindung mehr vor. Des Weiteren ist die Verbindung völlig planar. Durch diese beiden Effekte absorbiert das Carotinoid **36** in Chloroform fast 70 nm bathochromer als Rhodoxanthin **3**. Dadurch hat es in diesem Lösemittel eine tiefblaue Farbe. Dies ist für Carotinoide ungewöhnlich, da diese normalerweise ein Farbspektrum von gelb bis orange aufweisen. Durch die Umwandlung vom BHT-Carotinoid **13** zur *retro*-

Struktur **36** kommt es sogar zu einem bathochromen Shift von ca. 107 nm nach 590 nm (3755 cm^{-1} in Chloroform).

Der spektroskopische Nachweis mittels hochaufgelöster Masse gelingt ohne Probleme (siehe auch Kapitel 2.3.9). Im IR-Spektrum zeigt sich eine starke Absorption bei 1606 cm^{-1} , die eine in Konjugation stehende Ketogruppe indiziert.

Die ^1H -NMR- und ^{13}C -NMR-Spektren belegen, dass die *tert*-butyl-Gruppen im Molekül unterschiedlich sind, da sie E bzw. Z zur Polyenkette ausgerichtet sind. Mittels der zweidimensionalen NMR-Methode HMBC kann man alle Wasserstoff- und Kohlenstoffatome im Ring unterscheiden und man erkennt auch, welche Atome benachbart sind. Die Zuordnung der diastereotopen Gruppen gelingt aber erst unter Zuhilfenahme des NOESY-Experimentes (siehe Abb.62, Abb.65 und Abb.66).

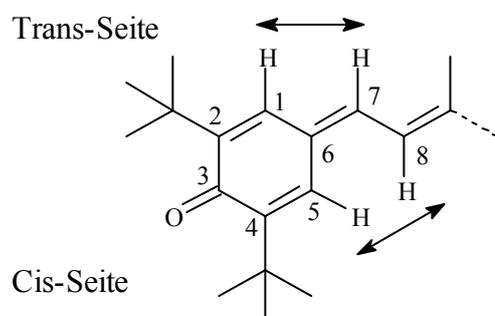


Abb.62: Korrelation im NOESY-Spektrum zwischen 1H und 7H bzw. 5H und 8H

Das 3-C-Atom des BHT-Carotinoids **13** verschiebt sich im ^{13}C -NMR-Spektrum von 153 ppm zu 186 ppm in der oxidierten Form **36** (Abb.64). Dies ist der Ankerpunkt im HMBC-Experiment (Abb.67). Dort sieht man die $^3\text{J}_{\text{HC}}$ -Kopplung dieses Kohlenstoffatoms zu 1-H (6.99 ppm) und 5-H (7.51 ppm), wobei sie dort nicht unterscheidbar sind.

Durch das NOESY-Experiment stellt man fest, dass das Signal bei 7.51 mit 8-H (6.91 ppm) korreliert und damit cis zur Polyenkette stehen muss (Abb.65). Im NOESY-Spektrum ist die Korrelation zwischen 1-H und 5-H mit der jeweiligen *tert*-butyl-Gruppe dargestellt (Abb.66). Diese Information erhält man auch aus dem HMBC-Experiment.

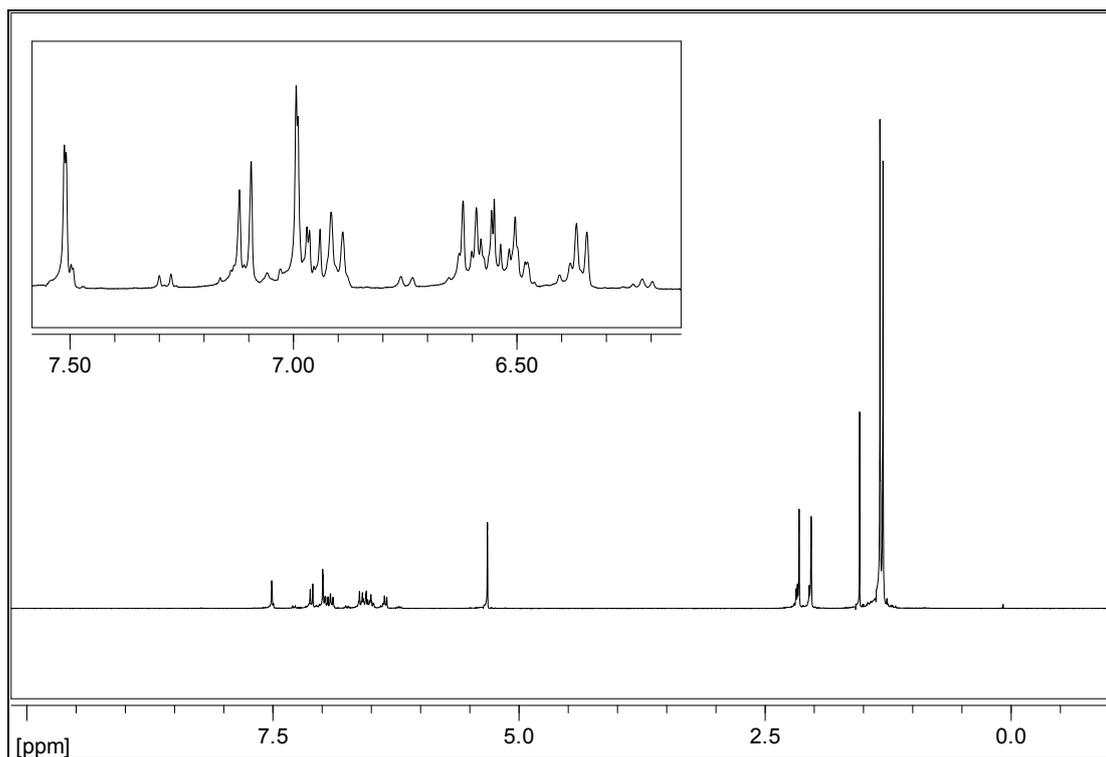


Abb.63: $^1\text{H-NMR}_{500}$ -Spektrum (CD_2Cl_2) von 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **36**

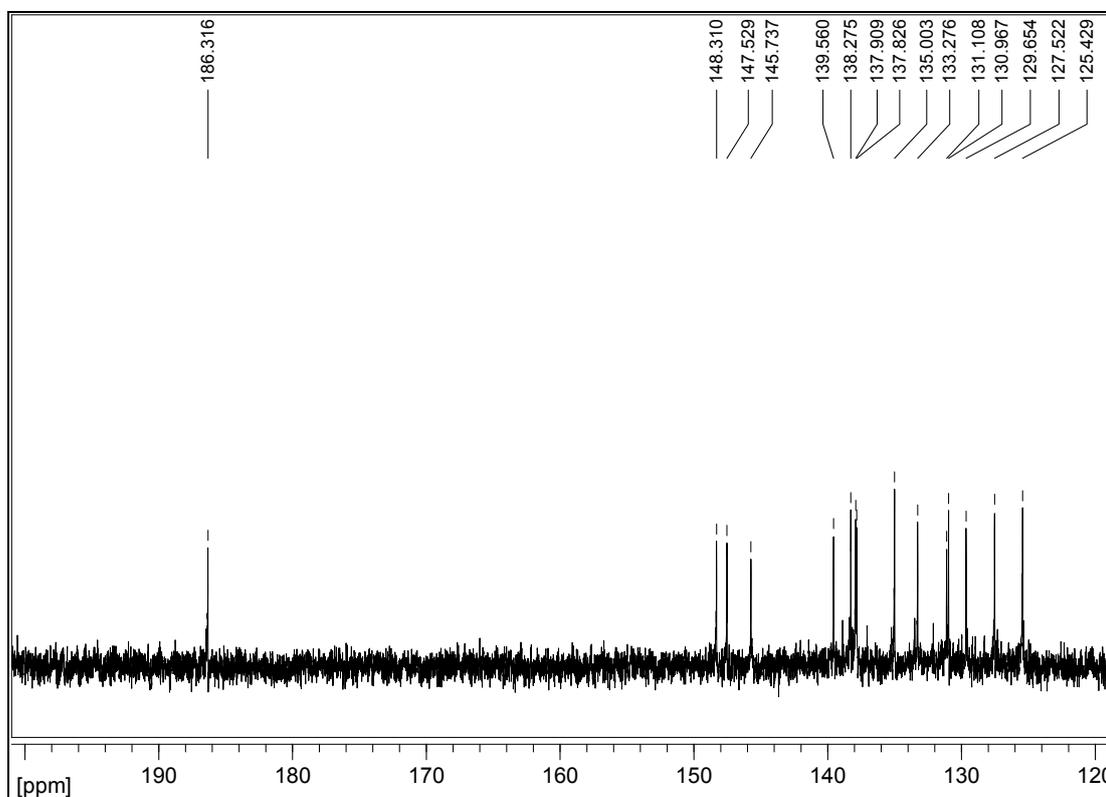


Abb.64: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} -Spektrum (CD_2Cl_2) von **36**, Ausschnitt

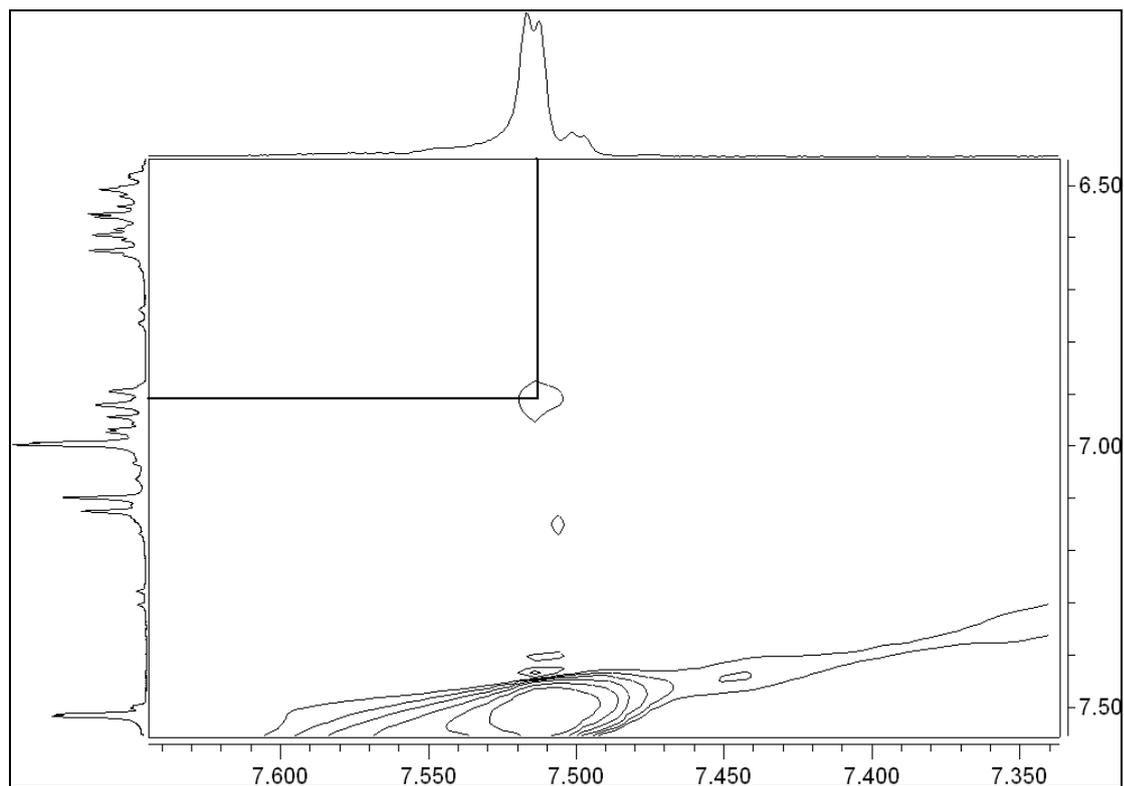


Abb.65: NOESY-Spektrum (CD₂Cl₂) von **36**, Ausschnitt, Korrelation 5 H zu 8 H, Skala jeweils in ppm

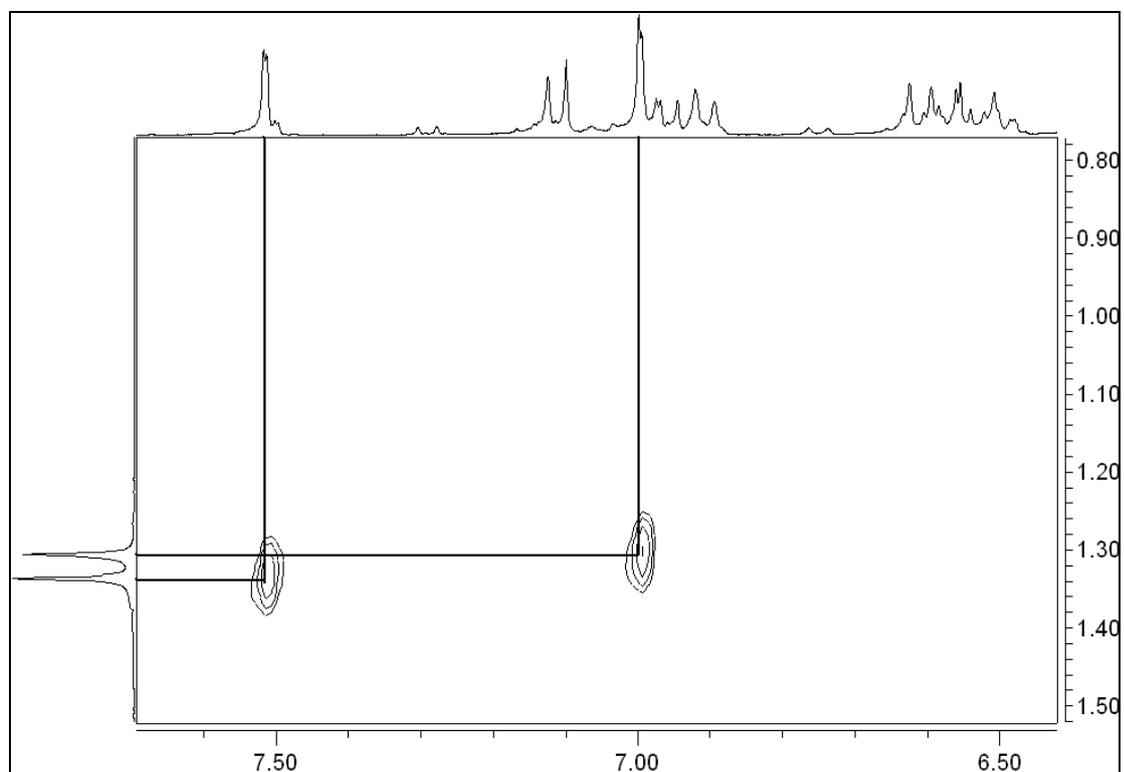


Abb.66: NOESY-Spektrum (CD₂Cl₂) von **36**, Ausschnitt, Korrelation von 1-H (6.99 ppm) mit trans- und 5-H (7.51 ppm) mit cis- tert-butylgruppe, Skala jeweils in ppm

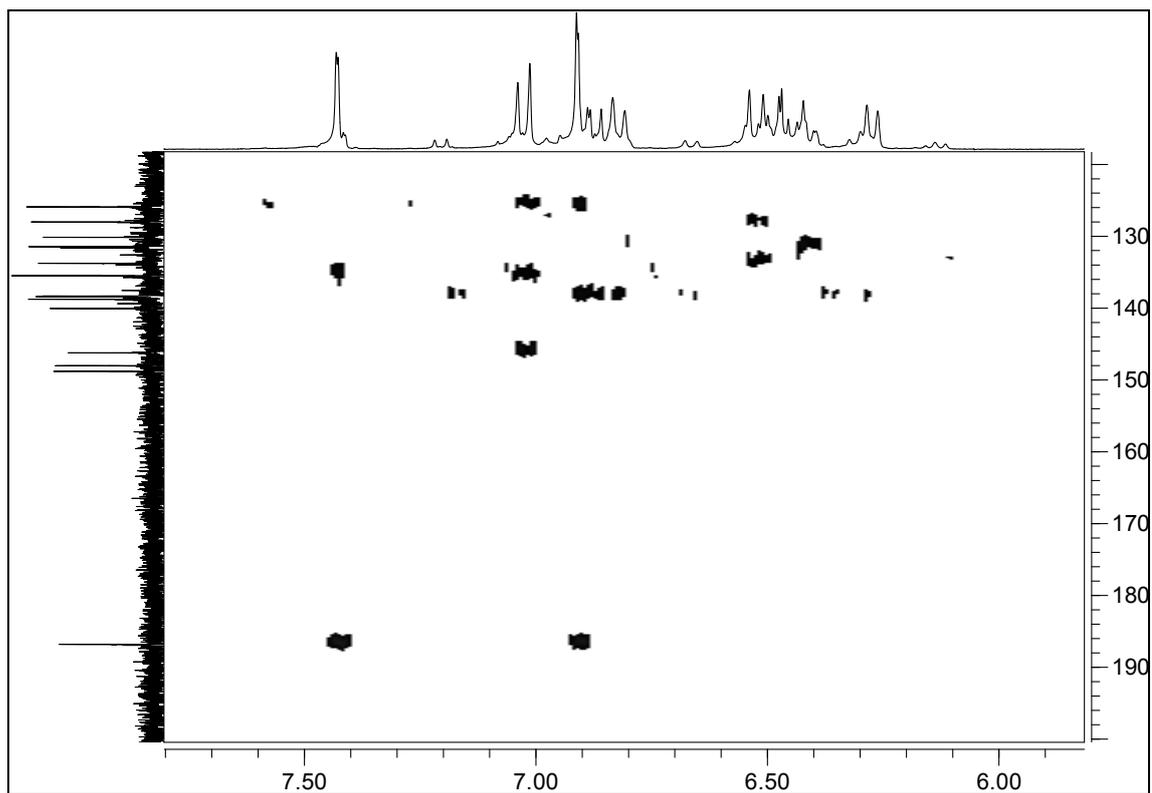


Abb.67: HMBC-Spektrum (CD_2Cl_2) von **36**, Ausschnitt, vertikal ^{13}C , horizontal 1H , Skala jeweils in ppm

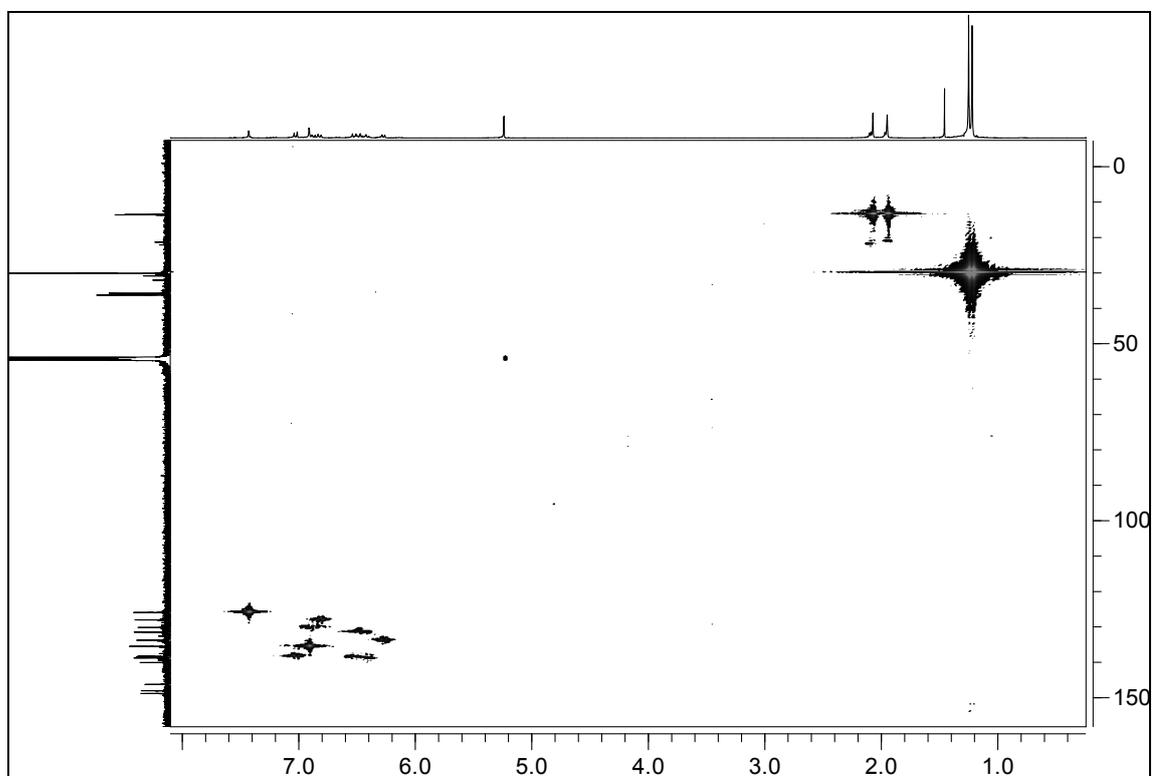


Abb.68: HMQC-Spektrum (CD_2Cl_2) von **36**, Skala jeweils in ppm

2.3 Synthesen

Tab.5: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-retro- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion **36** in CD_2Cl_2

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1, 1'	2 H	6.99	d, 2.0	135.00
2, 2'				148.31
3, 3'				186.32
4, 4'				147.53
5, 5'	2 H	7.51	d, 2.0	125.43
6, 6'				131.11
7, 7'	2 H	7.11	d, 13.0	137.83
8, 8'	2 H	6.91	d, 13.0	127.52
9, 9'				145.74
10, 10'	2 H	6.61	d, 14.9	137.91
11, 11'	2 H	7.00	m	129.65
12, 12'	2 H	6.36	d, 11.7	133.28
13, 13'				139.56
14, 14'	2 H	6.50	m	138.28
15, 15'	2 H	6.57	m	130.97
19, 19'	6 H	2.03	s	13.00
20, 20'	6 H	2.16	s	13.11
$^{\text{cis}}\text{C}(\text{CH}_3)_3$	18 H	1.33	s	29.65
$^{\text{cis}}\text{C}(\text{CH}_3)_3$				35.76
$^{\text{trans}}\text{C}(\text{CH}_3)_3$	18 H	1.30	s	29.58
$^{\text{trans}}\text{C}(\text{CH}_3)_3$				35.26

2.3.4 Synthese von C₃₀-Aldehyd mit Φ -Endgruppe

Zur Synthese von Isorenieratin **12** und 3-Hydroxyisorenieratin **10** ist die Synthesestrategie über die C₁₀+C₂₀+C₁₀-Route sinnvoll, da der C₁₀-Baustein **42** literaturbekannt ist (Abb.69).

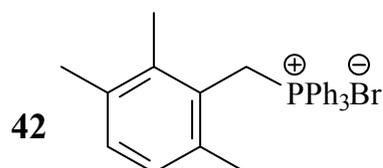


Abb.69: 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42**

Die Synthese wurde bereits veröffentlicht^[62]. Aufgrund des recht ungewöhnlichen Substitutionsmusters am aromatischen Ring ist die beschriebene Darstellung von 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42** langwierig (Abb.70).

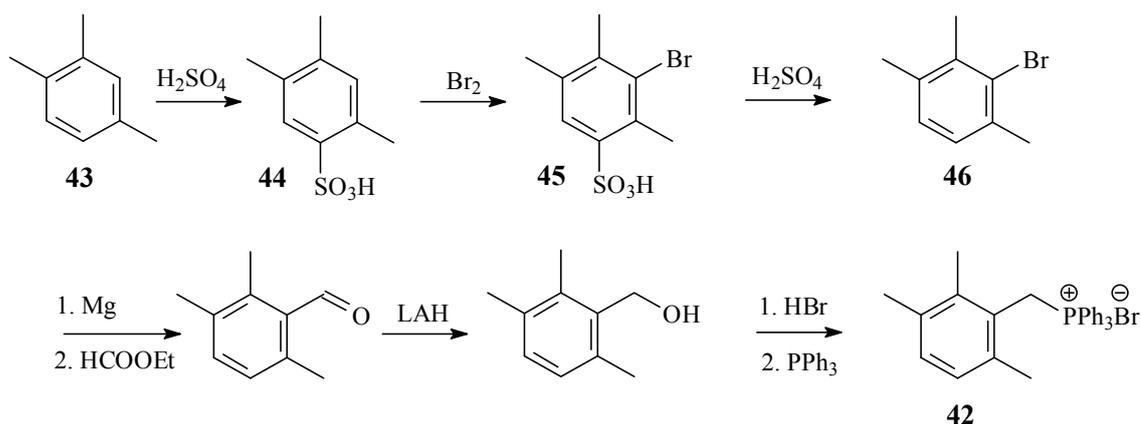


Abb.70: Syntheschema von 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42**

Die direkte Umwandlung von Pseudocumol **43** (1,2,5-Trimethylbenzol) in 3-Brompseudocumol **46** ist nicht möglich, da die 5-Position die reaktivste Stelle im Aromaten für die Bromierung darstellt. Deshalb wird diese Position zuerst durch Sulfonierung mit konzentrierter Schwefelsäure blockiert^[81, 82]. Dazu wird Pseudocumol **43** vorgelegt und vorsichtig Schwefelsäure zuge tropft. Anschließend wird Brom zuge tropft, wobei ein Feststoff ausfällt, der die Rührbarkeit des Ansatzes mit der Zeit erheblich einschränkt. Nach der Hydrolyse mit Wasser erhält man ein Feststoff-Gemisch aus 3-Brompseudocumene-5-sulfonsäure **45** und mehrfach bromierten Derivaten. Das Produkt **45** lässt sich mit heißem Wasser aus dem Gemisch extrahieren,

wobei Nebenprodukte als Feststoffe zurückbleiben. Die wässrige Lösung wird eingengt. Anschließend wird diese vorsichtig zu 180 °C heißer 80%iger Schwefelsäure getropft. Währenddessen wird durch diese Mischung Wasserdampf geleitet. Dabei spaltet sich im Gleichgewicht die Sulfonsäuregruppe ab und das wasserunlösliche 3-Brompseudocumol **46** wird mit dem Wasserdampf überdestilliert. Das Produkt ist dann nahezu analysenrein [$^1\text{H-NMR}_{200}$ (CDCl_3): 2.35 (s, 3 H, CH_3), 2.43 (s, 6 H, $2\cdot\text{CH}_3$), 7.02 (s, 2 H, Ar-H) ppm, **46**]. Diese Methode lieferte aber nur geringe Ausbeuten und war sicherheitstechnisch bedenklich.

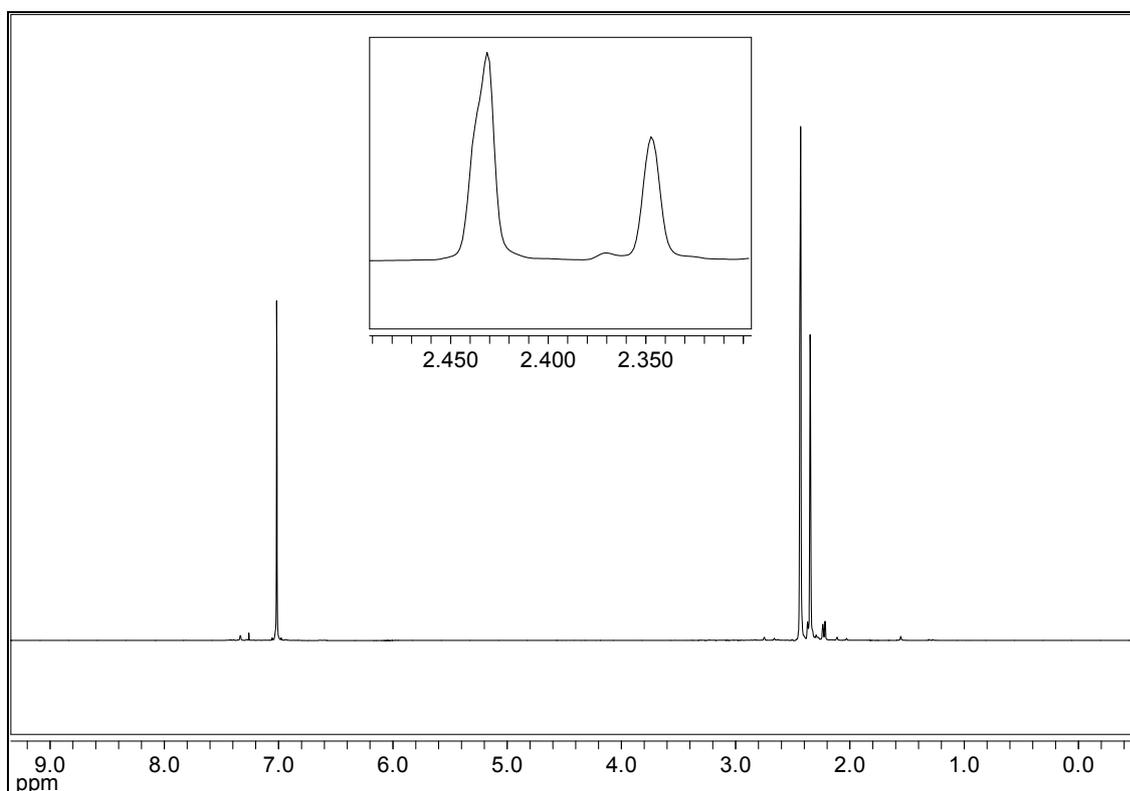


Abb.71: $^1\text{H-NMR}_{200}$ (CDCl_3) von 3-Brompseudocumol **46**

Daher wurde nach Alternativen gesucht, die nach möglichst kurzer Synthesefolge zum Phosphoniumsalz **42** führen würden. Hall et al. beschrieben in einer kurzen Mitteilung ohne detaillierte Versuchsdurchführung, dass man die beiden Benzylbromide **47** und **48** trennen könnte (Abb.72)^[83].

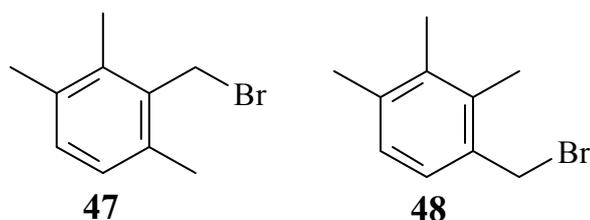


Abb.72: 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** und 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48**

Die Idee ist, dass die funktionelle Gruppe bei 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48** leichter für Reaktionspartner zugänglich ist, da **48** im Gegensatz zu 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** weniger sterisch gehindert vorliegt. Durch Zugabe der sterisch anspruchsvollen Base Triethylamin zu dem Gemisch lässt sich 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48** quantitativ als Ammoniumsalz **49** ausfällen und abtrennen, wobei das gewünschte 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** ohne großen Verlust zurück gewonnen werden kann.

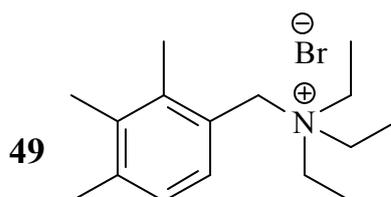


Abb.73: 2,3,4-Trimethylbenzyl(triethyl)ammoniumbromid **49**

Das Benzylbromidgemisch lässt sich aus der Bromierung mit *N*-Bromsuccinimid (NBS) mittels der Wohl-Ziegler-Reaktion darstellen^[82]. Das dafür nötige Edukt Prehnitol (1,2,3,4-Tetramethylbenzol) **50** ist kommerziell erhältlich. Prehnitol **50** wird mit NBS in Tetrachlorkohlenstoff vorgelegt. NBS wird dabei im Unterschub vorgelegt, um eine mehrfache Bromierung zu vermeiden. Als Radikalstarter wird eine Spatelspitze Dibenzoylperoxid zugegeben und die Mischung 1 h refluxiert. Der entstandene Feststoff wird abfiltriert und die Mutterlauge eingengt. Das verbleibene Öl wird fraktioniert destilliert. Man erhält ein Gemisch der beiden Benzylbromide **47** und **48** im Verhältnis 3:2 für das gewünschte Produkt. Eine ältere Literaturstelle erwähnt das 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48** nicht^[84]. Nach der Behandlung mit Triethylamin bei geringer Erwärmung wird das Gemisch in Diethylether suspendiert und der Feststoff abfiltriert. Die Mutterlauge wird mehrmals mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen, um das wasserlösliche Triethylamin zu entfernen. Nach Entfernung des

Lösemittels wird das Benzylbromid **47** ohne weitere Aufreinigung als Rohprodukt erhalten. Das NOESY-Experiment beweist, dass das gewünschte Benzylbromid **47** erhalten wurde^[85]. Hätte man 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48** erhalten, würde man eine Korrelation zwischen den Wasserstoffatomen der Methylengruppe und einem aromatischen Wasserstoffatom erwarten. Da diese ausblieb und man nur eine Korrelation der beiden benachbarten Methylgruppen zum jeweiligen aromatischen Wasserstoffatom sieht, ist wie erwartet 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** erhalten worden. Nach ¹H-NMR und GC-MS beträgt die Reinheit 95 %. Bei der folgenden Umsetzung mit Triphenylphosphin in Diethylether fällt das Phosphoniumsalz **42** kontinuierlich aus. Insgesamt konnte die Synthese im Vergleich zur zuvor beschriebenen stark verkürzt werden.

V12

V13

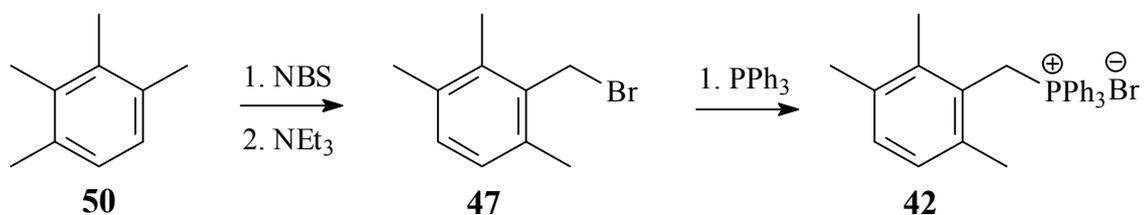


Abb.74: Neue Syntheseroute zu 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42**

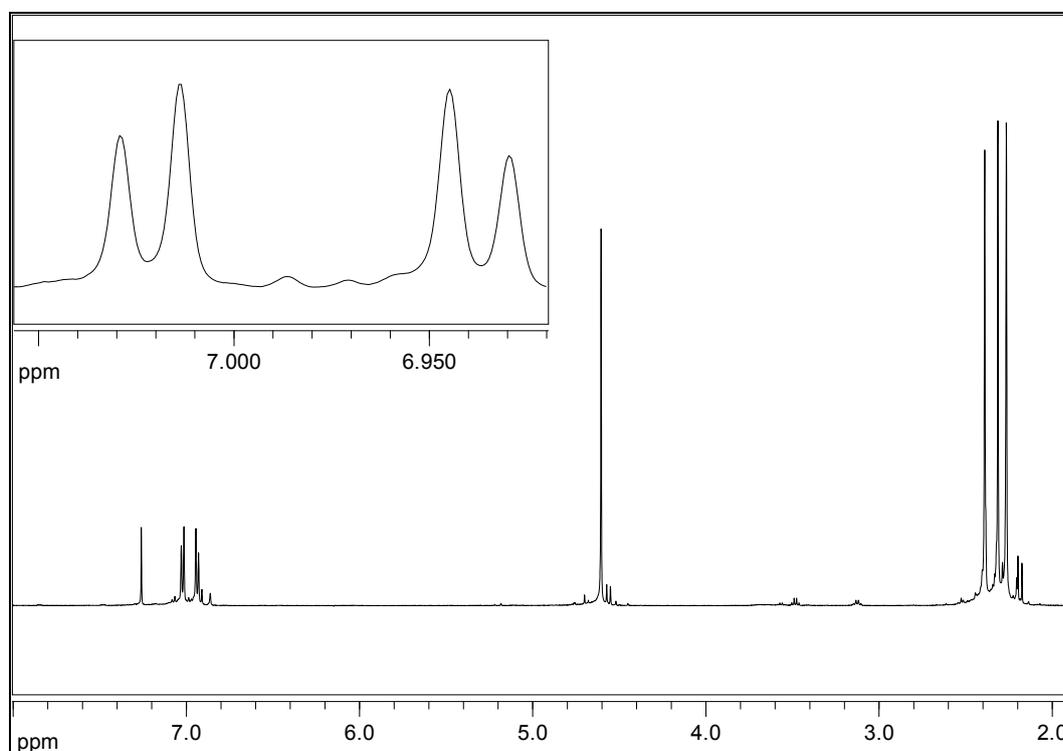


Abb.75: ¹H-NMR₅₀₀ (CDCl₃) von 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47**

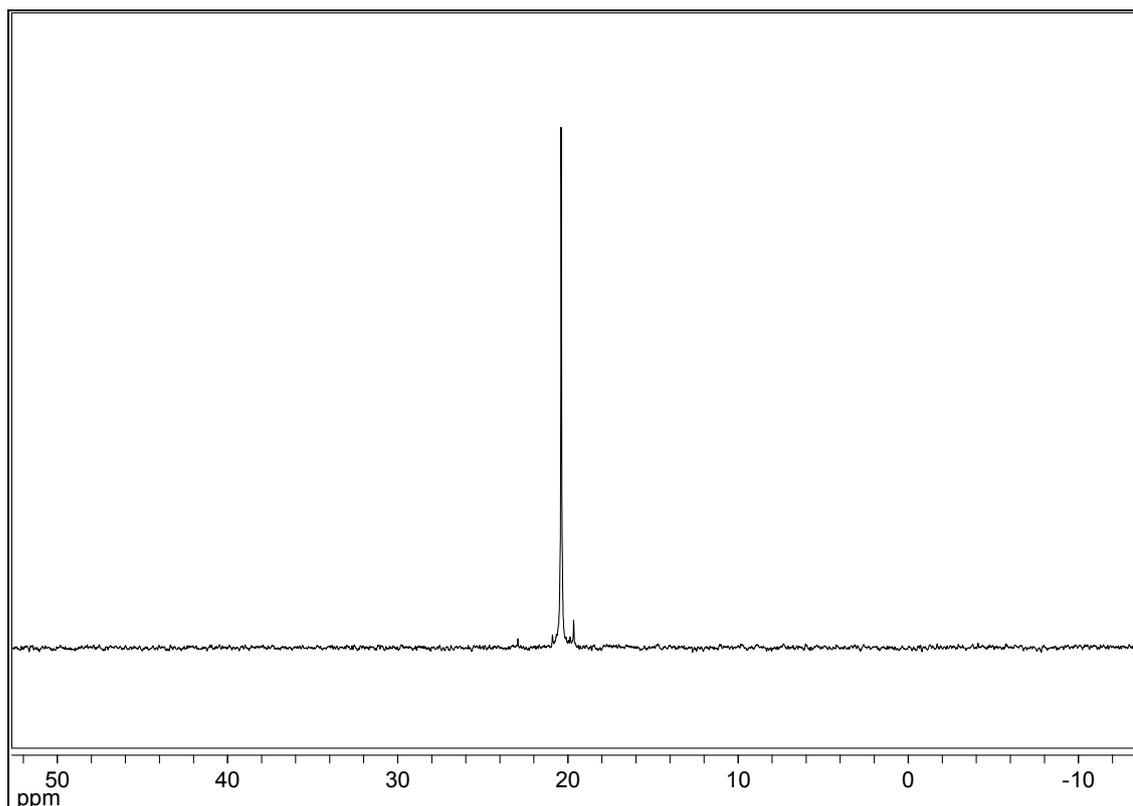


Abb. 76: $^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR₂₀₂ (CDCl_3) von 2,3,6-Trimethylbenzyltriphenylphosphonium-bromid **42**

Auf dem Weg zur Darstellung von 3-Hydroxyisorenieratin **10** wird der C_{30} -Aldehyd (1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al) **51** mit Φ -Endgruppe benötigt. Der bekannteste Vertreter von C_{30} -Aldehyden trägt die β -Endgruppe^[86]. Die Synthese des C_{30} -Aldehyds mit χ -Endgruppe ist beschrieben worden^[87].

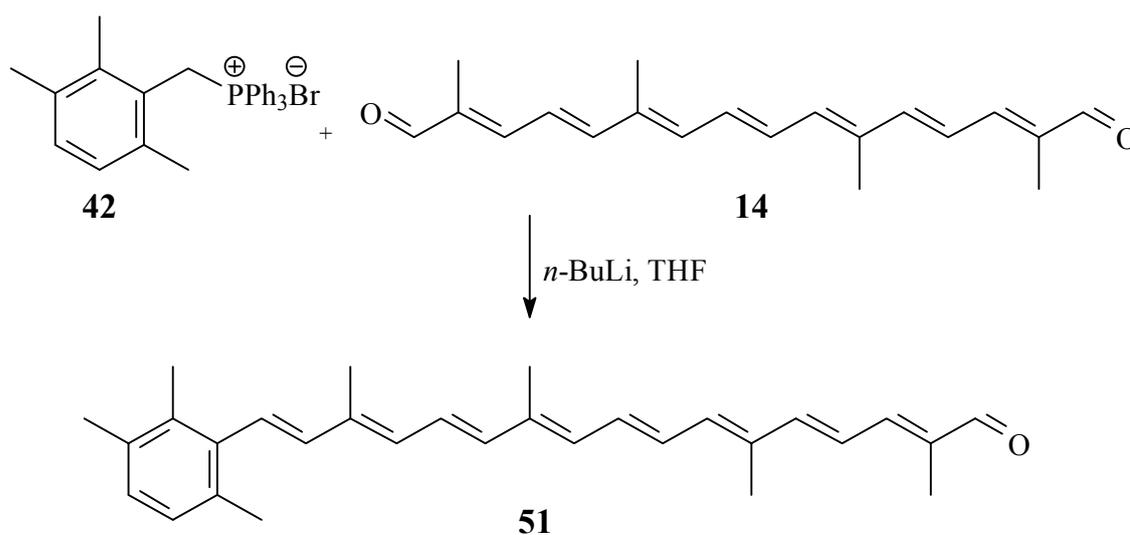


Abb. 77: Synthese von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al (C_{30} -Aldehyd) **51**

Das Phosphoniumbromid **42** wird mit *n*-Butyllithium in Tetrahydrofuran deprotoniert. Anschließend wird die leicht rötliche Suspension in eine Lösung von Crocetindialdehyd **18** in Dichlormethan getropft. Durch diese Vorgehensweise und einem stöchiometrischem Einsatz von Crocetindialdehyd **14** und Phosphoniumsalz **42** im Verhältnis 1:1 soll möglichst wenig beidseitig gekoppelter Aldehyd, d. h. Isorenieratin **12**, entstehen. Nach der Hydrolyse und säulenchromatographischer Aufarbeitung erhält man den C₃₀-Aldehyd **51** und Isorenieratin **12** zu etwa gleichen Anteilen (jeweils ca. 20 %). Die nachfolgenden NMR-Zuordnungen erfolgten mit HMQC, HMBC und im Vergleich mit NMR-Daten von strukturverwandten C₃₀-Aldehyden^[88-90].

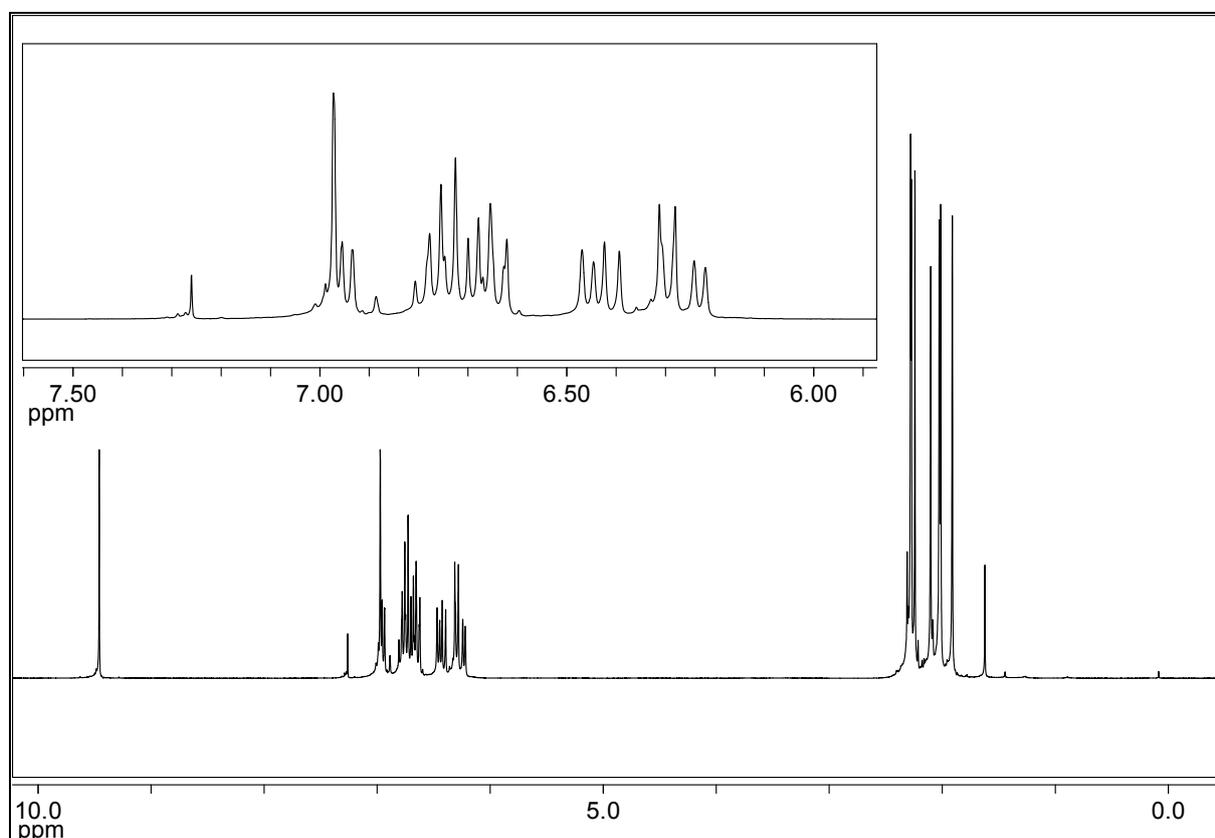


Abb.78: ¹H-NMR₅₀₀ (CDCl₃) von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo-Φ-carotin-8'-al **51**

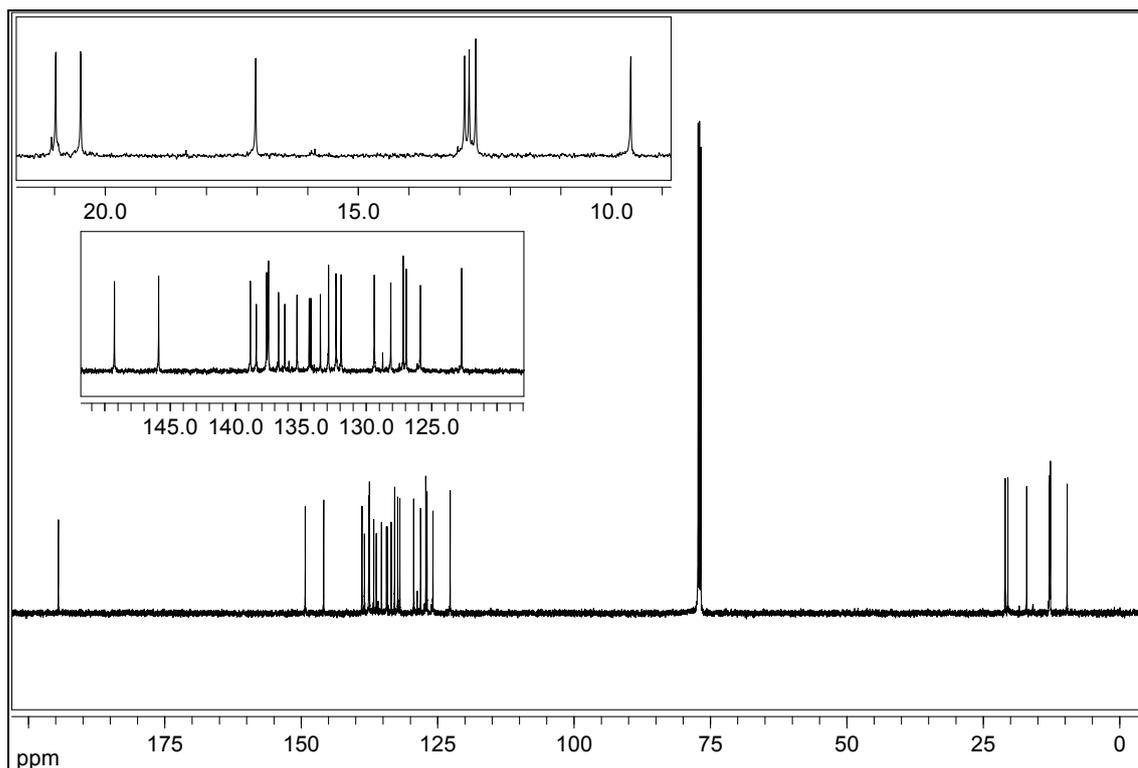


Abb.79: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl_3) von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51**

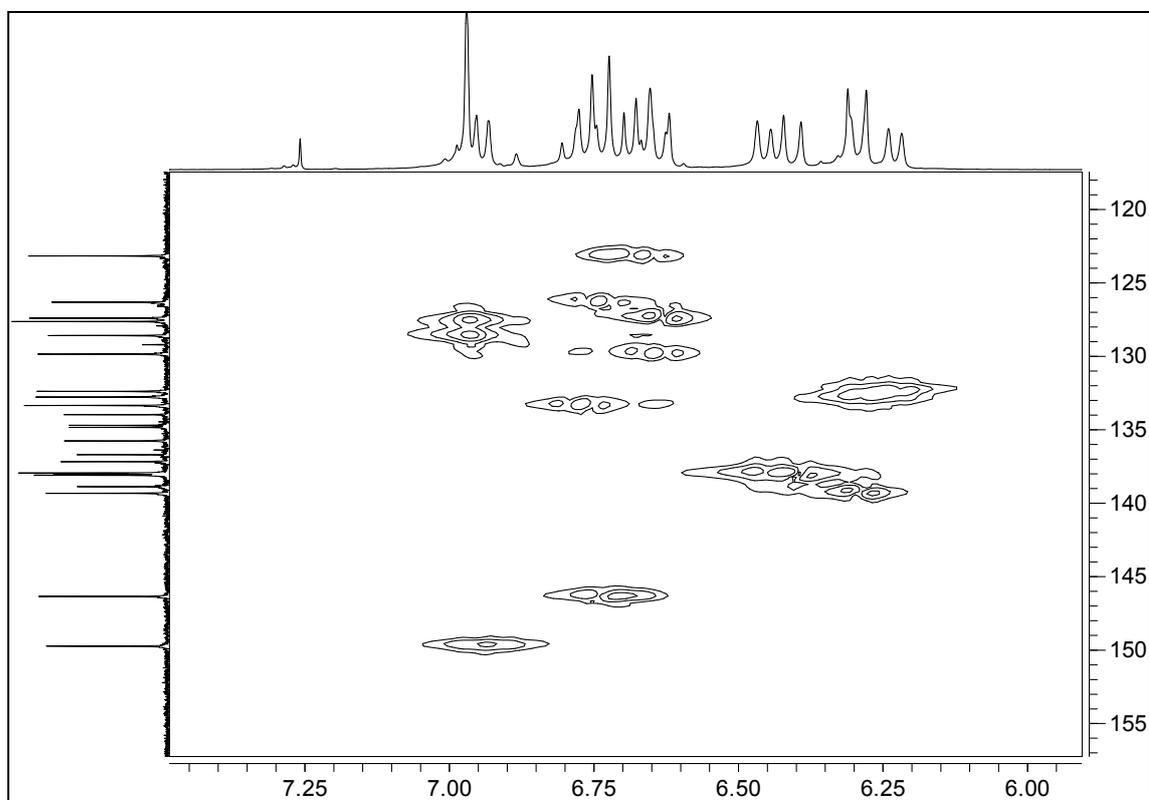
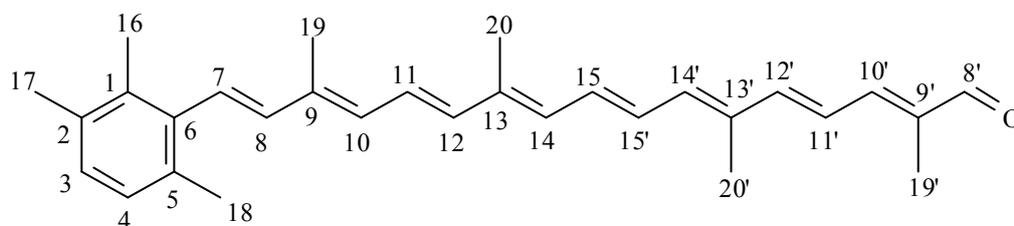


Abb.80: HMQC (CDCl_3) von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51**, Ausschnitt, Skalen jeweils in ppm

Tab.6: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{125}$ -Daten für 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51** in CDCl_3

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1				134.23
2				134.37
3	1 H	6.97	s	128.12
4	1 H	6.97	s	127.10
5				133.51
6				137.53
7	1 H	6.63	m	126.93
8	1 H	6.28	m	138.86
9				136.70
10	1 H	6.23	d, 11.4	131.92
11	1 H	6.75	m	125.85
12	1 H	6.41	d, 15.0	137.63
13				138.40
14	1 H	6.29	m	132.31
15	1 H	6.77	m	132.88
15'	1 H	6.65	m	129.38
14'	1 H	6.46	d, 11.6	137.48
13'				135.29
12'	1 H	6.72	m	145.88
11'	1 H	6.73	m	122.69
10'	1 H	6.95	d, 10.8	149.26
9'				136.23
8'	1 H	9.46	s	194.50
16	3 H	2.24	s	17.03
17	3 H	2.28	s	20.48
18	3 H	2.28	s	20.98
19	3 H	2.11	s	12.68
20	3 H	2.02	s	12.90
19'	3 H	1.91	s	9.62
20'	3 H	2.03	s	12.81

Abb.81: Nummerierung von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51** nach IUPAC^[2]

2.3.5 Darstellung von Isorenieratin

Für Isorenieratin **12** sind seit den ersten Totalsynthesen von Yamaguchi 1959 bzw. von Karrer et al. 1960 einige Darstellungen veröffentlicht worden^[31, 32]. Eine C₂₀+C₂₀ Synthesevariante nutzt nicht die Wittig-Reaktion als letzten Kopplungsschritt, sondern die McMurry-Reaktion über zwei Retinalderivate **58** (Abb.82)^[91-94].

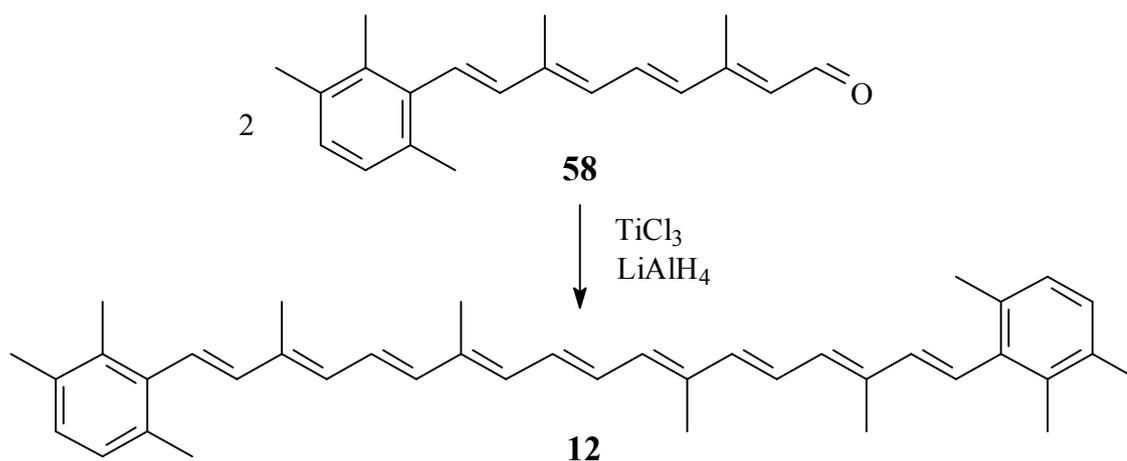


Abb.82: Synthese von Isorenieratin **12** mit der McMurry-Reaktion

Die Ausbeute dieser Kopplung ist mit 85 % gut, aber letztendlich sind sehr viele Stufen bis zum C₂₀-Baustein **58** nötig. Sehr viel einfacher, d. h. weniger Stufen und mit 90 % Ausbeute in der letzten Stufe erfolgreicher, ist die C₁₀+C₂₀+C₁₀-Variante (Abb.83). Als Basen sind *n*-Butyllithium und Natriumhydrid verwendet worden^[62, 95].

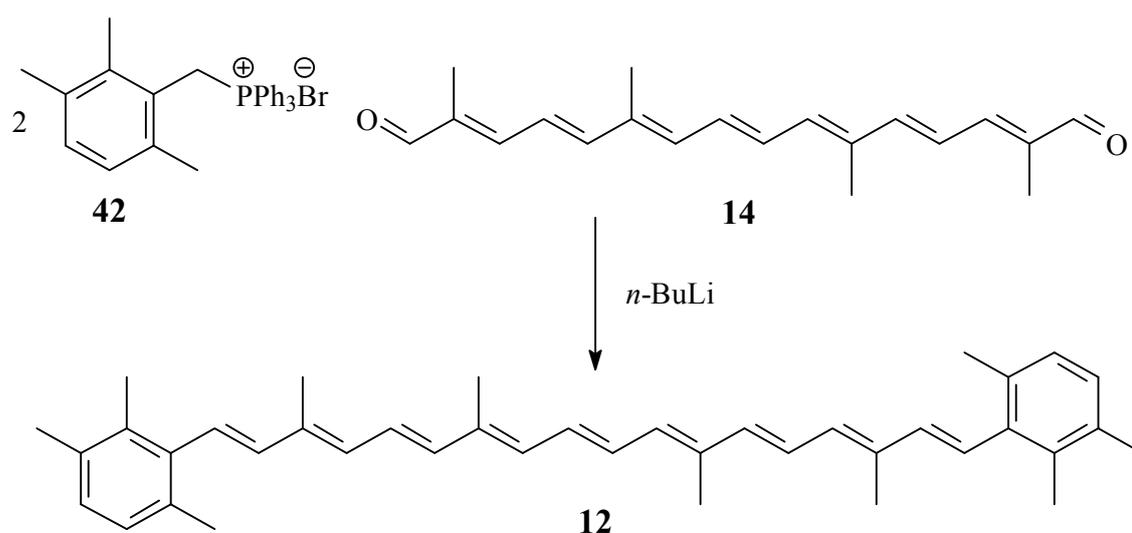


Abb.83: Synthese von Isorenieratin **12** nach der C₁₀+C₂₀+C₁₀-Variante

Suzuki et al. haben 1998 einen eleganten Weg beschrieben, durch den auch die $C_{15}+C_{10}+C_{15}$ -Route zur Synthese von Isorenieratin **12** attraktiv wird. Der C_{13} -Baustein **59**, aus dem leicht der entsprechende C_{15} -Baustein dargestellt werden kann, ist in nur zwei Stufen ausgehend von 2,3,6-Trimethylphenol **60** erhältlich. Ausgehend von Pseudocumol **43** waren dafür zuvor fünf Stufen nötig, die zudem teilweise unsichere Ausbeuten lieferten (z. B. bei der Synthese von 3-Brompseudocumol **46**, siehe auch Kapitel 2.3.4). Nach der Umfunktionalisierung der phenolischen Gruppe von **60** zum Triflat **61**, kann **61** anschließend mittels Heckreaktion zum C_{13} -Baustein **59** kettenverlängert werden^[96].

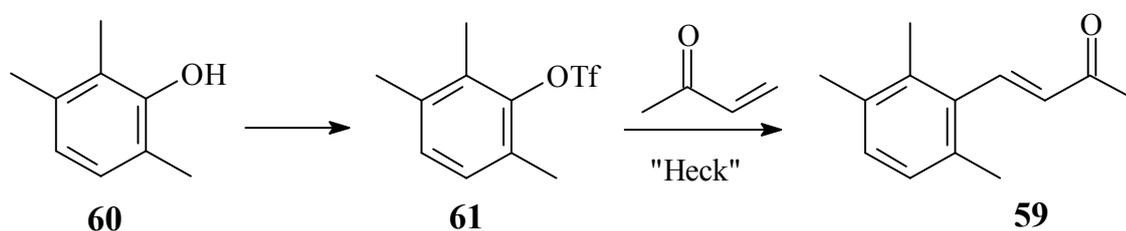


Abb.84: Synthese des C_{13} -Bausteins **59**

Im Rahmen dieser Arbeit fiel Isorenieratin **12** als „Nebenprodukt“ der Synthese von C_{30} -Aldehyd **51** (siehe Kapitel 2.3.4) an. Dabei wurden für antioxidative Messungen ausreichende Mengen isoliert. Die NMR-Daten für **12** sind 2004 ausführlich beschrieben worden^[95] und auch im Experimentaltail zu finden.

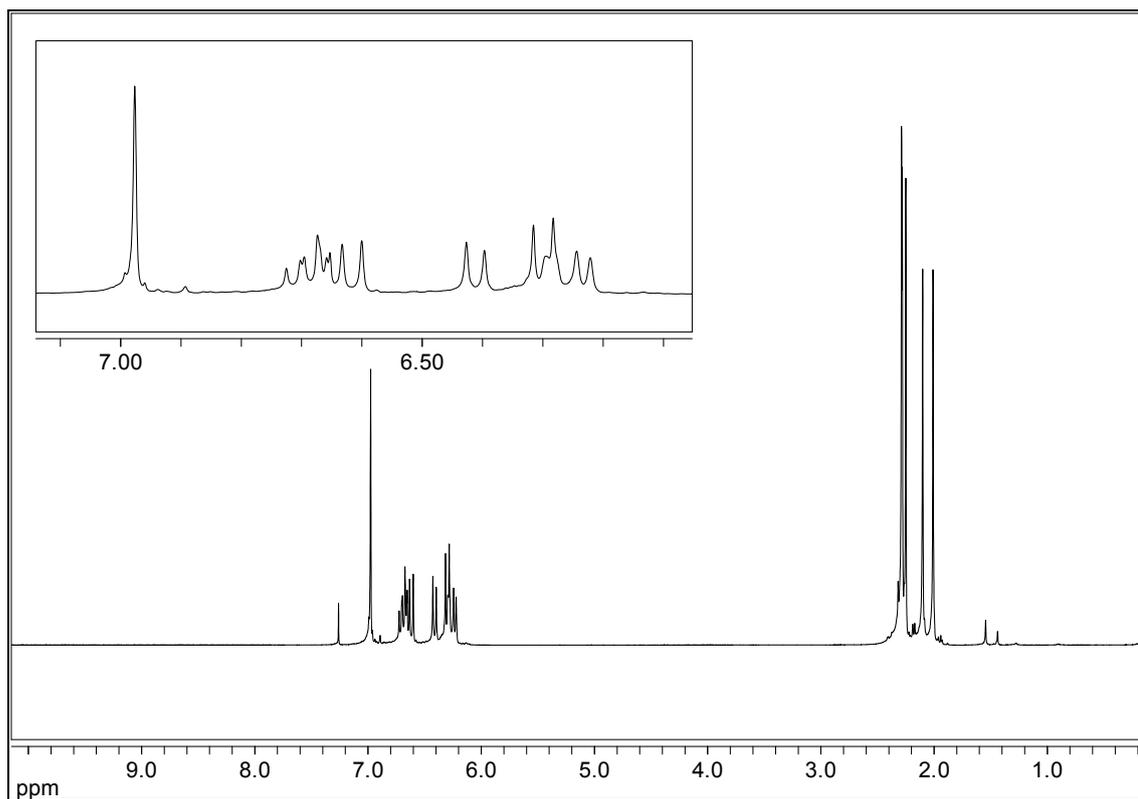


Abb.85: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3) von Isorenieratin 12

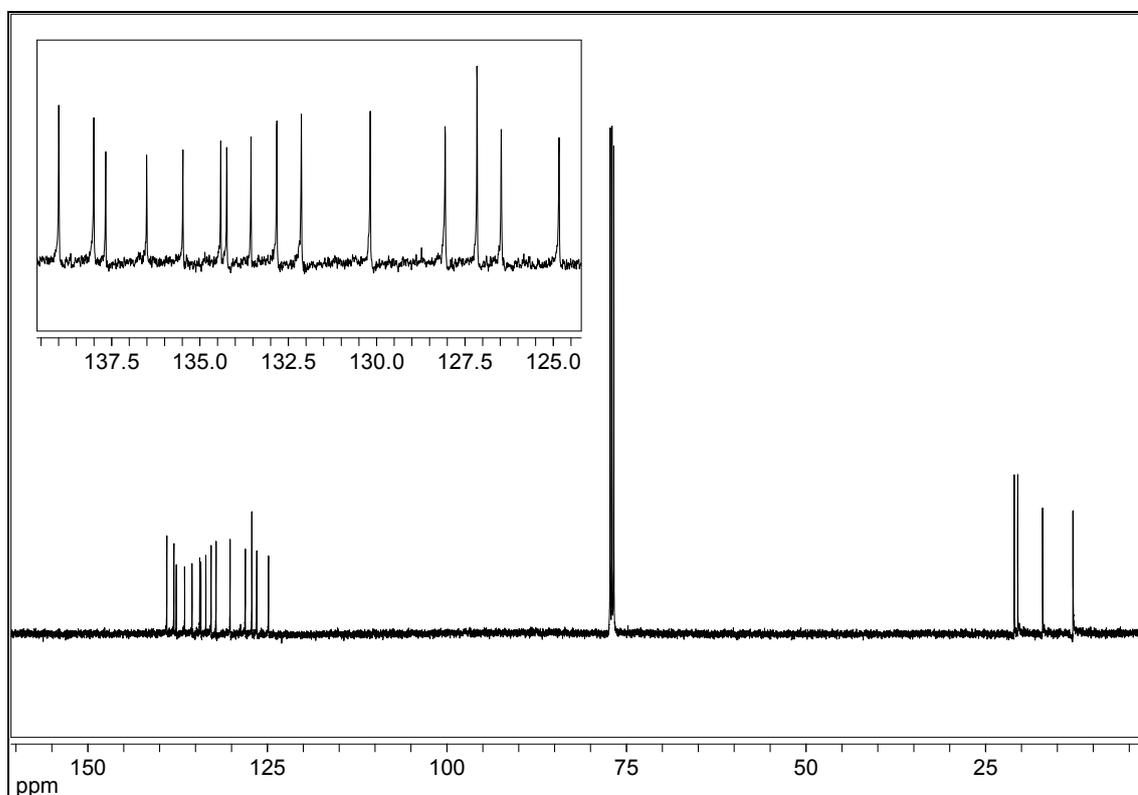


Abb.86: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} (CDCl_3) von Isorenieratin 12

2.3.6 Synthese von (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphoniumbromid

Zur Synthese des unsymmetrischen Carotinoids 3-Hydroxyisorenieratins **10** wird neben **42** das Phosphoniumsalz **52** bzw. dessen Derivat mit geschützter phenolischer Funktion als ein weiterer Schlüsselbaustein benötigt (Abb.87).

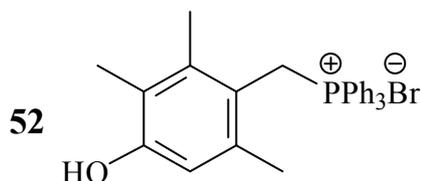


Abb.87: (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphoniumbromid **52**

Die Darstellung wurde in dieser Arbeit über 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** erreicht. Für diesen Benzaldehyd **53** sind einige Synthesen beschrieben worden. Der Benzaldehyd **53** kann aus 2,3,5-Trimethylphenol **54** in einer Stufe mittels Gattermann-Reaktion dargestellt werden^[97]. Da bei dieser Reaktion äußerst giftige Edukte (u. a. HCN) benötigt werden, führte Scherrers die Aldehydfunktion durch eine Vilsmeier-Reaktion ein. Allerdings war dafür eine Schutzgruppe unumgänglich (Abb.88)^[23]. Die ersten beiden Stufen sind in einem Patent von 1974 ausführlich beschrieben^[98].

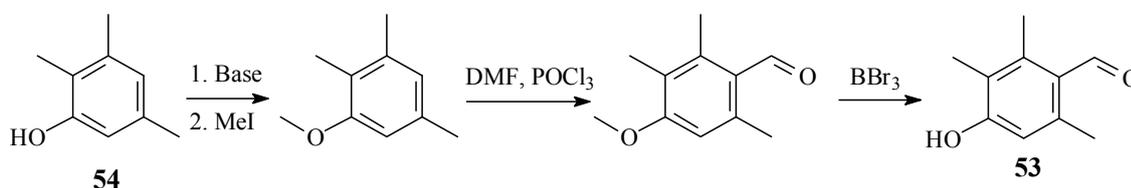


Abb.88: Synthese von 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** nach Scherrers

Zur Synthese des Phosphoniumsalzes **52** muss zunächst der Aldehyd **53** reduziert werden. In der Literatur ist die direkte Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid (LAH) beschrieben, wobei allerdings keine Ausbeuteangaben erwähnt werden^[99]. Der Versuch mit LAH in Diethylether konnte nur mit geringen Ausbeuten (1 %) reproduziert werden. Wahrscheinlich kommt es zunächst zu einer Deprotonierung der phenolischen Gruppe durch das LAH. Durch Mesomeriestabilisierung wird der nachfolgende Angriff eines Hydridions auf das Carbonylkohlenstoff stark erschwert.

Mit der Kombination Natriumborhydrid und Titan(IV)oxidacetylacetonat **55** sind verschiedene Aldehydsysteme in hohen Ausbeuten reduziert worden^[100].

Titan(IV)oxidacetylacetonat **55** hat im Vergleich zu anderen Titanverbindungen wie z. B. Titan-tetrachlorid den Vorteil, dass es weder hygroskopisch noch luftempfindlich ist.

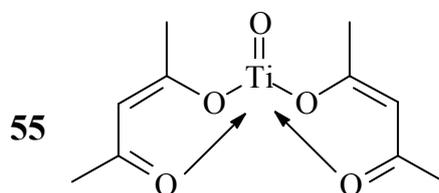


Abb.89: Titan(IV)oxidacetylacetonat **55**

4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** und die Titanverbindung **55** werden im Verhältnis 10:1 in Acetonitril vorgelegt. Dann wird portionsweise Natriumborhydrid zugegeben und bei Raumtemperatur gerührt. Nach Filtration über Celite und Umkristallisation erhält man den korrespondierenden Benzylalkohol **56** in 93%iger Ausbeute.

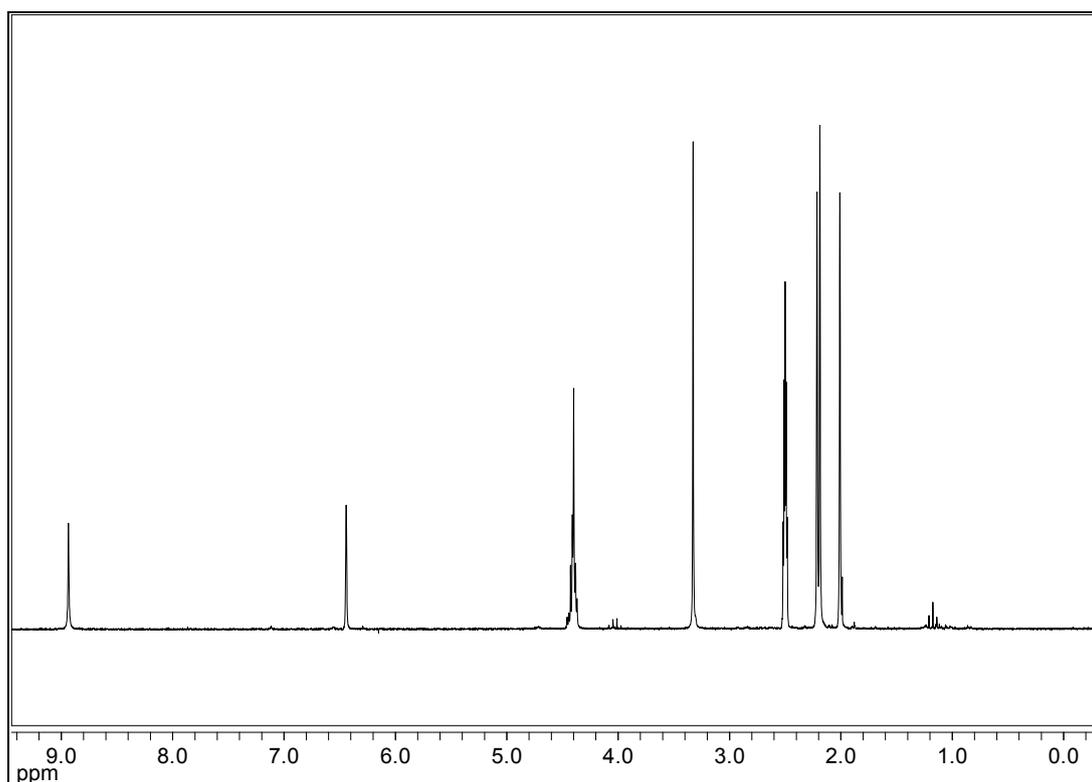


Abb.90: $^1\text{H-NMR}_{200}$ (DMSO-d_6) von 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzylalkohol **56**

Anschließend wird der Benzylalkohol **56** mit Triphenylphosphonium-bromid in Dichlormethan umgesetzt. Nach Aufarbeitung erhält man (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **52** in 90%iger Ausbeute (Abb.91).

V16

V17

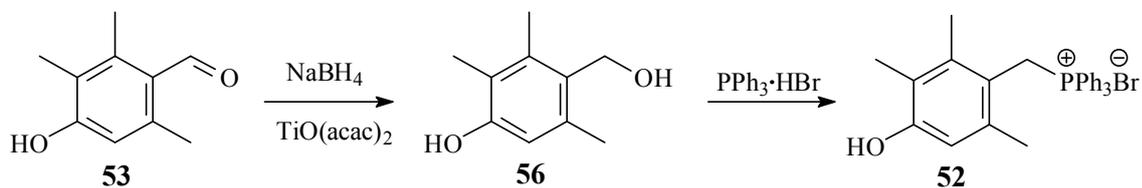


Abb.91: Synthese von (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **52**

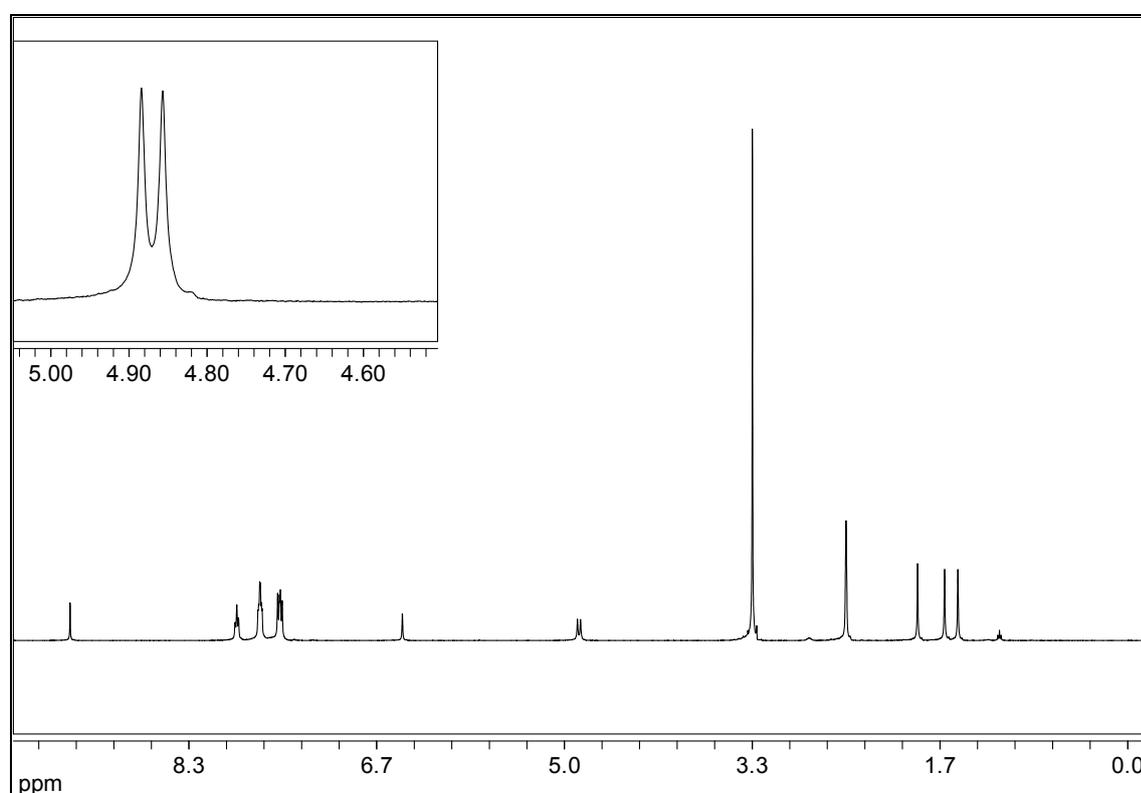


Abb.92: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6) von (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **52**, im Ausschnitt das Dublett aus der Kopplung zwischen Methylen-H und dem Phosphoratom

Nun wurde versucht das Phosphoniumsalz **52** in der finalen Wittig-Reaktion mit dem hergestellten C₃₀-Aldehyd **51** umzusetzen. Die Zugabe von Basen wie *n*-Butyllithium^[101] oder Natriummethanolat^[102] führten jedoch zur Zerstörung des Phosphoniumsalzes **52** durch die Eliminierung von Triphenylphosphin (siehe auch Kapitel 2.3.2). Auch die Reaktion mittels 1,2-Epoxybutan/Ethanol-Mischungen brachte nach mehrstündigem Sieden unter Rückfluss keinerlei Kopplungsprodukt **10** (Abb.93). Dies führte zu der Erkenntnis, dass die phenolische Funktion geschützt werden muss.

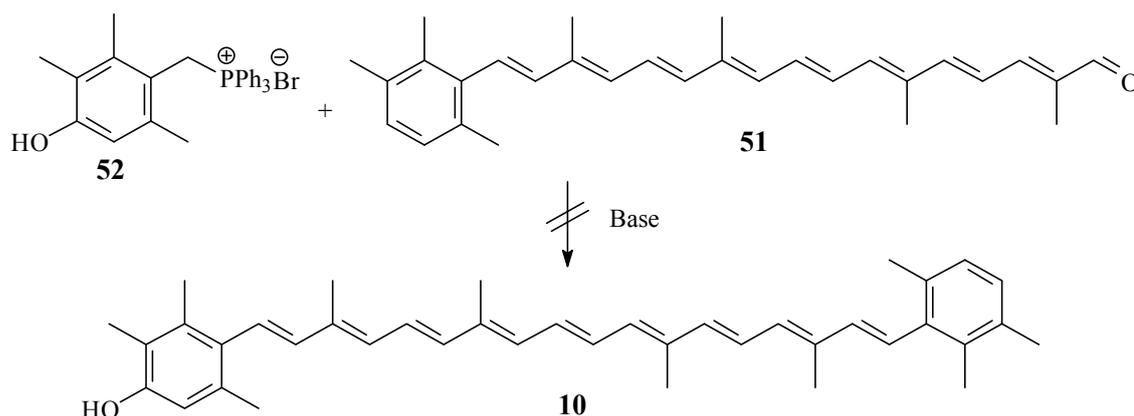


Abb.93: Kopplungsversuch zum 3-Hydroxyisorenieratin **10** ohne Schutzgruppe

Der Einsatz von säurelabilen Schutzgruppen am Benzylalkohol **56** verbietet sich, weil Phosphoniumsalze unter sehr sauren Bedingungen dargestellt werden. Das Phosphoniumsalz **52** selbst ist auch leicht sauer und zudem durch schwere Löslichkeit in den gängigen Lösemitteln recht unreaktiv. So führt der Versuch das Phenol des Phosphoniumsalzes **52** mit THP (Tetrahydropyran) zu schützen zu keinem Umsatz. Da die Entfernung von Schutzgruppen am fertigen Carotinoid allgemein nicht unproblematisch ist, wurde versucht, die in dieser Arbeit bewährte, Benzoylschutzgruppe einzuführen. Beim Phosphoniumsalz **52** offenbarte dies andererseits Probleme, da man nicht zu starke Basen einsetzen kann, ohne auch das instabile, nicht isolierbare Ylid zu erzeugen. Der Einsatz von Pyridin hatte bei der Synthese von **39**, als Vorstufe des BHT-Carotinoids **13**, zu keiner Reaktion zwischen BHT **33** und Benzoylchlorid geführt. Dies lag am sterischen Effekt der *tert*-butyl-Gruppen in ortho-Position zur phenolischen Funktion. Bei der Φ -Endgruppe liegt das Phenol **52** jedoch weniger sterisch gehindert vor und lässt sich zum Ester **57** umsetzen.

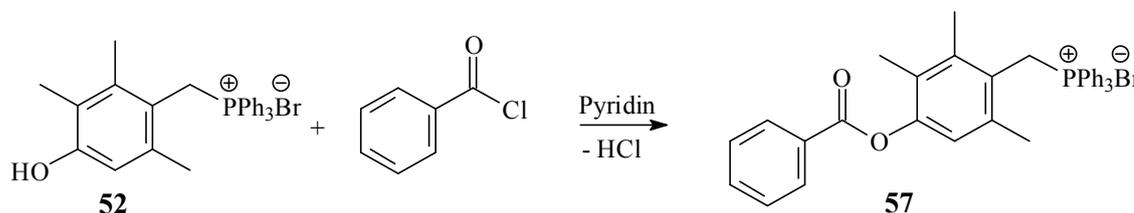


Abb.94: Synthese von (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **57**

Dazu legt man das Phosphoniumsalz **52** in Pyridin vor und gibt Benzoylchlorid tropfenweise im Überschuss zu, um einen quantitativen Umsatz zu gewährleisten. Das Phosphoniumsalz **52** ist in Pyridin schwerlöslich. Im Gegensatz dazu ist der Ester **57**

gut löslich, so dass man die Reaktion visuell mitverfolgen kann. Nach der Hydrolyse wird Dichlormethan zugegeben und das Pyridin mit gesättigter Ammoniumchloridlösung im Scheidetrichter entfernt. Anschließend wird das in Dichlormethan gelöste Phosphoniumsalz **57** durch Eintropfen in Diethylether ausgefällt.

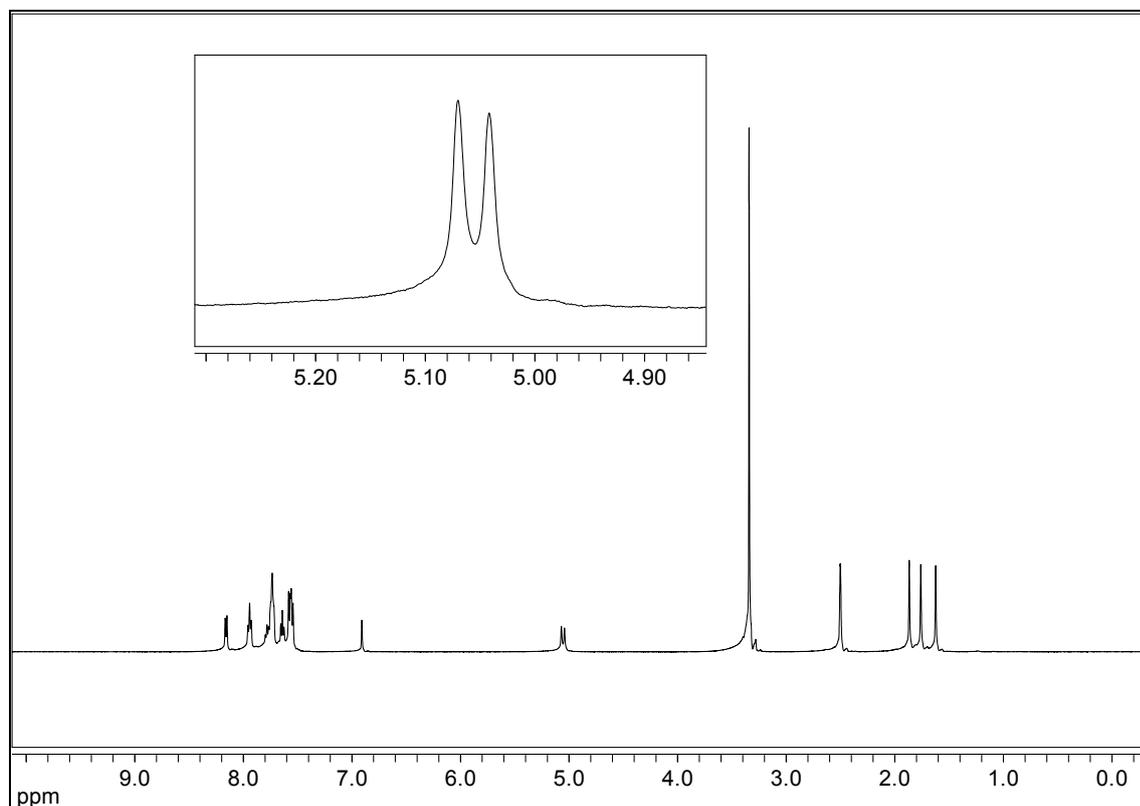


Abb.95: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO-d_6) von (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphoniumbromid **57**, im Ausschnitt das Dublett aus der Kopplung zwischen 10-H und dem Phosphoratom

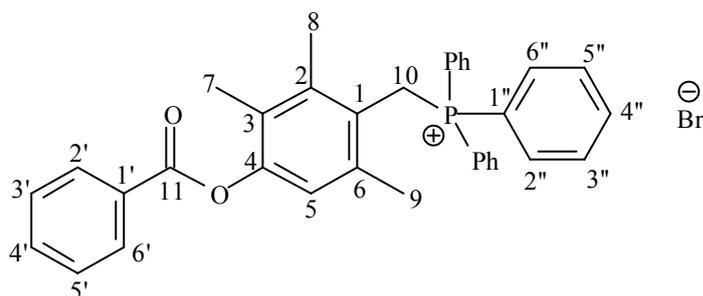


Abb.96: (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **57**

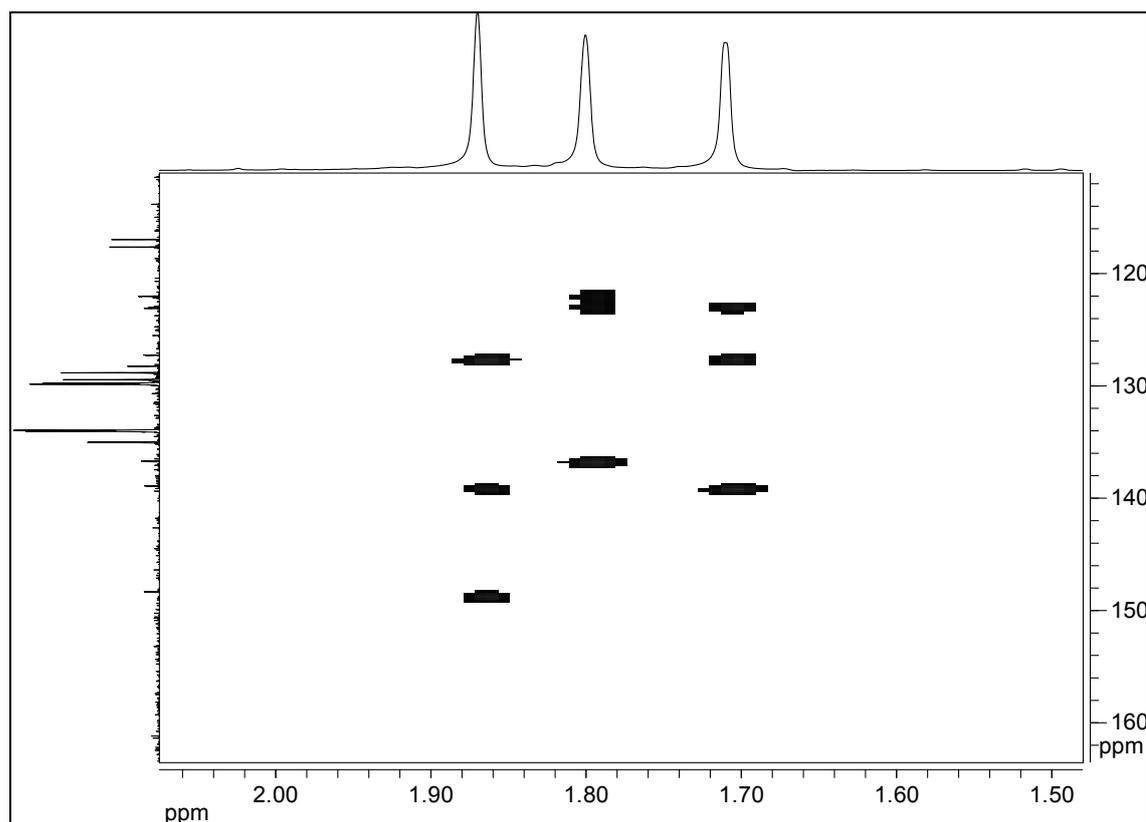


Abb.97: HMBC-Spektrum (CDCl_3) von **57**, Ausschnitt, horizontal ^1H , vertikal ^{13}C

Mittels des zweidimensionalen NMR-Experimentes HMBC kann man die drei Signale für die Methylgruppen im ^1H -Spektrum genau zuordnen. An diesem Molekül ist die Methode besonders anschaulich. Aus dem HMBC-Spektrum erhält man die $^2\text{J}_{\text{HC}}$ - und $^3\text{J}_{\text{HC}}$ -Kopplungen. Die Wasserstoffatome der Methylgruppen 7, 8 und 9 koppeln also jeweils mit drei Kohlenstoffatomen (Tab.7).

Im methylsubstituierten Aromaten (Abb.96) muss das Kohlenstoffatom 4-C am stärksten tieffeldverschoben sein^[103], weil es durch den benachbarten Sauerstoff besonders stark beeinflusst wird. Dies ist der Ankerpunkt und das Signal liegt bei 148.6 ppm. Im HMBC zeigt dieses Signal nur eine $^3\text{J}_{\text{HC}}$ -Kopplung zu den Wasserstoffatomen bei 1.87 ppm. Daraus folgt, dass das Signal bei 1.87 ppm der Methylgruppe 7 zuzuordnen ist. Durch die Zuordnung der Methylgruppe 7 ergibt sich nun, dass die Kohlenstoffatome 2-C und 3-C den Signalen bei 127.5 bzw. 139.1 ppm zuordnen sind. Man erkennt nun leicht aus der Tabelle, dass die Wasserstoffatome der Methylgruppe 8 (daraus folgt 1.72 ppm) ebenfalls mit diesen Kohlenstoffatomen koppeln, während die Methylgruppe 9 (daraus folgt 1.80 ppm) zu weit entfernt ist und keine Kopplung zu diesen zeigt.

Tab.7: Zuordnung der Methylgruppen im HMBC

Methylgruppe / ppm im ^1H	$^2\text{J}_{\text{HC}}$ - und $^3\text{J}_{\text{HC}}$ -Kopplung zu Kohlenstoffatomen / ppm im ^{13}C
1.72	127.5 / 123.3 / 139.1
1.80	122.2 / 123.3 / 136.9
1.87	127.5 / 148.6 / 139.1

2.3.7 Synthese von 3-Hydroxyisorenieratin

Arcamone et al. haben die phenolischen Carotinoide **9** und **10** aus dem Bakterium *Streptomyces mediolani* isoliert und 1969 eine Totalsynthese von 3-Hydroxyisorenieratin **10** veröffentlicht^[33, 34].

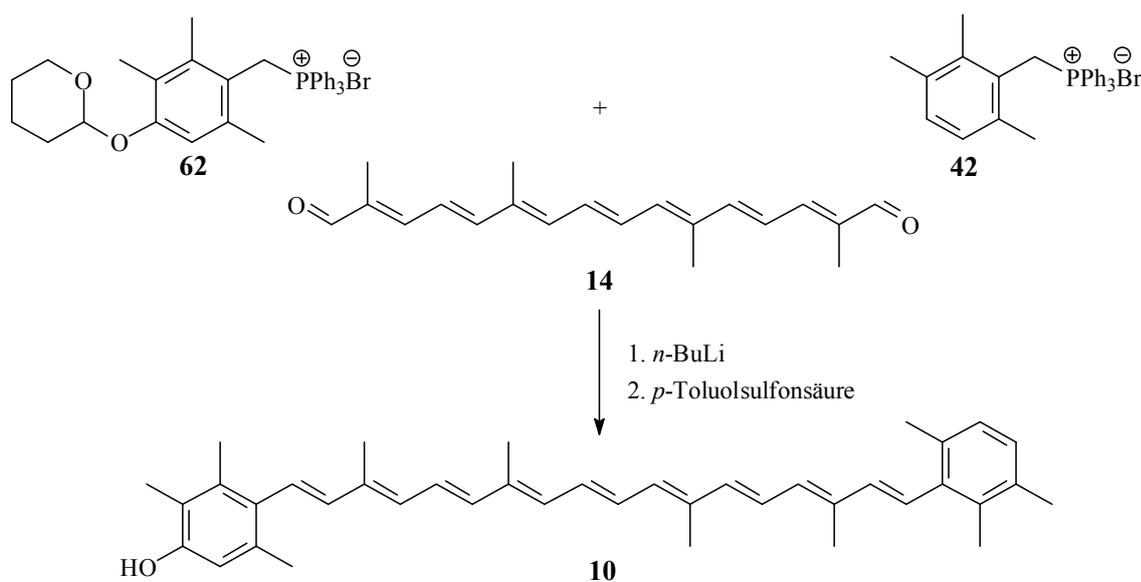


Abb.98: Synthese von 3-Hydroxyisorenieratin **10** nach Arcamone et al.

In der letzten Stufe wurde das mit Tetrahydropyran (THP) geschützte phenolische Phosphoniumsalz **62** und 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42** im Verhältnis 1.9:1 in Diethylether vorgelegt. Anschließend wurde mit *n*-Butyllithium deprotoniert und Crocetinaldehyd **14** (im Verhältnis 1:1 zum 2,3,6-Trimethylbenzylphosphonium-bromid **42**) in Dichlormethan zugetropft. Nach der Hydrolyse wurde die Schutzgruppe mit *p*-Toluolsulfonsäure entfernt.

Man erhält ein Gemisch aus den drei möglichen Carotinoiden, die säulenchromatographisch getrennt wurden. Die Ausbeute betrug 32 % bezogen auf Crocetindialdehyd **14** und 11 % bezogen auf das Phosphoniumsalzgemisch.

Die Synthese wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht begangen, da das geschützte THP-Phosphoniumsalz **62** nicht isoliert werden konnte^[23]. Bei dem Versuch der Darstellung konnte das Phosphoniumsalz **62** nur ohne Schutzgruppe erhalten werden. Dies ist verständlich, da die Synthesen für Phosphoniumsalze allesamt unter zu sauren Bedingungen stattfinden, als das die säurelabile THP-Schutzgruppe bestehen könnte. Aus diesem Grund wurde schließlich die Benzoylschutzgruppe und die Synthese in zwei Schritten über den C₃₀-Aldehyd **51** gewählt, um in der letzten Stufe eine aufwändige säulenchromatographische Reinigung zu umgehen.

Dazu wird (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **57** (Synthese siehe Kapitel 2.3.6) in Tetrahydrofuran vorgelegt. Das Ylid wird hier, nicht wie sonst im Rahmen dieser Arbeit mit *n*-Butyllithium erzeugt, da der Ester **57** dabei nukleophil gespalten wird.

Mit der ebenfalls starken, aber sterisch anspruchsvollen Base Lithiumdiisopropylamid (LDA) gelingt die Deprotonierung in Tetrahydrofuran glatt ohne Esterspaltung. Nach der Hydrolyse und säulenchromatographischen Reinigung wird das Produkt **63** zur cis-trans-Isomerisierung in Ethanol zum Sieden erhitzt.

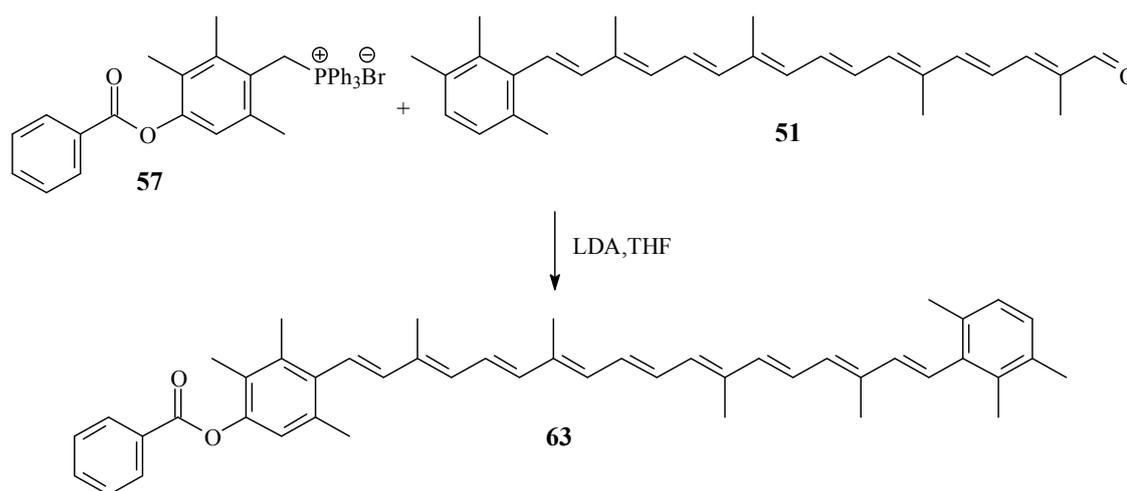


Abb.99: Synthese von 3-Benzoyloxy-Ψ,Ψ-carotin **63**

V19

Nach Abkühlung und Filtration wird das geschützte Carotinoid **63** in 96%iger Ausbeute bezogen auf 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51** erhalten. Die folgenden NMR-Zuordnungen erfolgten mit den zweidimensionalen Methoden HMBC und HMQC.

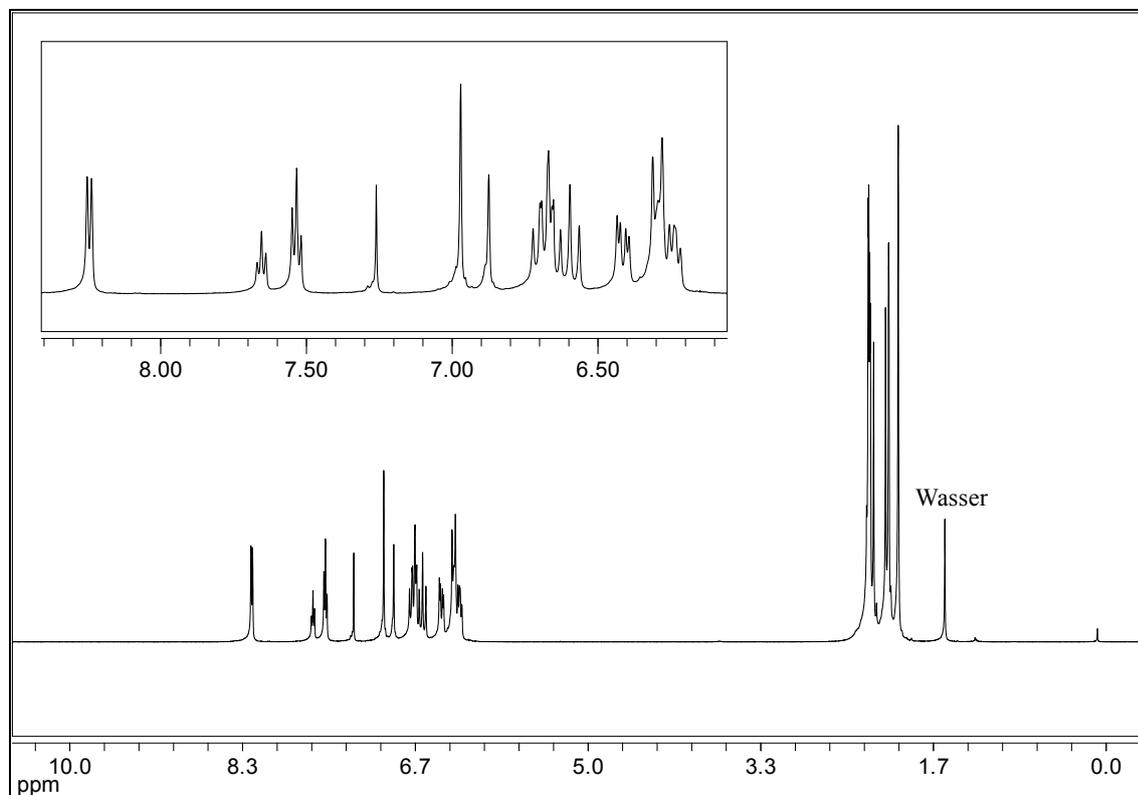


Abb.100: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3) von 3-Benzoyloxy- Φ , Φ -carotin **63**

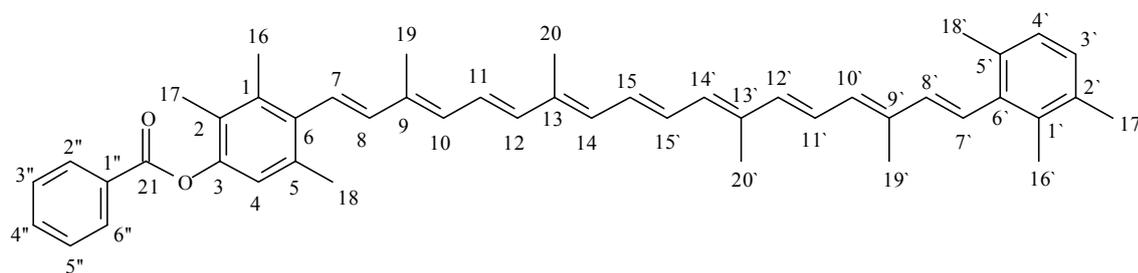


Abb.101: Nummerierung von 3-Benzoyloxyisorenieratin **63** nach IUPAC-Carotinoidnomenklatur^[2]

Tab.8: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3-Benzoyloxy- Φ , Φ -carotin **63** in CDCl_3

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1				136.37
2				125.99
3				147.67
4	1 H	6.87	s	120.69
5				135.87
6				134.69
7,7'	2 H	6.58	d, 16.0	126.26, 126.46
8,8'	2 H	6.27-6.32	m	138.98, 139.32
9,9'				136.48, 136.53
10,10'	2 H	6.21-6.26	m	132.13, 132.33
11,11'	2 H	6.71	m	124.78, 124.84
12,12'	2 H	6.41, 6.42	d, 14.9	137.99, 138.14
13,13'				135.34, 135.48
14,14'	2 H	6.28	m	132.82, 132.90
15,15'	2 H	6.66	m	130.25
6''				137.66
5''				133.55
4''	1 H	6.97	s	127.15
3''	1 H	6.97	s	128.05
2''				134.39
1''				134.23
19,19'	6 H	2.09	s	12.80
20,20'	6 H	2.01	s	12.80
16	3 H	2.28	s	17.61
17	3 H	2.13	s	12.95
18,18'	6 H	2.29	s	20.99
17''	3 H	2.28	s	20.49
16''	3 H	2.24	s	17.04
1'''				129.61
2'',6''	2 H	8.25	[AB] $_2$ C	130.15
3'',5''	2 H	7.53	[AB] $_2$ C	128.56
4''	1 H	7.65	[AB] $_2$ C	133.48
21				165.27

Zur Entfernung der Schutzgruppe wird 3-Benzoyloxy- Φ,Φ -carotin **63** in Dichlormethan unter Argon vorgelegt. Anschließend wird eine Diisobutylaluminiumhydrid-Lösung im Überschuß zugegeben. Nach der sauren Aufarbeitung mit verdünnter Schwefelsäure ist die Esterspaltung unter den gewählten Bedingungen vollständig. Zur Reinigung wird das Rohprodukt **10** in wenig Ethanol zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlung und Filtration erhält man 3-Hydroxyisorenieratin **10** in 83%iger Ausbeute.

V20

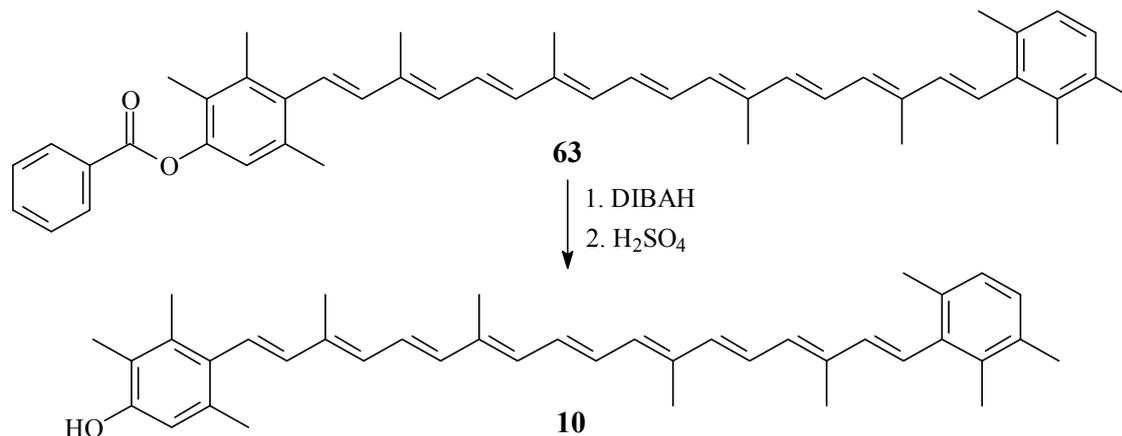


Abb.102: Erfolgreiche Entfernung der Schutzgruppe bei der Synthese von 3-Hydroxy- Φ,Φ -carotin **10**

Die NMR-Zuordnungen erfolgten mit Hilfe von H,H-COSY, HMQC und durch Vergleich mit NMR-Daten von Isorenieratin **12** und 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**.

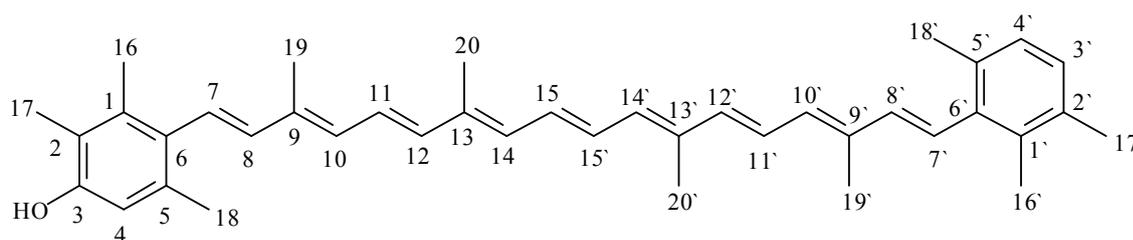


Abb..103: Nummerierung von 3-Hydroxyisorenieratin **10** nach IUPAC-Carotinoidnomenklatur^[2]

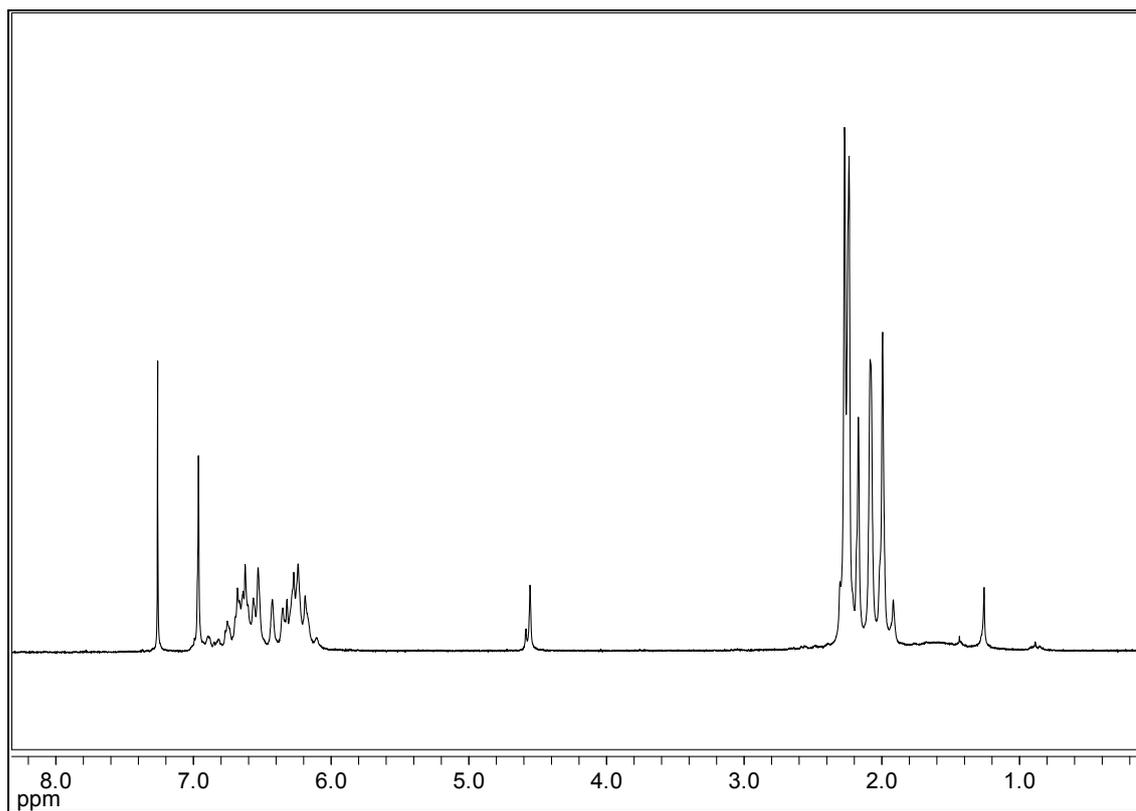


Abb.104: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3) von 3-Hydroxyisorenieratin **10**

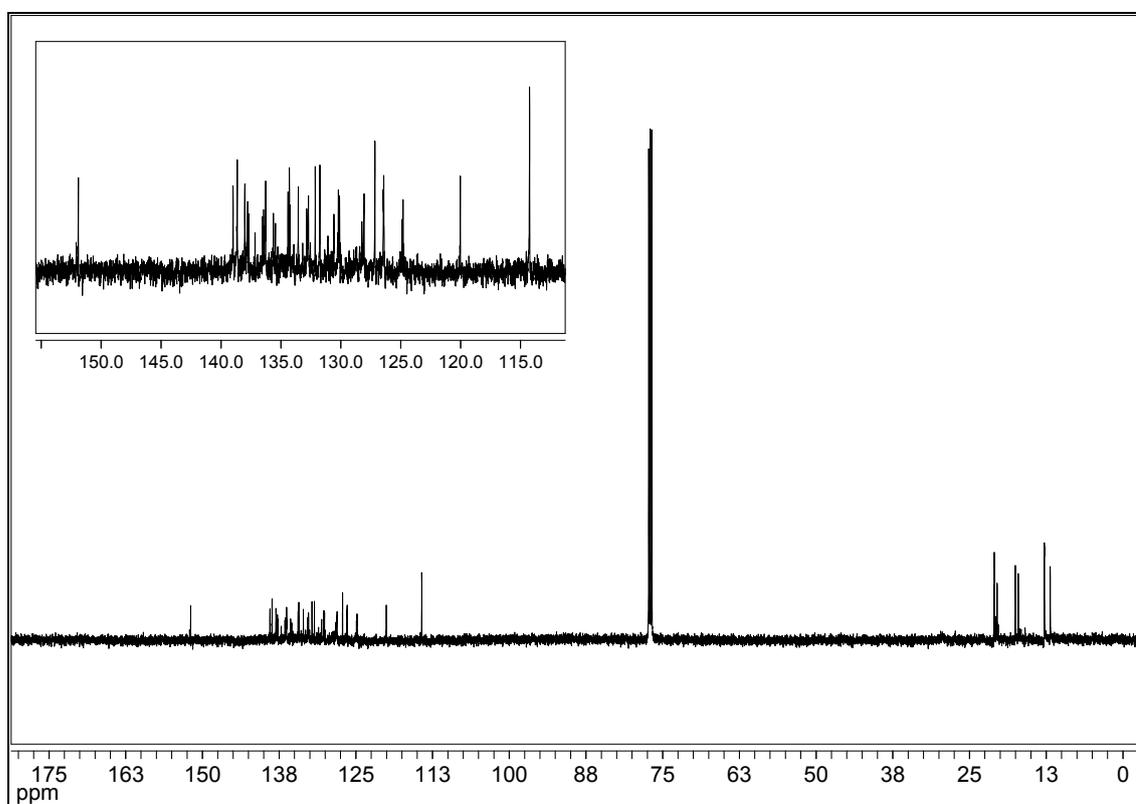


Abb.105: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ (CDCl_3) von 3-Hydroxyisorenieratin **10**

Tab.9: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3-Hydroxyisorenieratin **10** in CDCl_3

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1				135.45
2				120.03
3	1 H	4.57	s	151.90
4	1 H	6.52	s	114.25
5				132.84
6				128.24
7,7'	2 H	6.57-6.62	m	126.26, 126.42
8,8'	2 H	6.26-6.29	m	138.63, 138.99
9,9'				135.62
10,10'	2 H	6.23	m	131.74, 132.1
11,11'	2 H	6.68-6.71	m	124.79, 124.89
12,12'	2 H	6.41	m	137.77, 138.01
13,13'				136.44, 136.54
14,14'	2 H	6.26	m	132.69, 132.84
15,15'	2 H	6.63	m	130.09, 130.19
6'				137.66
5'				133.55
4'	1 H	6.96	s	127.15
3'	1 H	6.96	s	128.05
2'				134.40
1'				134.29
16	3 H	2.24	s	17.52
16'	3 H	2.24	s	17.04
17	3 H	2.17	s	11.84
17'	3 H	2.27	s	20.49
18,18'	6 H	2.24, 2.27	s	20.95, 20.99
19,19',20,20'	12 H	2.08, 1.99	s	12.79

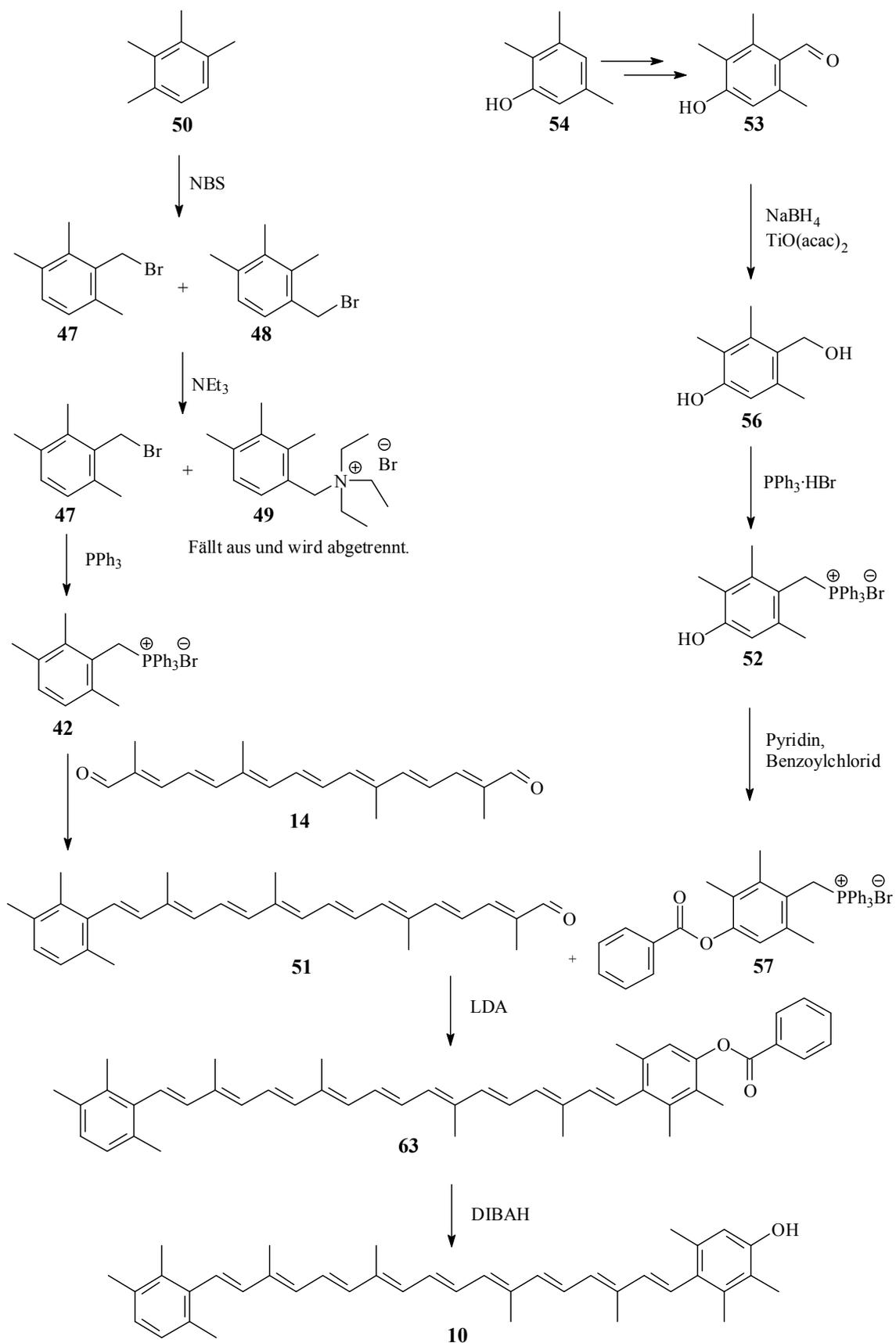


Abb.106: Übersichtsschema zur erfolgreichen Synthese von 3-Hydroxyisorenieratin **10**

2.3.8 Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin

Seit den Arbeiten von Schmidt und Frixel ist bekannt, dass artifizielle Carotinoide, mit phenolischen Endgruppen, ein außergewöhnlich hohes Potential besitzen, um freie Radikale abzufangen^[69, 70]. Unter den vielen bekannten natürlichen Carotinoiden gibt es nur eine Verbindung mit bisphenolischer Struktur. Dieses Carotinoid heißt 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**.

Von primärem Interesse war es nun, ob das antioxidative Potential ähnlich stark ausgeprägt ist, wie beim BHT-Carotinoid **13** und welcher Mechanismus dem zu Grunde liegt. Des Weiteren war es attraktiv, die bekannten spektroskopischen Daten mit modernen NMR-Methoden zu aktualisieren.

Aus diesen Gründen wurden im Arbeitskreis Martin Anstrengungen zur Synthese dieses Naturstoffes **9** unternommen^[23, 56]. Die Synthese über die C₁₀+C₂₀+C₁₀-Route nach Arcamone et al. konnte nicht reproduziert werden, da die Darstellung des THP-geschützten Phosphoniumsalzes **62** nicht gelang^[23, 34].

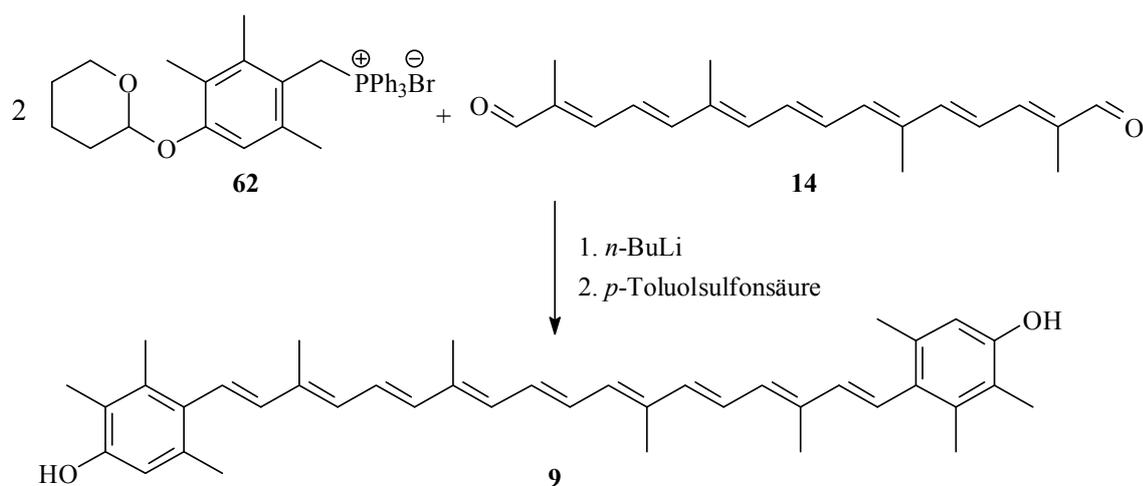


Abb.107: Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** nach Arcamone et al.

In der Literatur sind einige Beispiele beschrieben, in denen das methylgeschützte Derivat **64** von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** dargestellt wurde (Abb.108)^[17, 23, 91, 104, 105]. Die Synthese ist von **64** zwar verhältnismäßig einfach, aber auf Grund der Tatsache, dass die Methylschutzgruppen nicht abspaltbar sind, ohne das Polyensystem in Mitleidenschaft zu ziehen, unbrauchbar. So führt z. B. Bortribromid zu Additionen an die Doppelbindungen.

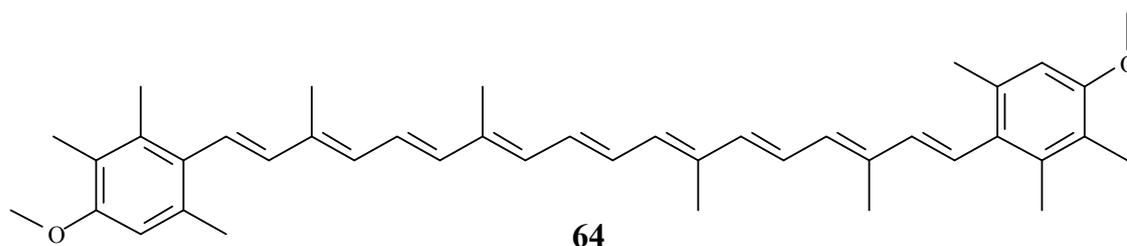
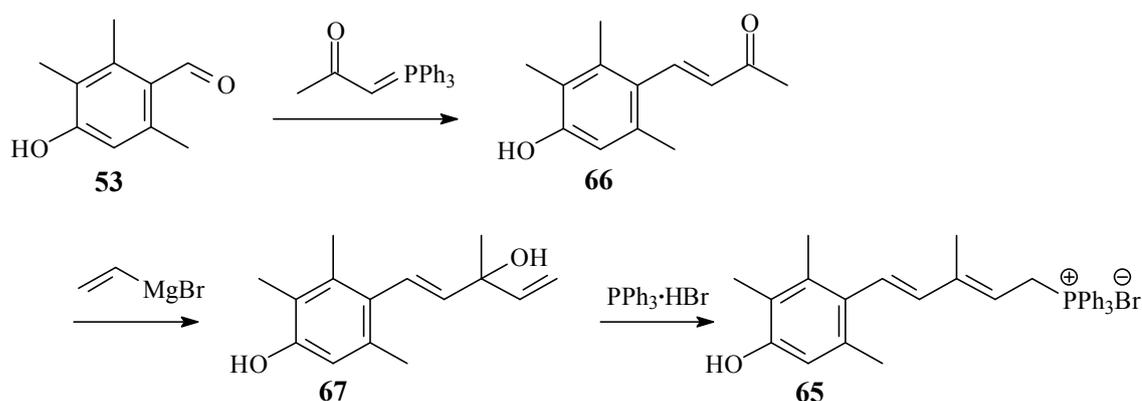


Abb.108: 3,3'-Dimethoxyisorenieratin **64**

Schließlich wurde der Carotinoideaufbau über die C₁₅+C₁₀+C₁₅-Route^[53] favorisiert und auch erfolgreich durchgeführt^[23, 106]. Das Schlüsselreagenz ist der C₁₅-Baustein [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methylpenta-2,4-dien-1-yl]-triphenylphosphonium-bromid **65** der nach folgendem Schema aus 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** dargestellt (für **53** siehe Kapitel 2.3.6) wurde.



V21

Abb.109: Synthese von [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methylpenta-2,4-dien-1-yl]triphenylphosphonium-bromid **65**

In der letzten Stufe in der obigen Abbildung wird der Allylalkohol **67** in Dichlormethan vorgelegt. Nach der Zugabe von Triphenylphosphonium-bromid unter Eiskühlung wird noch drei Tage nachgerührt. Analysenreines Produkt erhält man aus der Lösung durch Destillation des Dichlormethans unter simultaner Zugabe von Acetonitril^[107]. Da die Darstellung über den 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** für eine spätere mögliche industrielle Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** unökonomisch ist, hat Ernst eine Route über Trimethyl[1,4]benzoquinone **68** entwickelt^[106]. Dieser Baustein wird im großen Maßstab bei der Synthese des Vitamin E bei der BASF produziert. Der erste Schlüsselschritt ist die Möglichkeit der regioselektiven Einführung einer Acetalschutzgruppe in 4-Position^[108], da die 1-Position durch den sterischen Anspruch

zweier Methylgruppen in ortho-Stellung zur Carbonylgruppe keine Acetalisierung unter den Reaktionsbedingungen zulässt.

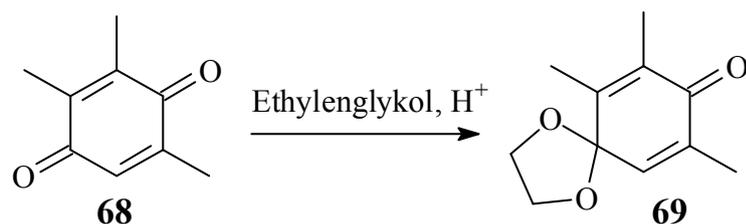


Abb.110: Regioselektive Acetalisierung von Trimethyl[1,4]benzoquinone **68**

An der freien Carbonylgruppe von **69** lässt sich nun die Polyenkette durch eine nukleophile Addition, z. B. eines deprotonierten Acetylderivates, aufbauen. Bei der sauren Aufarbeitung wird die Acetalschutzgruppe entfernt. Die Carbonylgruppe von **70** kann dann mit Natriumborhydrid zum Alkohol **71** reduziert werden^[109, 110]. Anschließend wird, mit Säure unter Wasserabspaltung, der Ring zu **72** aromatisiert.

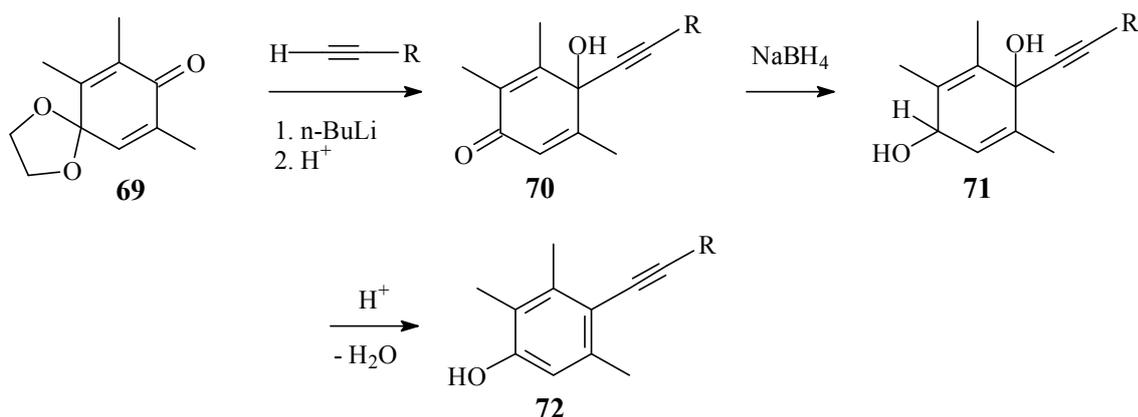


Abb.111: Synthesemöglichkeit von aromatischen Endgruppen in der Carotinoidchemie

Die Acetylen­gruppe von **72** kann dann z. B. mit Raney-Nickel zur Kohlenstoffdoppelbindung reduziert werden. H. Ernst hat das C₁₅-Phosphoniumsalz **65** auf ähnlichem Weg dargestellt (Abb.112).

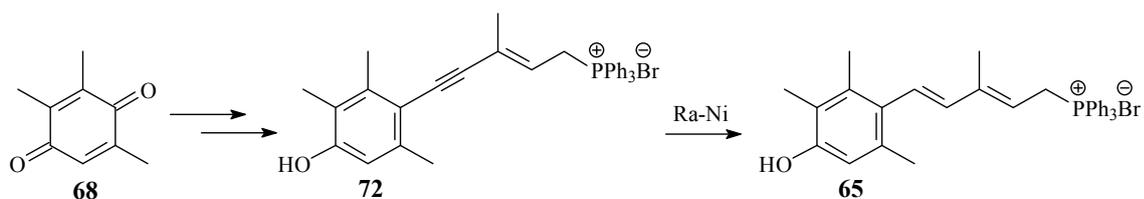


Abb.112: Synthese des C₁₅-Phosphoniumsalzes **65** nach Ernst

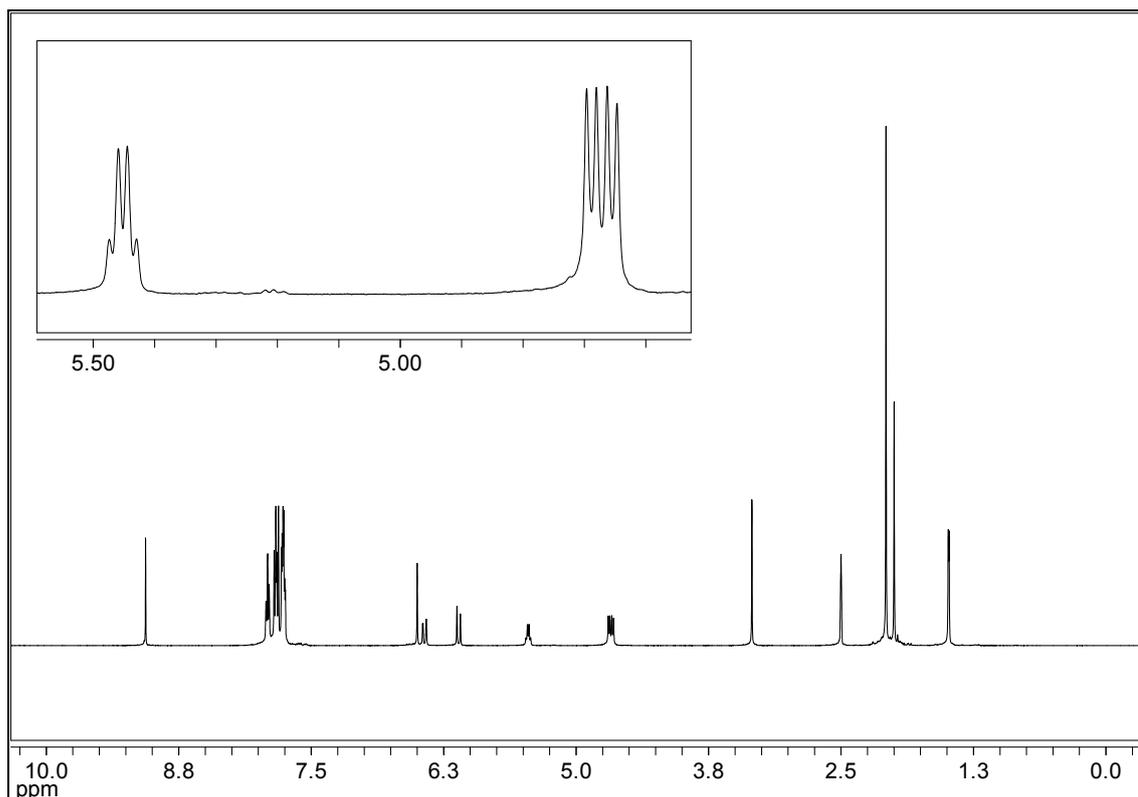


Abb.113: $^1\text{H-NMR}_{500}$ ($\text{DMSO-}d_6$) von [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methylpenta-2,4-dien-1-yl]triphenyl-phosphonium-bromid (C_{15} -Phosphoniumsalz) **65**

Die Synthese des Carotinoids **9** gelingt ohne Schutzgruppe in der finalen Wittig-Reaktion, wenn man das Phosphoniumsalz **65** im Überschuss mit C_{10} -Dialdehyd **15** in einer Mischung aus 1,2-Epoxybutan/Ethanol zum Rückfluss erhitzt. Nach der Umkristallisation aus Tetrahydrofuran/Acetonitril wird 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** in 62%iger Ausbeute erhalten. Man erhält zu 99 % das (all E)-Isomer^[107].

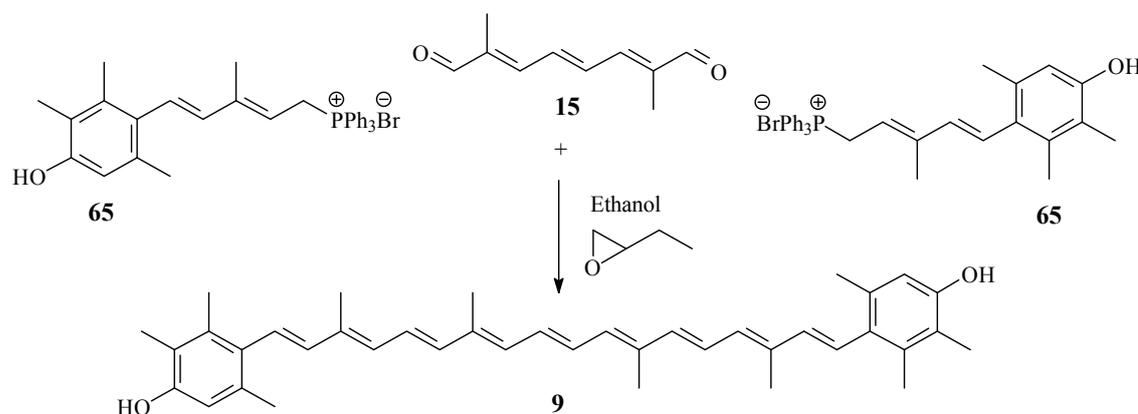


Abb.114: Gelingene Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

V22

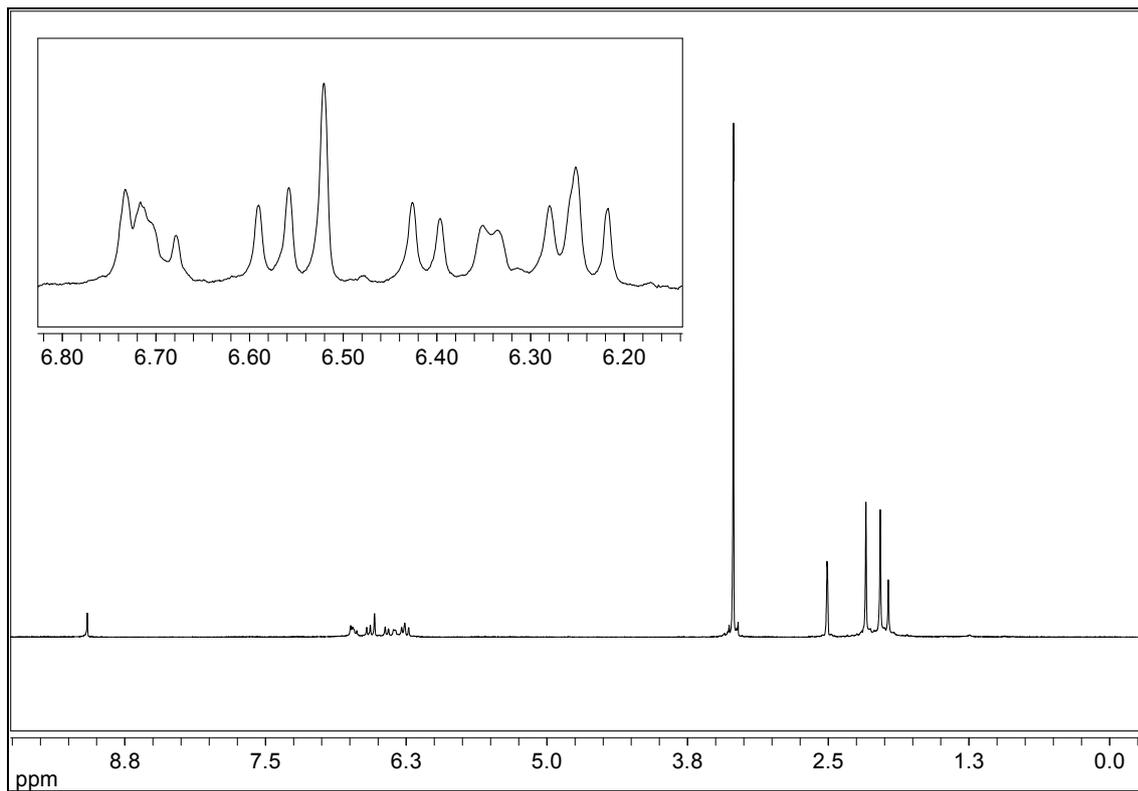


Abb.115: $^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

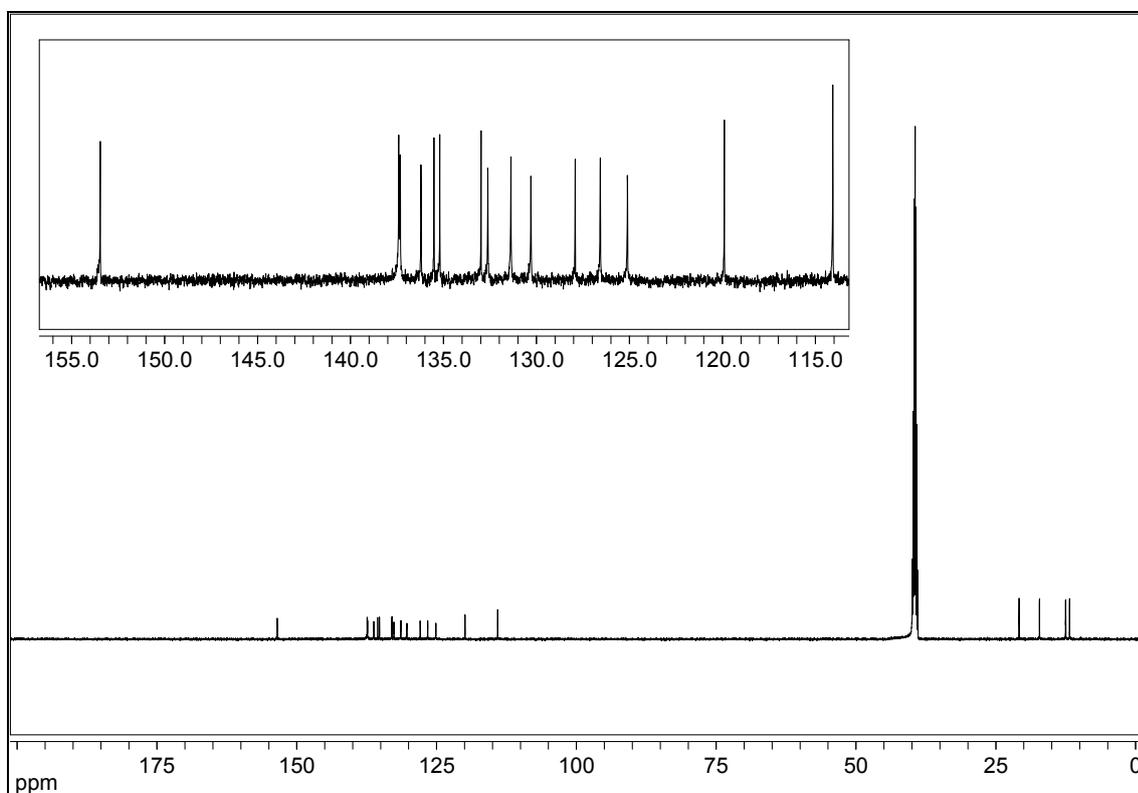


Abb.116: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{125}$ (DMSO- d_6) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

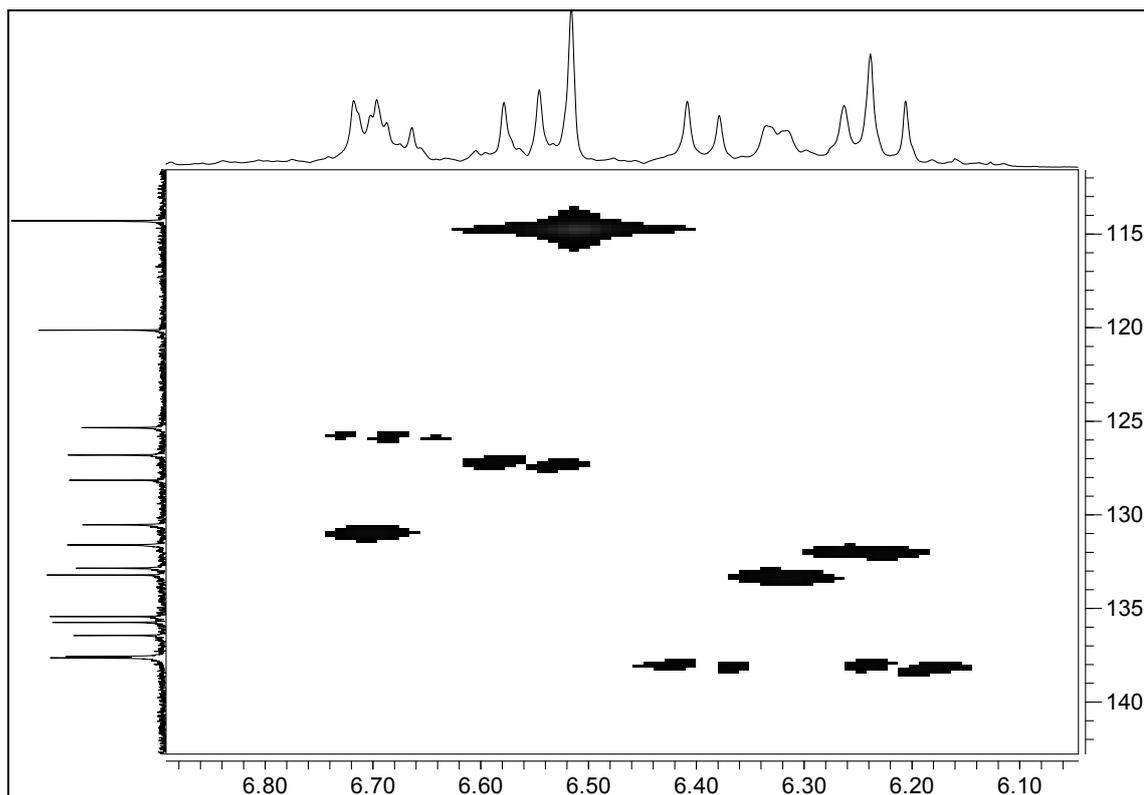


Abb.117: HMQC-Spektrum (DMSO- d_6) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**, Ausschnitt, Skala jeweils in ppm

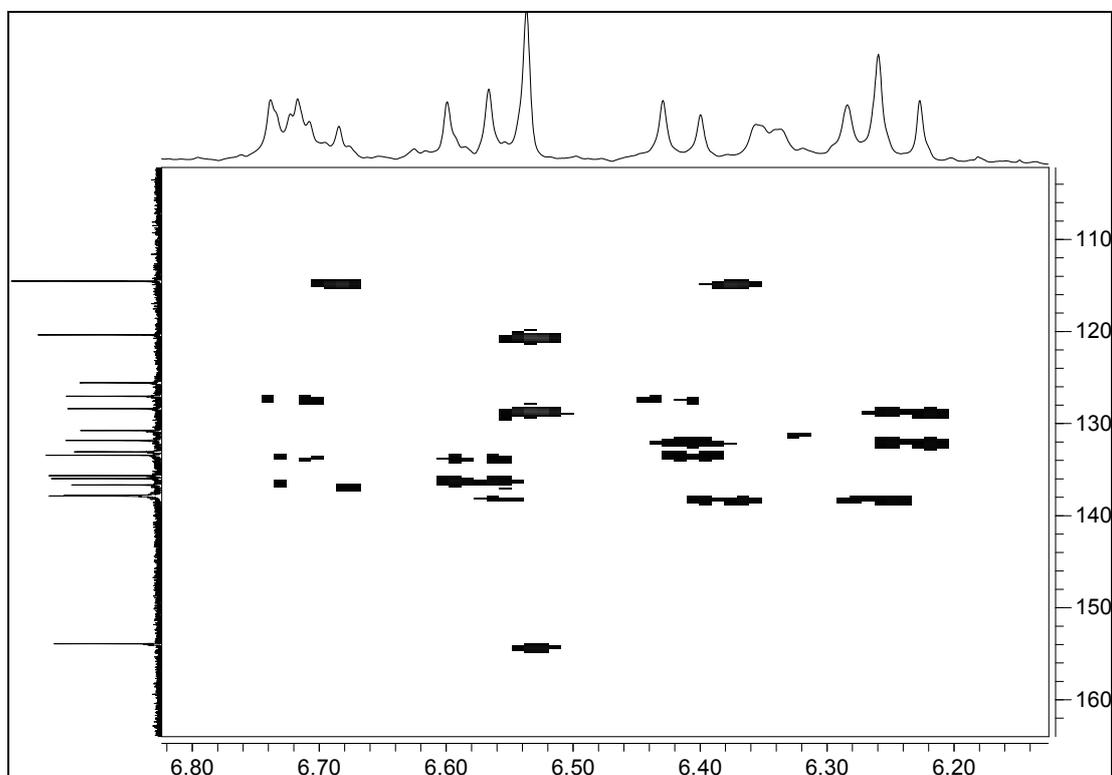


Abb.118: HMBC-Spektrum (DMSO- d_6) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**, Ausschnitt, Skalen in ppm

Tab.10: $^1\text{H-NMR}_{500}$ und $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ -Daten für 3,3'-Dihydroxy- Φ,Φ -carotin **9** in DMSO- d_6

Zuordnung	Intensität	δ_{H} / ppm	J_{HH} / Hz	δ_{C} / ppm
1,1'				135.21
2,2'				119.90
3,3'	2 H	9.08	s	153.46
4,4'	2 H	6.52	s	114.06
5,5'				132.99
6,6'				127.92
7,7'	2 H	6.58	d, 16.1	126.57
8,8'	2 H	6.23	d, 16.1	137.42
9,9'				135.54
10,10'	2 H	6.27	m	131.39
11,11'	2 H	6.70	m	125.14
12,12'	2 H	6.21	d, 14.8	137.34
13,13'				136.23
14,14'	2 H	6.35	m	132.63
15,15'	2 H	6.72	m	130.32
16,16'	6 H	2.16	s	17.21
17,17'	6 H	2.03	s	11.83
18,18'	6 H	2.16	s	20.86
19,19'	6 H	2.03	s	12.55
20,20'	6 H	1.96	s	12.51

2.3.9 Synthese eines *retro*-Carotinoids mit Φ, Φ -Endgruppen

1971 wurde berichtet, dass man durch Oxidation des Naturstoffes 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** ein *retro*-Carotinoid **11** darstellen kann (Abb.119)^[30]. Es konnten nur wenige spektroskopische Daten angegeben werden (IR, UV/VIS)^[111], da **11** als empfindlich beschrieben wurde und nur wenig Substanz aus Bakterien zur Verfügung stand.

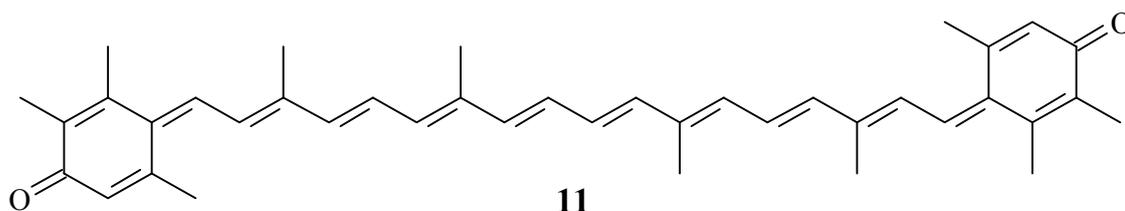


Abb.119: Oxidationsprodukt von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Aus der Oxidation von **9** folgt eine bathochrome Verschiebung von ca. 110 nm (4119 cm⁻¹) in Aceton (Abb.121). In chlorierten Lösemitteln ist **11** tiefblau gefärbt (Dichlormethan: 582 nm). Man beobachtet eine starke Solvatochromie (*n*-Hexan: 548 nm), d. h. die UV/VIS-Spektren sind vom Lösemittel abhängig.

Als Modellsystem zur Darstellung kann die Oxidation von 4,4'-Dihydroxystilben **73** mit Silberoxid in Aceton zum entsprechenden Stilbenchinon **74** dienen (Abb.120)^[112, 113]. Nybraaten et al. führten die Oxidation zum *retro*-Carotinoid **11** mit Silbercarbonat auf Celite in wasser- und säurefreiem Chloroform aus^[30].

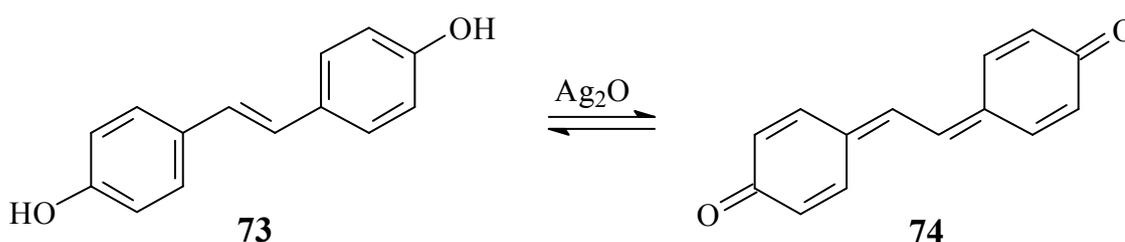


Abb.120: Oxidation nach König et al.^[112, 113]

Da sich das *retro*-Carotinoid **11** in Chloroform als instabil erwies, wird 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** zur Synthese in Aceton vorgelegt. Anschließend wird als Oxidationsmittel Silbercarbonat auf Celite zugegeben. Nach 30 min Rühren bei 60 °C Ölbadtemperatur wird die Suspension abgekühlt und anschließend filtriert. Das in Aceton schwerlösliche *retro*-Carotinoid **11** wird nun mit Dichlormethan aus dem

Rückstand der Fritte gelöst. Nach der säulenchromatographischen Reinigung erhält man das Produkt **11** mit 61%iger Ausbeute.

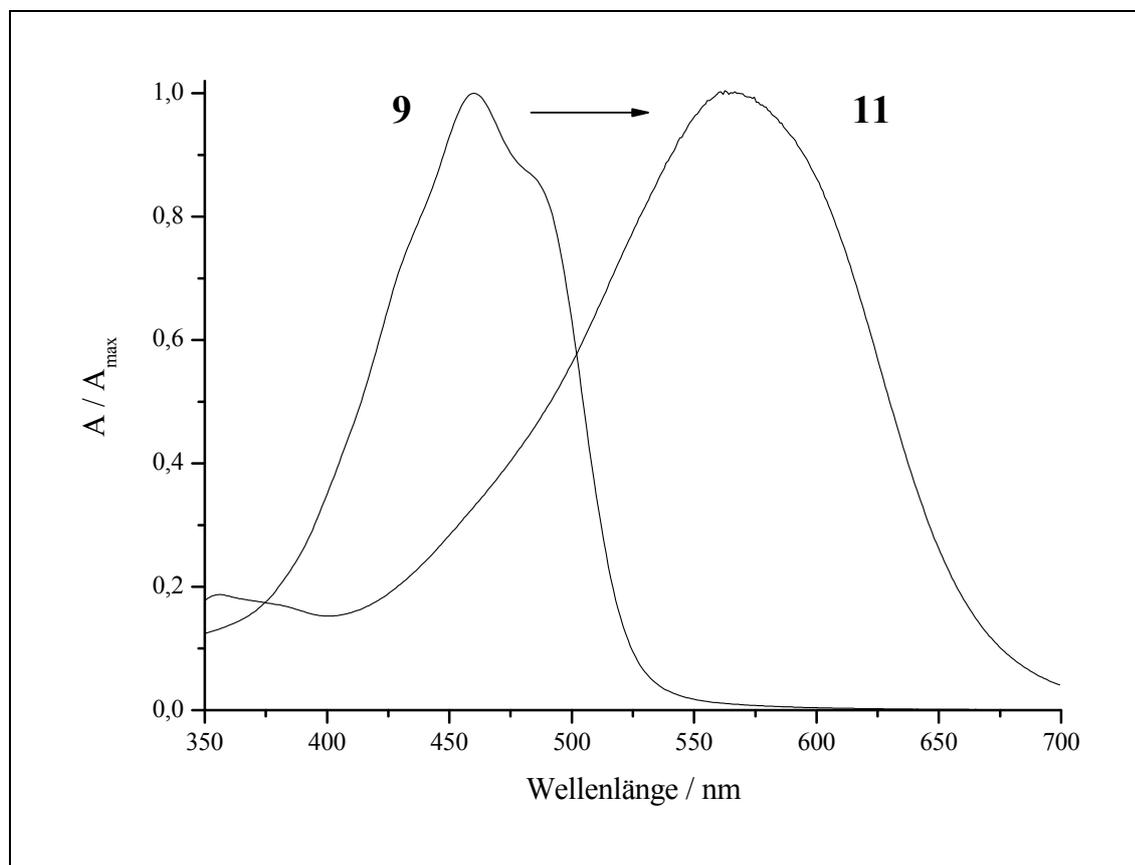


Abb.121: Bathochrome Verschiebung bei der Oxidation von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** zu 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **11** in Aceton

Ähnlich wie das Stilbenchinon reagiert das *retro*-Carotinoid **11** mit Säuren oder mit Methanol (durch Zusatz von katalytischen Mengen Säure sehr schnell) unter Verlust der blauen Farbe. Es erfolgt Addition und Rearomatisierung zu Verbindung **75** (Abb.122).

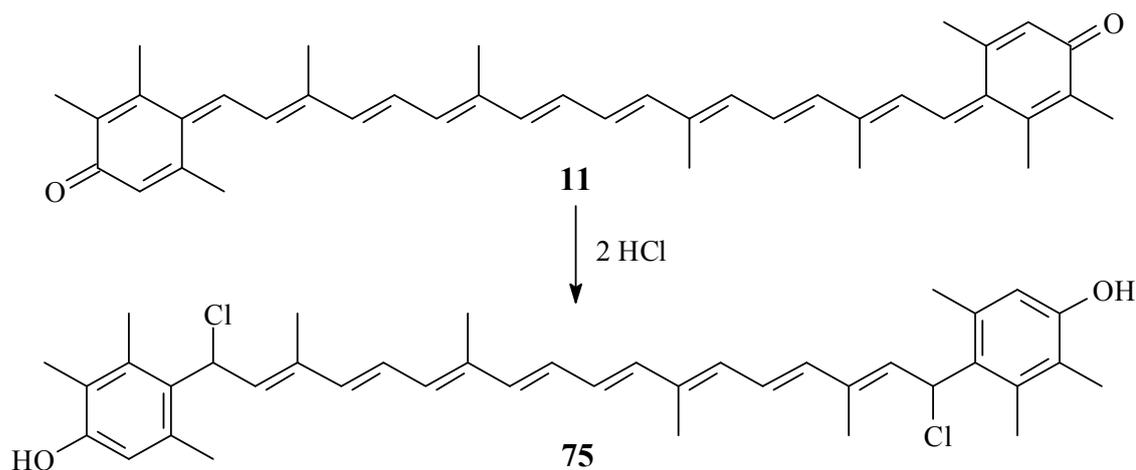


Abb.122: Mögliche Addition von Chlorwasserstoff an Verbindung **11**

Beim längeren Stehenlassen (1-2 Tage) in Lösung an der Luft kann es zum Verlust der blauen Farbe kommen. Dabei fällt ein sehr schwer löslicher Feststoff aus. Es kann vermutet werden, dass es sich dabei um das Analogon zum Charge-Transfer-Komplex Chinhydron **76** handelt (Abb.123)^[114].

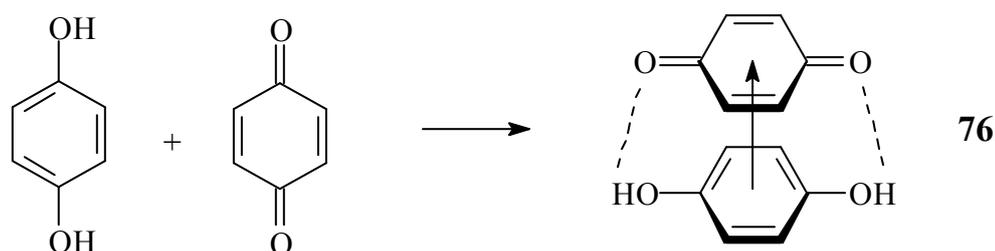


Abb.123: Bildung des Chinhydrons **76**

Bei Nybraaten et al. wurde erwähnt, dass wiederholte Versuche einen massenspektroskopischen Nachweis von **11** zu erhalten gescheitert waren^[30]. Bei eigenen Versuchen wurde statt $[M]^+$, z. B. mit der MALDI-Spektroskopie, immer $[M+2]^+$ als Hauptpeak erhalten. Für Rhodoxanthin **3** ist ein solches Verhalten nicht beschrieben worden^[115].

Dies war unbefriedigend, da $[M+2]^+$ genau der Masse des Eduktes 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** entspricht. In der Literatur ist jedoch genau dieses Verhalten für p-Chinone oder Stilbenchinone beschrieben^[116, 117]. Die Effekte beruhen im Wesentlichen auf der Anwesenheit von Restfeuchtigkeit im Massenspektrometer. Als Quintessenz erhält man bei einigen Chinonen die Massenspektren der

entsprechenden ionisierten Hydrochinone, die je nach Art der Substituenten variieren können.

Erst mit Elektrosprayionisation war der exakte Nachweis des *retro*-Carotinoids **11** erfolgreich. Im Spektrum sind $[M+Na]^+ = 581.3$ und $[M+1]^+ = 559.3$ als intensivste Peaks erkennbar (Abb.124). Das Produkt **11** konnte auch mittels hochauflösender Masse charakterisiert werden.

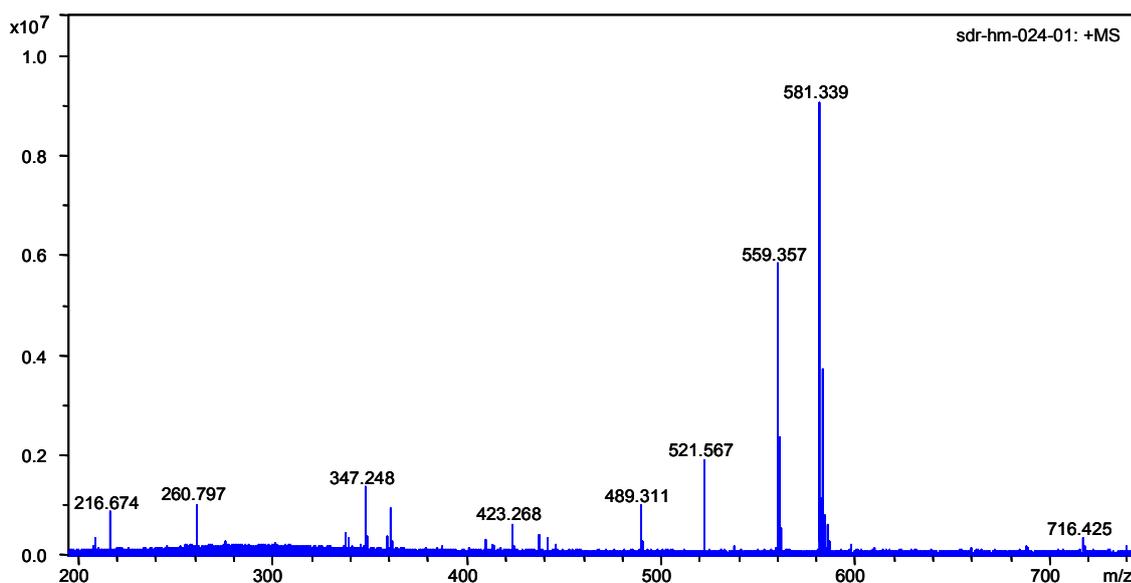


Abb.124: Massenspektrum (ESI) des *retro*-Carotinoids **11**

Bei der Oxidation von **9** entstehen vermutlich statistisch drei Isomere, nämlich all-trans **11a**, 6-cis **11b** und 6,6'-di-cis **11c** (Abb.125). Im Gegensatz zum *retro*-Carotinoid BHT-Chinon **36** (siehe Kapitel 2.3.3) ist **11**, durch die Stellung der Methylgruppen der Endgruppe, unsymmetrisch. Mit dem zur Verfügung stehenden Säulenmaterial ist die Trennung mittels HPLC nicht gelungen. Erschwerend kam hinzu, dass es mit einigen Laufmitteln wie *n*-Hexan zu Verstopfungen der Säule während der Messung (starker Druckanstieg) kam. Ähnliche Isomere sind vom Rhodoxanthin **3** untersucht worden^[118]. Für die NMR-Auswertung wird angenommen, dass sich das Gemisch in der Summe wie eine Verbindung als 6-cis-Isomer verhält. Dies wird im Folgenden begründet. Besonders für die beiden Endgruppen 6-trans und 6'-cis sieht man im NMR signifikante Unterschiede.

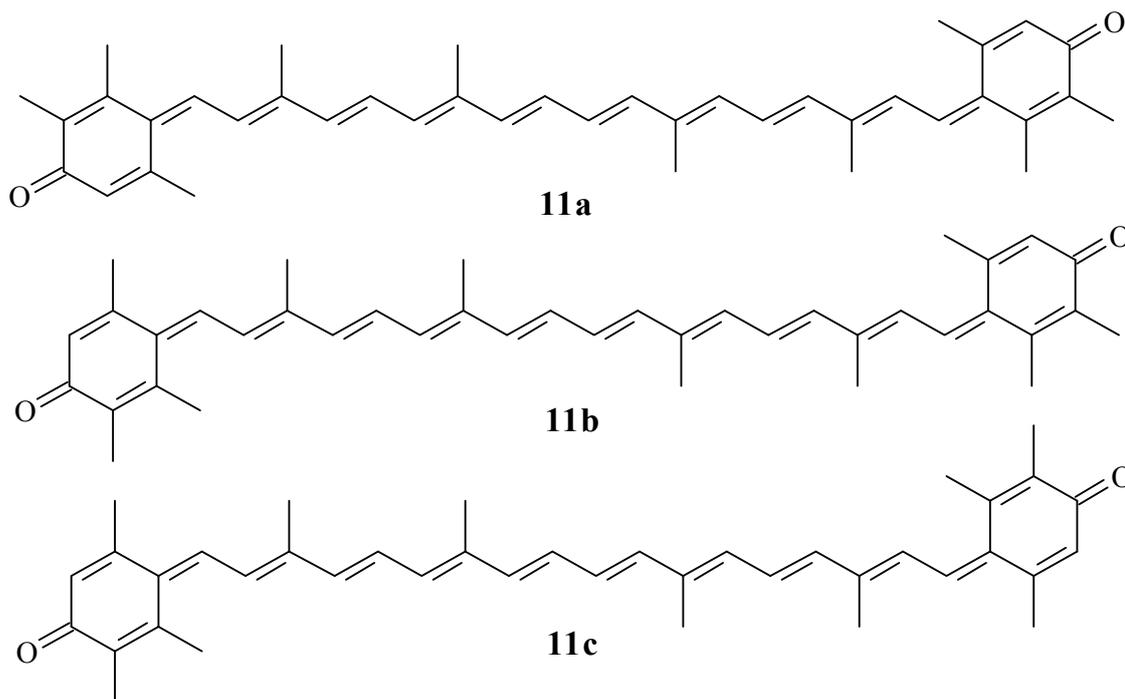


Abb.125: (*all-trans* **11a**, *6-cis* **11b**, und *6,6'-di-cis* **11c**)-Isomere

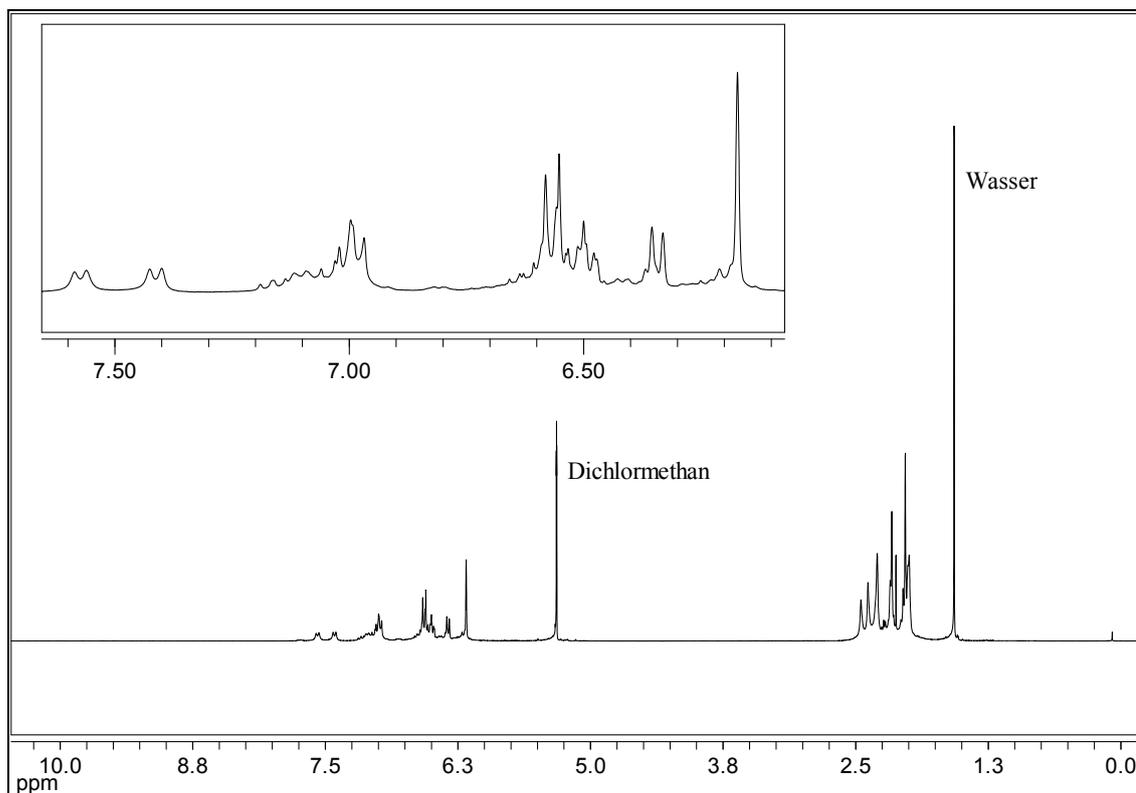


Abb.126: $^1\text{H-NMR}^{500}$ (CD_2Cl_2) von 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion **11** (Wasser und Dichlormethan aus CD_2Cl_2)

In den meisten deuterierten Lösemitteln war kaum Löslichkeit vorhanden oder es fiel Feststoff aus (in CDCl_3). In deuteriertem Dichlormethan ist es am Besten löslich und nur über wenige Stunden stabil, sodass Langzeitmessungen schwierig waren. Im ^{13}C -NMR-Spektrum (Abb.130) benötigte man bereits sechs Stunden, um das signifikanteste Signal des Spektrums, das des Carbonylkohlenstoffs, zu erhalten (186 ppm). Zur Zuordnung wurden H,H-COSY, HMQC, HMBC und Substrukturen benutzt^[118-125].

Für 7-H und 7'-H erhält man zwei Dubletts mit unterschiedlicher Verschiebung bei 7.4 und 7.6 ppm. Dies sind die beiden Signale, die die größte Tieffeldverschiebung im ^1H -NMR haben und nicht von anderen Signalen überlagert werden. Die Kopplungskonstante beträgt ca. 12.7 bzw. 12.8 Hz. Dass es sich bei den genannten Signalen nicht um die Kopplung zwischen 7-H und 8-H handelt, geht aus dem H,H-COSY-Spektrum hervor (Abb.128). Die Kopplungspartner liegen weiter hochfeldverschoben (7.4 koppelt mit 6.9 = $^3J_{7'8}$ und 7.6 mit 7.1 = $^3J_{78}$). Dies zeigt, dass unterschiedliche Ringsysteme vorliegen (Abb.127). Das HMBC war bedingt durch die Isomerenmischung und eine geringe Auflösung für eine genaue Zuordnung jedes Kohlenstoffatoms nicht geeignet.

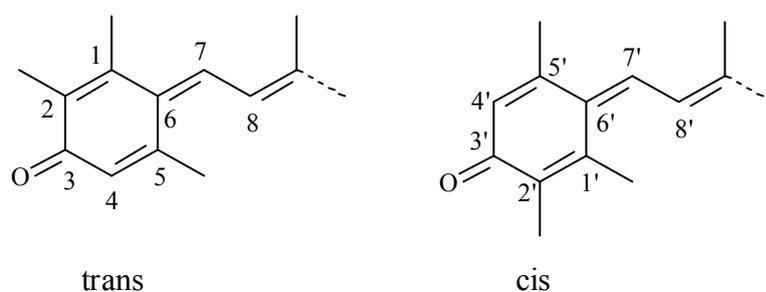


Abb.127: *trans*- und *cis*-Endgruppennummerierung für NMR-Zuordnungen

Die Wasserstoffatome 4 und 4'-H haben im ^1H -NMR die gleiche Verschiebung bei 6.16 ppm, im ^{13}C -NMR findet man aber dafür 2 Signale bei 126.1 bzw. 128.9 ppm (Abb.129). Für die Methylgruppe an 5 bzw. 5' erkennt man jeweils eine $^4J_{\text{HH}}$ -Kopplung nach 4,4'-H. Daraus ergibt sich für diese 2.29 und 20.59 bzw. 2.44 und 25.12 ppm (gefunden durch H,H-COSY und HMQC). Diese Zuordnungen weisen darauf hin, dass *cis* und *trans* zu gleichen Teilen vorliegt.

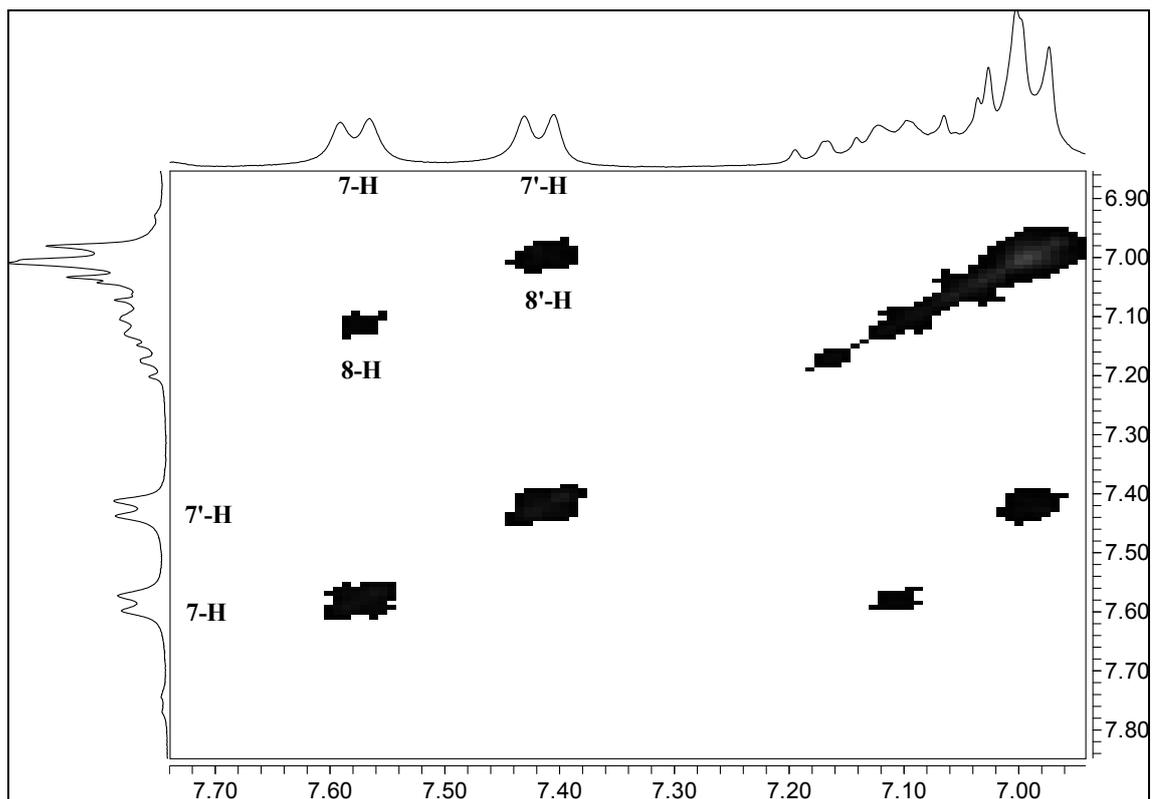


Abb.128: H,H -COSY-Spektrum (CD_2Cl_2 **11**), Ausschnitt, Skalen in ppm

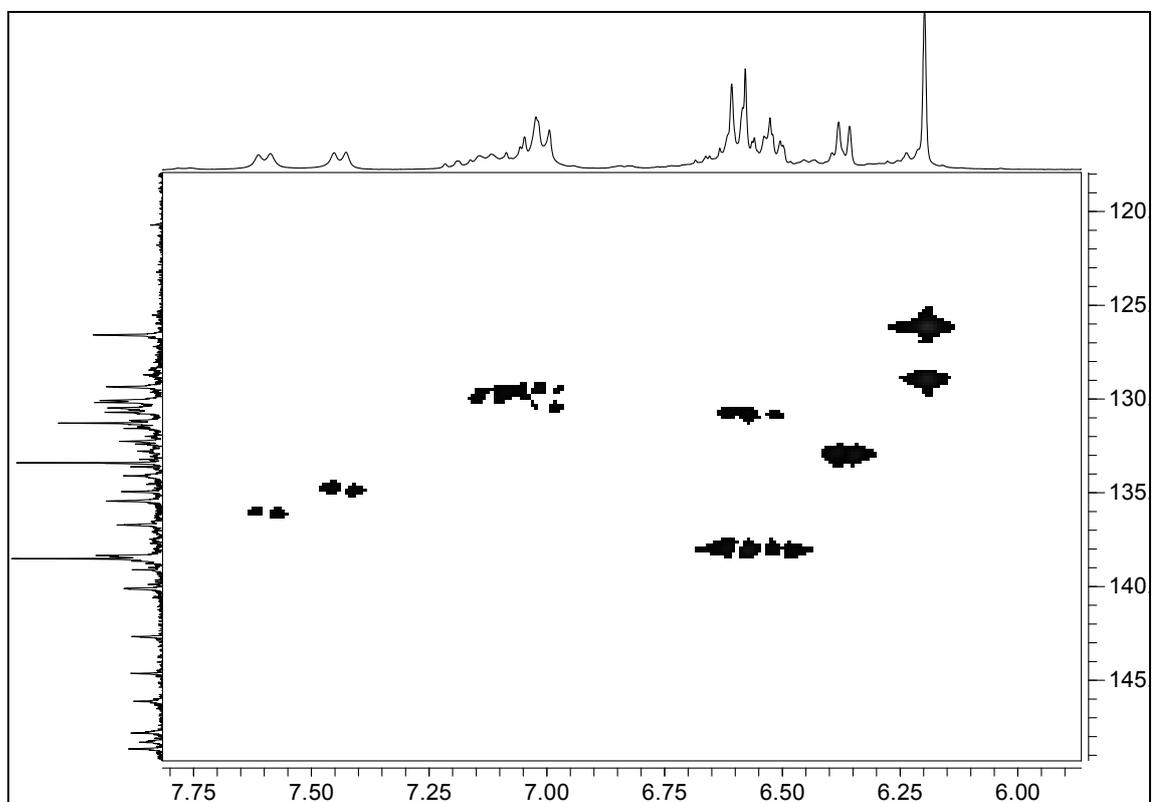


Abb.129: HMQC-Spektrum (CD_2Cl_2) von **11**, Ausschnitt, Skalen in ppm

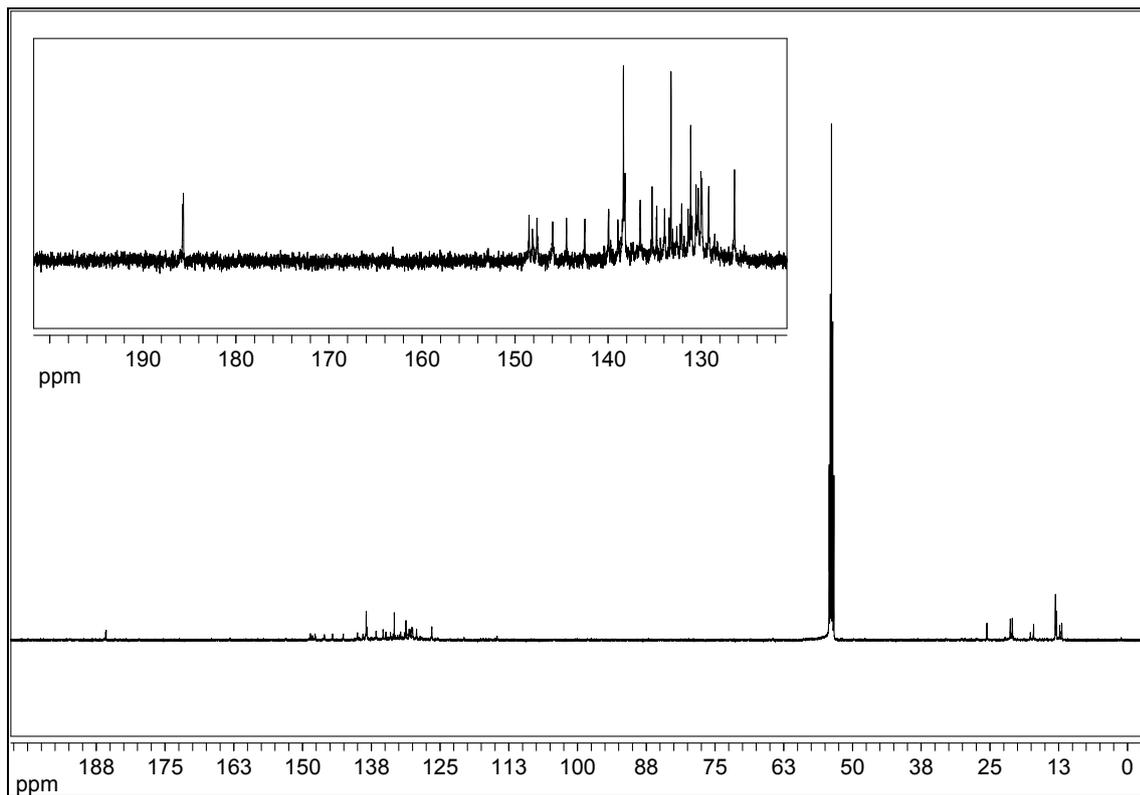


Abb.130: $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ (CD_2Cl_2) von 11

2.4 Antioxidative Wirkung - Messung von Cumolhydroperoxid

2.4.1 Entwicklung des Cumoltestes

Schmidt hat 2001 im Rahmen seiner Dissertation ein Verfahren entwickelt um Antioxidantien, auf ihre Fähigkeit Peroxidradikale abzufangen, zu untersuchen^[69]. Das Verfahren wurde von Scherrers weiterentwickelt und ist in beiden Arbeiten sehr ausführlich beschrieben worden^[23]. Ein besonders Augenmerk lag auf der Untersuchung von Carotinoiden und dem Vergleich zu wichtigen Antioxidantien wie z. B. Vitamin E **76** oder BHT **33**.

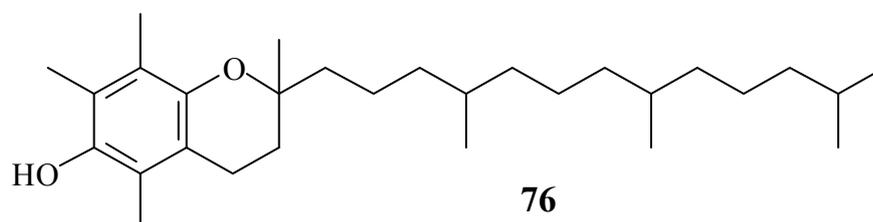


Abb.131: Vitamin E **76**

Man untersucht bei diesem Assay den Einfluß von Antioxidantien auf die Bildung von Cumolhydroperoxid **80** aus Cumol **77** und Sauerstoff in Gegenwart eines Radikalstarters.

Dazu werden in einem Braunglasgefäß Cumol **77** und ein Antioxidans, welches in einer bestimmten Konzentration in Chorbenzol gelöst ist, vorgelegt. Anschließend wird der Radikalstarter AMVN [2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril)] **78**, welcher ebenfalls vorher in Chlorbenzol gelöst wird, zugegeben. Das Braunglas soll Photooxidationen vermeiden. Des Weiteren wird mit einem Thermostaten konstant bei 37 °C temperiert, um physiologische Bedingungen zu simulieren.

Das Gefäß in Form eines Standzylinders hat ein Volumen von etwa 500 ml und ist während der Reaktion verschlossen. Durch das relativ große Verhältnis des Luftvolumens zum Reaktionsvolumen (10 ml bei 20 °C) kann man den Sauerstoffanteil im Gefäß als konstant ansehen (150 Torr). Die Reaktionslösung wird mit einem Magnetrührer stark durchmischt, um eine konstante Menge Sauerstoff in der Lösung zu gewährleisten.

Die Reaktionslösung besteht aus folgender Zusammensetzung:

- 5 ml Cumol **77**
- 4 ml Antioxidans in Chlorbenzol
- 1 ml AMVN **78** in Chlorbenzol

AMVN **78** zerfällt thermisch in zwei Radikale. Die Triebkraft dieser Startreaktion ist die Bildung von Stickstoff.

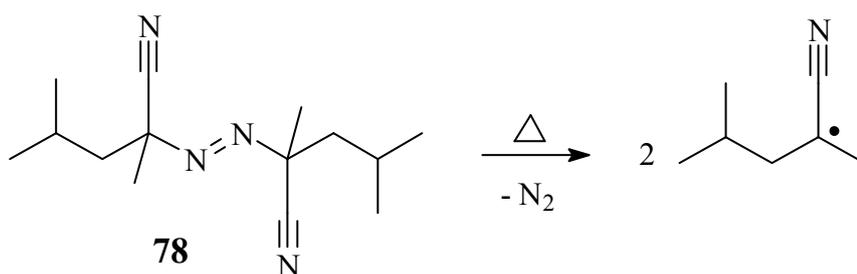


Abb.132: Zerfall von AMVN **78** [2,2'-Azobis(2,4-dimethylvaleronitril)] in zwei Radikale

Durch radikalischen Angriff wird das α -Wasserstoffatom der Isopropylgruppe des Cumols bevorzugt abstrahiert. Das entstandene Cumylradikal **79** reagiert mit Sauerstoff zu einem Cumolperoxyradikal **81**. Dieses kann sich zu Cumolhydroperoxid **80** umsetzen, indem es das Wasserstoffatom eines anderen Cumolmoleküls **77** abstrahiert und damit die Radikalkettenreaktion fortsetzt.

Das Cumolhydroperoxid **80** kann man mittels HPLC und Diodenarraydetektor (DAD) quantitativ detektieren. Dazu misst man das UV-Spektrum bei 254 nm. Dies ist eine Wellenlänge bei der aromatische Verbindungen absorbieren und somit gut zu detektieren sind.

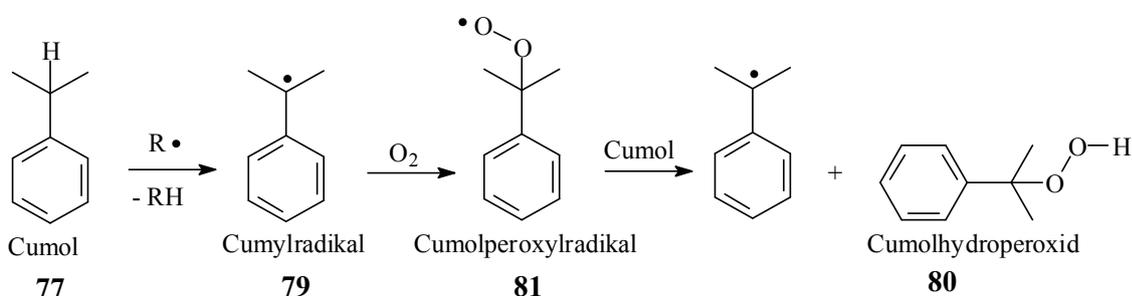


Abb.133: Radikalkettenreaktion mit Cumol **77**

Die Menge an gebildetem Cumolhydroperoxid **80** ist ein Maß für die Geschwindigkeit der Radikalreaktion. Gibt man eine bestimmte Menge an Antioxidans zu dieser Reaktion, wird die Bildung des Cumolhydroperoxids **80** für eine bestimmte Zeit verlangsamt bzw. vollständig unterdrückt. Diese Zeit ist ein Maß für das antioxidative Potential der zugegebenen Substanz.

Zur Messung werden parallel zwei Reaktionen gleichzeitig durchgeführt, um zufällige Fehler auszuschließen. Über ein Septum wird alle zehn Minuten abwechselnd aus den beiden Reaktionsgefäßen eine 50- μ l-Probe entnommen und über eine 20- μ l-Probenschleife auf die HPLC aufgetragen. Ebenso wie in den Arbeiten von Schmidt und Scherrers wurden folgende Parameter verwendet:

- HPLC-Säule: YMC-Pack SIL-ASP, 150 \cdot 6.0 mm, S-5 μ m, 6 nm
- Flußrate: 2 ml/min
- Laufmittel: *n*-Hexan/Isopropanol 99:1

Man erhält z. B. folgendes Chromatogramm bei 254 nm (Abb.134).

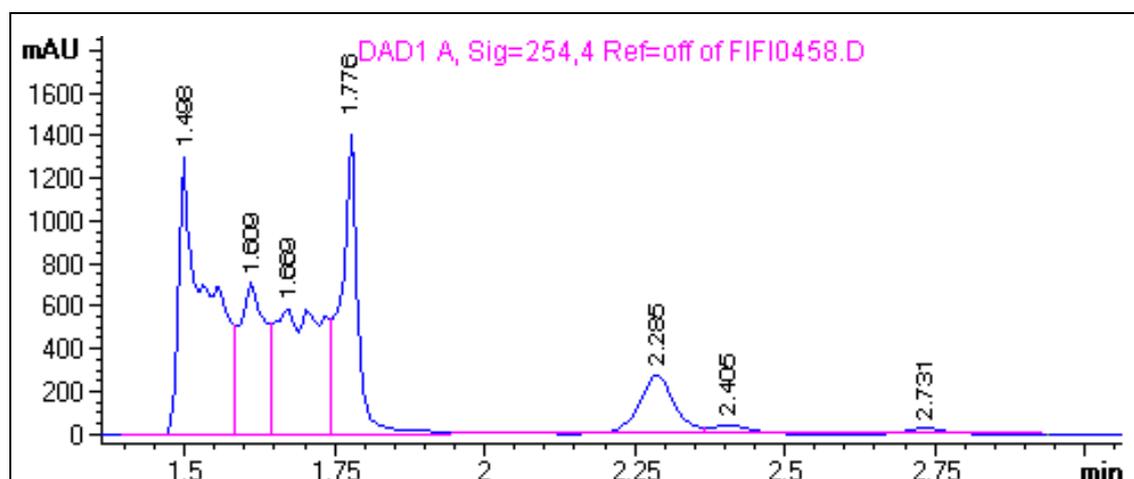


Abb.134: HPLC-Chromatogramm (entnommen aus ^[23])

Im Bereich von 1.5 bis 1.8 min eluieren das Lösemittel Chlorbenzol, der Radikalstarter AMVN **78** und Cumol **77**. Der Peak von Cumolhydroperoxid **80** wird bei 2.3 min detektiert. Die bei Schmidt und Scherrers benutzte HPLC (HP Chemstation 1050, HP 1040M Series II) funktionierte im Rahmen dieser Arbeit nicht mehr einwandfrei und aufgrund des hohen Alters konnten vom Hersteller keine Ersatzteile mehr zur Verfügung gestellt werden.

Deshalb wurde die Methode auf eine neue HPLC (Agilent 1100 Series) übertragen. Obwohl sämtliche Parameter wie Säule, Laufmittel und Flussgeschwindigkeit identisch gehalten wurden, sieht das erhaltene Chromatogramm deutlich anders aus (Abb.135). Anstatt einem Peak bei 2.3 min erhält man nun zwei Peaks bei 2.9 und 4.3 min. Dieselben Peaks werden bei der Kontrolle mit Cumolhydroperoxid **80** von Aldrich (technisch, 80 %, 20 % Cumol) erhalten.

Mittels GC/MS konnte der Peak bei 4.3 min als Cumolhydroperoxid **80** identifiziert werden. Der Peak bei 2.9 min ist nach GC/MS-Auswertung 2-Phenyl-propan-2-ol (α -Cumylalkohol).

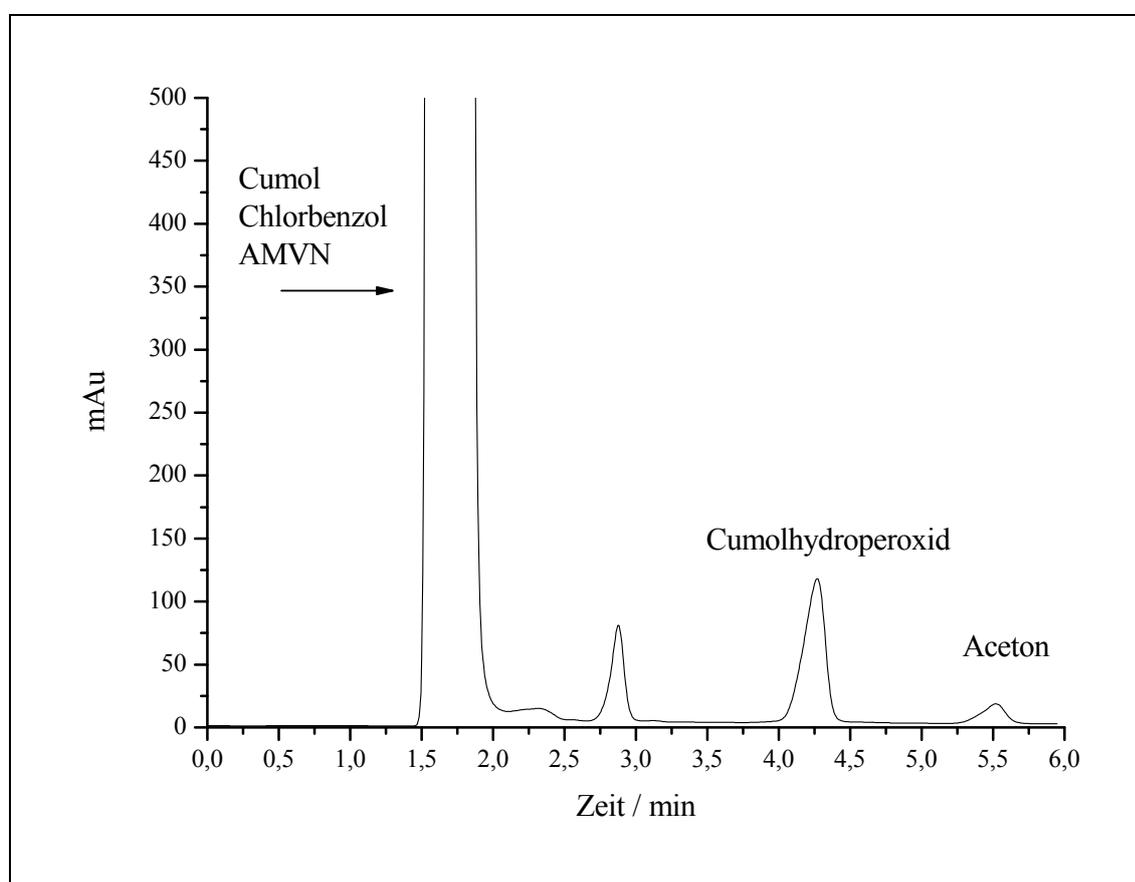


Abb.135: HPLC-Chromatogramm einer Messung (Agilent 1100 Series)

Vermutlich liegt der Fehler in der Mischung des Laufmittels, das mit einer Mischbatterie der HPLC kontinuierlich während der Analyse automatisch dosiert wird. Der Peak von 2-Phenyl-propan-2-ol liegt wahrscheinlich bei den alten Messungen unter den Lösemittelpeaks.

Man kann zusammenfassend sagen, dass die im Vergleich zum Cumol **77** polarerer Moleküle wie Cumolhydroperoxid **80** bei den alten Messungen schneller von der Säule gespült wurden. Dies spricht für einen höheren Isopropanolanteil als dem eingestellten Wert von *n*-Hexan/Isopropanol von 99:1, denn laut Hersteller kann es sein, dass die ältere HPLC den 1%igen-Isopropanolanteil nicht exakt dosieren konnte. Der Peak bei 5.5 min ist Aceton. Dieses entsteht in geringen Mengen während der Reaktion proportional zum Cumolhydroperoxid **80**. Diese Reaktion ist als Hocksche Phenolsynthese bekannt^[126]. Zur Referenzmessung verwendet man anstatt der 4 ml Chlorbenzol mit Antioxidans reines Chlorbenzol:

Kalibrierung:

- 5 ml Cumol **77**
- 4 ml Chlorbenzol
- 1 ml AMVN **78** in Chlorbenzol

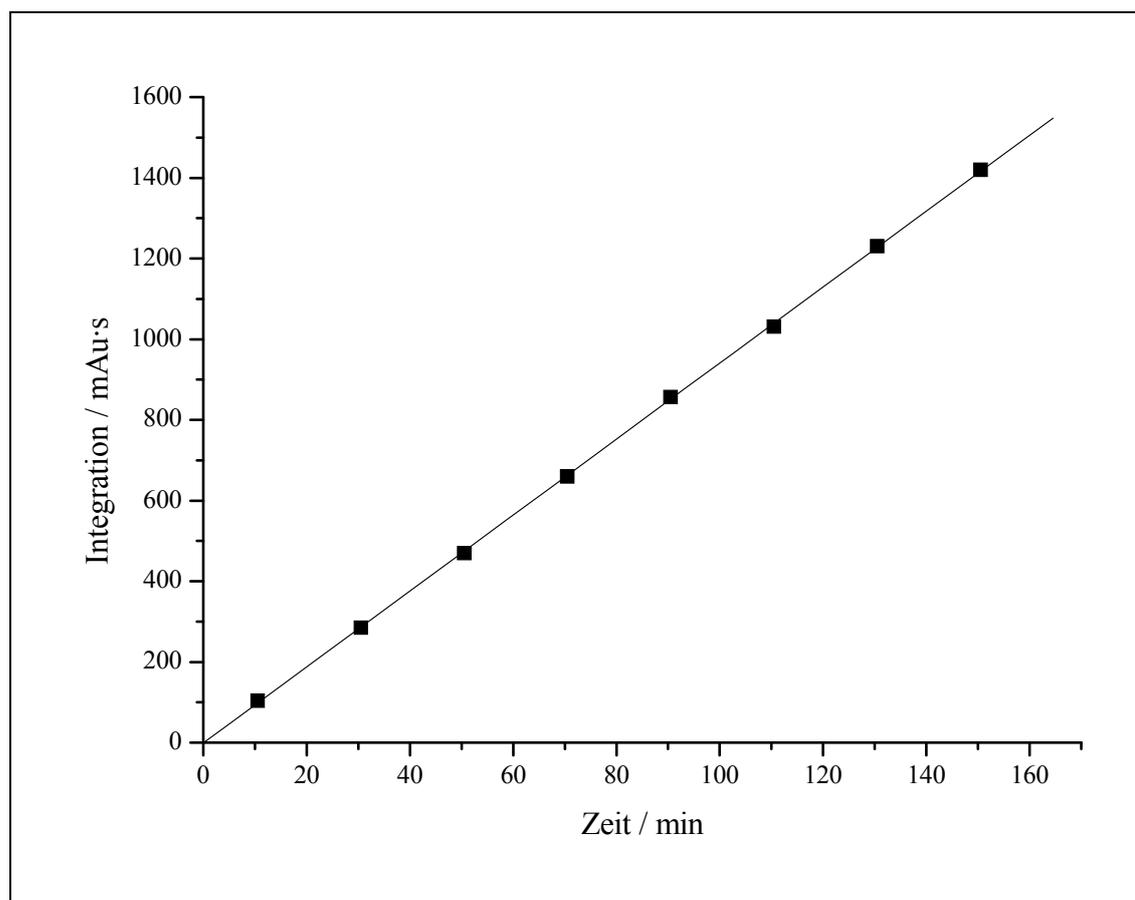


Abb.136: Referenzmessung

Zur Auswertung wird die Integration des Cumolhydroperoxidpeaks bei 4.3 min gegen die Messzeit aufgetragen (Abb.136).

Aus dem Graphen ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(9.42 \pm 0.04) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(0.89 \pm 4.11) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Die Steigung der Gerade liegt bei Scherrers bei 9.36 mAu·s/min und stimmt damit gut mit der hier bestimmten Steigung von 9.42 mAu·s/min überein. Damit ist gezeigt, dass die Messungen, trotz einer (unbekannten) Änderung des Laufmittels, reproduzierbar sind. An dieser Stelle wird der Vorteil des gewählten Radikalstarters AMVN **78** offensichtlich, denn er zerfällt langsam und vor allem kontinuierlich mit der Zeit. Dies führt dazu, dass die Reaktion pseudo nullter Ordnung, bezogen auf Sauerstoff, Cumol **77** und AMVN **78**, verläuft. Daher erhält man bei der Referenzmessung eine Gerade (Abb.136). Dies gewährleistet reproduzierbare Messergebnisse.

Um die Messergebnisse mit denen von Scherrers vergleichen zu können, werden die Carotinoide bei einer Konzentration von $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L vermessen. Dies ist die kleinste Konzentration, bei der Schmidt und Scherrers gemessen haben. Um diese Konzentration im Reaktionsgemisch zu erhalten, wird eine Stammlösung von $5 \cdot 10^{-4}$ mol/L in Chlorbenzol angesetzt. Cumol **77** ist im Reaktionsgemisch mit 3.6 mol/L im deutlichen Überschuss zum Antioxidans vorhanden. Der Radikalstarter **78** wird in einer 0.45 M Stammlösung angesetzt und liegt effektiv zu Beginn der Reaktion bei einer Konzentration von 0.045 mol/L vor.

Zu Beginn der Reaktion setzten sich die effektiven Konzentrationen der Reaktionspartner wie folgt zusammen:

- Cumol: 3.6 mol/L
- AMVN: 0.045 mol/L
- Carotinoid: 0.0002 mol/L

Bei höheren Konzentrationen an Antioxidans treten bei einigen in dieser Arbeit synthetisierten Carotinoiden starke Löslichkeitsprobleme auf. Auch bei der hier gewählten, relativ geringen Konzentration war es teilweise nötig, die Stammlösungen im Ultraschallbad zu behandeln, um die Carotinoide in Lösung zu bringen.

Durch die phenolischen Hydroxygruppen sind die Carotinoide zum Teil sehr polar im Vergleich zum Chlorbenzol. Das als ausgezeichnete Antioxidans bekannte Resveratrol **82** ist fast gar nicht löslich, da es drei phenolische Gruppen beinhaltet.

Es ist aber nachgewiesen worden, dass die Inhibitionszeiten mit der Konzentration an Antioxidans linear ansteigen^[23]. Daher ist es nicht nötig noch höhere Konzentrationen zu vermessen, die ohnehin aus physiologischer Sicht nicht sinnvoll sind, da solche Mengen normalerweise nicht in einer Zellmembran vorkommen sollten.

Chlorbenzol hat ansonsten den Vorteil sehr viele Carotinoide und andere Antioxidantien zu lösen. Als weitere Vorteile hat Chlorbenzol einen hohen Dampfdruck und reagiert nicht mit den erzeugten reaktiven Spezies.

Die hier diskutierten phenolischen Carotinoide sind sehr gut in Tetrahydrofuran und Dimethylsulfoxid löslich. Man könnte eine bessere Löslichkeit in Chlorbenzol erreichen, wenn man die Carotinoide in geringen Mengen eines solchen Lösemittels anlöst und dann mit Chlorbenzol auffüllt. Allerdings liegen diese Lösemittel selbst dann im Vergleich zum Antioxidans im großen molaren Verhältnis vor. Dies ist nicht von Vorteil, da diese in die Radikalkette eingreifen können. So bildet z. B. Tetrahydrofuran selbst Peroxide. Daraus resultiert eine deutlich flachere Steigung der Referenzmessung und führt zu erheblich längeren Messzeiten.

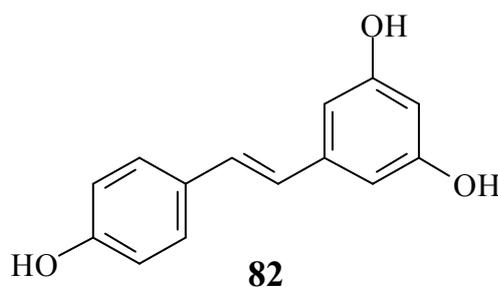


Abb.137: Resveratrol **82**

2.4.2 Messung von BHT-Carotinoid

Das BHT-Carotinoid **13** hat sich in Vorarbeiten als ein sehr gut wirksames Antioxidans erwiesen^[69, 70]. Aufgrund der phenolischen Hydroxygruppen, in para-Stellung zur Polyenkette, ist es mit dem Naturstoff 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** strukturverwandt.

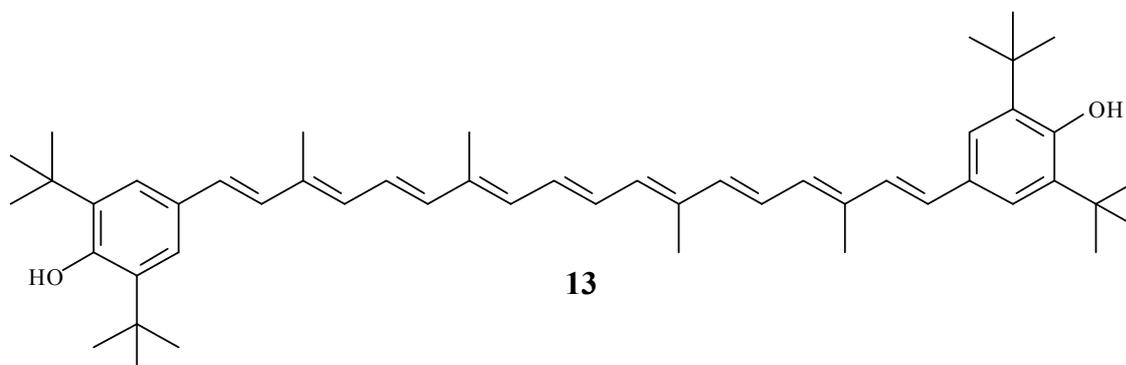


Abb.138: BHT-Carotinoid **13**

Abb.139 zeigt die Integration des UV-Signals von Cumolhydroperoxid **80** als ein Maß für die Cumolhydroperoxidkonzentration als Funktion der Reaktionszeit für die Oxidation in Gegenwart von BHT-Carotinoid **13**. Man erkennt deutlich, dass die Cumolhydroperoxidbildung im Vergleich zur Referenzmessung stark unterdrückt wird.

Ab 200 min geht die Kurve wieder in eine Gerade über, die von der Steigung ungefähr der Referenzmessung entspricht. Verlängert man diese Gerade bis zur x-Achse, erhält man aus dem x-Achsenabschnitt die Inhibitionszeit^[23].

Dadurch lassen sich die Carotinoide, auf ihr Potential Peroxidradikale abzufangen, untereinander vergleichen. Für das BHT-Carotinoid **13** ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(9.52 \pm 0.48) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(1087 \pm 112) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Daraus errechnet sich die Inhibitionszeit x zu $(114.2 \pm 5.7) \text{ min}$.

Der Abbau des BHT-Carotinoids **13** lässt sich gut verfolgen, da das Carotinoid frühzeitig bei ungefähr 1.4 min von der Säule eluiert wird, ohne von anderen Peaks überlagert zu werden. Bis 45 min wird die Peroxidbildung komplett unterdrückt. Obwohl danach kein BHT-Carotinoid **13** mehr detektierbar ist, ist die Reaktion immer noch langsamer als die Referenz. Daraus lässt sich schließen, dass die Abbauprodukte ebenfalls antioxidativ wirksam sind.

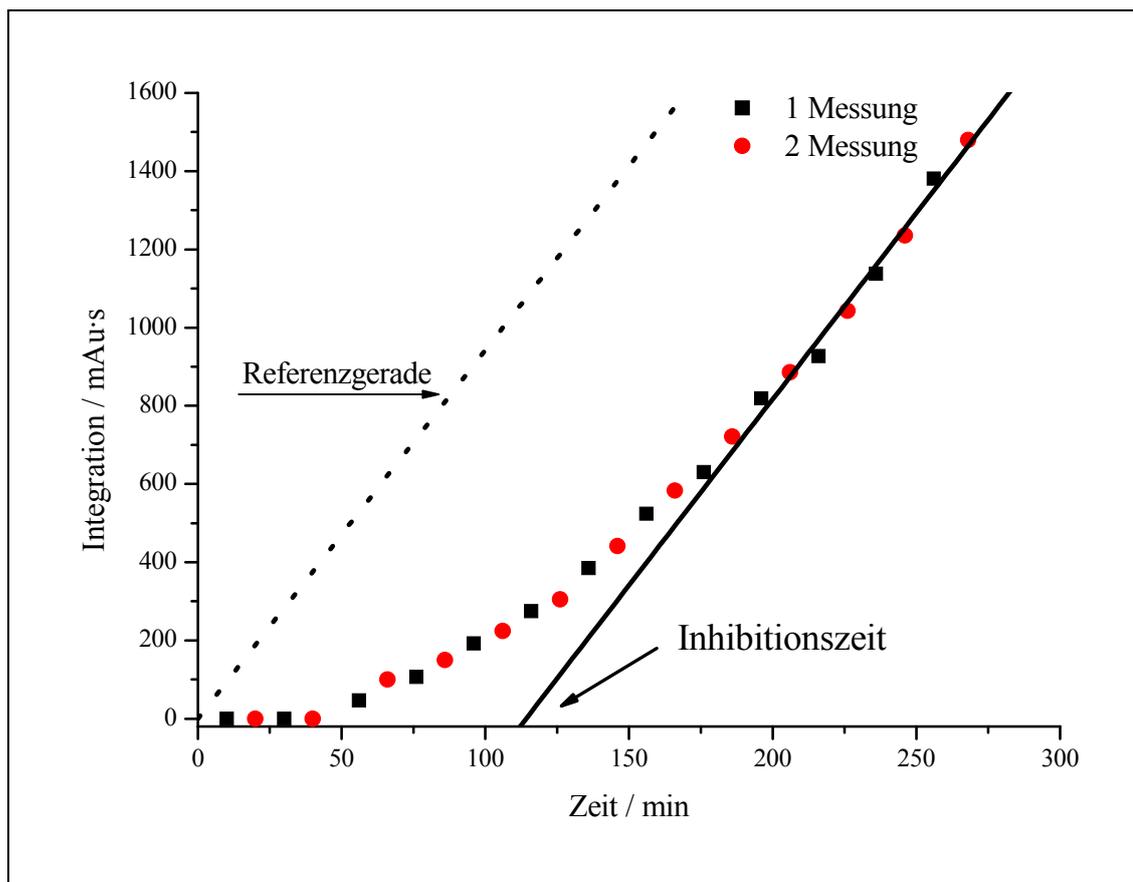


Abb.139: Messung von BHT-Carotinoid **13** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Zur genauen Verfolgung des Abbaus des BHT-Carotinoids **13** wurde die Messung variiert. Dazu wurde alle 5 min eine Probe aus einem Reaktionsgefäß untersucht (ansonsten immer alle 10 min abwechselnd aus zwei Reaktionsgefäßen). Dies ist hier allerdings nur möglich, da wie oben erwähnt, alle Reaktionskomponenten bereits nach kurzer Zeit von der HPLC-Säule gespült werden.

Man erkennt, dass schon nach 5 min die chinoide Form **36** mit $\lambda_{\max} = 548$ nm (*n*-Hexan/Isopropanol 99:1) entstanden ist (Abb.140). Der weitere Abbau des gebildeten Chinons **36** verläuft linear (Abb.141).

Daher war es nun interessant zu sehen, wie sich der Messverlauf des reinen BHT-Chinons **36** darstellen würde, um Rückschlüsse ziehen zu können, inwieweit diese Verbindung an der antioxidativen Wirkung des BHT-Carotinoids **13** beteiligt ist.

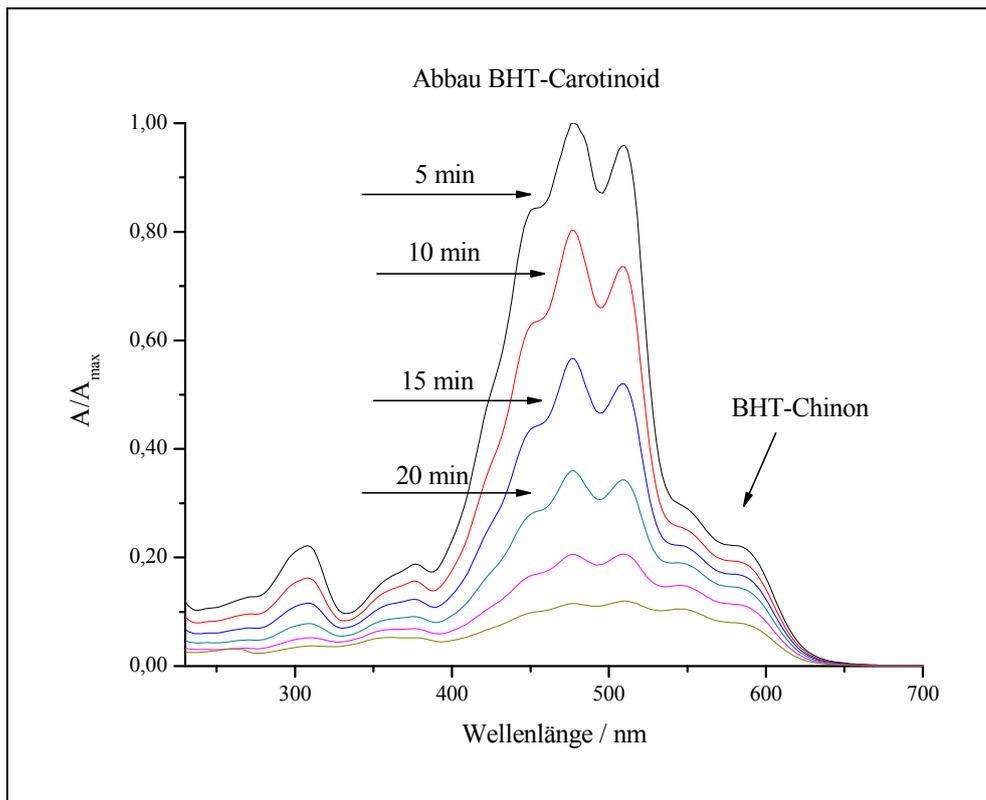


Abb.140: UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan/Isopropanol 99:1): Abbau des BHT-Carotinoids 13

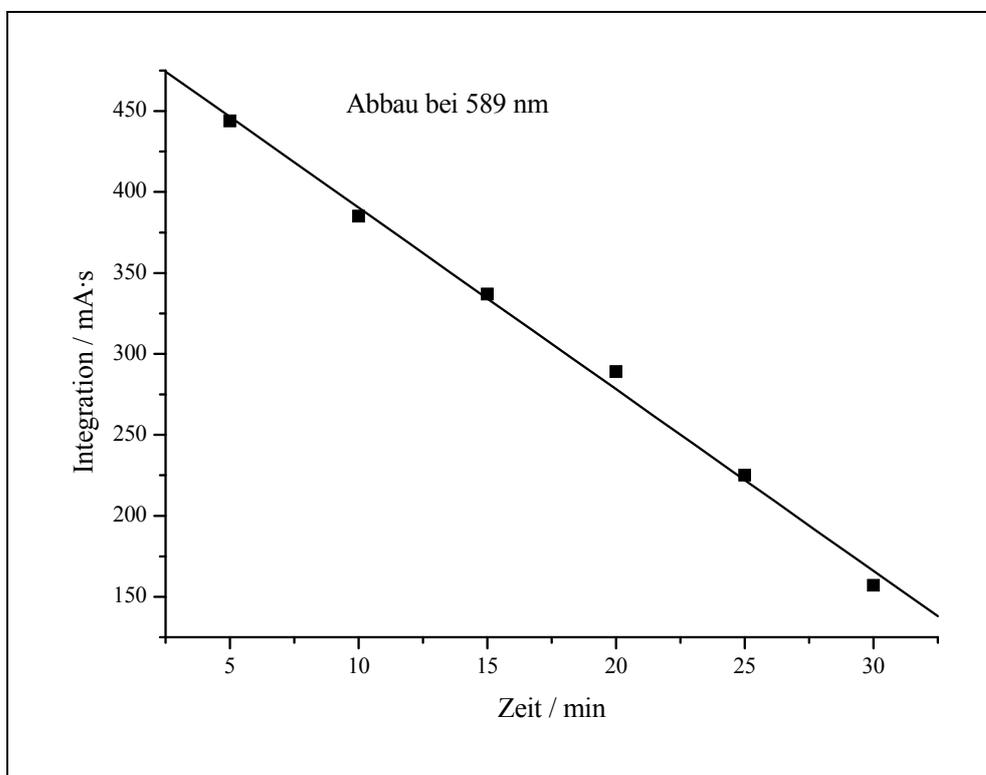


Abb.141: Abbau des BHT-Chinons bei 589 nm

2.4.3 Messung von BHT-Chinon

Das BHT-Chinon **36** ist das Oxidationsprodukt des BHT-Carotinoids **13**. Es konnte im letzten Kapitel gezeigt werden, dass es unter den Reaktionsbedingungen dieses Assays frühzeitig gebildet wird. Durch die Untersuchung soll geklärt werden, welchen Anteil die chinoide Form **36** am antioxidativen Potential des Bisphenols **13** innehat.

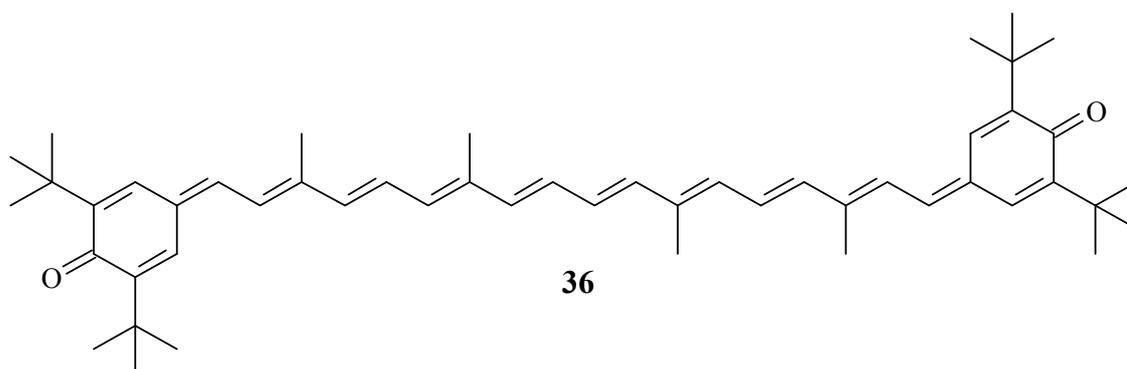


Abb.142: BHT-Chinon **36**

BHT-Chinon **36** stellt ein sehr gutes Antioxidans dar. Die Kurve (Abb.143) zeigt einen ähnlichen Verlauf wie das BHT-Carotinoid **13** in einem Bereich ab 40 min. Zum Vergleich ist die Gerade zur Bestimmung der Inhibitionszeit des BHT-Carotinoids **13** mit in die Abbildung eingezeichnet.

Nach 170 min geht die Kurve in eine Gerade über. Wie beim BHT-Carotinoid **13**, wo **36** ein Reaktionsprodukt ist, wird das BHT-Chinon **36** linear mit der Zeit abgebaut. Es ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(8.93 \pm 0.23) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(683 \pm 47) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Daraus erhält man eine Inhibitionszeit von (76.5 ± 3.2) min für das BHT-Chinon **36**.

Im Vergleich der Inhibitionszeiten der beiden Carotinoide **13** und **36** ergibt sich ein Unterschied von 37.7 min. Dies kann man als die Inhibitionszeit annehmen, die durch die phenolischen Hydroxygruppen, im Vergleich zu **36**, gewonnen wird.

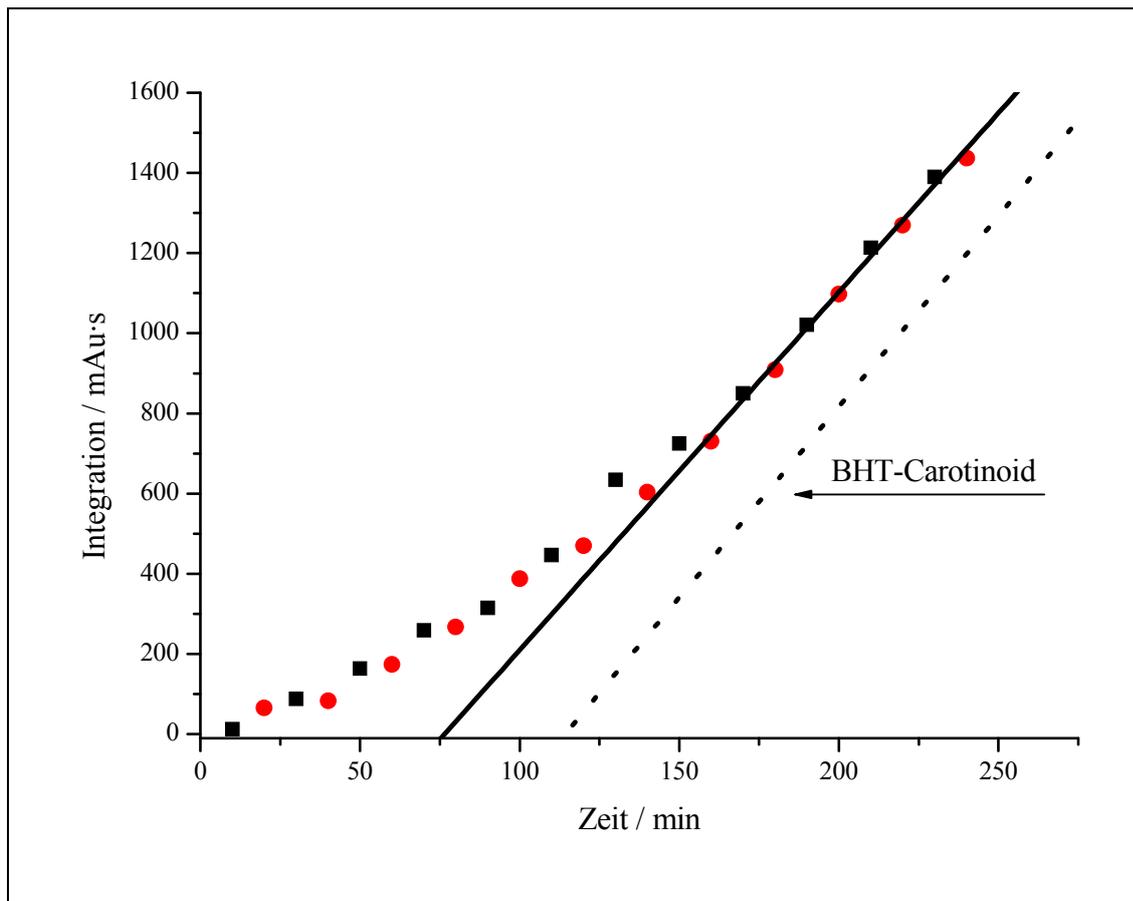


Abb.143: Messung von BHT-Chinon **36** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

2.4.4 Messung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin

Auf der Suche nach Leitstrukturen für gute antioxidative Eigenschaften hat sich gezeigt, dass das künstliche BHT-Carotinoid **13** ein außergewöhnliches antioxidatives Potential innehat. Da die Natur ein mit **13** strukturverwandtes Carotinoid **9** hervorgebracht hat, war es im Arbeitskreis Martin von großem Interesse, ob **9** ebenfalls ein starkes Antioxidans darstellt.

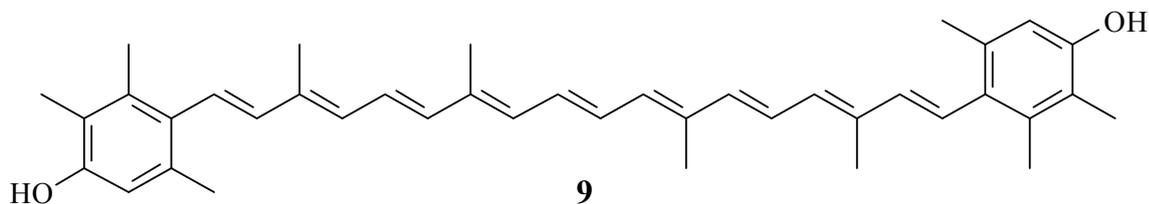


Abb.144: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

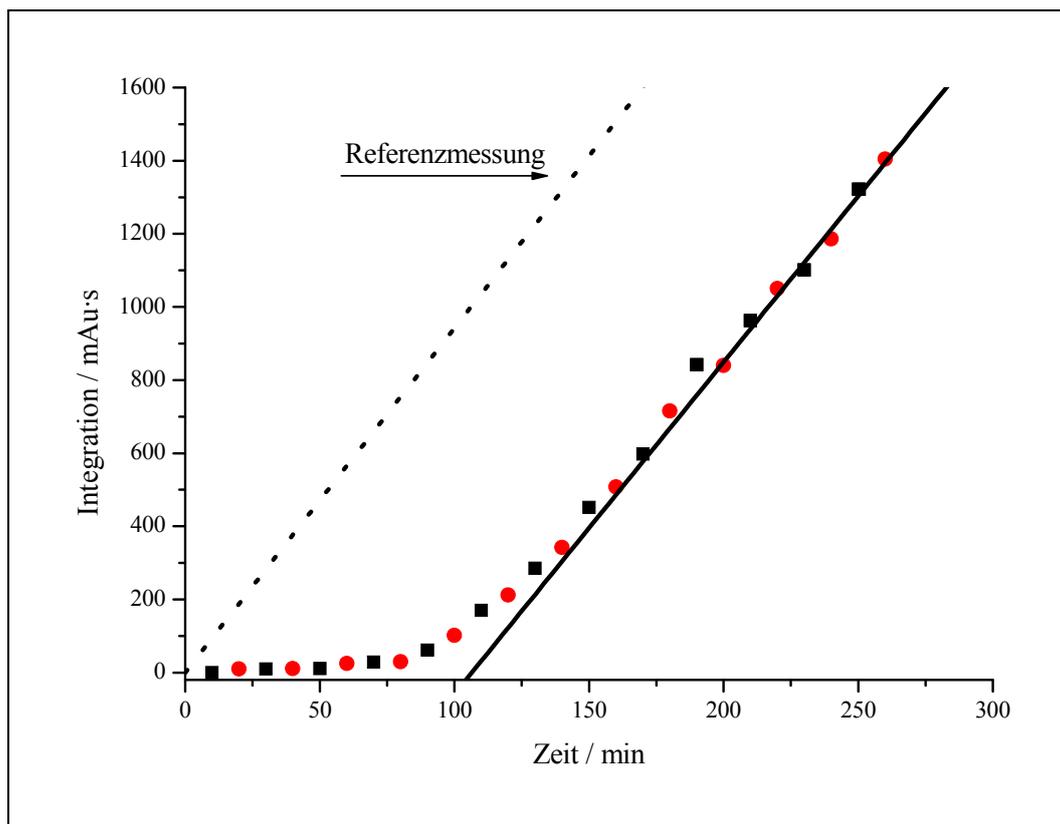


Abb.145: Messung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Beim Ansetzen der Maßlösung löst sich das Carotinoid **9** zunächst nicht vollständig in Chlorbenzol. Daher war es nötig, den Messkolben 30 min im Ultraschall zu belassen. Danach waren keine Partikel mehr sichtbar, aber die Mischung zeigte noch eine geringe Trübung. Die Messergebnisse sind dennoch gut reproduzierbar. Es ergibt sich folgende Geradengleichung: $y = [(9.08 \pm 0.43) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(967 \pm 99) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$

Daraus ergibt sich eine Inhibitionszeit von (106.5 ± 5.6) min. Scherrers hat das Carotinoid **9** in mehreren Konzentrationen vermessen und ermittelte bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L eine etwas bessere Inhibitionszeit von 111.6 min, die aber im Rahmen der Messgenauigkeit liegt^[23]. Es konnte in diesem Assay gezeigt werden, dass **9**, im Vergleich zu anderen natürlichen Carotinoiden wie z. B. Astaxanthin **2**, eine besonders hohe antioxidative Wirkung zeigt. Im Vergleich zum BHT-Carotinoid **13** inhibiert **9** die Reaktion ungefähr acht Minuten kürzer. Wie beim BHT-Carotinoid **13** entsteht während der Reaktion das entsprechende Chinon **11**. Das Chinon **11** ließ sich zwar im Rahmen der Messzeit nicht detektieren, aber man kann **11** gut visuell an der entstehenden blauen Farbe der Reaktionslösung erkennen.

2.4.5 Messung von 3,4-Dihydro-4,3'-*retro*- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion

Durch die Oxidation von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** entsteht analog zum BHT-Carotinoid **13** ein doppelchinoides System, das *retro*-Carotinoid **11** (Abb.146). Es war zu vermuten, dass dieses Carotinoid **11** einen entscheidenden Anteil am antioxidativen Potential von **9** haben sollte.

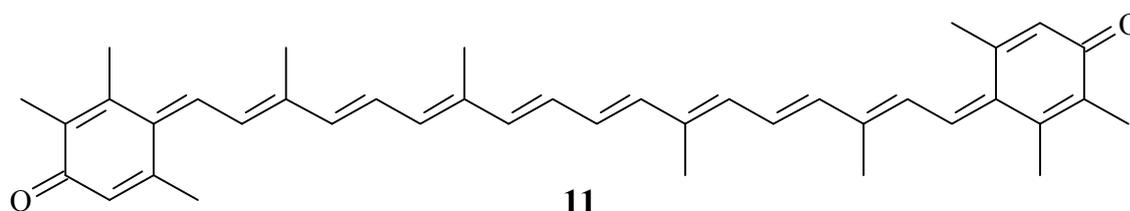


Abb.146: 3,4-Dihydro-4,3'-*retro*- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion **11**

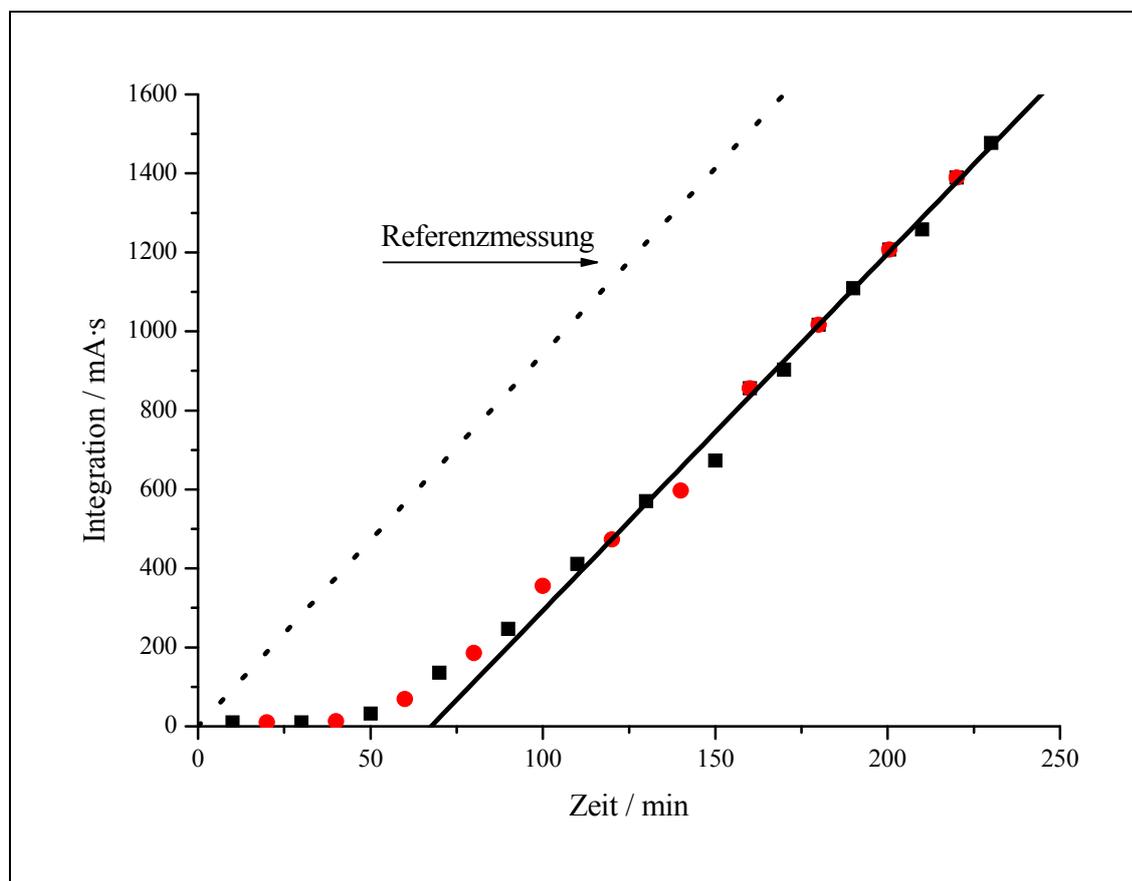


Abb.147: Messung von 3,4-Dihydro-4,3'-*retro*- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion **11** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Um das Carotinoid **11** in Chlorbenzol zu lösen, musste der Messkolben 15 min im Ultraschallbad behandelt werden. Die erhaltene Lösung ist tiefblau gefärbt.

Aus den Messungen ergibt sich folgende Geradengleichung zur Bestimmung der Inhibitionszeit:

$$y = [(9.04 \pm 0.28) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(611 \pm 56) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Man erhält eine Inhibitionszeit von $(67.6 \pm 3.9) \text{ min}$.

Der Abbau konnte nicht verfolgt werden, da das Carotinoid **11** während der Messzeit nicht zu detektieren war.

Aus dem Vergleich von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR) und **11** ergibt sich ein Unterschied in den Inhibitionszeiten von 39 min (Abb.148). Dies ist im Rahmen der Meßungengenauigkeit der gleiche Wert, wie die Differenz der Inhibitionszeiten bei dem BHT-Carotinoid **13** und BHT-Chinon **36**. Der Wert entspricht der inhibierenden Wirkung der phenolischen Hydroxygruppen.

Da das BHT-Carotinoid stärker antioxidativ wirksam war als **9**, resultiert dieser Unterschied folglich aus den unterschiedlichen antioxidativen Potentialen der entsprechenden Chinone **36** und **11**, die während der Reaktion gebildet werden.

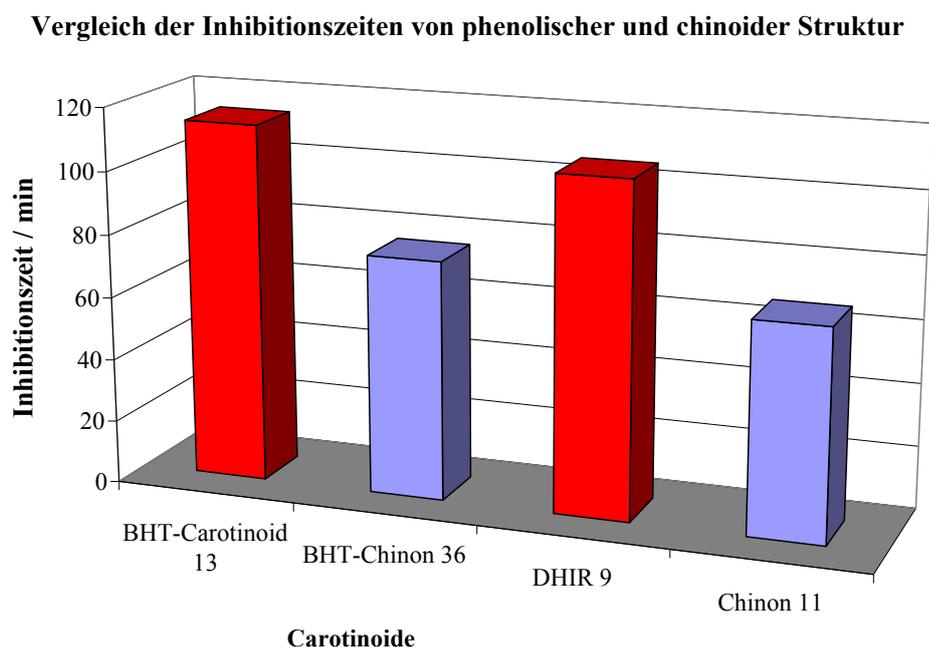


Abb.148: Vergleich von Carotinoiden mit phenolischer und chinoider Struktur

2.4.6 Messung von 3-Hydroxyisorenieratin

3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** hat sich als ein sehr starker antioxidativer Wirkstoff herausgestellt. Welchen Einfluss haben die phenolischen Hydroxygruppen nun wirklich auf die Inhibition der Reaktion? Um dies zu untersuchen wurde im Rahmen dieser Arbeit der Naturstoff 3-Hydroxyisorenieratin **10** synthetisiert. Im Vergleich zu **9** wurde bei **10** eine phenolische Hydroxygruppe durch ein Wasserstoffatom ersetzt. Daraus resultiert, dass **10** kein doppelchinoides System mehr ausbilden kann.

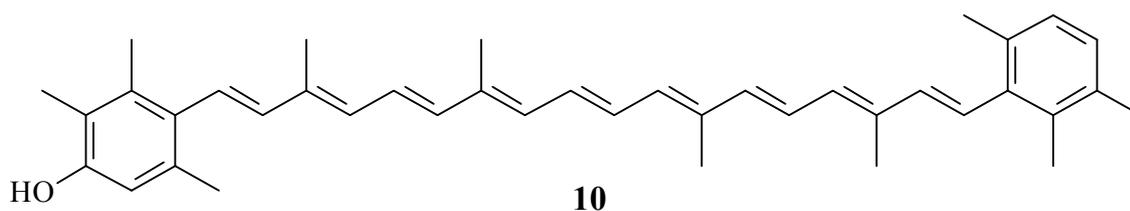


Abb.149: 3-Hydroxyisorenieratin **10**

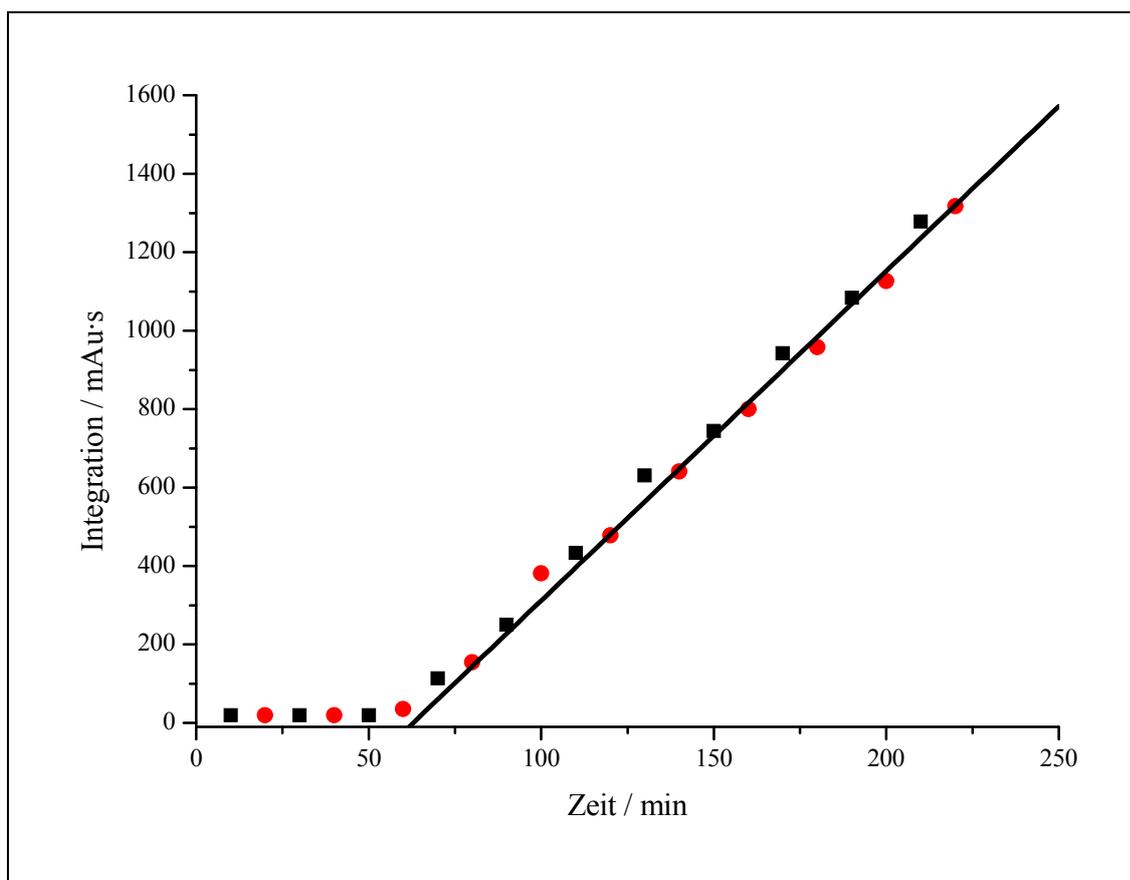


Abb.150: Messung von 3-Hydroxyisorenieratin **10** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Es ist erkennbar, dass 3-Hydroxyisorenieratin **10** und seine Abbauprodukte die Peroxidbildung zunächst stark unterdrücken (Abb.150). Danach steigt die Kurve im Gegensatz zum BHT-Carotinoid **13** schnell an. Aus den Messungen ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(8.41 \pm 0.45) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(528 \pm 85) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Daraus ergibt sich eine Inhibitionszeit von (62.8 ± 6.4) min. Im Vergleich zu anderen natürlichen Carotinoiden, die auch gute Antioxidantien darstellen (wie z. B. Astaxanthin **2**), ist 3-Hydroxyisorenieratin **10** ein sehr gutes Antioxidans. Trotzdem ist die Inhibitionszeit bei 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** um bemerkenswerte 44 min länger als bei **10**, was die Stärke der antioxidativen Wirkung der bisphenolischen Struktur, in para-Stellung zur Polyenkette, unterstreicht.

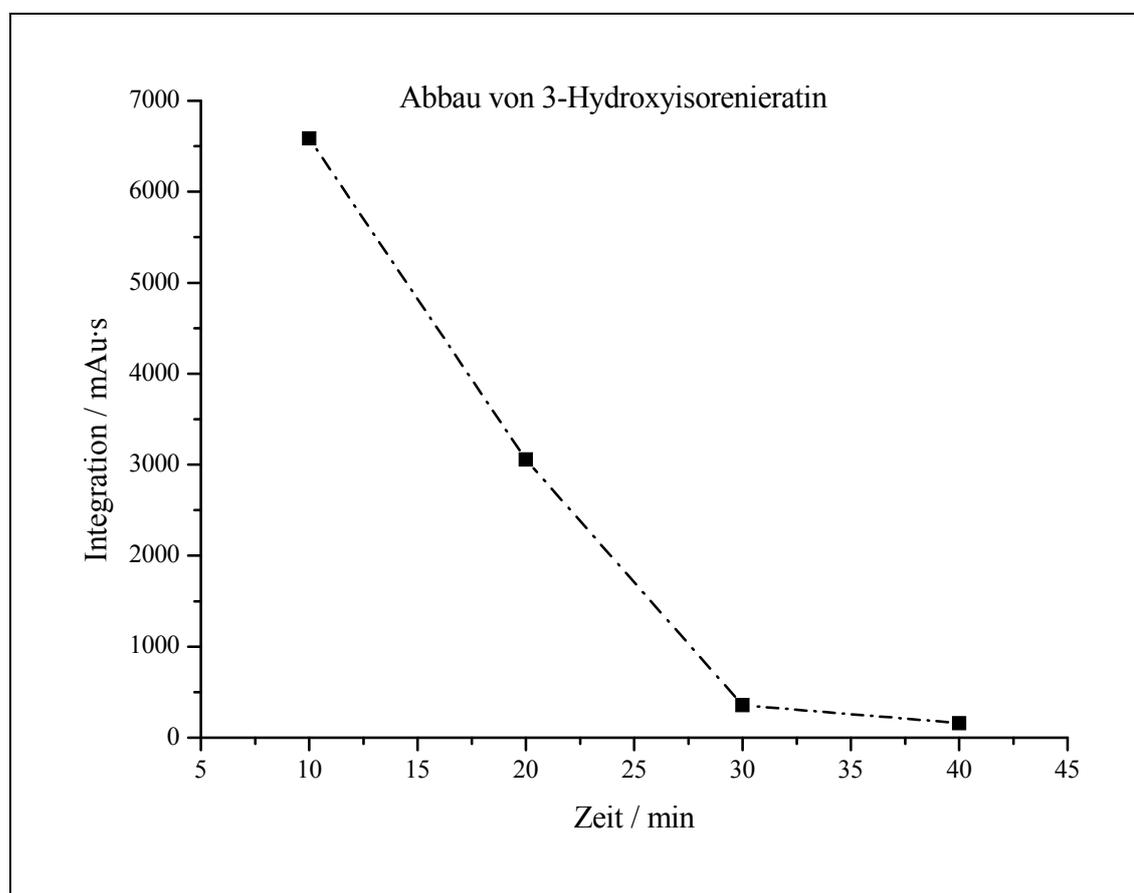


Abb.151: Abbau von 3-Hydroxyisorenieratin bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Der Abbau von 3-Hydroxyisorenieratin **10** wurde bei 470 nm detektiert. Dieser verläuft annähernd linear.

2.4.7 Messung von Isorenieratin

Bei dem natürlich vorkommenden aromatischen Carotinoid Isorenieratin **12** sind, im direkten Vergleich mit 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**, beide phenolische Hydroxygruppen durch Wasserstoffatome ersetzt. Damit konnten alle bekannten, aromatischen Carotinoide aus dem *Brevibacterium linens* im Rahmen dieser Arbeit auf ihre antioxidative Wirkung untersucht werden.

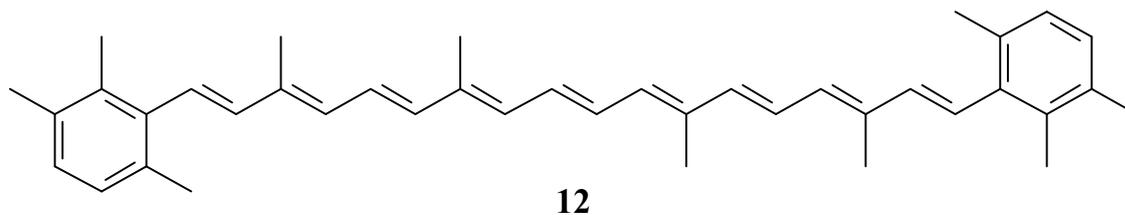


Abb.152: Isorenieratin **12**

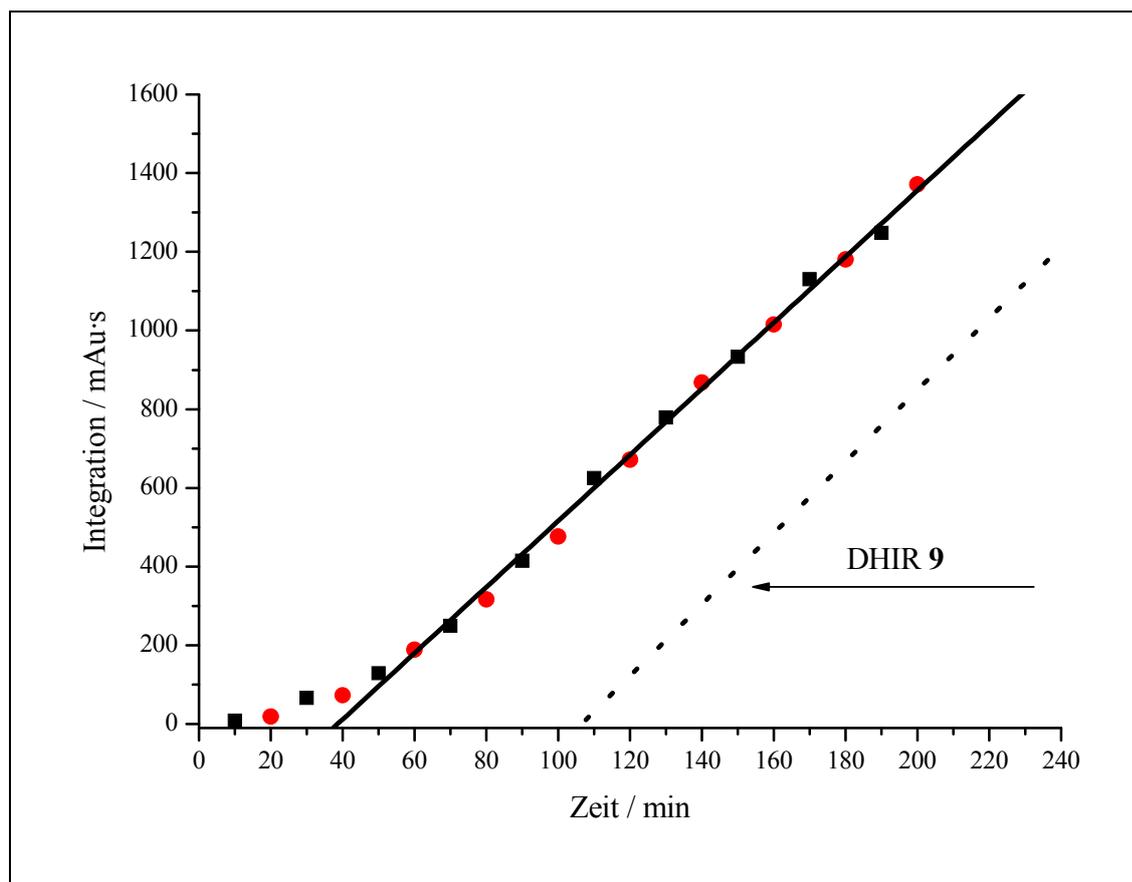


Abb.153: Messung von Isorenieratin **12** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Im Vergleich zum BHT-Carotinoid **13** oder 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR) geht die Kurve nach sehr kurzer Zeit wieder in eine Gerade über. Dies zeigt die Bedeutung

der phenolischen Hydroxygruppen, die bei **12** fehlen. Als Geradengleichung erhält man über zwei Messungen: $y = [(8.40 \pm 0.47) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(324 \pm 83) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$

Daraus ergibt sich eine Inhibitionszeit von $(38.6 \pm 7.3) \text{ min}$.

Damit liegt Isorenieratin **12** qualitativ in etwa im Bereich von β -Carotin **1**^[69], aus dem es auch in der Biosynthese entsteht. Die Inhibitionszeit ist ungefähr 24 min kürzer als beim 3-Hydroxyisorenieratin **10**. Durch die zweite phenolische Gruppe im DHIR **9** verlängert sich die Inhibitionszeit, im Vergleich zu **12**, um bemerkenswerte 68 min auf 107 min.

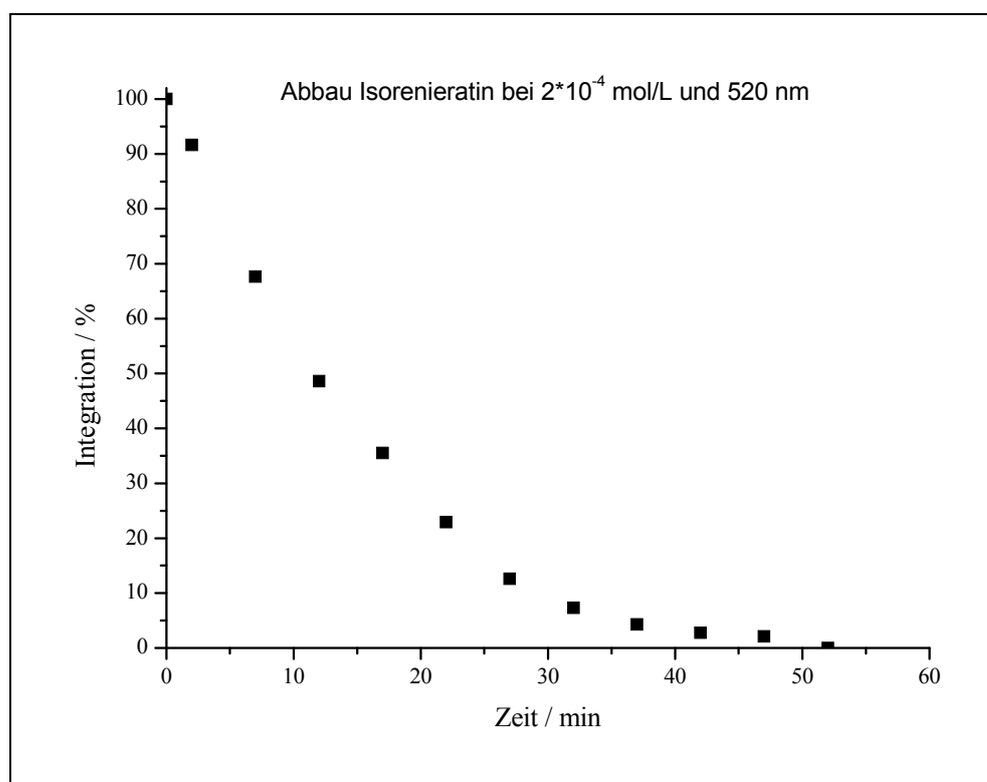


Abb.154: Abbau von Isorenieratin bei 520 nm

Isorenieratin **12** ist ein unpolares Carotinoid und eluiert bei der Messung früh von der Säule. Daher ist sein Abbau gut zu verfolgen. Dafür wurden alle 5 min Proben aus einem Reaktionsgefäß gezogen und untersucht. Der exponentielle Abfall der Kurve ist charakteristisch für die meisten Carotinoide. Nach 40 min ist **12** praktisch vollständig abgebaut. Der steile Anstieg nach 40 min zeigt an (Abb.153), dass die Abbauprodukte des Isorenieratins **12** eine schlechte antioxidative Wirkung haben.

2.4.8 Messung von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin

Es konnte bisher gezeigt werden, dass die phenolischen Hydroxygruppen, in para-Stellung zur Polyenkette, für eine große antioxidative Wirkung wesentlich sind. Wie wirkt sich nun bei der Struktur des DHIR **9** ein Ersatz der Methylgruppen durch Wasserstoffatome aus? Durch das Entfernen der Methylgruppen in 1- und 5-Position ist die Struktur koplanar, was sich positiv in der Stabilisierung von Radikalen auswirken sollte.

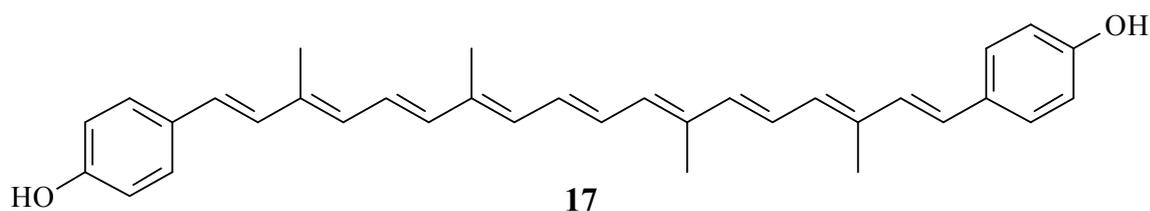


Abb.155: Para-Carotenoid 17

Das para-Carotenoid **17** konnte nur als Suspension in Chlorbenzol angesetzt werden. Auch 60 min Behandlung im Ultraschallbad führten nicht zu einer verbesserten Löslichkeit. Rein visuell ist die Suspension deutlich weniger Farbtensiv als die Lösungen der anderen phenolischen Carotinoide. Es kommt zu einer stark hypsochromen Verschiebung (< 350 nm) im Vergleich zum Monomerenspektrum (ca. 470 nm) durch H-Aggregation. Selbst eine weitere Verdünnung um den Faktor zehn brachte keine vollständige Löslichkeit.

Man kann annehmen, dass es während der Messung zu einem schrittweisen Nachlösen des verbrauchten Carotinoids **17** (bei 37 °C) kommt. Aus diesen Gründen ergibt sich fast über den gesamten Messzeitraum eine lineare Peroxidbildung (Abb.155). Die Steigung der Geraden liegt aber deutlich unter der der Referenzmessung.

Das Carotenoid **17** ist so polar, dass es während der Messung nicht beobachtet werden kann, da es erst weit nach 30 min von der HPLC-Säule eluiert. Eine blaue Verfärbung der Suspension, die die Entstehung der chinoiden Form anzeigen würde, ist visuell nicht erkennbar.

Man erhält folgende Geradengleichung:

$$y = [(6.38 \pm 0.36) \text{ mAu}\cdot\text{s}/\text{min}] \cdot x - [(280 \pm 66) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Es ergibt sich eine Inhibitionszeit von (43.9 ± 7.4) min.

Damit ist das para-Carotinoid **17** in diesem Assay deutlich schlechter antioxidativ wirksam als DHIR **9** und BHT-Carotinoid **13**.

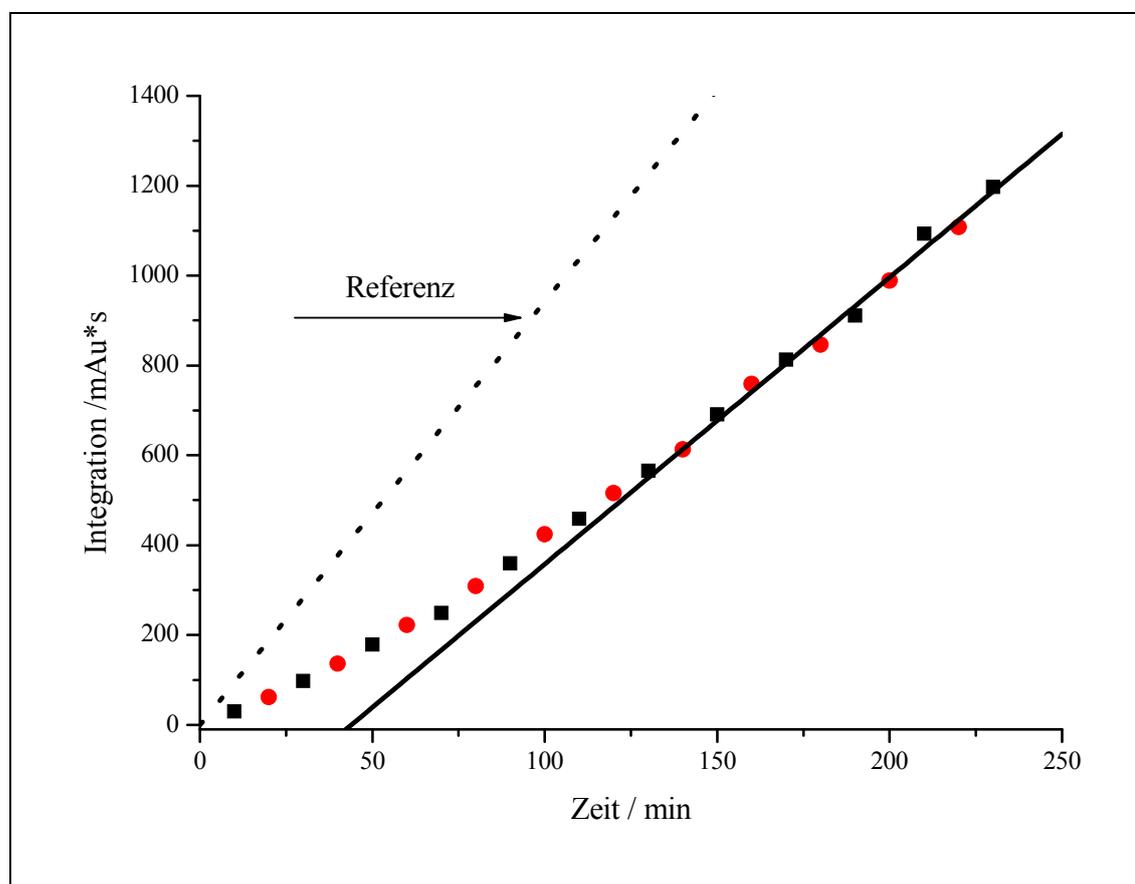
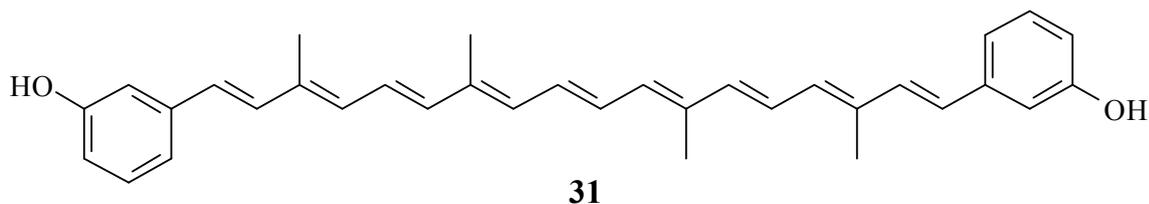
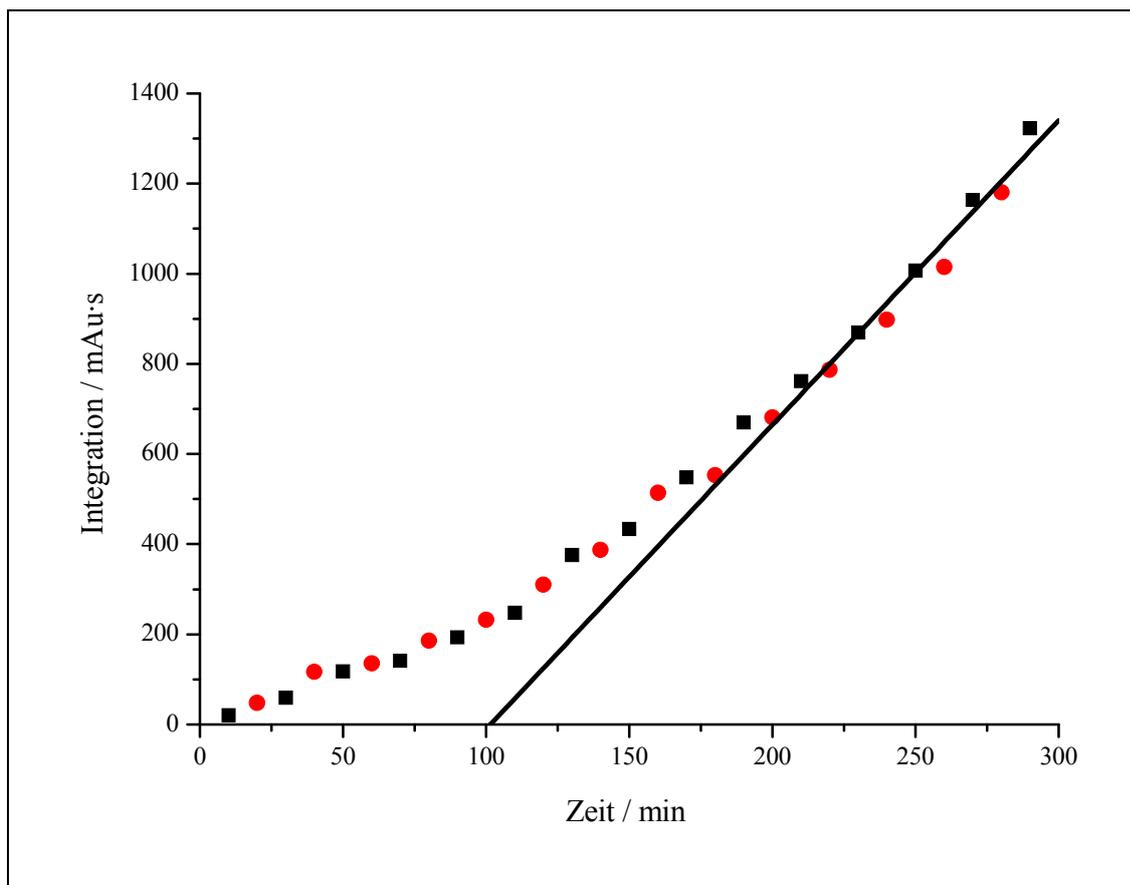


Abb.156: Messung von para-Carotinoid **17** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

2.4.9 Messung von 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin

Durch die „Verschiebung“ der phenolischen Hydroxygruppen von der para- in die meta-Position zur Polyenkette sollten sich Unterschiede im antioxidativen Verhalten ergeben. Das meta-Carotinoid **31** kann im Vergleich zum para-Carotinoid **17** kein doppelt-chinoides System ausbilden, welches sich beim DHIR und BHT-Carotinoid als äußerst antioxidativ wirksam herauskristallisiert hat.

Abb.157: Meta-Carotinoid **31**Abb.158: Messung von 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **31** bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L

Zur Ansetzung der Stammlösung wurde die Probe 60 min im Ultraschall behandelt. Danach waren visuell keine Partikel mehr erkennbar, wenn gleich die rote Lösung noch eine leichte Trübung aufwies. Die Messergebnisse waren dennoch reproduzierbar. Insgesamt zeigt **31** eine deutlich bessere Löslichkeit als das para-Carotinoid **17**. Der Graph steigt im Gegensatz zu anderen gemessenen Carotinoiden kontinuierlich an, ohne einen starken Knick aufzuweisen. Dies ist ein Hinweis darauf, dass das Carotinoid zwar verhältnismäßig schnell abgebaut wird, aber die Abbauprodukte lange antioxidativ wirksam sind.

Aus dem Diagramm (Abb.158) ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(6.75 \pm 0.38) \text{ mAu}\cdot\text{s/min}] \cdot x - [(685 \pm 94) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Daraus resultiert eine Inhibitionszeit von $(101.5 \pm 7.8) \text{ min}$.

2.4.10 Messung von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanon- Φ,Φ -carotin

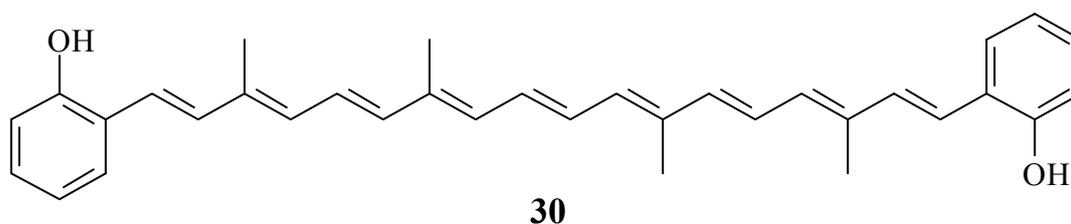


Abb.159: Ortho-Carotinoid **30**

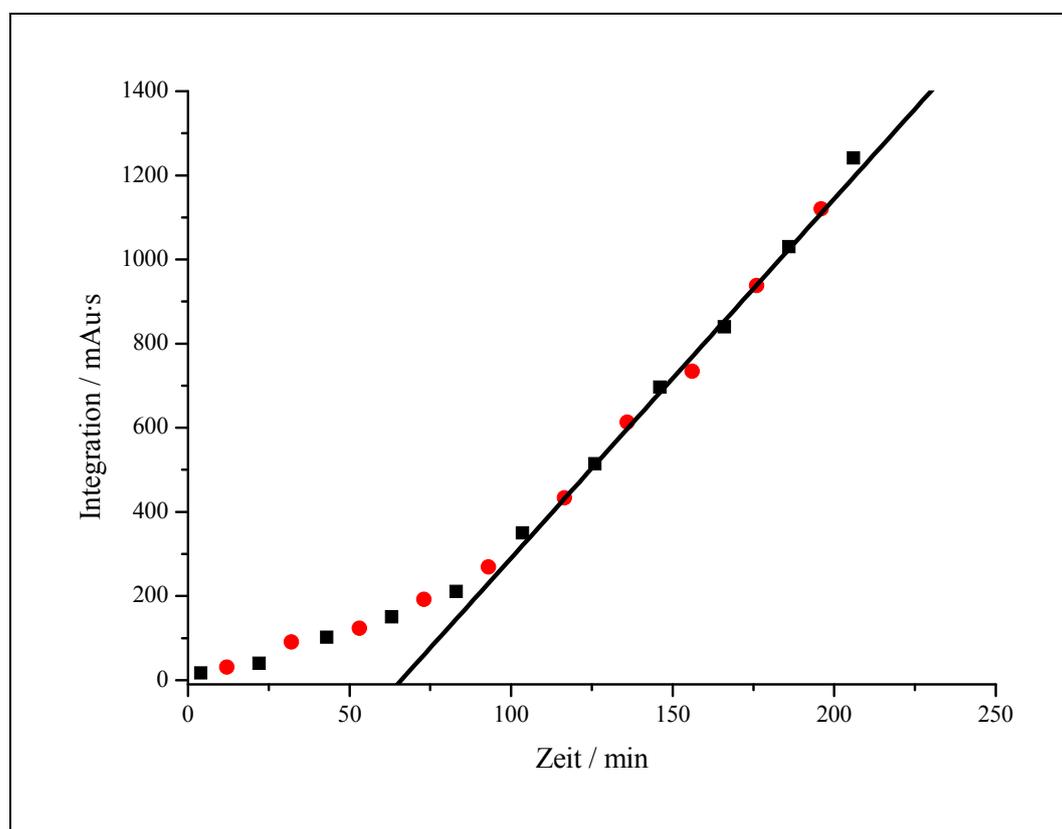


Abb.160: Messung von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanon- Φ,Φ -carotin bei $2 \cdot 10^{-4} \text{ mol/L}$

Zur Ansetzung der Stammlösung wurde die Probe 30 min im Ultraschall behandelt. Aus dem Diagramm ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = [(8.54 \pm 0.37) \text{ mAu}\cdot\text{s/min}] \cdot x - [(564 \pm 62) \text{ mAu}\cdot\text{s}]$$

Daraus resultiert eine Inhibitionszeit von $(66.0 \pm 4.3) \text{ min}$.

2.5 Diskussion der Messergebnisse des HPLC-Assays

Zum Verständnis der Wirk-Mechanismen von phenolischen Carotinoiden mit Peroxylradikalen sind einige bekannte Beobachtungen interessant, die an β -Carotin **1** gemacht worden sind. β -Carotin **1** ist ein Carotinoid, das über die Jahre hinweg häufig Gegenstand von Untersuchungen war, welche seine Radikalfängereigenschaften im Fokus hatten^[127, 128]. Von besonderer Bedeutung ist die Reaktion zwischen Carotinoid und Peroxylradikalen, die an der Autooxidation von Lipiden beteiligt sind^[129, 130]. An die Polyenkette können an verschiedenen Stellen Peroxylradikale addieren, da dann energieärmere, mesomeriestabilisierte Radikale entstehen^[131-133].

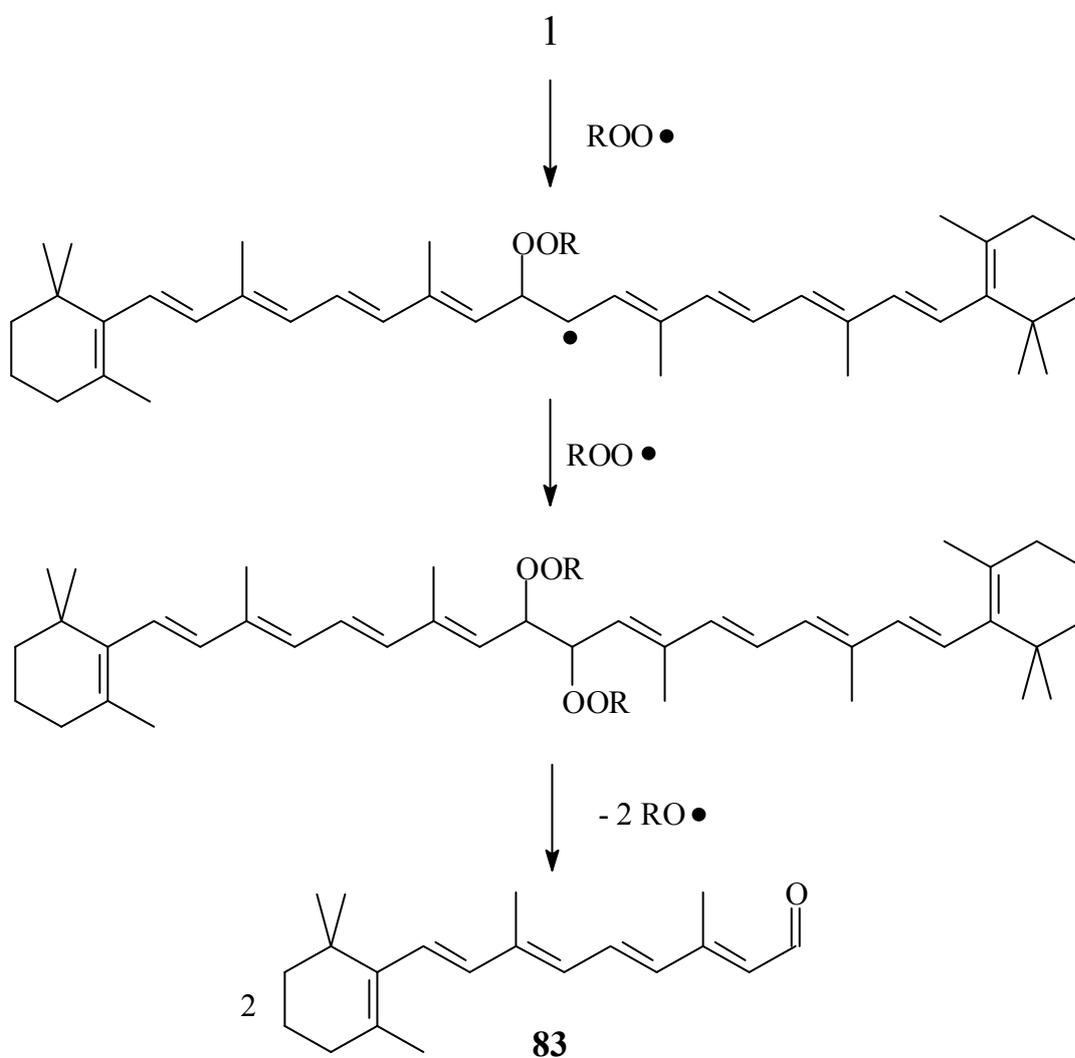


Abb.161: Abbau von β -Carotin **1** durch Radikale zu Retinal **83**

Das Carotinoid wird in der weiteren Folge sukzessive in der Radikalkettenreaktion abgebaut. Dies ist bei allen Carotinoiden an dem Verlust der charakteristischen gelb bis roten Farben visuell zu verfolgen^[134]. Kasaikina et al. fanden heraus, dass 1 mol β -Carotin **1** 7 mol Sauerstoff in Chlorbenzol verbraucht^[135]. Dabei beobachtet man viele verschiedene Epoxide und Aldehyde als Zwischen- bzw. Abbauprodukte^[136].

Des Weiteren ist die Abstraktion von Wasserstoffatomen in Allylstellung möglich, da auch in diesem Fall mesomeriestabilisierte Radikale entstehen^[69]. Insgesamt gibt es bei β -Carotin **1** für Peroxyradikale 22 Positionen zur Addition und 22 Wasserstoffatome zur H-Abstraktion.

Tsuchihashi et al. fanden, dass α -Tocopherol **84** (Vitamin E) zweiunddreißigfach reaktiver gegenüber Peroxyradikalen ist als β -Carotin **1**^[137]. Dies liegt an der phenolischen Hydroxygruppe.

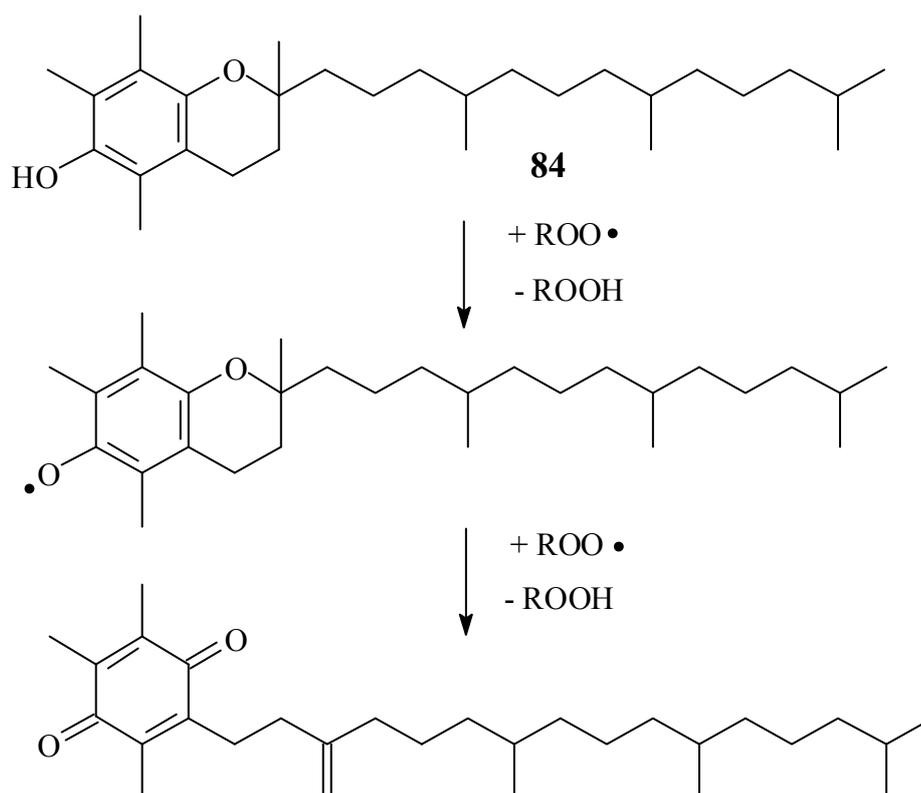


Abb.162: Reaktion von α -Tocopherol **84** mit Peroxyradikalen

In Kombination der beiden Antioxidantien wird α -Tocopherol **84** zuerst verbraucht, da das phenolische Wasserstoffatom verhältnismäßig leicht abstrahiert werden kann. Insgesamt können pro Molekül α -Tocopherol **84** zwei Radikale deaktiviert werden

(Abb.162). Man kann feststellen, dass es abhängig von der Umgebung einen Synergismus zwischen phenolischen und polyenischen Substanzen geben kann. Ideal sollten nun Verbindungen sein, bei dem beide Mechanismen in einem Molekül ablaufen können. Eine solche Verbindung ist der in seiner Struktur bisher einzigartige Naturstoff 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (Abb.163).

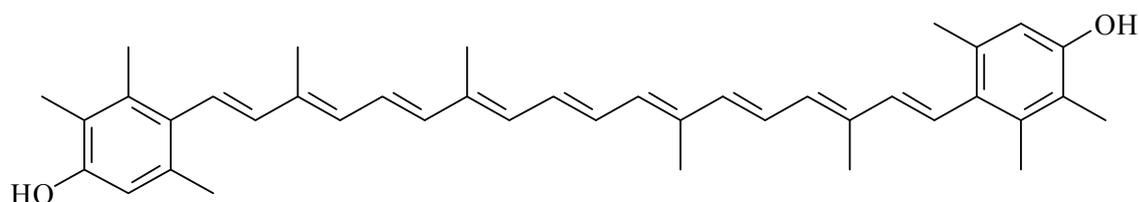


Abb.163: Der phenolische Naturstoff 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Im folgendem Diagramm (Abb.165) sind die Inhibitionszeiten, d. h. die Zeit in der die Antioxidantien die Peroxidbildung unterdrücken können, von natürlichen Carotinoiden gegeneinander aufgetragen. Die Inhibitionszeiten von Astaxanthin **2**, Canthaxanthin **6**, Zeaxanthin **5** und Cryptoxanthin **85** stammen aus der Arbeit von Scherrers^[23]. Die Werte von β -Carotin **1** und Lycopin **4** sind zum Vergleich aus der Arbeit von Schmidt abgeschätzt worden^[69].

Man muss voranstellen, dass alle diese Carotinoide bis auf DHIR **9** ausführlich in den verschiedensten Assays untersucht wurden und als gute bis sehr gute Antioxidantien eingestuft sind, wobei Astaxanthin **2** als eines der Besten gilt. Die Überlegenheit von DHIR **9** erscheint so deutlich, dass man die anderen Carotinoide im Vergleich untereinander als gleichwertig betrachten kann.

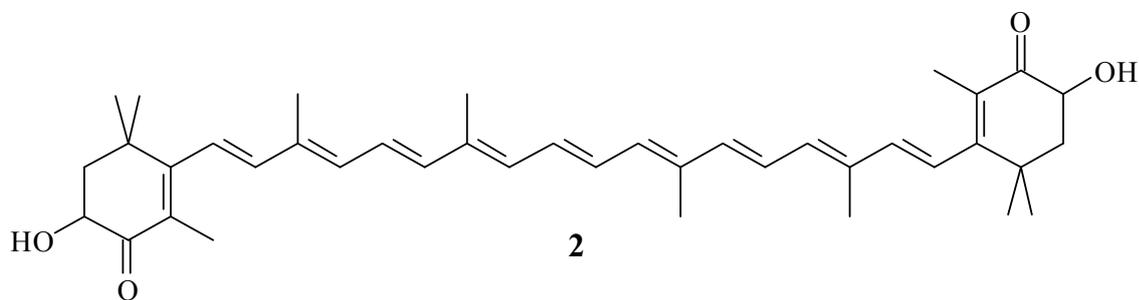


Abb.164: Astaxanthin **2**

Inhibitionszeiten natürlicher Carotinoide

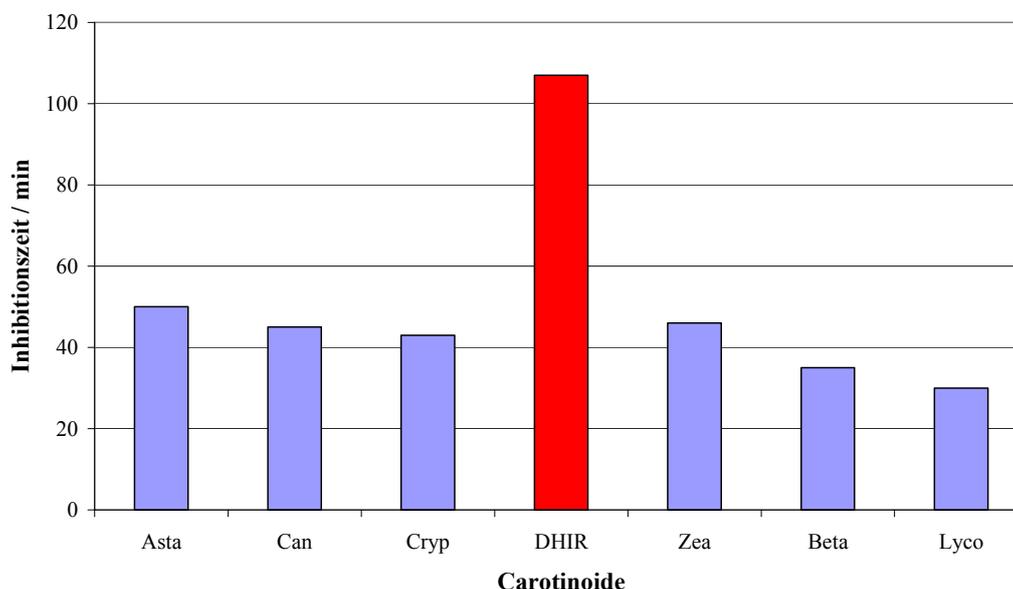


Abb.165: Inhibitionszeiten von Astaxanthin 2 (Asta), Canthaxanthin 6 (Can), Cryptoxanthin 85 (Cryp), DHIR 9, Zeaxanthin 5 (Zea), β -Carotin 1 (Beta) und Lycopin 4 (Lyco) bei $2 \cdot 10^{-4}$ mol/L im Cumolssystem

Astaxanthin 2 und Zeaxanthin 5 haben in para-Stellung zur Polyenkette jeweils alkoholische Hydroxygruppen und damit optisch Ähnlichkeit zu den phenolischen Hydroxygruppen von DHIR 9. Auch dort können die Wasserstoffatome durch Radikale abstrahiert werden. Der entscheidende Unterschied liegt in der Mesomeriestabilisierung durch die Polyenkette, die bei den alkoholischen Carotinoiden nicht möglich ist. Dies wird eindrucksvoll bestätigt, wenn man die phenolischen Wasserstoffatome von DHIR 9 durch Methylgruppen ersetzt und damit die einfache Radikalbildung durch Wasserstoffabstraktion blockiert (Abb.166).

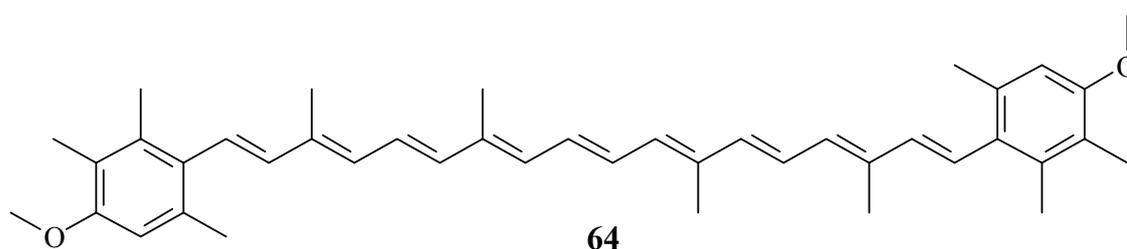


Abb.166: Blockierung der phenolischen Hydroxygruppen von DHIR 9

Dadurch sinkt die Inhibitionszeit von 107 min bei DHIR 9 auf einen Wert von 50 min im geschützten Derivat **64**^[23]. Dies entspricht der Inhibitionszeit von Astaxanthin 2.

Wie oben erwähnt ist im Gemisch aus Vitamin E **84** und β -Carotin **1** der bevorzugte Reaktionsschritt die Abstraktion der phenolischen Hydroxygruppe. Im Vergleich zu Vitamin E **84** ist die Hydroxygruppe bei DHIR **9** durch das Fehlen einer Methylgruppe in ortho-Stellung noch leichter für Radikale zugänglich.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass am Anfang der Inhibition der Peroxylradikale ausschließlich ein „phenolischer Mechanismus“ vorliegt. Nach der Abstraktion des ersten phenolischen Wasserstoffatoms durch ein Radikal, wird das zweite Wasserstoffatom unter Bildung des Chinons **11** abgespalten. Dies ist leicht visuell zu verfolgen, da sich die Reaktionslösung bereits nach kurzer Zeit blau verfärbt. Diese starke bathochrome Verschiebung der Absorption während der Messung, tritt bei keinem anderen im Arbeitskreis Martin vermessenen natürlichen Carotinoid auf.

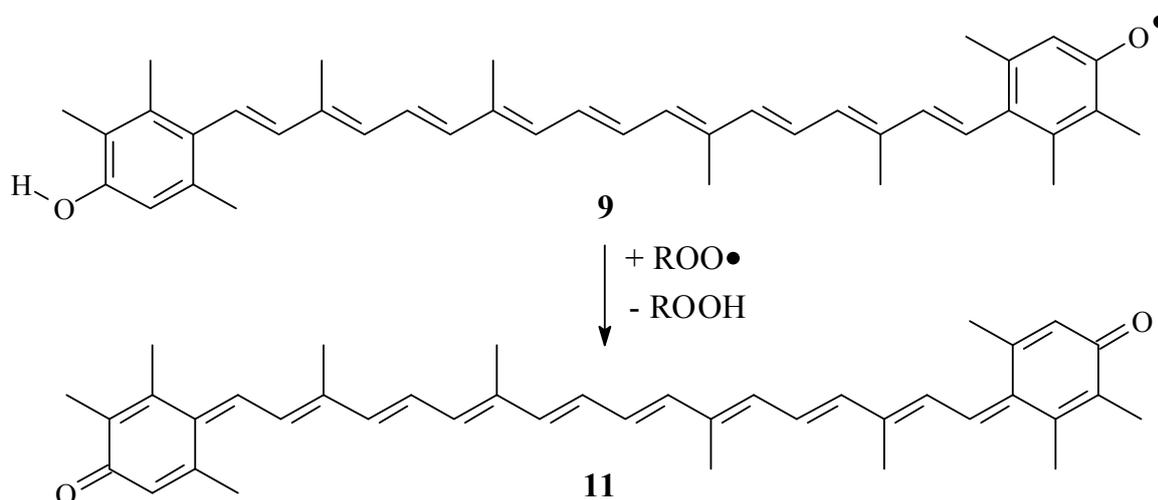


Abb.167: Bildung des blauen Oxidationsproduktes **11** von DHIR **9** durch H-Abstraktion

Wenn die phenolischen Hydroxygruppen der Moleküle reagiert haben, tritt der Mechanismus der Peroxylradikaladdition an die Polyenkette in den Vordergrund. Das entstandene *retro*-Carotinoid **11** hat im Vergleich zum Astaxanthin **2** ein längeres, konjugiertes Polyensystem. Dadurch können die entstehenden Radikale über mehr Doppelbindungen stabilisiert werden. Die entscheidende Stabilisierung entsteht vermutlich durch die vollkommene Planarität des entstandenen *retro*-Carotinoids **11**. Bei den Carotinoiden mit Methylgruppen in 1- und 5-Stellung sind die Ringe im Vergleich zur Polyenkette aus der Ebene herausgedreht. Bei aromatischen Carotinoiden mit den Methylgruppen in 1- und 5-Stellung tritt dadurch im UV/VIS-Spektrum eine

deutliche hypsochrome Verschiebung, im Vergleich zu aromatischen Carotinoiden ohne Methylgruppen in diesen Positionen, auf^[138].

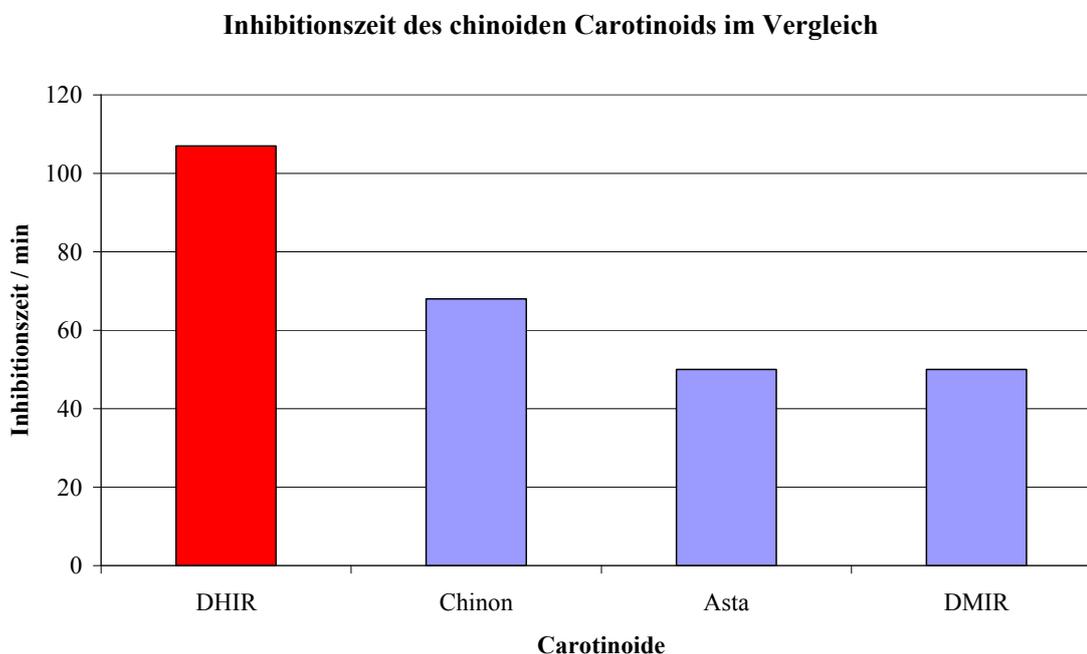
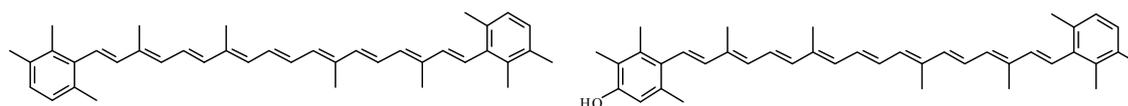
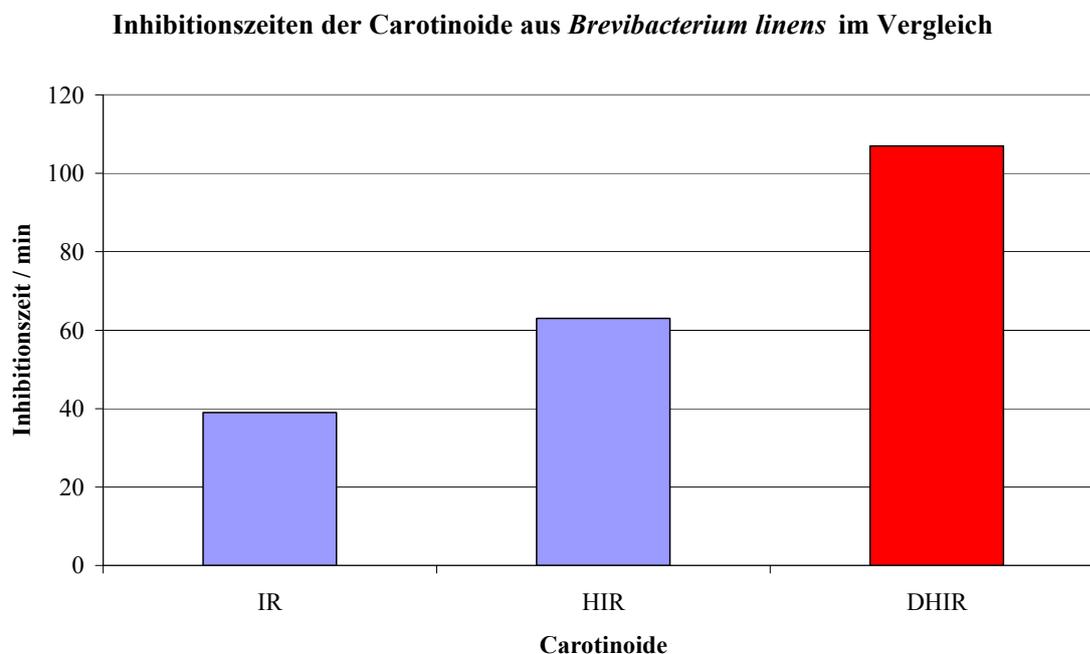


Abb.168: Inhibitionszeiten sehr gut wirkender Antioxidantien: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR), retro-Carotinoide **11** (Chinon), Astaxanthin **2** (Asta), 3,3'-Dimethyloxyisorenieratin **64** (DMIR)

Die Inhibitionszeit des Chinons **11** konnte zu 68 min bestimmt werden und ist damit in diesem antioxidativen Assay 18 min länger wirksam als Astaxanthin **2**. Dies könnte man als die Zeit bewerten, die durch die zusätzliche Stabilisierung durch Planarisierung erreicht wird.

DHIR **9** ist ungefähr 39 min länger wirksam als das Chinon **11** alleine. Dies muss dann die Zeit sein, innerhalb derer die phenolischen OH-Gruppen verbraucht werden. Daraus berechnet sich für DHIR **9** ein Anteil an antioxidativer Kapazität von Polyen zu Phenol von ungefähr 7:4.

In diesem Zusammenhang ist auch der Zuwachs der antioxidativen Wirkung in der Reihe der Naturstoffe Isorenieratin **12**, 3-Hydroxyisorenieratin **10** und DHIR **9** von Interesse, die in der Biosynthese des *Brevibacterium linens* gebildet werden (siehe Kapitel 2.1).

Abb.169: Isorenieratin **12** und 3-Hydroxyisorenieratin **10**Abb.170: Inhibitionszeiten aromatischer Carotinoide: Isorenieratin **12** (IR), 3-Hydroxyisorenieratin **10** (HIR) und 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR)

Isorenieratin **12** hat keine phenolische Hydroxy-Funktion und ist im Verhältnis mit einer Inhibitionszeit von 39 min ein schwächeres Antioxidans. Es ist ungefähr mit β -Carotin **1** vergleichbar. Die Einführung einer phenolischen Hydroxygruppe hat eine deutliche Steigerung in der antioxidativen Effizienz zur Folge. Mit einer Inhibitionszeit von 63 min ist 3-Hydroxyisorenieratin **10** besser wirksam als Astaxanthin **2**. Im Gegensatz zu DHIR **9** ist aber die Bildung eines doppelchinoiden *retro*-Carotinoids nicht möglich. Daher ist der Zuwachs an antioxidativer Kapazität in dieser Reihe nicht linear. Bei einem additiven Zuwachs würde man für DHIR **9** statt 107 min, eine Inhibitionszeit von ungefähr 87 min erwarten.

Des Weiteren war von Interesse inwieweit die Stellung der phenolischen Hydroxygruppe einen Einfluss auf die Inhibitionszeiten ausübt und welche Löslichkeitsänderung sich ergeben, wenn man die Methylgruppen an den phenolischen Ringen entfernt.

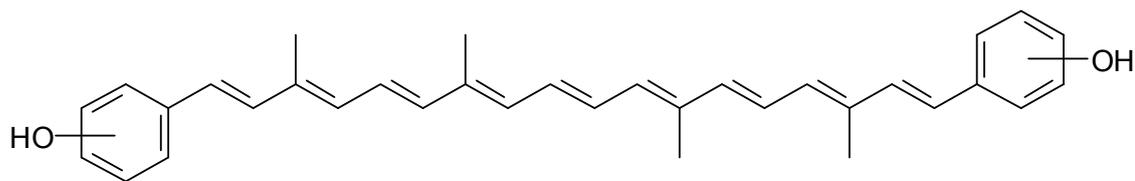


Abb.171: phenolische Carotinoide mit unterschiedlicher Stellung der Hydroxygruppen

Zum Verständnis der resultierenden Prozesse sind einige Fakten über das Antioxidans Resveratrol **82** aufschlussreich. Resveratrol **82** ist in Weiß- und Rotweinen ubiquitär und wird für das „French Paradox“ mitverantwortlich gemacht^[139]. Durch den häufigen Genuss von Rotwein treten bestimmte Gefäßerkrankungen weniger häufig auf. Resveratrol **82** ist ein Stilben mit ausgezeichneten Radikalfängereigenschaften, da es drei phenolische Hydroxygruppen besitzt. 2006 ist in Zeitschrift Nature veröffentlicht worden, dass Mäuse mit ungesundem Lebenswandel durch Zugabe von Resveratrol **82** länger leben^[140, 141]. Im Wein sind Abbauprodukte identifiziert worden, die zeigen, dass die entstehenden sterisch ungehinderten, phenolischen Radikale mit der Stilben-doppelbindung durch Addition zu Dimeren **86** reagieren können (Abb.172)^[142].

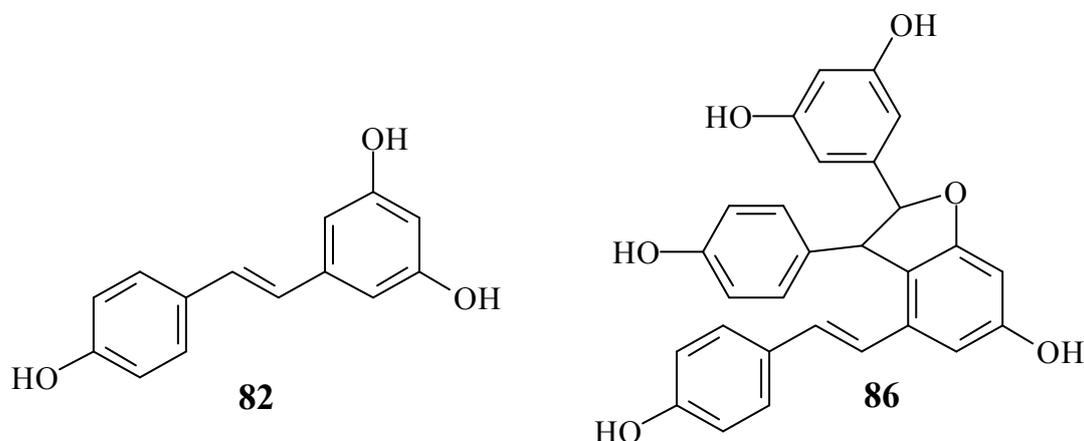


Abb.172: Resveratrol **82** und ein mögliches Dimer **86** (*trans-ε-Viniferin*)

Im nächsten Diagramm (Abb.173) ist auffällig, dass die Inhibitionszeit des Analogons von DHIR **9** ohne Methylgruppen am Ring **17** mit 44 min deutlich schlechter die Cumolhydroperoxidbildung unterdrückt. Dies ist auf den ersten Blick erstaunlich, da beschrieben ist, dass zusätzliche Methylgruppen bei aromatischen Carotinoiden mit einem schlechteren antioxidativen Verhalten einhergehen^[143]. Des Weiteren sollte das Fehlen der Methylgruppen in 1- und 5-Stellung zu einer Koplanarität führen. Allerdings

war die Löslichkeit von des para-Carotinoids **17** in Chlorbenzol sehr schlecht und es konnte nur in einer Suspension vermessen werden. Die Aggregation ist so stark, dass es auch unter den Reaktionsbedingungen nicht signifikant nachgelöst wird. Eine blaue Farbe durch die Bildung eines chinoiden Systems konnte nicht beobachtet werden. Das ortho-Carotinoid **30** ist mit einer Inhibitionszeit von 66 min ein sehr gutes Antioxidans. Man könnte ein antioxidatives Verhalten ähnlich dem von DHIR **9** erwarten, da es auch ein chinoides System ausbilden kann. Dennoch ist es schlechter.

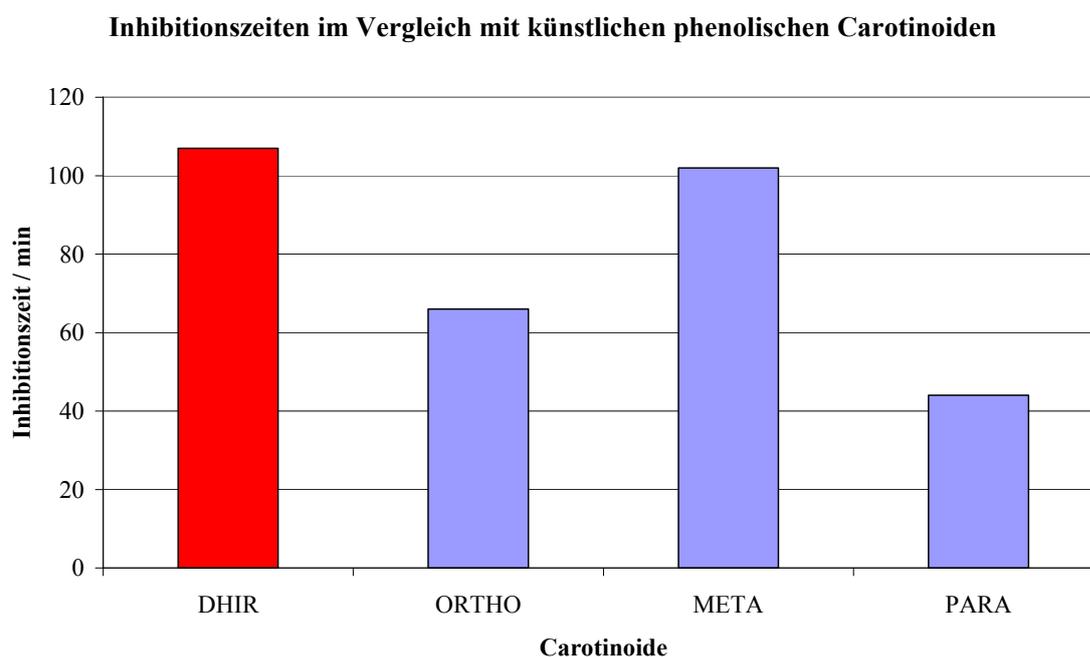


Abb.173: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR), ortho-Carotinoid **30** (ORTHO), meta-Carotinoid **31** (META), para-Carotinoid **17** (PARA)

Man kann vermuten, dass das entstehende Chinon in einer intramolekularen Cycloaddition, aufgrund der direkten Nachbarschaft zur Polyenkette, abreagieren kann. Dadurch würde ein chinoides System blockiert (Abb.174).

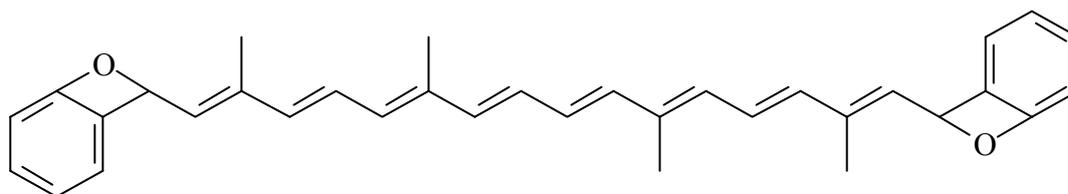


Abb.174: Postuliertes Zwischenprodukt aus dem ortho-Carotinoid **30**

Beeindruckenderweise ist das Meta-Carotinoid **31** in der Reihe der phenolischen Carotinoide ohne Methylgruppen, das unter den Versuchsbedingungen antioxidativ am Besten wirksame Carotinoid. Es kommt mit einer Inhibitionszeit von 102 min fast an die Zeit von DHIR **9** heran. Da es kein doppeltchinoides System ausbilden kann, muss der antioxidativer Mechanismus ein anderer als bei DHIR sein. Auffällig ist, dass die Steigung im Graphen von meta-Carotinoid **31** deutlich flacher ausfällt als bei DHIR **9**. Ein ähnliches Verhalten wurde von Scherrers für Resveratrol **82** festgestellt^[23]. Man kann daraus schließen, dass die Abbauprodukte des meta-Carotinoide **31** über einen längeren Zeitraum wirksam sind.

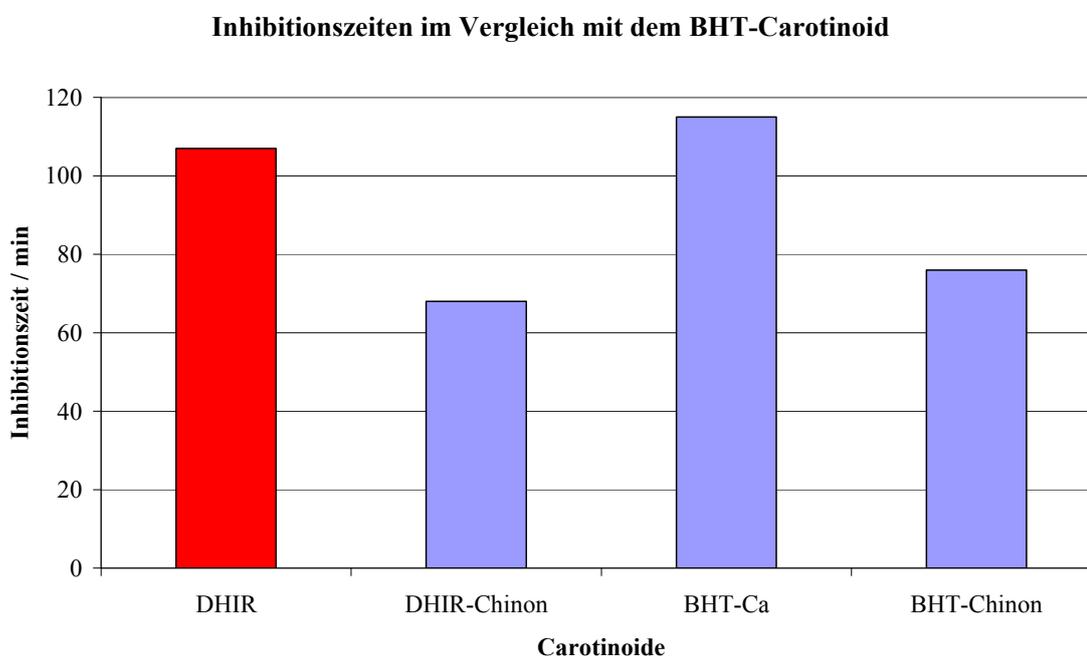


Abb.175: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR), DHIR-Chinon **11**, BHT-Carotinoid **13**, BHT-Chinon **36**

Nur im Vergleich mit dem künstlichen BHT-Carotinoid **13** schneidet DHIR **9** mit 114 gegen 107 min etwas schlechter ab. Dies könnte an dem möglicherweise stabileren, während der Reaktion gebildeten, Chinon **36** liegen. So sollte es z. B. für das BHT-Chinon **36** aus sterischen Gründen nicht möglich sein, einen Chinhydrone-Komplex zu bilden, welcher zur Aggregation bzw. irreversiblen Fällung und damit zu einer verminderten antioxidativen Kapazität führen könnte. Das BHT-Chinon **36** inhibiert die Peroxidbildung mit 8 min geringfügig länger als das DHIR-Chinon **11**.

2.6 Antioxidative Messungen mit der Sauerstoffdruckmethode

2.6.1 Das Prinzip der Druckmessung

Dieser antioxidative Assay beruht auf der Methode von Burton und Ingold, die von Susanne Frixel in ihrer Dissertation weiterentwickelt wurde^[131]. Wie im antioxidativen Assay nach Schmidt (siehe Kapitel 2.4.1) wird eine Reaktionsmischung aus Cumol **77**, dem Radikalstarter AMVN **78** und einem Antioxidans, gelöst in Chlorbenzol, verwendet. Bei der HPLC-Methode misst man die Entstehung von Cumolhydroperoxid **80** mit der Zeit. Das Cumolhydroperoxid **80** entsteht aus der Reaktion zwischen Cumylradikalen **79** und Triplett-Sauerstoff. Aus diesem Grund ist es ebenso möglich, die Reaktion, in einem geschlossenen Gefäß, anhand der Abnahme des Sauerstoffpartialdruckes zu verfolgen. Die Anwesenheit eines Antioxidans im Reaktionssystem führt je nach Konzentration und antioxidativem Potential zu einem unterschiedlichen Verbrauch an Sauerstoff. Dies ist die einzige Änderung im System und damit gleich der Druckänderung insgesamt, die gemessen werden kann.

Für die antioxidativen Untersuchungen in dieser Arbeit werden zwei verschiedene Stickstoff/Sauerstoff-Mischungen verwendet. Zum einen wird eine Mischung benutzt, die einem Sauerstoffpartialdruck von 15 Torr (20 mbar bzw. 2 % Sauerstoff) entspricht. Dies stimmt mit dem Partialdruck an Sauerstoff im menschlichen Gewebe überein und soll physiologische Bedingungen simulieren. Zweitens werden die Verbindungen bei 150 Torr (200 mbar bzw. 20 % Sauerstoff) Sauerstoffpartialdruck untersucht. Dabei handelt es sich um synthetische Luft, um möglichst gleich bleibende Bedingungen zu erhalten.

Es gibt folgende weitere Unterschiede zum Versuchsaufbau nach Schmidt:

- Die Reaktionszeit beträgt immer 90 min.
- Das Reaktionsgefäß ist deutlich kleiner.
- Die Temperatur beträgt 30 statt 37 °C, um den Dampfdruck des Cumol/Chlorbenzol-Gemisches möglichst niedrig zu halten.

Die Messapparatur und weiteren messtechnischen Details sind in der Arbeit von Frixel detailliert dargelegt^[70]. Die Carotinoide werden im Rahmen dieser Arbeit in drei verschiedenen Konzentrationen vermessen: $2 \cdot 10^{-4}$, $4 \cdot 10^{-5}$ und $2 \cdot 10^{-5}$ M. Dies hat mehrere Gründe. Zum einen sind die meisten phenolischen Carotinoide in höheren

Konzentrationen nicht vollständig in Chlorbenzol löslich (vergleiche auch Kapitel). Andererseits sind die Oxidationsgeschwindigkeiten im Messintervall schon bei $2 \cdot 10^{-4}$ M sehr gering, d.h. eine Abhängigkeit vom Partialdruck ist bei höheren Konzentrationen nicht mehr erkennbar, da die Verbindungen dann sehr stark antioxidativ wirksam sind.

2.6.2 Auswertung und Diskussion

Mit Hilfe eines differentiellen Drucknehmers wird die Druckabnahme im Vergleich zu einem Referenzgefäß aufgezeichnet. Man erhält dann für alle Verbindungen ähnliche Kurven, die sich abhängig von der Konzentration unterscheiden (Abb.176).

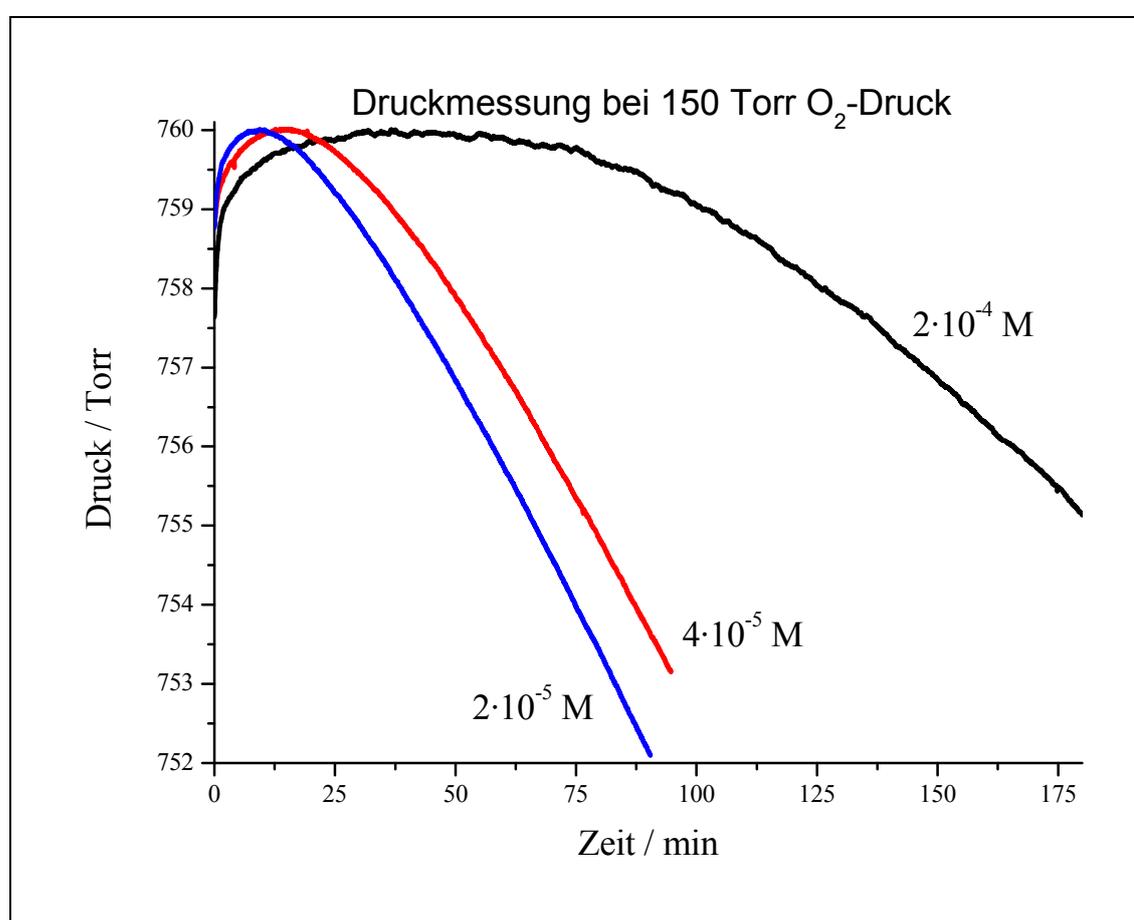


Abb.176: Druckmessung von 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **II** bei 150 Torr

Alle Kurven steigen zunächst an (Abb.176). Dies liegt daran, dass die Reaktionskomponenten erst kurz vor der Messung gemischt werden und die Reaktionsmischung dann von 20 °C auf 30 °C im Reaktionsgefäß temperiert wird. Die Cumol/Chlorbenzol-Mischung wird dabei bis zur Einstellung des Gleichgewichtes entgast, weshalb der Dampfdruck im Reaktionsgefäß ansteigt. Um die Messungen

besser miteinander vergleichen zu können, werden die Messwerte parallel zur x-Achse verschoben und der höchste Druckwert gleich 760 Torr gesetzt^[70].

Nach der Einstellung des Gleichgewichts fallen die Kurven bei den beiden kleinen Konzentrationen recht zügig wieder, da der Sauerstoffverbrauch einsetzt. Bei der höheren Konzentration verläuft die Kurve zunächst parallel zur x-Achse. Die Reaktion von Cumol **77** zu Cumolhydroperoxid **80** wird fast vollständig inhibiert. Nach dem zunehmenden Verlust der antioxidativen Wirkung der Carotinoide fällt die Kurve wie bei den geringeren Konzentrationen. Aus den Kurven lassen sich die jeweiligen Oxidationsgeschwindigkeiten berechnen. Dazu wird zwischen 50 und 70 min die Steigung der Kurve bestimmt und mit dem Faktor $665.7 \text{ M}\cdot\text{min}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{Torr}^{-1}$ multipliziert^[70]. Man erhält die Oxidationsgeschwindigkeit in der Einheit $\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$. Für Isorenieratin **12** erhält man z. B. folgende Werte.

Tab.11: Auswertung der Druckmessung von Isorenieratin **12** bei 150 Torr

c (Isorenieratin) mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit $10^{-8} \text{ mol} / (\text{L}\cdot\text{s})$	σ mol / (L·s)
$2\cdot 10^{-4}$	-0.00977	6.50	± 0.01
$4\cdot 10^{-5}$	-0.11290	75.16	± 0.03
$2\cdot 10^{-5}$	-0.11443	76.18	± 0.02

Tab.12: Auswertung der Druckmessung von Isorenieratin **12** bei 15 Torr

c (Isorenieratin) mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit $10^{-8} \text{ mol} / (\text{L}\cdot\text{s})$	σ mol / (L·s)
$2\cdot 10^{-4}$	-0.00346	2.30	± 0.01
$4\cdot 10^{-5}$	-0.08261	54.99	± 0.02
$2\cdot 10^{-5}$	-0.10071	67.04	± 0.02

Das σ in den Tabellen bezieht sich auf die Standardabweichung der bestimmten Gerade zwischen 50 und 70 min^[23]. Die Messwerte für die übrigen hier diskutierten Carotinoide finden sich im Experimentalteil.

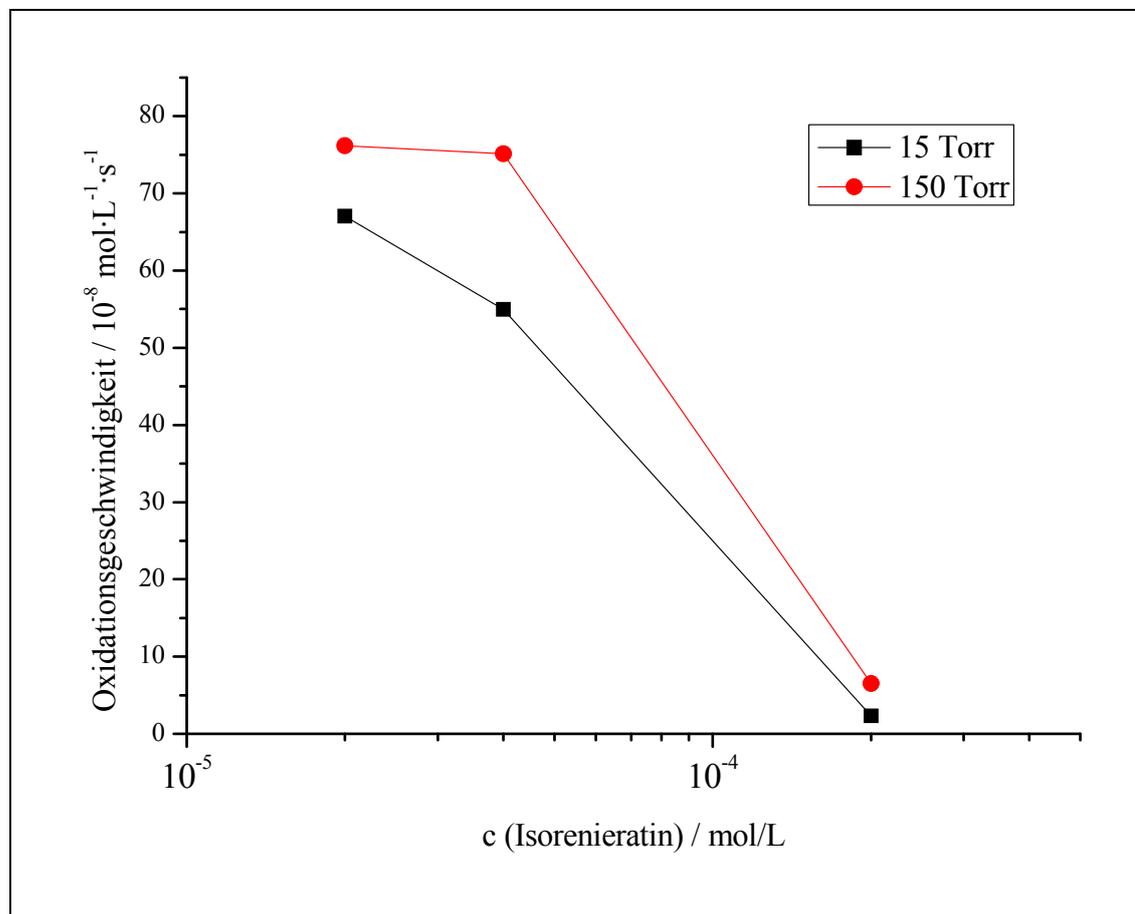


Abb.177: Abhängigkeit der Oxidationsgeschwindigkeit vom Sauerstoffpartialdruck und der Konzentration von Isorenieratin **12**

Zur Überprüfung des Einflusses der Sauerstoffpartialdrucke und der Konzentration von Isorenieratin **12** auf die Geschwindigkeit der Cumoloxidation werden die Oxidationsgeschwindigkeiten gegen die Konzentrationen aufgetragen (Abb.177).

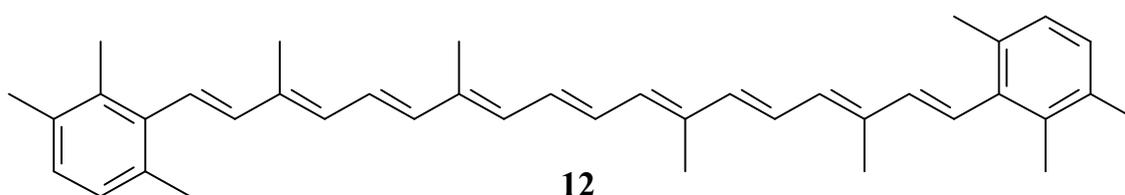


Abb.178: Isorenieratin **12**

Man erkennt erwartungsgemäß, dass die Oxidationsgeschwindigkeiten bei einem höheren Sauerstoffangebot (150 Torr) größer sind, als bei einem niedrigeren Sauerstoffanteil. Die Kurven von einigen phenolischen Carotinoiden, wie DHIR **9**, haben einen anderen Verlauf als Isorenieratin **12**. Zur Veranschaulichung wird hier das BHT-Carotinoid **13** als Vergleich herangezogen.

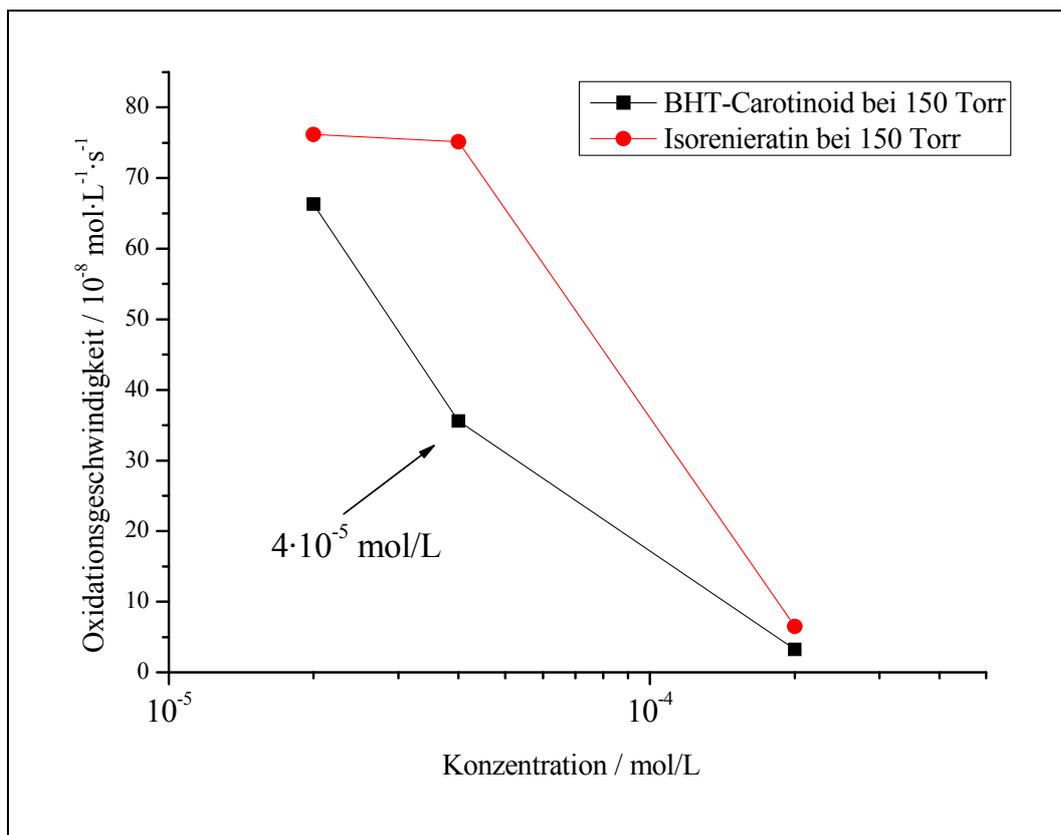


Abb.179: Einfluß verschiedener Konzentrationen von Isorenieratin **12** und BHT-Carotinoids **13** auf die Oxidationsgeschwindigkeit bei 150 Torr

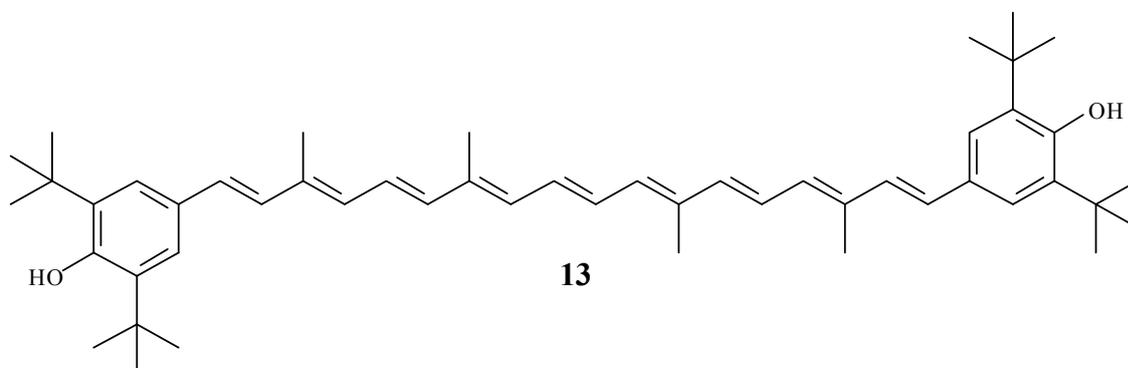


Abb.180: BHT-Carotinoid **13**

Bei einer Konzentration von $4 \cdot 10^{-5}$ M macht sich der antioxidative Schutz des BHT-Carotinoids **13** bereits deutlich bemerkbar. Im Gegensatz dazu ist der Unterschied in den Oxidationsgeschwindigkeiten der beiden niedrigen Konzentrationen des Isorenieratins **12** gering. Aufgrund dieser Beobachtung werden die Carotinoide in dieser Arbeit durch die Oxidationsgeschwindigkeiten bei der Konzentration von $4 \cdot 10^{-5}$ M in ihrem antioxidativem Potential unterschieden. Durch gerätetechnischer Änderungen der Messapparatur sind die in dieser Arbeit gemessenen Werte nicht direkt mit den Verbindungen von Frixel vergleichbar^[23].

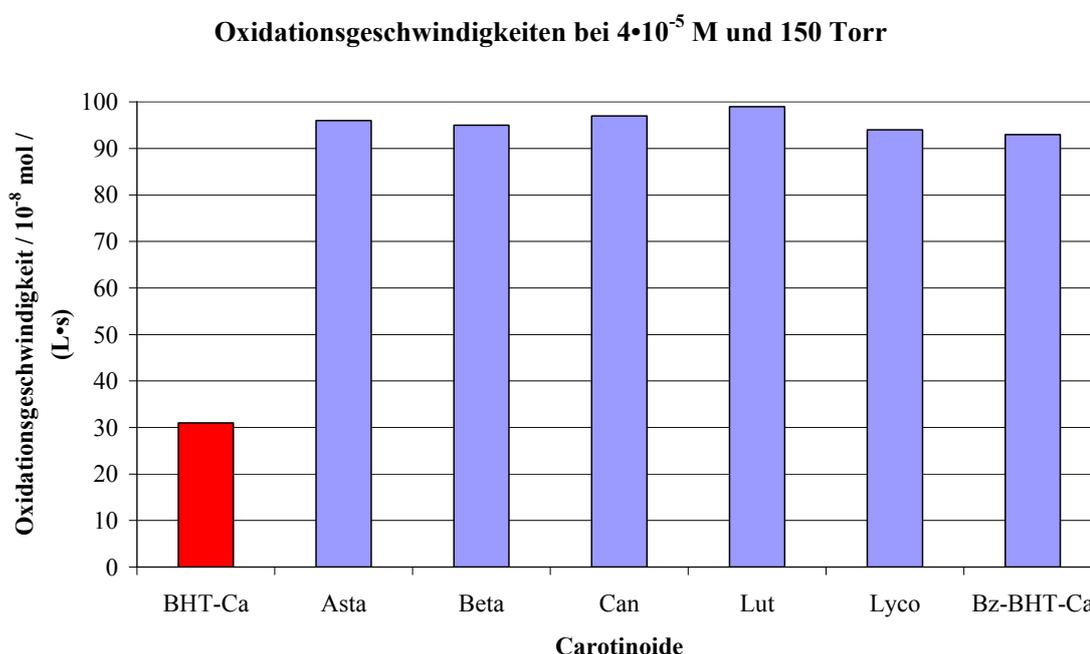
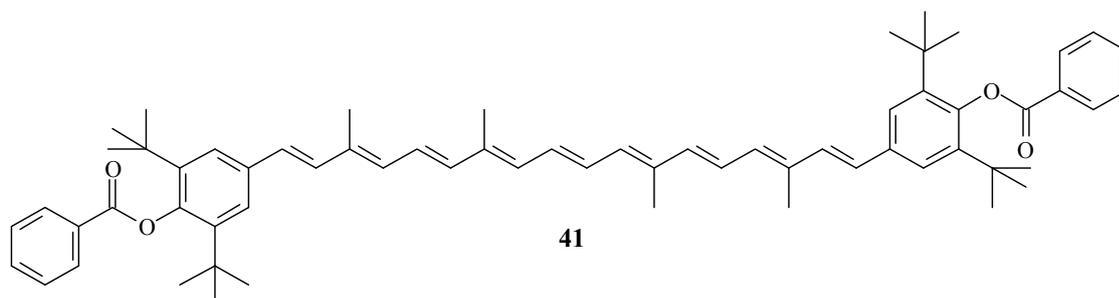


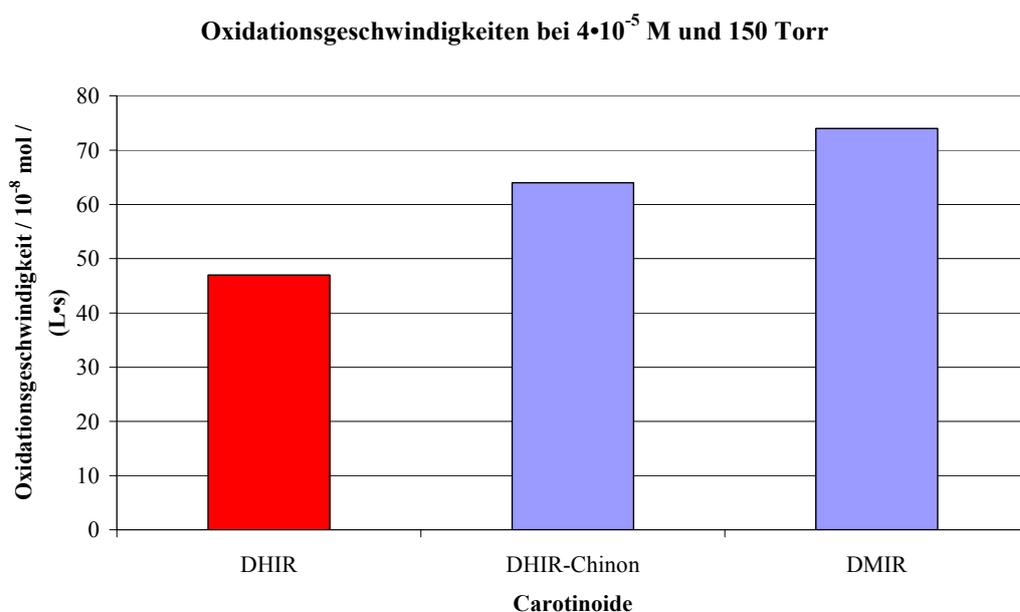
Abb.181: BHT-Carotinoide **13** (BHT-Ca), Astaxanthin **2** (Asta), β -Carotin **1** (Beta), Canthaxanthin **6** (Can), Lutein **7** (Lut), Lycopin **4** (Lyco), di-Bz-BHT-Carotinoide **41** (Daten entnommen aus^[70])

Frixel hat in ihrer Arbeit das BHT-Carotinoide **13** und dessen benzoylgeschütztes Derivat **41** vermessen. Eine bemerkenswerte Rangfolge ergibt sich im Vergleich mit den natürlichen Carotinoiden β -Carotin **1**, Lycopin **4**, Canthaxanthin **6**, Lutein **7** und Astaxanthin **2** (Abb.181). Dabei bedeutet eine niedrige Oxidationsgeschwindigkeit ein hohes antioxidatives Potential.

Hier zeigt sich erneut eindrucksvoll die Überlegenheit der Kombination aus Phenol und Polyensystem (Abb.181). So führt die Einführung der Benzoylschutzgruppe zu einem deutlichen Verlust an antioxidativer Kapazität, da die phenolischen Gruppen bei **41** (di-Bz-BHT-Ca) blockiert sind (Abb.182).

Abb.182: Di-Benzoyl-BHT-Carotinoid **41**

Dies unterstützt die bisherige Argumentation (siehe Kapitel 2.5). Zu Beginn der Inhibierung der Cumolhydroperoxidbildung verläuft der Mechanismus bei den phenolischen Carotinoide primär über die Wasserstoffatomabstraktion der phenolischen Gruppen. Dabei wird die Oxidationsreaktion im Vergleich zu anderen nicht phenolischen Carotinoiden besonders stark unterdrückt. Die phenolischen Gruppen sind in der antioxidativen Wirkung den alkoholischen Gruppen der Xanthophylle Lutein **7** bzw. Astaxanthin **2** deutlich überlegen. Während im Messzeitraum zwischen 50 und 70 min bei der Konzentration $4 \cdot 10^{-5}$ M die antioxidative Kapazität der nicht phenolischen Carotinoide weitgehend abgebaut ist, sind bei dem BHT-Carotinoid **13** noch dessen oxidierte Form, das BHT-Chinon **36**, bzw. dessen Abbauprodukte wirksam.

Abb.183: **9** (DHIR), DHIR-Chinon **11**, 3,3'-Dimethyloxyisorenieratin **64** (DMIR)

Bei 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** zeigt sich ein analoges Verhalten. Das Chinon **11** verringert, im Vergleich zum geschützten Diphenol **64**, die Oxidationsgeschwindigkeit deutlich stärker. Wie bei dem HPLC-Assay nach Schmidt sind BHT-Carotinoid **13** und DHIR **9** die herausragenden Antioxidantien (Kapitel 2.5). Das para-Carotinoid **17** ist vermutlich aufgrund sehr schlechter Löslichkeit nicht so stark antioxidativ wirksam. Des Weiteren ist das meta-Carotinoid **31** wieder eine bemerkenswerte Ausnahme, da es kein doppelchinoides System ausbilden kann. In diesem Assay ist es das Beste der untersuchten Carotinoide (Abb.184). Man kann vermuten, dass die Abbauprodukte ein sehr gutes antioxidatives Potential haben.

Die Messergebnisse des HPLC- und des Druck-Assays lassen sich nicht direkt miteinander korrelieren. Erstens sind die Messtemperaturen mit 30 bzw. 37 °C zu unterschiedlich, da daraus starke Unterschiede in den Reaktionsgeschwindigkeiten resultieren. Zweitens sind die Konzentrationen, bei denen man jeweils antioxidative Effekte gut beobachten kann, verschieden. Tendenziell sind die Ergebnisse aber vergleichbar und zeigen die enorme antioxidative Kapazität der hier untersuchten Carotinoide auf.

Oxidationsgeschwindigkeiten bei $4 \cdot 10^{-5}$ M und 150 Torr

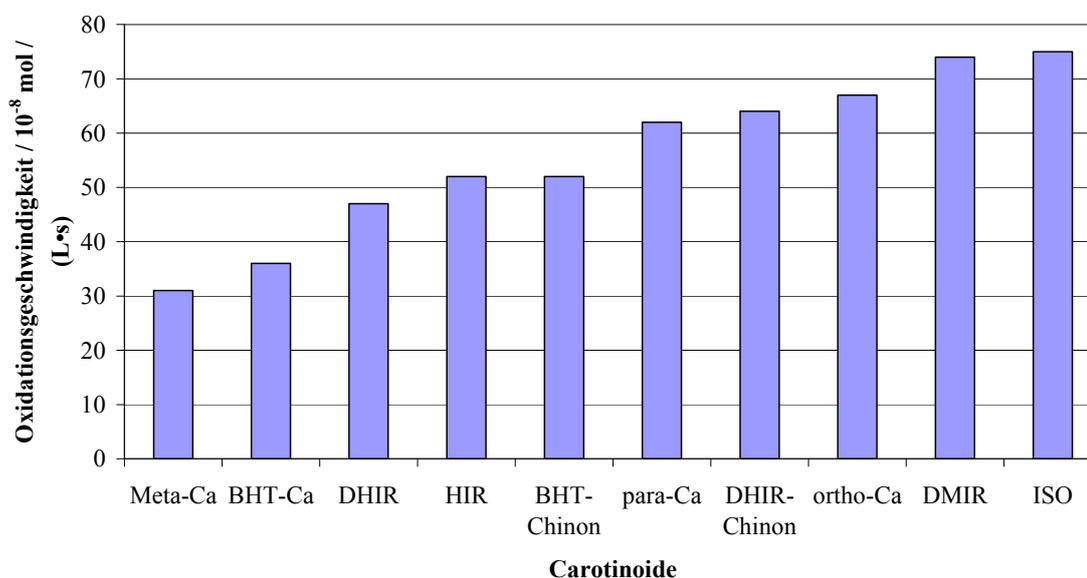


Abb.184: meta-Carotinoid **31** (Meta-Ca), BHT-Carotinoid **13** (BHT-Ca), 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR), 3-Hydroxyisorenieratin **10** (HIR), BHT-Chinon **36**, para-Carotinoid **17** (para-Ca), DHIR-Chinon **11**, ortho-Carotinoid **30** (ortho-Ca), 3,3'-Dimethyloxyisorenieratin **64** (DMIR), Isorenieratin **12** (ISO)

2.7 Carotinoide als Singulett-Sauerstoff-Quencher

2.7.1 Messmethode

Carotinoide sind die am effektivsten wirkenden, biologischen Quencher von Singulett-sauerstoff. Durch seine hohe Reaktivität bedingt, ist Singulett-sauerstoff dafür bekannt u. a. die DNS schädigen zu können^[5]. Es entsteht in Pflanzen während des Photosyntheseprozesses. Chlorophyll (Chl) wirkt dabei als Sensibilisator (Abb.185).

Es wird vermutet, dass das Quenchen des Singulett-sauerstoffs durch die Carotinoide (Car) vor allem über physikalischen Energietransfer und weniger über chemische Reaktionen abläuft. Allerdings wird dies über die Triplettenergien bestimmt. Durch Lichtanregung geht Chlorophyll in den Singulettzustand über. Das angeregte Chlorophyll wird durch Intersystem Crossing wieder in den Grundzustand zurückversetzt, wobei durch Energieübertragung ein im Grundzustand liegender Triplett-Sauerstoff zum Singulett-sauerstoff umgewandelt werden kann. Die beim physikalischen Quenchen des Singulett-sauerstoffs gebildeten Carotinoide im Triplettzustand können unter Abgabe von Wärme strahlungslos in den Grundzustand übergehen (Abb.185).

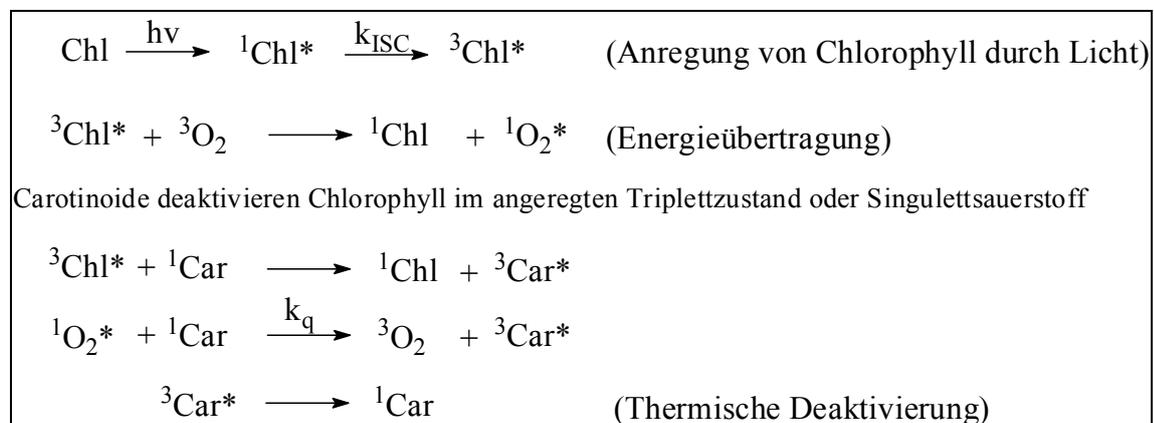


Abb.185: Schematische Darstellung der Energieübertragungsprozesse in Pflanzen

Hoffmann hat im Rahmen seiner Arbeit ein Messverfahren verwendet, mit dem die Deaktivierungsgeschwindigkeiten von Singulett-sauerstoff durch Carotinoide besonders gut bestimmt werden können^[144]. Bei diesem Messverfahren wird die Phosphoreszenz bei 1270 nm mittels Germaniumdiode detektiert, die Singulett-sauerstoff beim Zurückfallen in den Triplett-Zustand aussendet. Als Generatorsubstanz für

Singulett-Sauerstoff wird nach Kersting 1,4-Dimethylnaphthalinendoperoxid **87** verwendet^[145]. In einer Retro-Diels-Alder-Reaktion zerfällt **87** bei einer Temperatur von 37 °C in Singulett-Sauerstoff $^1\text{O}_2$ und 1,4-Dimethylnaphthalin **88**.

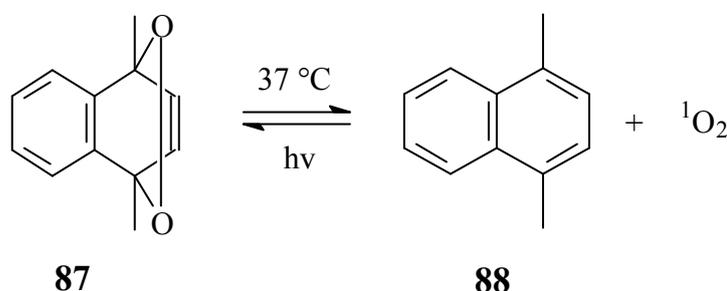


Abb.186: Generierung von Singulett-Sauerstoff

Als Modellsystem für das Singulett-Sauerstoff-Quenchverhalten von phenolischen Carotinoiden soll an dieser Stelle das BHT-Carotinoide **13** dienen. Hoffmann hat das von Schmidt^[69] erstmalig synthetisierte BHT-Carotinoide **13** in diesem Assay untersucht. Die Ergebnisse sind bisher nicht veröffentlicht worden, da Hoffmann sich in seiner Dissertation vorwiegend mit dem Singulett-Sauerstoff-Quenchverhalten von Flavonoiden beschäftigte. Für Details der Messungen wird hier auf die Arbeiten von Kersting und Hoffmann verwiesen^[144, 145].

Zur Messung wird in einer Küvette Chloroform als Lösemittel thermostatisiert. Durch die Zugabe der Generatorsubstanz gelöst in Chloroform wird die Reaktion gestartet. Nachdem sich ein Maximum der Phosphoreszenz $S_1\text{-T}_1$ mit der Intensität S^0 eingestellt hat, wird der Quencher ebenfalls gelöst in Chloroform zugegeben. Dadurch wird der Singulett-Sauerstoff deaktiviert und es wird der Wert S der resultierenden Phosphoreszenz bestimmt. Dieses Verfahren wird für unterschiedliche Konzentrationen durchgeführt. Zur Auswertung der experimentellen Daten wird die Stern-Vollmer-Gleichung herangezogen.

$$\frac{S^0}{S} = 1 + k_q \cdot \tau(^1\text{O}_2) \cdot [Q]$$

Abb.187: Stern-Vollmer-Gleichung

- S^0/S beschreibt das Verhältnis der Messwerte vor und nach der Zugabe des Quenchers
- k_q entspricht der Quenchkonstante
- $\tau(^1O_2)$ beschreibt die Lebensdauer des Singulett-Sauerstoffs in Chloroform und wurde zu $240 \mu s$ bestimmt^[144].
- $[Q]$ bezeichnet die Konzentration des Quenchers

Trägt man das Verhältnis der Phosphoreszenzsignalintensitäten gegen die Konzentrationen auf, erhält man eine Gerade aus deren Steigung sich die physikalische, zuzüglich einer eventuell vorhandenen chemischen, Quenchkonstante k_q ergibt (Abb.188). Je größer die Quenchkonstante einer Verbindung ist, desto schneller wird der Singulett-Sauerstoff gelöscht.

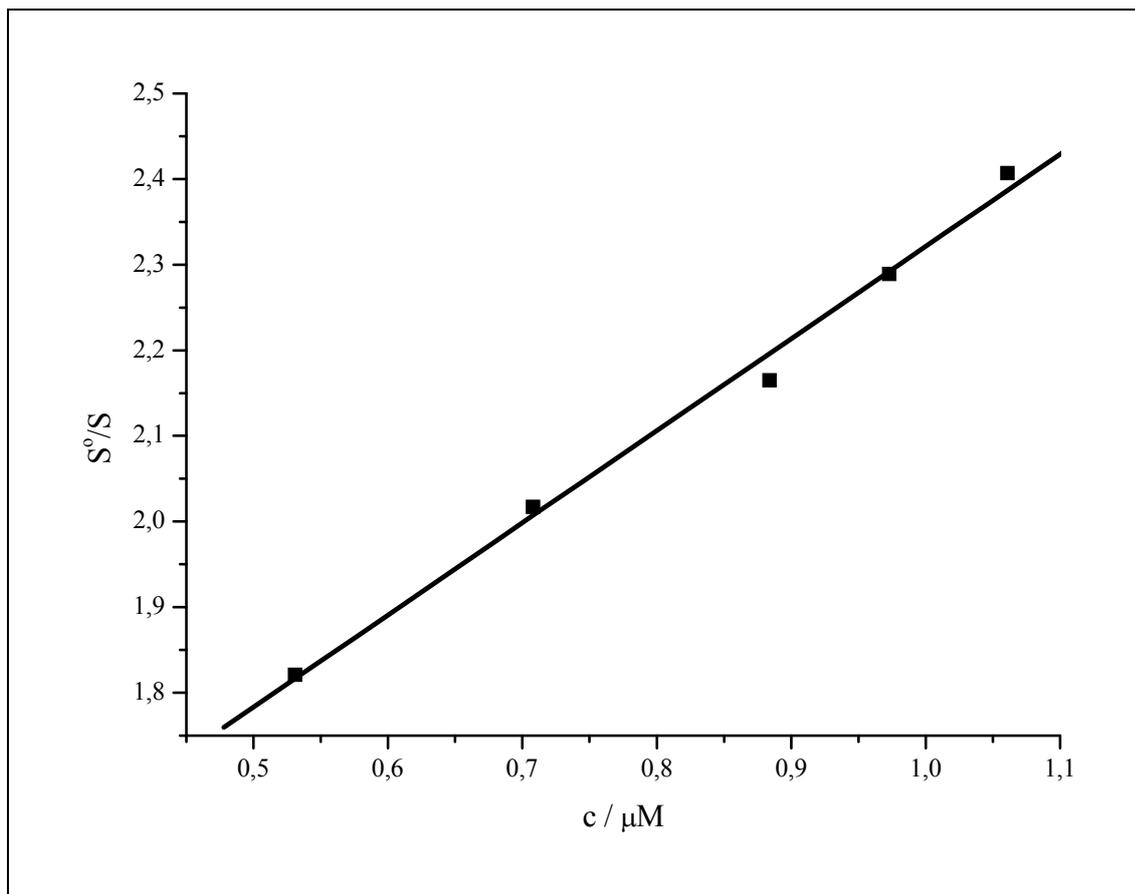


Abb.188: Stern-Vollmer-Gerade der Singulett-Sauerstoff-Quenchmessung des BHT-Carotinoids 13

Tab.13: Messwerte der Singulett-Sauerstoff-Quenchmessung von BHT-Carotinoid 13 in Chloroform bei 37°C

$c_{\text{Küvette}} / \mu\text{M}$	S^0/S
0.531	1.821 ± 0.021
0.708	2.017 ± 0.072
0.885	2.165 ± 0.123
0.973	2.289 ± 0.123
1.061	2.407 ± 0.079

Es ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$y = (1.08 \pm 0.05) \cdot x + (1.25 \pm 0.05)$$

Man erhält dann für die Quenchkonstante $k_q = 4.49 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ bzw. $\log(k_q) = 9.65$.

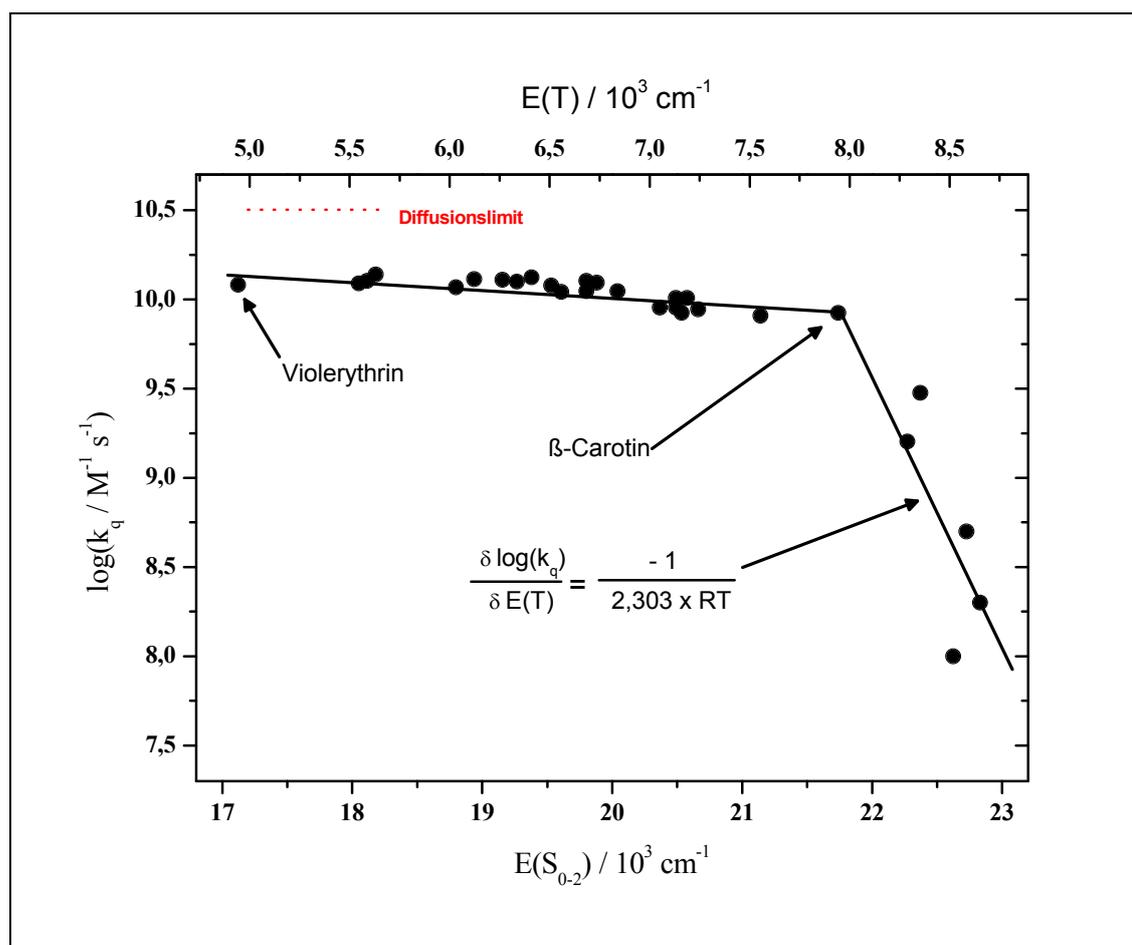


Abb.189: Zusammenhang zwischen Quenchpotential und Lichtabsorption bei Carotinoiden. Die spektroskopisch schwer bestimmaren $E(T)$ -Werte können aus den $E(S)$ -Werten abgeleitet werden^[144]

2.7.2 Diskussion

Für die meisten Carotinoide, die im Arbeitskreis Martin untersucht wurden, sind ebenfalls Werte um $\log(k_q) = 10$ gefunden worden^[5] (Abb.189).

Der etwas geringere Wert ($\log(k_q) = 9.65$) beim BHT-Carotinoid **13** lässt sich leicht dadurch erklären, dass die Carotinoide unter etwas anderen Bedingungen, in einer Mischung aus Ethanol/Chloroform/D₂O (50:50:1) mit dem wasserlöslichen Endoperoxid Dinatrium-3,3'-(1,4-naphthalin)-dipropionat, vermessen wurden.

Die Geschwindigkeit der Energieübertragung, durch die Überlappung der Orbitale des Singulett-Sauerstoffs und des π -Systems des jeweiligen Carotinoids, ist durch die Diffusion begrenzt. Die Güte der Carotinoide im Singulett-Sauerstoff-Quenchverhalten zeigt sich dadurch, dass die Reaktionsgeschwindigkeiten knapp unterhalb der Diffusionsgrenze liegen. Neuste Untersuchungen der vorhandenen Daten haben ergeben, dass der eigentliche geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Löschung des Singulett-Sauerstoffs vermutlich die Bildung eines Begegnungskomplexes (encounter complex) darstellt^[6]. Der elektronische Energietransfer zu und von Sauerstoff verläuft danach über interne Konversion in angeregten Komplexen ab.

Wie effektiv die Carotinoide Singulett-Sauerstoff löschen können, versteht man besonders gut im Vergleich zu anderen Antioxidantien und Farbstoffen. So liegt das Verhältnis der Quenchkonstanten k_q von Carotinoiden und Flavonoiden [Quercetin **89**: $\log(k_q) = 5.5$], bei einem Faktor von ungefähr 3000, deutlich auf der Seite der Carotinoide.

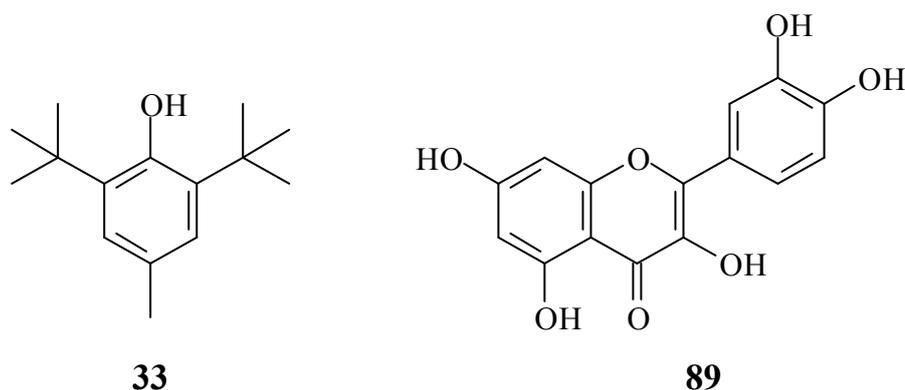


Abb.190: BHT **33** und das natürlich vorkommende Flavonoid Quercetin **89**

BHT **33** ist in Benzol auf seine Reaktionsfähigkeit mit Singulett-Sauerstoff untersucht worden. Die Reaktionskonstante k_q beträgt auch hier, ähnlich wie bei phenolischen Flavonoiden, nur $1.3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [$\log(k_q) = 6.11$]^[146].

Daraus kann man ableiten, dass die phenolischen Hydroxygruppen im BHT-Carotinoid **13** keine zusätzliche Verstärkung des Singulett-Sauerstoff-Quenchpotentials im Vergleich zu anderen C_{40} -Carotinoiden bewirken sollten. Dies ist aber auch nicht nötig, da die Carotinoide allgemein exzellente Quencher darstellen. Ein analoges, sehr gutes Quenchverhalten kann man folglich auch für 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** annehmen. Baltschun et al. konnten feststellen, dass ein Zusammenhang zwischen der Effizienz des Quenchens und der Lage der Absorptionsbanden der Carotinoide besteht^[5]. Mit zunehmender Bathochromie der π - π^* -Übergänge wächst die Quenchfähigkeit der Carotinoide. Als besonders guter Singulett-Sauerstoff-Quencher [$\log(k_q) = 10.27$] hat sich das Isonorastazin **90** (552 nm in Chloroform)^[147] herausgestellt (Abb.191).

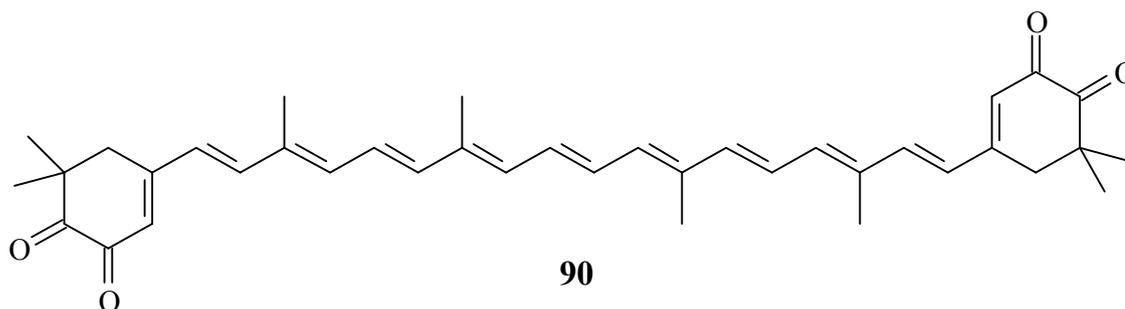


Abb.191: Isonorastazin **90**

Als Ausblick kann man daher festhalten, dass die beiden in dieser Arbeit synthetisierten blauen *retro*-Carotinoide **11** und **36** ein noch besseres Singulett-Sauerstoff-Quenchvermögen innehaben könnten, da sie noch bathochromer absorbieren als Isonorastazin **90** ($\lambda_{\text{max}} = \text{ca. } 580 \text{ nm}$ in Chloroform). Dies wird zurzeit im Rahmen des SFB 663 an theoretischen Modellen intensiv untersucht.

2.8 Untersuchung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin im ABTS-Assay

2.8.1 Methode nach Re et al.

Hünig et al. haben 1964 ein Redoxsystem vorgestellt, dass ein stabiles, tieffarbiges „Radikalkation“ **92** beinhaltet^[148, 149]. Dieses Redoxsystem hat sich heute unter dem Namen ABTS als antioxidativer Test für verschiedenste Lebensmittel, Pflanzenextrakte oder Kosmetika etabliert^[150]. Das Diammoniumsalz von 2,2'-Azino-bis(3-ethyl-benzothiazolin-6-sulfonsäure) kurz ABTS kann reversibel oxidiert werden und bildet ein typisches zwei-Stufen-Redoxsystem (Abb.192). Die Stabilität des Radikalkations **92** resultiert aus der starken Delokalisierung des Radikals und der geringen Tendenz zur Rekombination aufgrund sterischer Effekte.

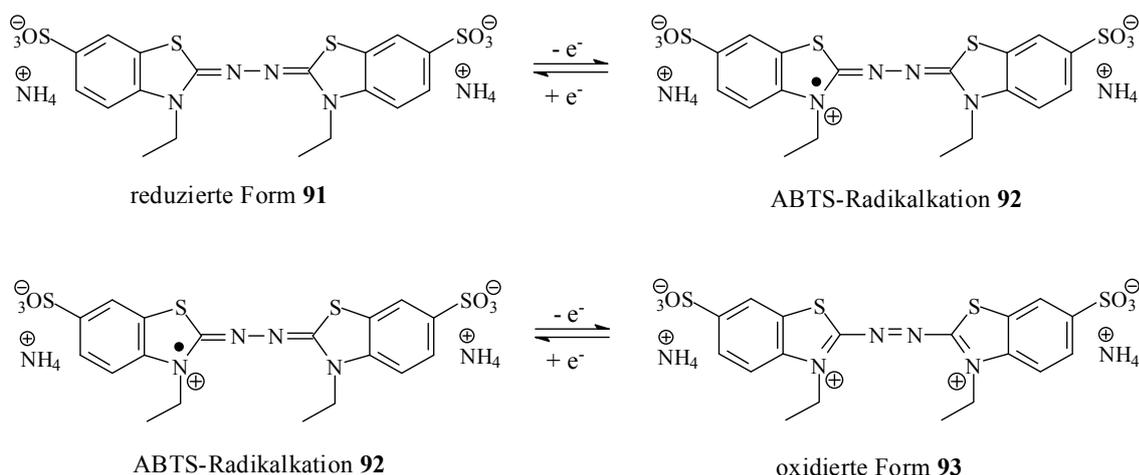


Abb.192: ABTS-Redoxsystem

Nach der Methode von Re et al. wird zur Bestimmung der antioxidativen Kapazität zunächst das ABTS-Radikalkation **92** aus der reduzierten Form **91** (345 nm) separat, d. h. ohne Antioxidans, erzeugt^[151]. Dies hat einerseits den Vorteil der besseren Reproduzierbarkeit durch Vermeidung unerwünschter Nebenreaktionen, andererseits ist das Radikalkation **92** intensiv blau-grün gefärbt, so dass sich die Abnahme der Konzentration bzw. Absorbanz bei Reduktion durch Antioxidantien leicht photometrisch verfolgen lässt. Das Absorptionsspektrum des Radikalkations **92** zeigt charakteristische Banden bei 415, 645, 734 und 815 nm (Abb.193).

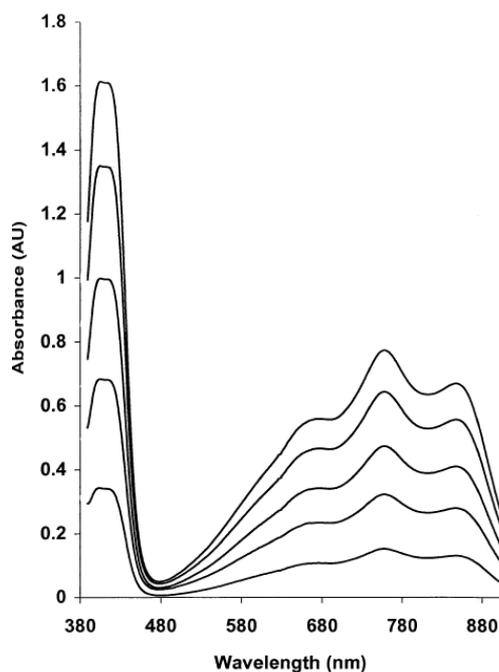


Abb.193: VIS/NIR-Absorptionsspektrum des ABTS-Radikalkations **92** (entnommen aus^[151])

Um das Radikalkation **92** zu erhalten, wird ABTS **91** mit Natrium- bzw. Kaliumperoxodisulfat (im stöchiometrischen Verhältnis von ca. 2:1) oxidiert (Abb.194). Diese Vorgehensweise ist nach Re et al. anderen Oxidationsmitteln wie z. B. Mangandioxid überlegen, da das ABTS-Radikalkation **92** nicht weiter aufoxidiert wird^[151].

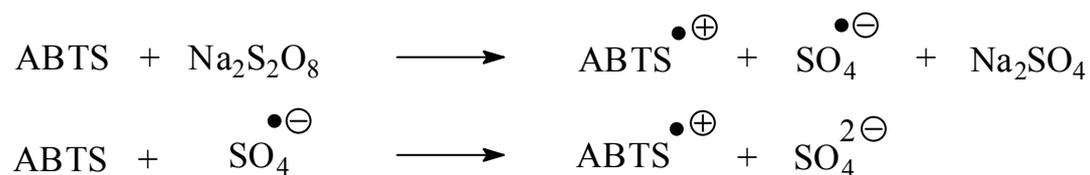


Abb.194: Erzeugung des ABTS-Radikalkations **92** mittels Natriumperoxodisulfat

Die Fähigkeit des entsprechenden Antioxidans freie Radikale abzufangen, wird mit dem Standard Trolox **94** verglichen, dass selbst schon ein sehr gutes Antioxidans darstellt.

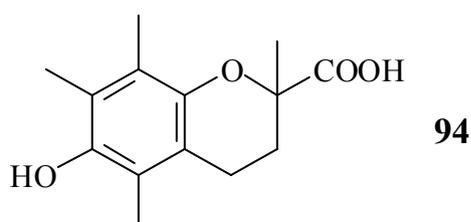


Abb.195: Trolox **94**

Trolox **94** ist ein wasserlösliches Derivat des α -Tocopherols **84** (Vitamin E). Die prozentuale Absorbanzabnahme des Radikalkations **92** bei 734 nm wird als Funktion der Konzentration aufgetragen (z. B. nach einer Minute Reaktionszeit).

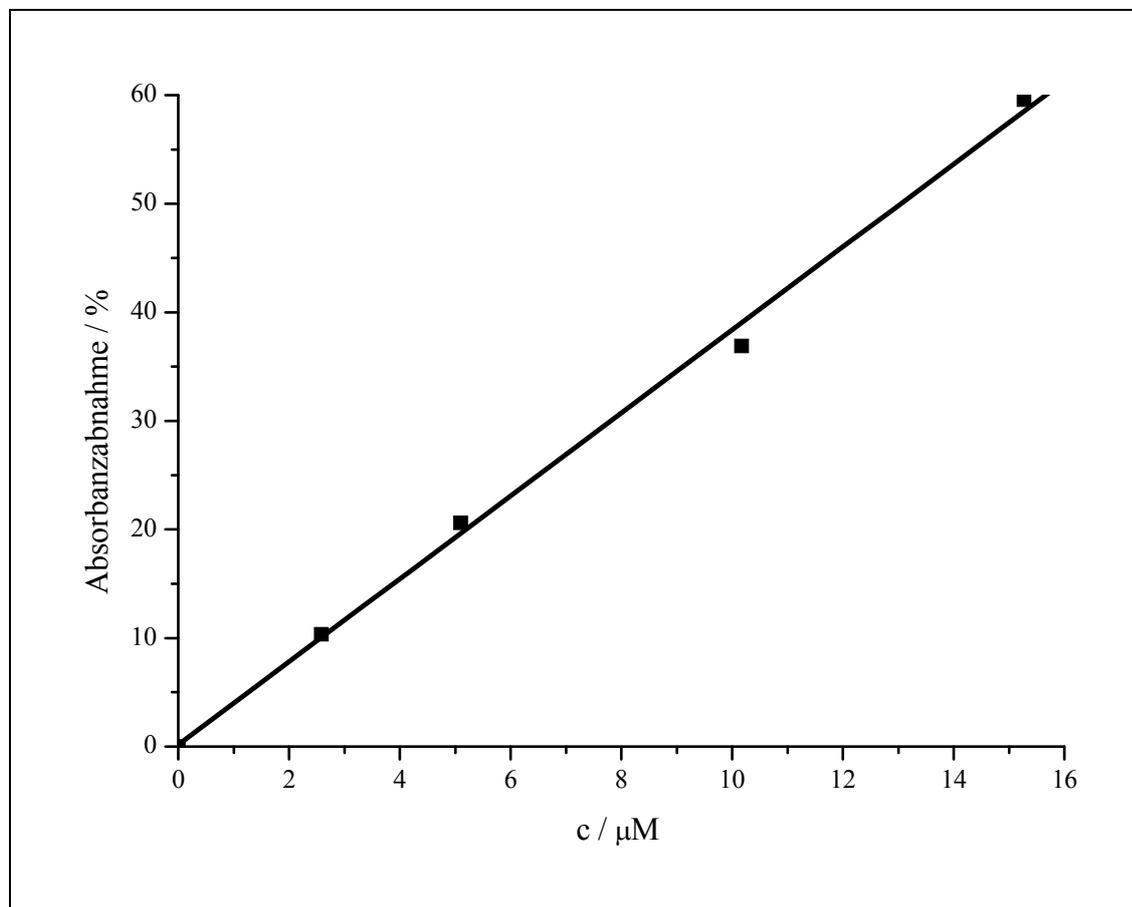


Abb.196: Absorbanzabnahme des Radikalkations **92** bei 734 nm und verschiedenen Konzentrationen des Standards Trolox **94** (Daten entnommen aus^[151])

Aus dieser Auftragung erhält man eine Geradengleichung mit einer bestimmten Steigung. Das Verhältnis der Steigungen von Antioxidans und dem Standard Trolox wird als TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) bezeichnet. Der TEAC-Wert ist ein Maß für die antioxidative Kapazität eines Substrates. Nach Re et al. kann der TEAC-Wert zu definierten Zeitpunkten (z. B. 1, 4 bzw. 6 Minuten) berechnet werden. Dadurch kann im Vergleich der Zeitpunkte eine Aussage getroffen werden, wie lange das zu untersuchende Antioxidans unter den Versuchsbedingungen wirksam ist. Unter den beschriebenen Bedingungen^[151] wurde dies für 3,3'-Dihydroxyisorenieratin (DHIR) **9** getestet, um zu sehen, ob das bisher in dieser Arbeit gezeigte außergewöhnliche antioxidative Potential dieser Verbindung **9** bestätigt wird. Im

Rahmen dieser Arbeit konnten allerdings nur Vergleichswerte anderer antioxidativ wirksamer Verbindungen aus der Literatur herangezogen werden^[151]. Die entsprechenden TEAC-Werte zu unterschiedlichen Zeitpunkten sind in der Tab.14 zusammengefasst.

Eine andere Möglichkeit das antioxidative Potential mit Hilfe dieser Methode auszudrücken, erreicht man durch Auftragung der oben erwähnten Steigungen gegen die Zeit (Abb.197). Integriert man die Fläche unter der Kurve AUC (area under curve) und berechnet das Verhältnis der integrierten Flächen von Antioxidans und dem Standard Trolox erhält man den RAA-Wert (relative antioxidant activity). Dieser Wert gibt eine genauere Aussage über die antioxidative Kapazität eines Substrates. Wie man aus der Abb.197 erkennen kann, ist das Reaktionsverhalten von Trolox und 3,3'-Dihydroxyisorenieratin (DHIR) **9**, über die Zeit gesehen, deutlich unterschiedlich. Die Werte sind ebenfalls in der Tab.14 aufgeführt.

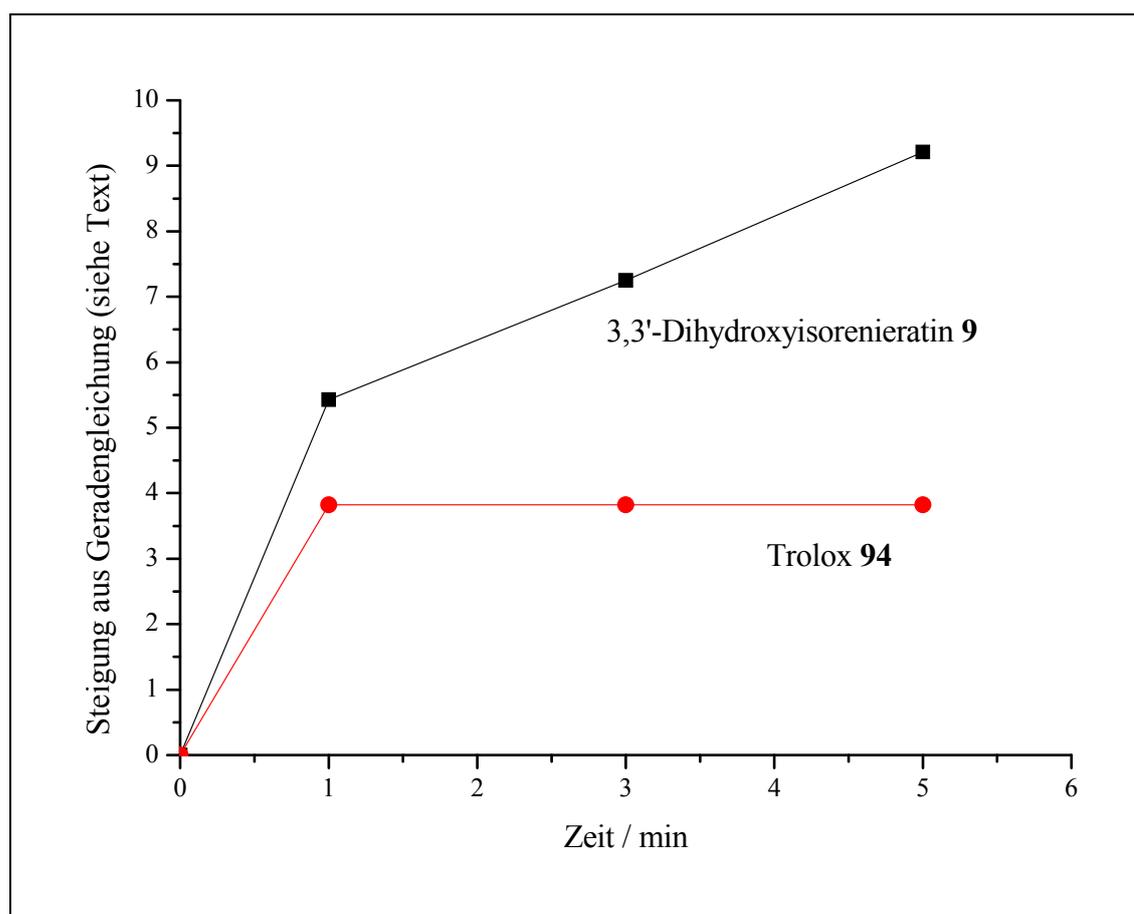


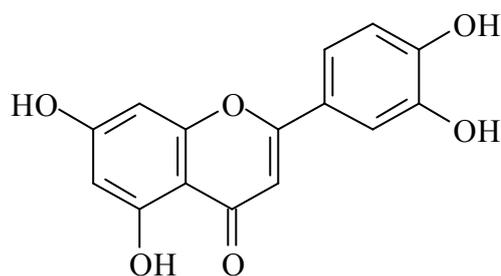
Abb.197: Auftragung zur Berechnung des AUC-Wertes von Trolox **94** und 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Tab.14: Relative antioxidative Kapazität RAA(AUC) und TEAC-Werte von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin (DHIR) **9**. Zum Vergleich sind die entsprechenden Werte für α -Tocopherol **76**, Luteolin **95**, Lycopin **4** und β -Carotin **1** mit aufgeführt (Daten entnommen aus^[151])

Komponenten	RAA (AUC)	TEAC (1 min)	TEAC (4 min)	TEAC (6min)
DHIR 9 (5 min)	1.90	1.46	1.95 (3 min)	2.48 (5 min)
α -Tocopherol 84	0.90	0.89	0.97	0.97
Luteolin 95	1.49	1.29	1.76	2.06
Lycopin 4	3.04	3.01	3.08	3.08
β -Carotin 1	2.50	2.47	2.57	2.57

2.8.2 Diskussion

3,3'-Dihydroxyisorenieratin (DHIR) **9** und das polyphenole Flavonoid Luteolin **95** wirken in diesem Assay scheinbar ähnlich, da der TEAC-Wert bei beiden mit der Zeit ansteigt, während die Carotinoide Lycopin **4** und β -Carotin **1** schon nach 1 min keine signifikante Änderung im TEAC-Wert mehr aufweisen und ihr Maximum bereits erreicht haben.



95

Abb.198: Flavonoid Luteolin **95**

Bis zu diesem Zeitpunkt (1 min) verhält sich DHIR **9** eher wie ein polyphenolisches Antioxidans (Luteolin **95**) und unterscheidet sich deutlich von dem Monophenol

α -Tocopherol **84** (Vitamin E). Zusammengefasst zeigt DHIR **9** eine mehr als doppelt so hohe relative antioxidative Kapazität wie α -Tocopherol **84** (RAA 1.90 vs. 0.90).

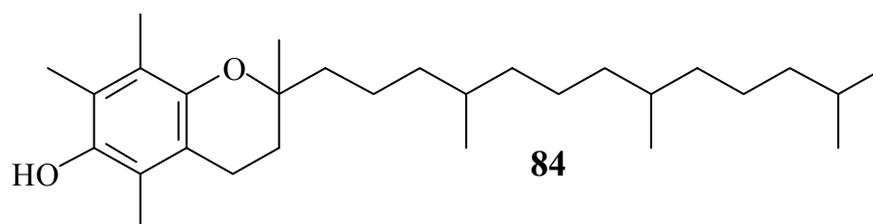


Abb.199: Vitamin E **84**

DHIR **9** zeigt sich auch in diesem Assay als ein effizientes Antioxidans, das die charakteristischen Merkmale von Polyphenolen und Carotinoiden in einer Komponente vereint. Die antioxidative Wirkung des Carotinoids selbst tritt so, im Vergleich zu Lycopin **4** und β -Carotin **1**, erst später auf. Der entscheidende Grund für dieses reaktive Verhalten ist vermutlich folgender:

Der ABTS-Test wird in Wasser/Ethanol-Mischungen durchgeführt^[151]. Aufgrund dessen werden die phenolischen Hydroxygruppen des DHIR **9** und dadurch auch ein großer Teil des aromatischen bzw. des polyenischen Systems stark solvatisiert. Nach der Wasserstoffabstraktion der phenolischen Hydroxygruppen durch die Radikalkationen **92** entsteht unter Oxidation die chinoide Form **11**. Die entstandenen Ketogruppen werden durch das Lösemittelgemisch deutlich schlechter solvatisiert und von nun an zeigt sich die antioxidative Wirkung eines Ketocarotinoids. Dadurch wird die antioxidative Wirkung im Vergleich zu Trolox **94** kontinuierlich über die Zeit aufrechterhalten (Abb.197).

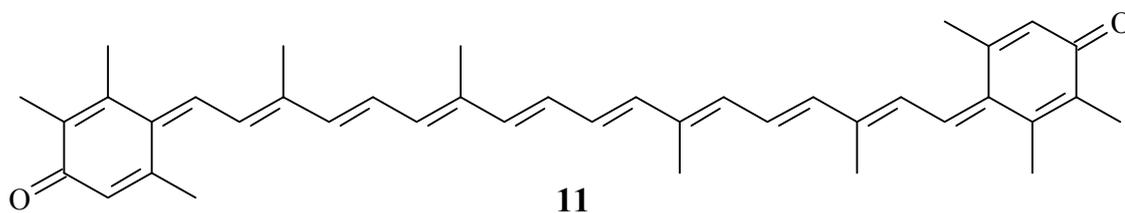


Abb.200: oxidierte Form von DHIR **9**: Chinon **11**

2.9 Einlagerung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin in Membranen unilamellarer Liposomen

2.9.1 Vesikel als Modellsystem für Membranen

In lebenden Zellen sind Carotinoide aufgrund ihres lipophilen Charakters vor allem in der Lipiddoppelschicht lokalisiert. Dort können sie nicht nur vereinzelt vorliegen, sondern auch in Form von Aggregaten. Die Aggregation in den Membranen beeinflusst z. B. die Lichtabsorption, was zu einem besseren Schutz gegen schädigende UV-A-Strahlung führen kann. Deshalb ist es von besonderem Interesse, Informationen über die Art der Aggregation zu gewinnen^[17].

Als Untersuchungsmethode ist die UV/Vis-Spektroskopie gut geeignet. In Abhängigkeit von der Aggregategeometrie ergeben sich bathochrom oder hypsochrom von der Monomerenbande verschobene Absorptionsspektren. Diese aufgrund der Aggregation geänderten optischen Eigenschaften lassen sich im Excitonen-Vektor-Modell nach Davydov erklären^[17]. Bei einer hypsochromen Absorptionsbande, d. h. zu kleineren energiereicheren Wellenlängen verschoben, spricht man von einem H-Aggregat. Ein J-Aggregat entspricht einer bathochromen Verschiebung.

Michael Korger hat in seiner Dissertation die Aggregation von Carotinoiden in unilamellare Liposomen untersucht. Dies sind kugelförmige Vesikel mit nur einer Lipiddoppelschicht, die als ein einfaches Modell für eine Zellmembran gelten. Als Lipidbaustein benutzte er das gesättigte Phospholipid DPPC (1,2-Dipalmitoyl-*sn*-glycero-phosphatidylcholin)^[17].

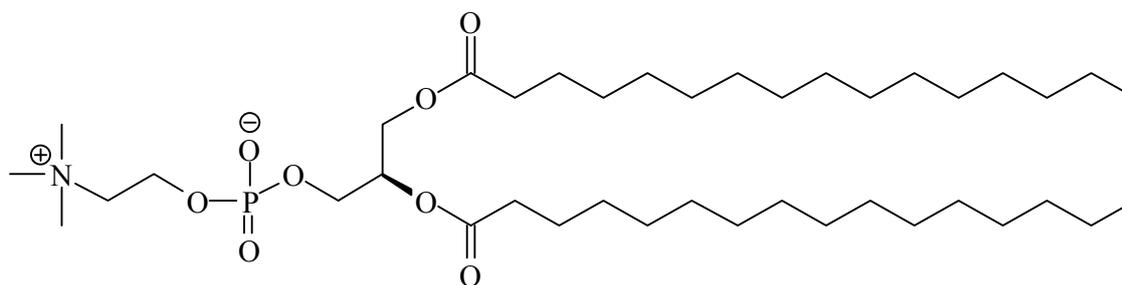


Abb.201: DPPC

Die Methode zur Präparation der Liposomen ist bei Korger ausführlich beschrieben^[17] und wurde im Rahmen dieser Arbeit benutzt. Nach Korger zeigen ausschließlich diejenigen Carotinoide eine gute Einlagerung, die freie Hydroxygruppen in den

Endgruppen besitzen. Diese Carotinoide orientieren sich senkrecht zur Membranoberfläche. Die gerichtete Einbettung der Carotinoide in die Membranen wird durch stabilisierende Wasserstoffbrückenbindungen zu den Carbonylgruppen der Fettsäurereste ausgebildet. Man beobachtet bei Xanthophyllen mit Hydroxygruppen H-Aggregation.

2.9.2 Einlagerung phenolischer Carotinoide in DPPC-Vesikel

Als Beispiel für ein phenolisches Carotinoid hat Korger das temperaturabhängige Aggregationsverhalten vom meta-Carotinoid **31** in Liposomen untersucht.

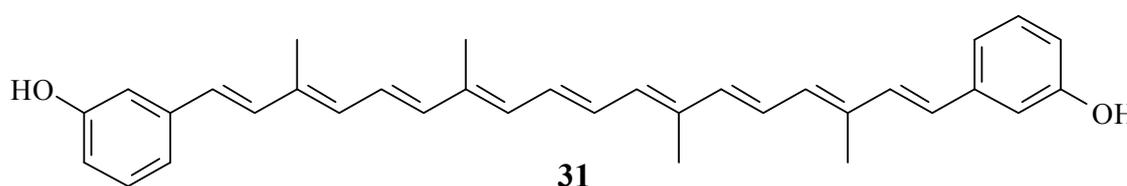


Abb.202: meta-Carotinoid **31**

Bei dieser Methode werden die Carotinoide in drei verschiedenen Konzentrationen in Membranen eingelagert. Entweder werden die Carotinoide mit steigender Konzentration mehr oder weniger effizient in die Membran eingebettet. Beim meta-Carotinoid **31** wird mit steigender Konzentration ein immer höherer prozentualer Anteil in die DPPC-Membranen integriert, was für eine gute Einlagerung dieses Carotinoids **31** spricht. Dies steht im Kontrast zu Astaxanthin **2**, bei dem ein umgekehrtes Verhalten zu beobachten ist.

Die Aggregation wird in einem Temperaturbereich von 18 bis 50 °C in einer wässrigen Pufferlösung untersucht. Bei DPPC-Membranen liegt die Phasenübergangstemperatur bei 42 °C. Dies ist die Temperatur bei der die Lipidmoleküle vom geordneten Gelzustand in einen flüssig-kristallinen Zustand übergehen. Im Gelzustand liegen die Carotinoide normalerweise aggregiert vor. Im flüssig-kristallinen Zustand (> 42 °C) kommt es zu einer Dissoziation der H-Aggregate in Monomere.

Bei 18 °C beobachtet man eine stark hypsochrom verschobene Bande bei ca. 410 nm (Abb.203). Dabei kann man sich die Aggregation der Carotinoidmoleküle in der Form eines Kartenstapels vorstellen. Die treibende Kraft für diese Art von Aggregation sind die Wasserstoffbrückenbindungen der phenolischen Gruppen untereinander und hydrophobe Wechselwirkungen.

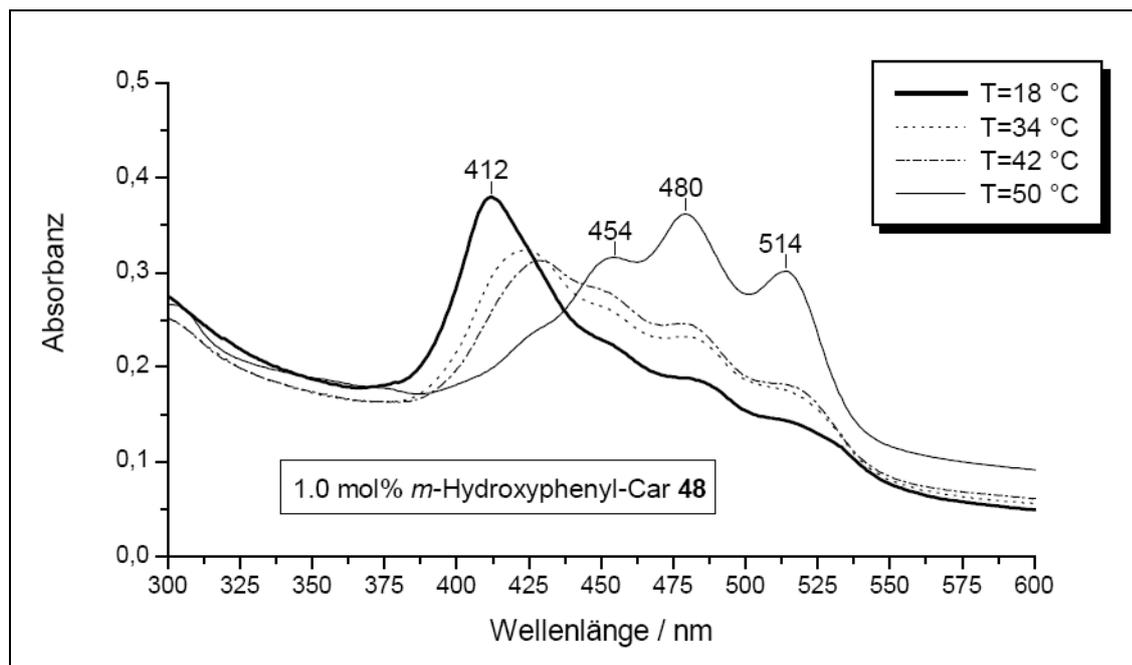


Abb.203: Temperaturabhängiges Aggregationsverhalten von meta-Carotenoid **31** (entnommen aus^[17])

Beim Erwärmen der Liposomen auf 50 °C entsteht das Monomerspektrum des Carotinoide **31**, das im Vergleich zum Spektrum in Lösung, noch einen additiven Anteil an Streustrahlung durch die Liposomen enthält. Dieser Aggregationsprozess ist reversibel, d. h. nach Abkühlung unter die Phasenübergangstemperatur erhält man wieder das Spektrum des H-Aggregates. Dies zeigt eindeutig, dass das Carotenoid **31** über den gesamten Temperaturbereich im Lipidinnern der Membran eingelagert ist und sich nicht etwa in der wässrigen Umgebung befindet.

3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** (DHIR) kommt in den Bakterien vom Typ *Brevibacterium linens* vor, die für die Reifung von Rotschmierkäsesorten verwendet werden. Das Carotenoid ist in der Zellmembran der Bakterien nachgewiesen worden (vergleiche Kapitel 2.1).

Im Vergleich der Monomerspektren von meta-Carotenoid **31** und DHIR **9** erkennt man signifikante Unterschiede. Während das meta-Carotenoid **31** eine koplanare Struktur hat, sind die Endgruppen im DHIR **9** durch die Methylgruppen in 1- und 5-Stellung deutlich aus der Ebene herausgedreht. Dadurch kommt es im DHIR zu einer ungünstigeren Konjugation, wodurch das Wellenlängenmaximum im Monomerspektrum um ca. 16 nm (Ethanol) hypsochrom verschoben ist. Aufgrund der größeren Anzahl an möglichen Konformationen ist die Feinstruktur weniger stark als im meta-Carotenoid **31** (Dreizack) ausgeprägt (siehe Kapitel 2.1).

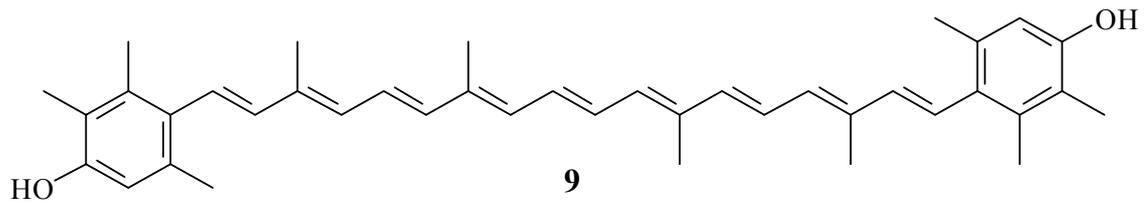


Abb.204: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin 9

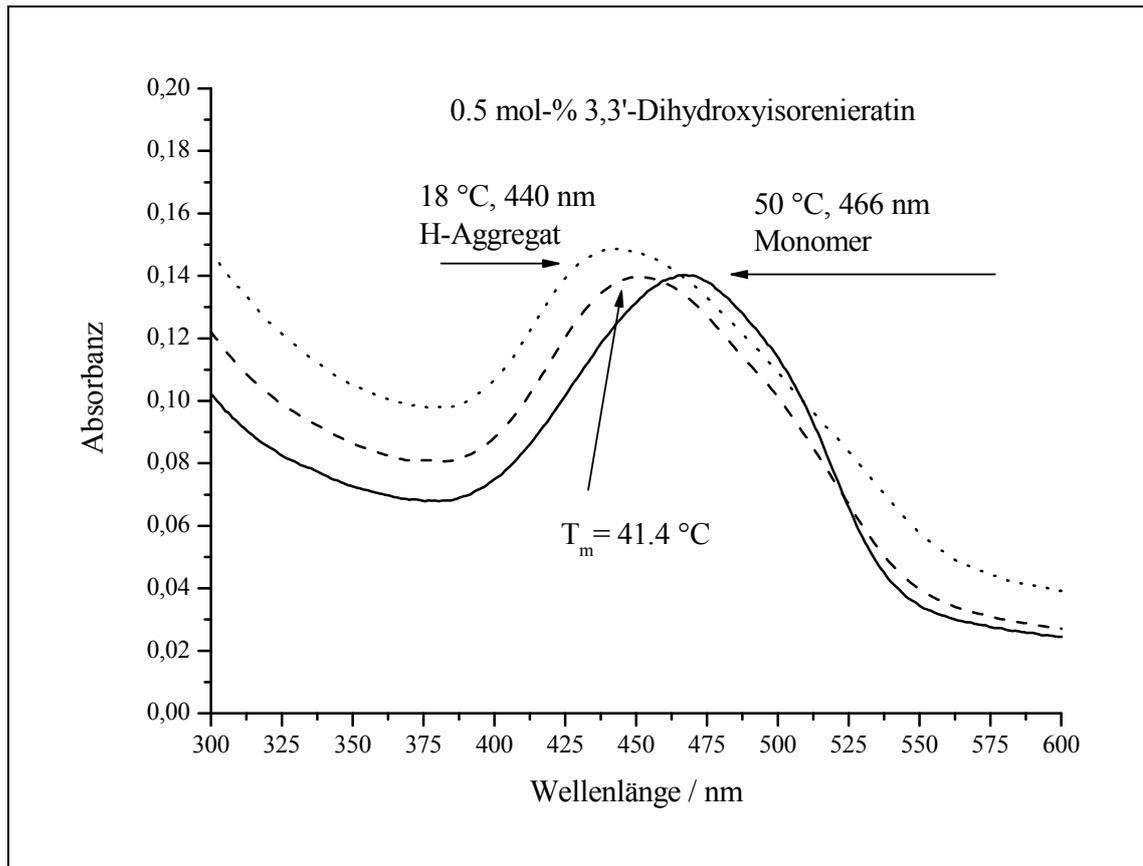


Abb.205: UV/VIS-Spektrum: UnilamellareDPPC-Vesikel beladen mit 0.5 mol-% DHIR 9

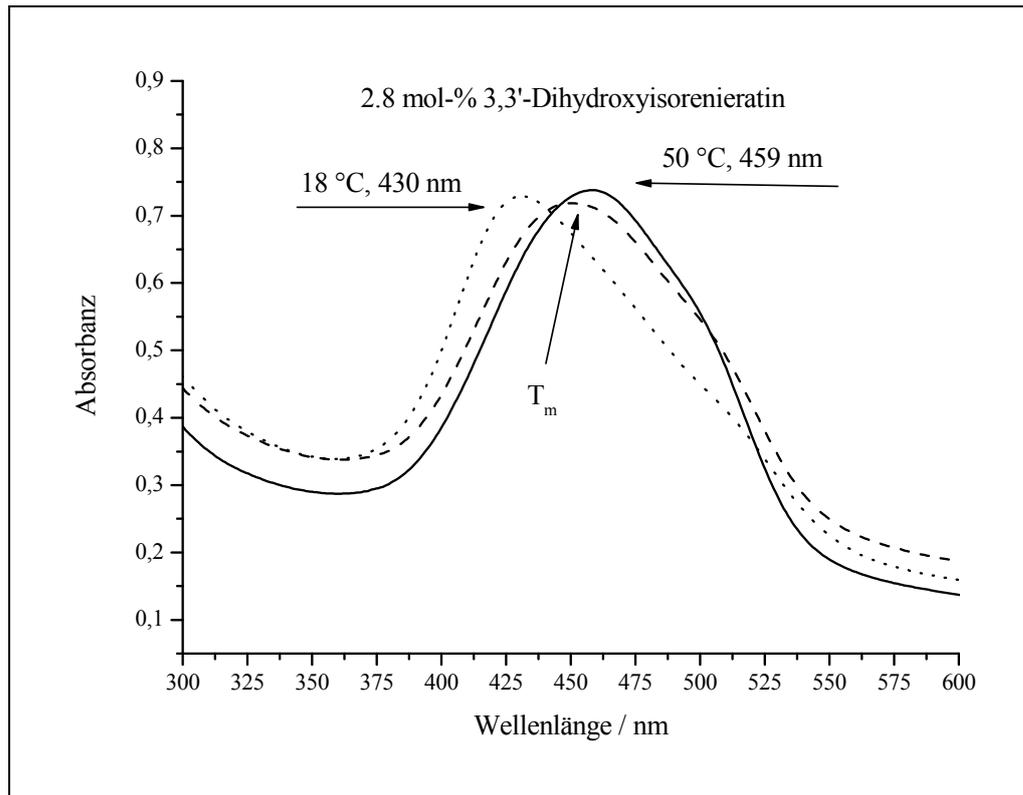


Abb.206: UV/VIS-Spektrum: UnilamellareDPPC-Vesikel beladen mit 2.8 mol-% DHIR 9

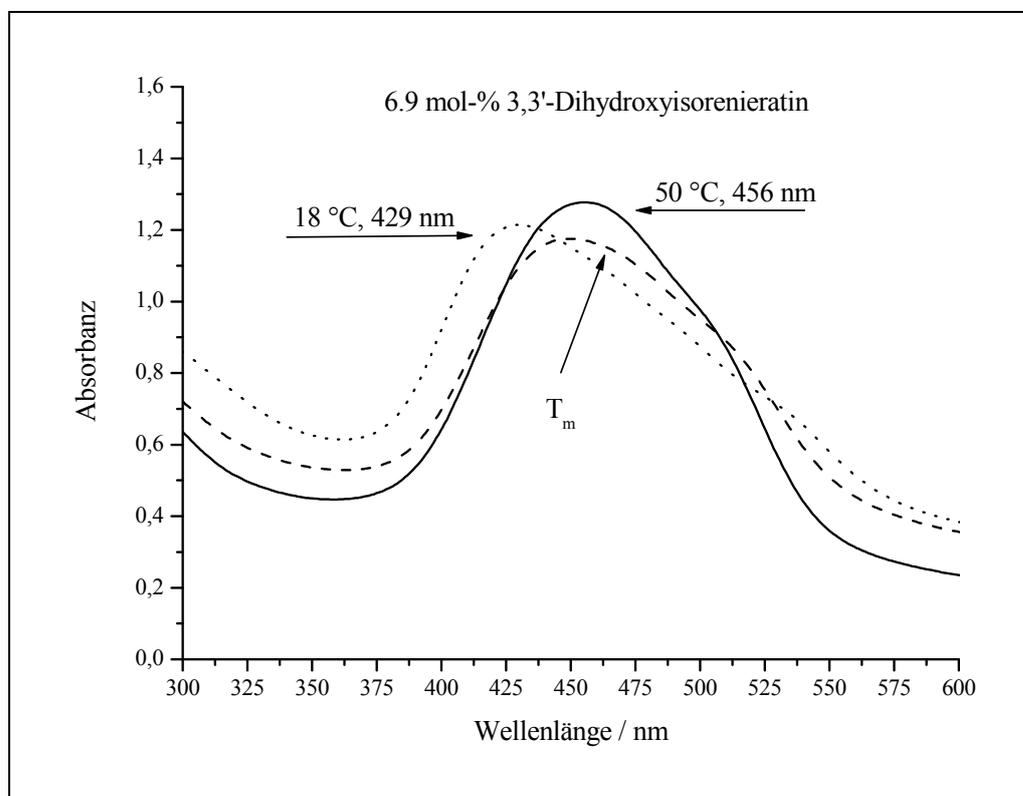


Abb.207: UV/VIS-Spektrum: UnilamellareDPPC-Vesikel beladen mit 6.9 mol-% DHIR 9

Analog zum meta-Carotinoid **31** wird mit steigender Konzentration von **9** ein größerer Anteil des Carotinoids **9** in die Liposomen eingelagert. Dies ist bei den meisten Carotinoiden, die Korger untersuchte, nicht der Fall. Bei der höchsten Konzentration an eingesetztem Carotinoid erhält man eine Einbettung von DHIR **9** von 58 %. Im Vergleich dazu liegt die Integration von meta-Carotinoid **31** in die Vesikel bei 83 %, d. h. **9** lagert im Vergleich schlechter in die Membranen ein. Dies kann man durch die oben erwähnte Koplanarität des meta-Carotinoids **31** erklären. Die Methylgruppen in den Endgruppen des DHIR **9** haben, auch durch die fehlende Planarität zur Polyenkette, einen erhöhten sterischen Anspruch.

Die ausgeprägte H-Aggregat-Absorptionsbande des meta-Carotinoids **31** ist mit ungefähr 410 nm stark hypsochrom zum Wellenlängenmaximum verschoben (Abb.203) und weist auf eine starke Aggregation hin. Dies entspricht 3400 cm^{-1} . Die Verschiebung ist beim DHIR **9** mit 1470 cm^{-1} deutlich geringer (Abb.206).

Des Weiteren erklärt sich eventuell beim DHIR **9** eine höhere Lipophilie, durch insgesamt sechs zusätzliche Methylgruppen im direkten Vergleich zum meta-Carotinoid **31**. Aus diesem Grund könnte die Einlagerung der Endgruppen in die polaren Regionen der Lipiddoppelschicht erschwert sein. Insgesamt resultiert in dem Modellsystem mit DPPC eine schlechtere Einlagerung.

Die temperaturabhängigen Aggregationsprozesse sind wie beim meta-Carotinoid **31** reversibel.

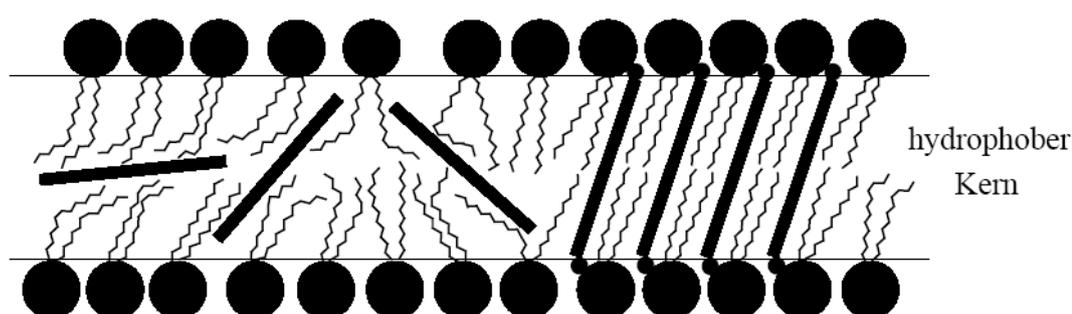


Abb.208: Modell der Einlagerung von Carotinoiden in Membranen (entnommen aus^[17])

Tab.15: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin-Konzentrationen in präparierten DPPC-Vesikeln

c ₁ (eingesetzte Konzentration Carotinoid) mmol/L	0.13	0.39	0.65
c ₂ (eingelagerte Konzentration Carotinoid) mmol/L, Mittelwert	0.028 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.38 ± 0.02
CV / %	22	38	58
EV / mol-%	0.5	2.8	6.9

- $CV = c_2/c_1$ gibt das Verhältnis der eingelagerten zur eingesetzten Carotinoidmenge an.
- $EV = c_2/c_3$ beschreibt das Verhältnis der eingelagerten Carotinoidmenge zum eingesetzten Phospholipid
- c_3 (DPPC) = (5.44 ± 0.56) mmol/L, entspricht der durchschnittlichen DPPC-Konzentration nach der Präparation

Man kann vermuten, dass 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** in Bakterien zur Stabilität der Membranen beitragen kann. Dort liegt es in freier und/ oder veresterter Form vor. Aufgrund seiner Struktur kann es die Membran durchspannen und damit die beiden Lipideinzelschichten zusammenhalten (Abb.208). Dies gilt besonders oberhalb der Phasenübergangstemperatur, wenn die gerichtete Ordnung der Kohlenwasserstoffreste gestört ist. Die Übergangstemperatur kann je nach Phospholipidtyp auch deutlich unterhalb 41 °C liegen.

Aufgrund seines außergewöhnlichen antioxidativen Potentials wird **9** vermutlich auch eine Rolle in der Protektion der Zelle spielen. Die Qualitäten als Radikalfänger wurden ausführlich beschrieben (Kapitel 2.5, 2.6, 2.8). Dass die Struktur auch ein hohes Maß an Singulett-Sauerstoff-Quenchvermögen besitzt, wurde durch Untersuchungen an anderen Carotinoiden gezeigt (siehe auch Kapitel 2.7)^[5].

Durch die hier nachgewiesene H-Aggregation kann man zusätzlich auf eine verstärkte UV-A-Schutzwirkung in den Membranen durch Absorption schließen. Diese photoprotektive Wirkung wird in der Arbeitsgruppe Stahl an humanen Hautfibroblasten im Rahmen des SFB 663 intensiv untersucht.

3 Zusammenfassung

Der natürlich vorkommende Farbstoff 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** stand im Fokus dieser Arbeit. Dieser hat sich als ein herausragendes Antioxidans bewährt. Durch die Synthese von Derivaten von **9**, die sich nur um genau definierte Strukturmerkmale unterscheiden, war eine Quantifizierung der Struktur-Wirkungsbeziehung möglich.

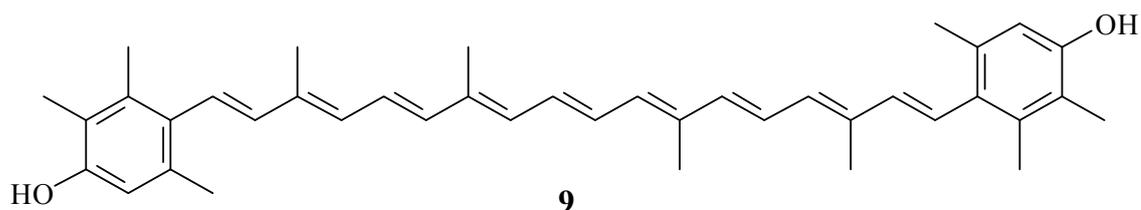


Abb.209: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Zunächst konnte das Oxidationsprodukt **11** von **9** synthetisch dargestellt werden. Dies war wichtig, da **11** bei radikalisch-induzierter Oxidation von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** als ein Zwischenprodukt entsteht. Es konnte festgestellt werden, dass **11** einen großen Anteil an der antioxidativen Kapazität von **9** ausmacht.

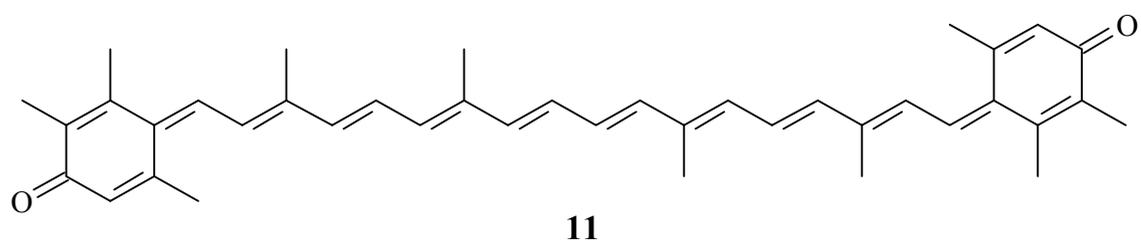
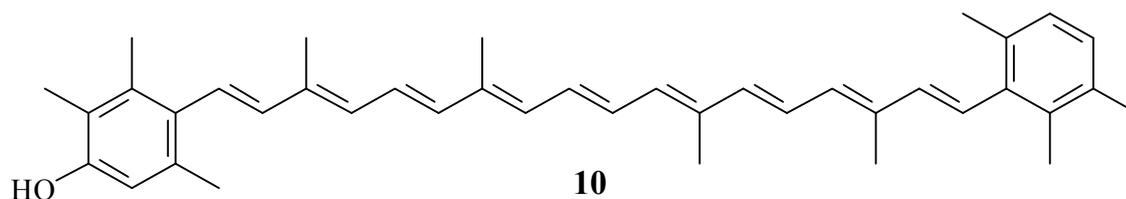


Abb.210: 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **11**

Die Verbindung **11** wird durch Wasserstoffabstraktion der phenolischen Hydroxygruppen von **9** gebildet. Daher war es interessant zu sehen, welchen Einfluss der schrittweise Ersatz der Hydroxygruppen durch Wasserstoffatome von **9** auf das antioxidative Potential ausübt. Es konnten die ebenfalls natürlich existierenden Carotinoide Isorenieratin **12** und 3-Hydroxyisorenieratin **10** hergestellt werden, die genau diese Bedingungen erfüllen. Für das unsymmetrische Carotinoid **10** konnte eine effiziente Totalsynthese entwickelt werden.

In der Reihe der drei aromatischen Carotinoide **12**, **10** und **9** steigt die antioxidative Kapazität nicht linear, sondern insbesondere von **10** nach **9** exponentiell an.

Abb.211: 3-Hydroxyisorenieratin **10**

Einen weiteren Beleg der überlegenen Struktur der Verbindungen mit phenolischen Hydroxygruppen in para-Stellung zur Polyenkette erhält man, wenn diese durch Schutzgruppen in ihrer Wirkungsweise, so wie bei 3,3'-Dimethoxyisorenieratin **64**, blockiert werden. Die antioxidative Kapazität sinkt dann im Vergleich zu **9** stark ab, da sich kein doppeltchinoides Carotinoid ausbilden kann. Dieser Wirkmechanismus konnte auch bei dem bisphenolischen BHT-Carotinoid **13** belegt werden. Durch die Variation der Stellung der phenolischen Hydroxygruppen in den Endgruppen konnte gezeigt werden, dass auch die Hydroxygruppen in der meta-Position gute antioxidative Eigenschaften bewirken.

Die in dieser Arbeit hergestellten Carotinoide konnten umfassend durch zweidimensionale NMR-Methoden, hochaufgelöste Masse etc. untersucht und charakterisiert werden. Insbesondere für die Verbindungen **10** und **11** existierten bisher nur sehr lückenhafte spektroskopische Daten.

3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** liegt in dem Bakterium *Brevibacterium linens* in der Zellmembran vor. Es konnte im Rahmen dieser Arbeit gezeigt werden, dass es im Modellsystem unilamellarer Liposomen bevorzugt als H-Aggregat vorliegt und dort relativ gut einlagern kann.

Die Farbstoffklasse der Carotinoide deckt in der Natur ein Spektrum von gelb bis orange ab. Deshalb ist es bemerkenswert, mit den Carotinoiden **11** und **36** zwei blaue Farbstoffe in der Hand zu halten. Die bathochrome Verschiebung resultiert aus dem im Vergleich zu anderen Carotinoiden verlängerten konjugierten π -System.

4 Experimenteller Teil

4.1 Allgemeines

Folgende Geräte und Hilfsmittel wurden zur Darstellung, Charakterisierung und Messung der Verbindungen verwendet:

Hochaufgelöste Masse:	Bruker APEX III (FTICR-MS), MPI für Kohlenforschung in Mülheim a. d. R.
Elementaranalysen:	Institut für Pharmazeutische Chemie, HHU Düsseldorf
UV/VIS-Spektroskopie	Perkin Elmer Lambda 19
¹ H-NMR-Spektroskopie	Bruker Advance DRX 500 (500 MHz) Bruker Advance DRX 200 (200 MHz)
¹³ C-NMR-Spektroskopie	Bruker Advance DRX 500 (125 MHz)
³¹ P-NMR-Spektroskopie	Bruker Advance DRX 500 (202 MHz) Bruker Advance DRX 200 (81 MHz)
FT-IR-Spektroskopie	Bruker Vektor 22
Schmelzpunkte	Reichardt Thermovar (unkorrigiert) Büchi 510 (unkorrigiert)
Dünnschichtchromatographie	DC-Alufolien Kieselgel 60 mit UV-Indikator F254, Merck
Säulenchromatographie	Kieselgel 60 (0.040-0.063 mm), Merck
Massenspektroskopie	Bruker Ultraflex TOF, Maldi Finnigan MAT 8200, FAB Varian MAT 311 A, EI
Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	Agilent Series 1100, Säule: YMC SIL-ASP, 150·6 mm, S-5 µM, 6 nm Laufmittel: <i>n</i> -Hexan/Isopropanol 99:1, Flußrate: 2 ml/min
Druckmessung	MKS Baratron, Type 223B und Type 122A

4.2 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei den Damen und Herren, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, ganz besonders herzlich bedanken. Die Reihenfolge der Nennung steht in keiner Beziehung zur Größe der Dankesschuld:

Frau I. Menzel, Frau D. Riedel und Frau D. Koschel für stets zeitnahe Messungen von UV/VIS- und IR-Spektren.

Frau H. Webers für die freundliche Unterstützung bei Bestellungen.

Herrn E. Schönstein für die Bereitstellung von Glasgeräten, Gasbomben und Kaffee.

Frau V. Foremny für Sekretariatsangelegenheiten.

Frau Rau und besonders Herrn Behm für die zahlreichen Spezialmessungen am NMR, die aufgrund diverser Empfindlichkeiten meistens einen Termin benötigten.

Herrn Dr. Hansgeorg Ernst (BASF) für die Unterstützung und anregenden Diskussionen im Rahmen der Synthese von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**. Des Weiteren für die Bereitstellung der Verbindungen **9**, **14**, **15**, **65** und einiger anderer Substanzen für die Mitglieder des Arbeitskreises.

Herrn Prof. Dr. Haenel für die stets freundliche Unterstützung beim Transport der Proben für die HRMS.

Herrn Dr. W. Schrader und besonders Frau Blumenthal für die angenehme Zusammenarbeit und prompte Messung der hochaufgelösten Massen.

Herrn Priv. Doz. Dr. K. Schaper für die Teilhabe an schier unendlichem, naturwissenschaftlichen Wissen und die schönen Nachsitzungen. Des Weiteren für die kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Herrn Dr. B. Meyer für alle gelösten technischen Probleme und die stets aktuelle Wettervorhersage.

Herrn Dr. S. Beutner für den mir gewährten Freiraum als Praktikumsassistent und seiner steten Diskussionsbereitschaft.

Herrn Dr. Roger Scherrers für ein stets offenes Ohr, exzellenten Spargel, selbst gemachte Pommes und die Überlassung großer Mengen der Verbindungen **53** bzw. **64**.

Herrn Dr. M. Korger für die Einweisung in die Präparation der unilamellaren Liposomen und die inspirierenden fachlichen Diskussionen.

Frau Dipl. Chem. D. Katarzynski, Herrn Dr. T. Meier, Herrn Dipl. Chem. Holger Tüllmann und besonders Herrn B. SC. C. Hundsdörfer für die kritische Durchsicht von Teilen dieser Arbeit.

Herrn Dr. D. Prüstel für die Hilfe bei organisatorischen Angelegenheiten.

Herrn Dr. P. Tommes und Herr R. Bürgel für die Aufnahme der Massenspektren an der HHU.

Dem Arbeitskreis um Herrn Prof. Dr. W. Stahl und Frau Dipl. Chem. T. Wagener für die gute Zusammenarbeit im Rahmen des SFB 663.

Herrn Dipl. Chem. S. Herweg für die pünktliche Bereitstellung von Trockeneis und seiner Hilfsbereitschaft.

Herrn Dr. T. Hoffmann für die (fast verschollenen) Singulett-Sauerstoff-Messungen vom BHT-Carotinoid **13**.

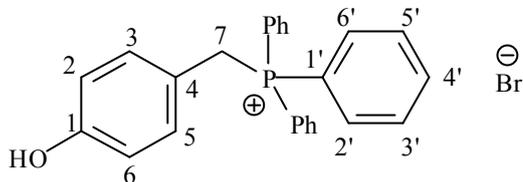
Herrn Prof. Dr. T. J. J. Müller für die freundliche Überlassung eines Laborarbeitsplatzes.

Meiner Frau, Dipl. Chem. Grit Kock, für die unermüdliche Unterstützung und Rücksichtnahme während der Niederschrift dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt allen ehemaligen (die hier nicht alle genannt werden können, ohne den Rahmen zu sprengen: Frau Dr. S. Köhn, Herrn Dr. C. Meyer, Herrn Dr. O. Keray,...) und jetzigen Mitarbeitern der OC I für die freundliche Aufnahme in den Arbeitskreis und die angenehme Atmosphäre.

4.3 Versuchsbeschreibungen

4.3.1 V1: (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **28**



5.0 g (40 mmol) 4-Hydroxybenzylalkohol **27** werden in 80 ml einer Mischung von Dichlormethan/Methanol 3:1 gelöst. Anschließend werden portionsweise 14 g (41 mmol) Triphenylphosphonium-bromid zugegeben. Es wird 1 h auf 50 °C erwärmt und 24 h bei RT gerührt. Das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 50 ml Dichlormethan suspendiert und 1 h gerührt. Der Feststoff **28** wird abfiltriert, mit Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 16 g (36 mmol), $M(C_{25}H_{22}BrOP) = 449.3 \text{ g/mol}$

91 %

Smp.: >250 °C

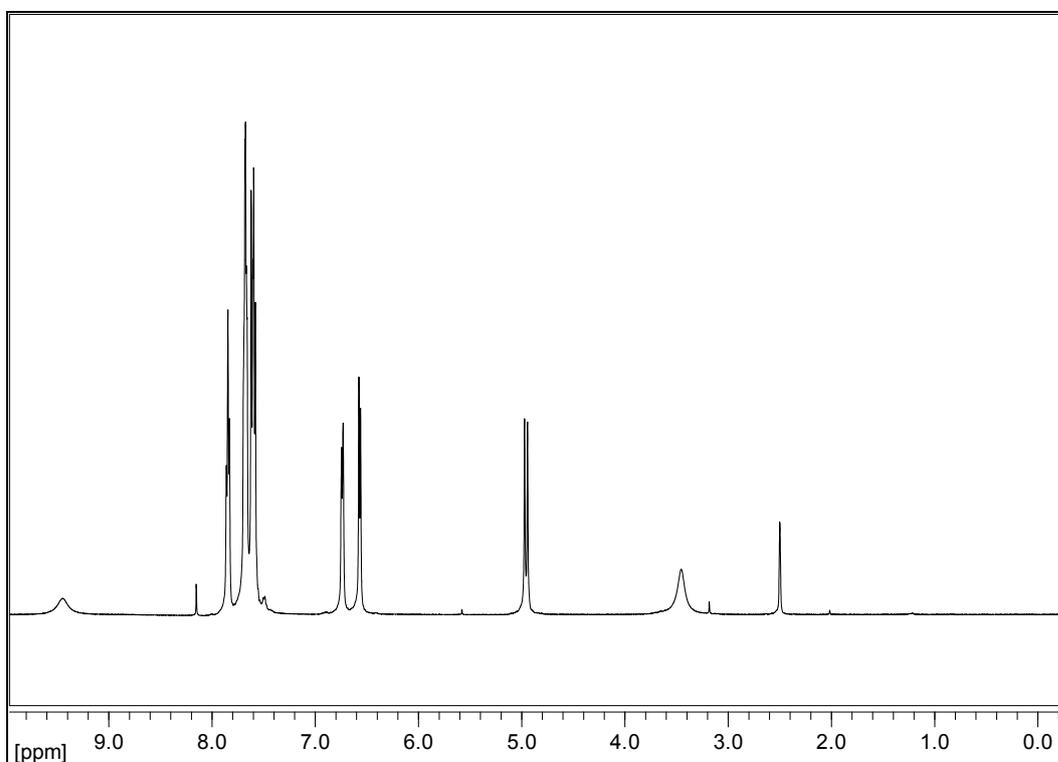


Abb.212: $^1\text{H-NMR}_{500}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-}d_6$) von (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **28**

$^1\text{H-NMR}_{500}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$):

$\delta = 4.96$ (d, 2 H, $^2J_{HP} = 14.5$ Hz, **7-H**), 6.57 (m, 2 H, A-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, **2, 6-H**), 6.74 (m, 2 H, B-Teil eines $[\text{AB}]_2$ -Systems, **3, 5-H**), $7.58\text{-}7.86$ (m, 15 H, **2',3',4',5',6'-H**), 9.45 (s, 1 H, **OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{125}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$):

$\delta = 27.9$ (d, $^1J_{CP} = 46.1$ Hz, **7-C**), 115.3 (d, $^4J_{CP} = 3.8$ Hz, **2, 6-C**), 116.4 (d, $^2J_{CP} = 8.6$ Hz, **4-C**), 117.6 (d, $^1J_{CP} = 85.2$ Hz, **1'-C**), 129.6 (d, $^3J_{CP} = 12.2$ Hz, **3', 5'-C**), 131.6 (d, $^3J_{CP} = 5.4$ Hz, **3, 5-C**), 133.8 (d, $^2J_{CP} = 9.8$ Hz, **2', 6'-C**), 134.6 (d, $^4J_{CP} = 2.6$ Hz, **4'-C**), 157.3 (d, $^5J_{CP} = 3.8$ Hz, **1-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{202}$ ($\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6 / 85\%$ ige H_3PO_4):

$\delta = 23.35$ ppm.

Massenspektrum (FAB+MNBA):

m/z (%) = 370.3 (28) $[\text{M}+1\text{-Br}]^+$, 369.3 (100) $[\text{M-Br}]^+$

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3400$ (O-H-Valenzschwingung), 3120 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2917 , 2877 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1609 , 1588 (C=C-Valenzschwingung), 1438 (P-Phenyl), 1268 , 1113 (C-O-Valenzschwingung), 841 , 745 , 691 (zwei bzw. fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

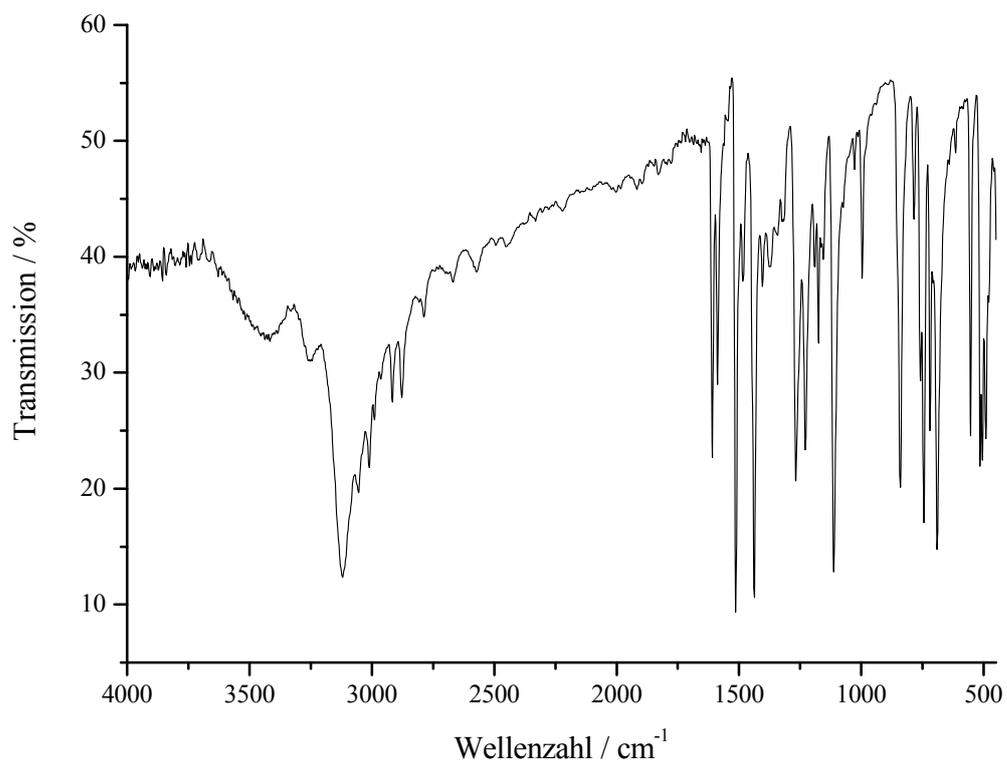
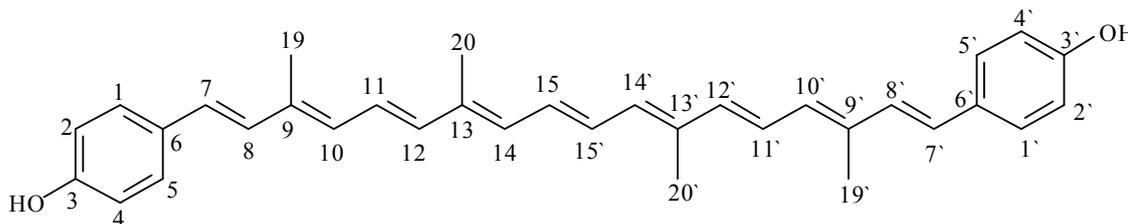


Abb.213: IR-Spektrum (KBr) von (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **28**

4.3.2 V2: 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **17**



In 200 ml trockenem Tetrahydrofuran werden 6.0 g (13 mmol) (4-Hydroxybenzyl)triphenylphosphoniumbromid **28** suspendiert. Unter Argon und Kühlung mit einer Eis/Kochsalz-Mischung werden innerhalb von 60 min 8.4 ml (13 mmol) *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan) zuge tropft. 0.66 g (2.2 mmol) Crocetininaldehyd **14** werden in 50 ml Dichlormethan gelöst und innerhalb von 30 min zu der dunkelroten Suspension tropfenweise zugegeben. Anschließend wird noch 1 h bei RT nachgerührt. Danach wird auf 5 °C abgekühlt und mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure (2 %) hydrolysiert. Es wird mit Tetrahydrofuran extrahiert und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan/Diethylether 9:1 an Kieselgel 60 chromatographiert. Unter Destillation bei Normaldruck wird das Lösemittelgemisch gegen simultan zuge tropftes Ethanol (30 ml) ausgetauscht. Die Mischung wird 3 h zum Rückfluß erhitzt und anschließend 12 h bei -20 °C auskristallisiert. Es wird abfiltriert, mit wenig eiskaltem Ethanol gewaschen und der Feststoff **17** im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.41 g (0.86 mmol), $M(C_{34}H_{36}O_2) = 476.66$ g/mol

39 % bezogen auf Crocetininaldehyd **14**

Smp.: >250 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 1.96$ (s, 6 H, **20, 20'-H**), 1.99 (s, 6 H, **19, 19'-H**), 6.34 (d, 2 H, $^3J = 11.5$ Hz, **10, 10'-H**), 6.36 (m, 2 H, **14, 14'-H**), 6.41 (d, 2 H, $^3J = 14.7$ Hz, **12, 12'-H**), 6.55 (d, 2 H, $^3J = 16.0$ Hz, **7, 7'-H**), 6.71 (m, 4 H, **11, 11', 15, 15'-H**), 6.73 (m, 4 H, AA'-Teil, **2, 2', 4, 4'-H**), 6.81 (d, 2 H, $^3J = 16.0$ Hz, **8, 8'-H**), 7.33 (m, 4 H, BB'-Teil, **1, 1', 5, 5'-H**), 9.55 (s, 2 H, **3, 3'-OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (DMSO- d_6):

$\delta = 12.51$ (**19**, **19'**-C), 12.59 (**20**, **20'**-C), 115.48 (**2**, **2'**, **4**, **4'**-C), 125.29 (**11**, **11'**-C), 127.49 (**7**, **7'**-C), 127.58 (**1**, **1'**, **5**, **5'**-C), 128.41 (**6**, **6'**-C), 130.17 (**15**, **15'**-C), 130.29 (**8**, **8'**-C), 131.53 (**10**, **10'**-C), 132.64 (**14**, **14'**-C), 135.71 (**9**, **9'**-C), 136.25 (**13**, **13'**-C), 137.11 (**12**, **12'**-C), 156.96 (**3**, **3'**-C) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3319$ (O-H-Valenzschwingung), 3026 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2968 , 2924 (C-H-Valenzschwingung), 1605 , 1509 (C=C-Valenzschwingung), 1458 , 1391 (C-H-Deformationsschwingung, Methylgruppen), 1244 , 1170 (C-O-Valenzschwingung), 967 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 831 (zwei benachbarte H am Aromaten) cm^{-1} .

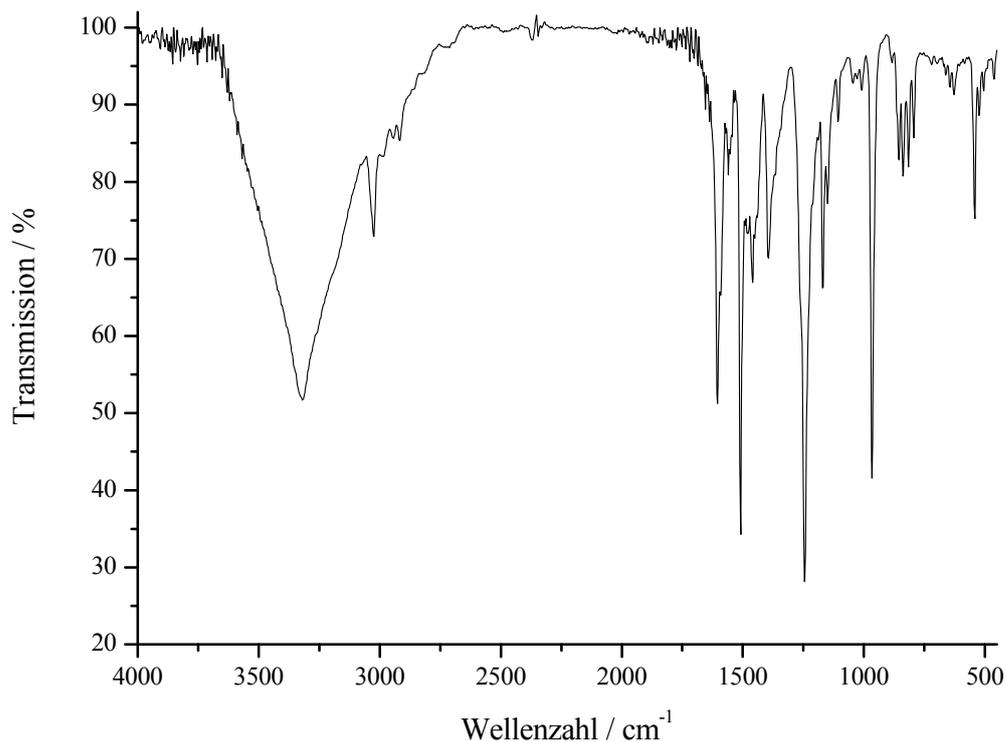


Abb. 214: IR-Spektrum (KBr) von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **17**

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 476.3 (16) $[M]^+$, 386 (18), 370 (13), 358 (58), 249 (36), 217 (25), 147 (16), 107 (45).

Hochaufgelöste Masse (ESI^{neg}):

m/z = 475.264253, calc.($C_{34}H_{35}O_2-H$) 475.264573

UV/VIS (THF):

λ_{\max} ($\epsilon / L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) = 308 (27000), 457 (sh), 483 (136000), 517 (112000) nm.

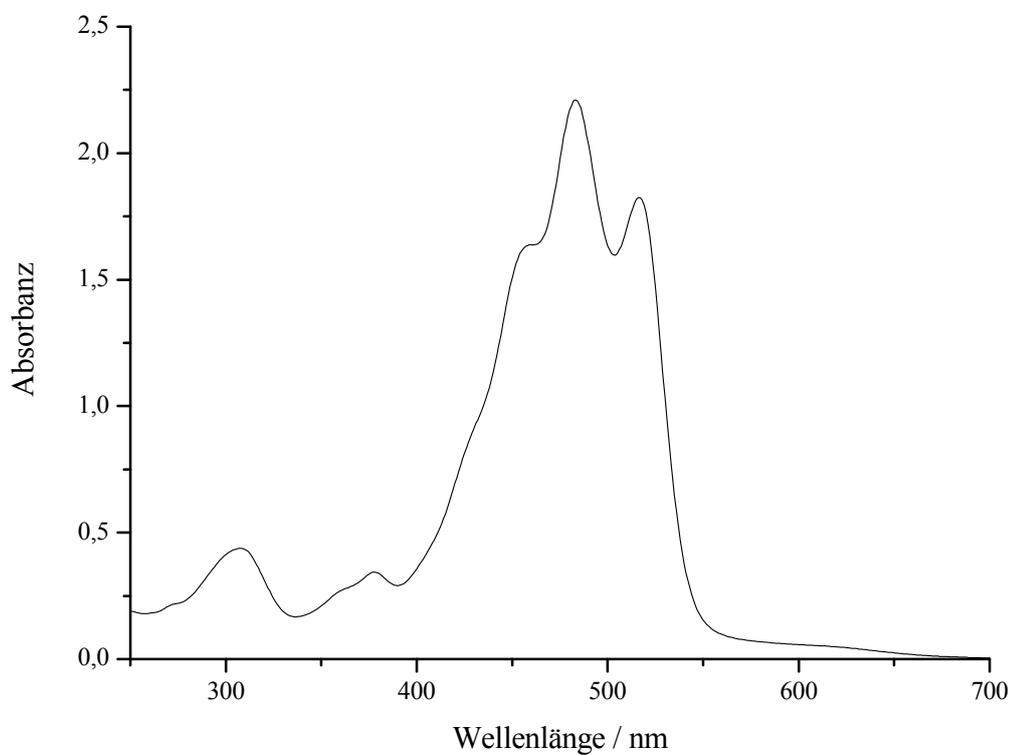
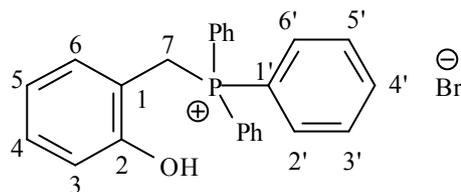


Abb.215: UV/VIS-Spektrum (THF) von 3,3'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin 17

4.3.3 V3: (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **32**

10.0 g (80.6 mmol) 2-Hydroxybenzylalkohol werden in 100 ml Dichlormethan gelöst. Bei 0 °C werden portionsweise 27.8 g (81.0 mmol) Triphenylphosphonium-bromid zugegeben. Anschließend wird 72 h bei RT gerührt. Die Lösung wird in 2 l Diethylether getropft, der entstandene Feststoff filtriert und mit Diethylether gewaschen. Der Feststoff **32** wird im Exsikkator unter Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 33.7 g (75.0 mmol), $M(C_{25}H_{22}BrOP) = 449.3 \text{ g/mol}$

93 %

Smp.: 238-240 °C

Lit.^[152]: 246-248 °C

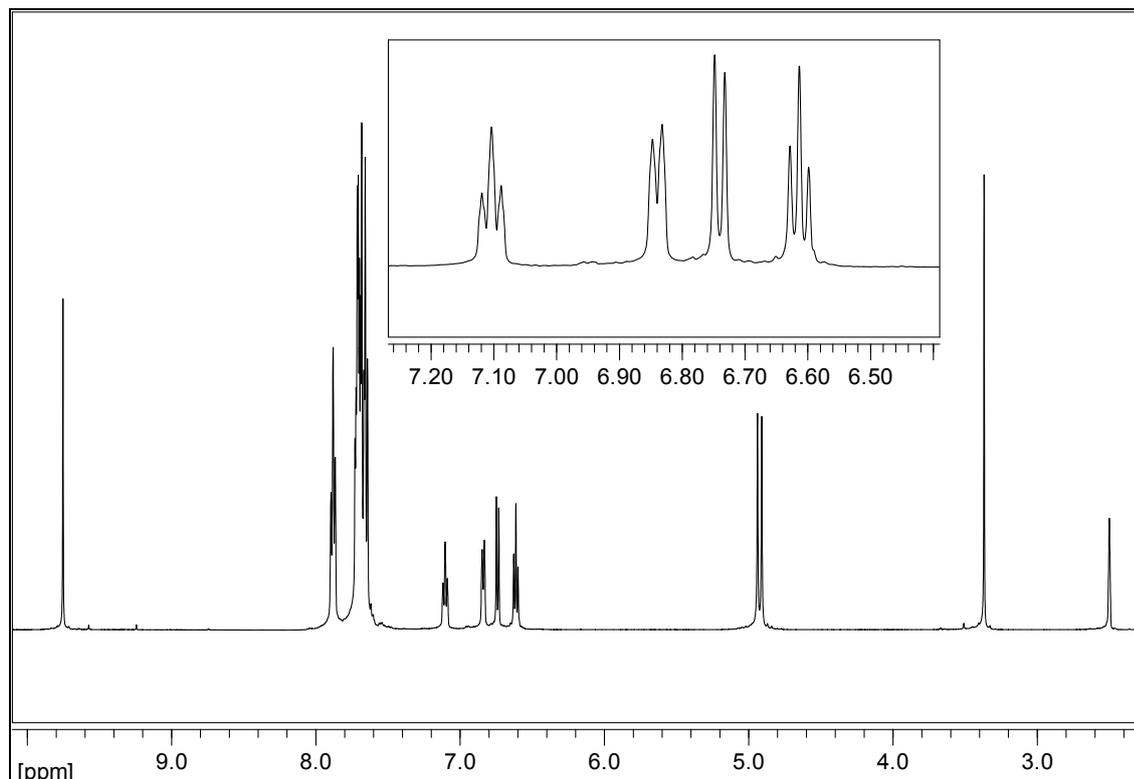


Abb.216: $^1H\text{-NMR}_{500}$ ($DMSO\text{-}d_6$) von (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **32**

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 4.92$ (d, 2 H, $^2J_{HP} = 14.8$ Hz, **7-H**), 6.61 (t, 1 H, $^3J_{HH} = 7.5$ Hz, **5-H**), 6.74 (d, 1-H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, **3-H**), 6.84 (d, 1 H, $^3J_{HH} = 7.6$ Hz, **6-H**), 7.10 (t, 1 H, $^3J_{HH} = 7.7$ Hz **4-H**), 7.64 - 7.73 (m, 12 H, **2', 6', 3', 5'-H**), 7.88 (m, 3 H, **4'-H**), 9.75 (s, 1 H, **OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 23.12$ (d, $^1J_{CP} = 48.3$ Hz, **7-C**), 113.62 (d, $^2J_{CP} = 8.8$ Hz, **1-C**), 115.31 (d, $^4J_{CP} = 2.7$ Hz, **3-C**), 118.24 (d, $^1J_{CP} = 85.2$ Hz, **1'-C**), 118.98 (d, $^4J_{CP} = 2.8$ Hz, **5-C**), 129.71 (d, $^5J_{CP} = 3.5$ Hz, **4-C**), 129.83 (d, $^3J_{CP} = 12.4$ Hz, **3', 5'-C**), 131.46 (d, $^3J_{CP} = 5.1$ Hz, **6-C**), 133.80 (d, $^2J_{CP} = 9.9$ Hz, **2', 6'-C**), 134.80 (d, $^4J_{CP} = 2.6$ Hz, **4'-C**), 155.93 (s, $^3J_{CP} = 5.4$ Hz, **2-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{202}$ (DMSO- d_6 / 85%ige H_3PO_4):

$\delta = 23.10$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3421$ (O-H-Valenzschwingung), 3060 - 2879 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch und Methylgruppen), 1597 , 1510 (C=C-Valenzschwingung), 1437 (P-Phenyl), 1282 , 1114 (C-O-Valenzschwingung), 870 , 752 , 692 (vier bzw. fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

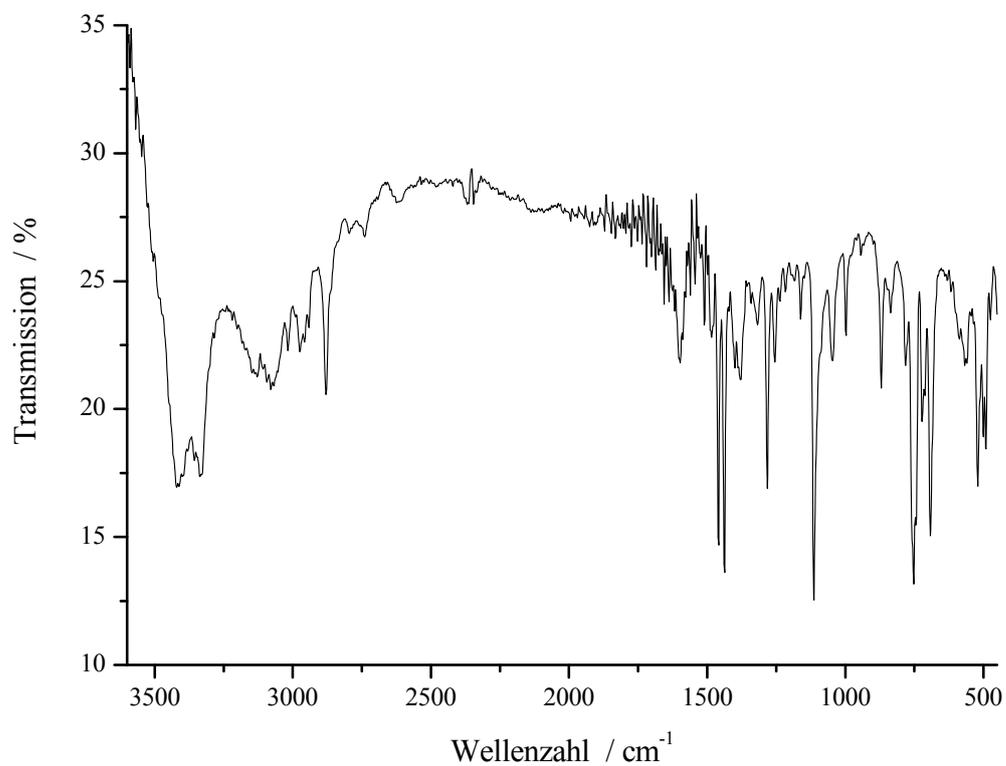
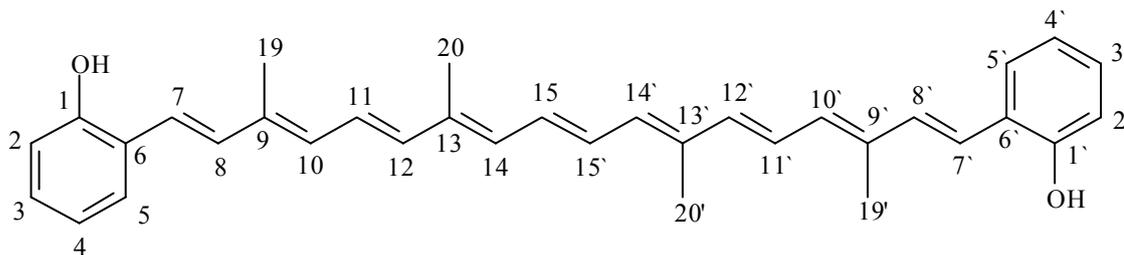


Abb.217: IR-Spektrum (KBr) von (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **32**

Massenspektrum (FAB+MNBA):

m/z (%) = 370.4 (27) $[M+1]^+$, 369.3 (100) $[M]^+$, 263 (10) $[PPh_3+1]^+$, 262 (13) $[PPh_3]^+$, 183.2 (14), 107.2 (29), 89.3 (19), 77.1 (20).

4.3.4 V4: 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **30**



In 180 ml absolutem Tetrahydrofuran werden 6.0 g (13 mmol) (2-Hydroxybenzyl)triphenylphosphoniumbromid **32** suspendiert. Unter Argon und Kühlung mit einer Eis/Kochsalz-Mischung werden innerhalb von 60 min 15 ml (24 mmol) *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan) zugetropft. 0.66 g (2.2 mmol) Crocetininaldehyd **14** werden in 50 ml Dichlormethan gelöst und innerhalb von 30 min zu der dunkelroten Suspension tropfenweise zugegeben. Anschließend wird noch 1 h bei RT nachgerührt. Danach wird auf 5 °C abgekühlt und mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure (2 %) hydrolysiert. Es wird mit Tetrahydrofuran extrahiert und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan:Diethylether 9:1 an Kieselgel 60 chromatographiert. Unter Destillation bei Normaldruck wird das Lösemittelgemisch gegen simultan zugetropftes Ethanol (30 ml) ausgetauscht. Die Mischung wird 3 h zum Rückfluß erhitzt und anschließend 12 h bei -20 °C auskristallisiert. Es wird abfiltriert, mit wenig kaltem Ethanol gewaschen und der Feststoff **30** im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.56 g (1.2 mmol), $M(C_{34}H_{36}O_2) = 476.66$ g/mol

55 % bezogen auf Crocetininaldehyd **14**

Smp.: >250 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 1.97$ (s, 6 H, **20**, **20'-H**), 2.01 (s, 6 H, **19**, **19'-H**), 6.38-6.40 (m, 4 H, **10**, **10'**, **14**, **14'-H**), 6.45 (d, 2 H, $^3J = 14.8$ Hz, **12**, **12'-H**), 6.72 (m, 4 H, **11**, **11'**, **15**, **15'-H**), 6.78 (t, 2 H, $^3J = 7.5$ Hz, **4**, **4'-H**), 6.84 (d, 2 H, $^3J = 8.1$ Hz, **2**, **2'-H**), 6.87 (d, 2 H, $^3J = 16.2$ Hz, **7**, **7'-H**), 6.99 (d, 2 H, $^3J = 16.2$ Hz, **8**, **8'-H**), 7.04 (t, 2 H, $^3J = 7.6$ Hz, **3**, **3'-H**), 7.49 (d, 2 H, $^3J = 7.7$ Hz, **5**, **5'-H**), 9.67 (s, 2 H, **1**, **1'-OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (DMSO- d_6):

$\delta = 12.54$ (**19**, **19'**-C), 12.63 (**20**, **20'**-C), 115.67 (**2**, **2'**-C), 119.24 (**4**, **4'**-C), 122.34 (**7**, **7'**-C), 124.09 (**6**, **6'**-C), 125.29 (**5**, **5'**-C), 125.76 (**11**, **11'**-C), 128.15 (**3**, **3'**-C), 130.43 (**15**, **15'**-C), 132.32 (**10**, **10'**-C), 132.53 (**8**, **8'**-C), 132.86 (**14**, **14'**-C), 135.97 (**9**, **9'**-C), 136.34 (**13**, **13'**-C), 137.56 (**12**, **12'**-C), 154.65 (**1**, **1'**-C) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3400$ (O-H-Valenzschwingung), 3035 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2915 (C-H-Valenzschwingung), 1603 , 1498 (C=C-Valenzschwingung), 1452 , 1397 (C-H-Deformationsschwingung, Methylgruppen) 959 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 748 (vier benachbarte H am Aromaten) cm^{-1} .

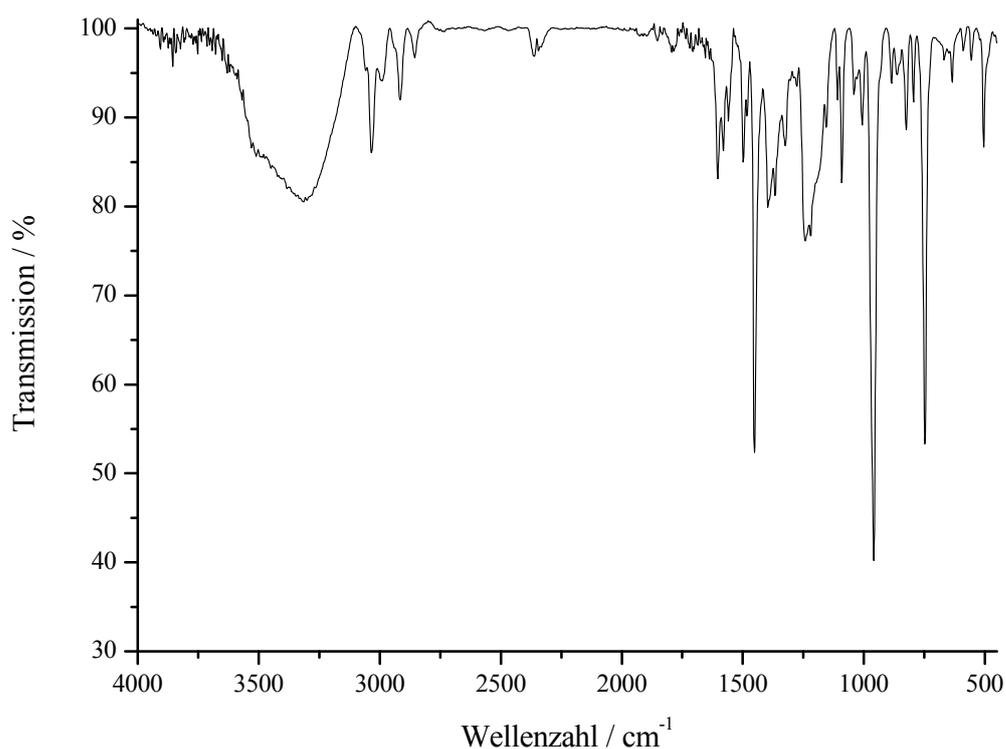


Abb.218: IR-Spektrum (KBr) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **30**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 476.1$, calc. (C₃₄H₃₆O₂) 476.2

Hochaufgelöste Masse (ESI^{neg}):

$m/z = 475.264251$, calc.($C_{34}H_{35}O_2-H$) 475.263824

UV/VIS (THF):

$\lambda_{\max} (\epsilon / L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) = 296 (25000), 456 (\text{sh}), 483 (152000), 517 (127000) \text{ nm}.$

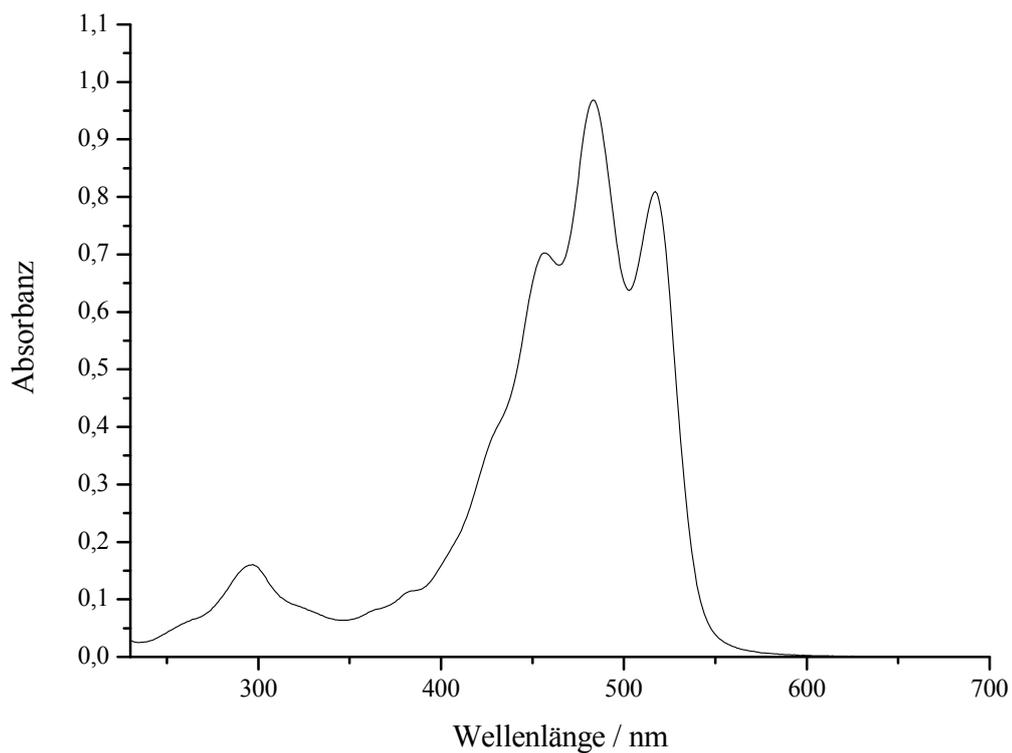
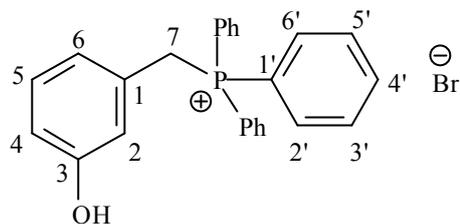


Abb.219: UV/VIS-Spektrum (THF) von 1,1'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ, Φ -carotin **30**

4.3.5 V5: (3-Hydroxyphenyl)triphenylphosphonium-bromid **31a**

10 g (81 mmol) 3-Hydroxybenzylalkohol werden in 100 ml Dichlormethan vorgelegt. Bei 0 °C werden portionsweise 28 g (82 mmol) Triphenylphosphonium-bromid zugegeben. Anschließend wird 24 h bei RT gerührt. Am Rotationsverdampfer wird das Lösemittel entfernt und der Rückstand wird in 50 ml Acetonitril aufgenommen. Der Feststoff wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 33.6 g (74.8 mmol), $M(C_{25}H_{22}BrOP) = 449.3$ g/mol

92 %

Smp.: >250 °C

Lit.^[153]: 290.5-291.5 °C

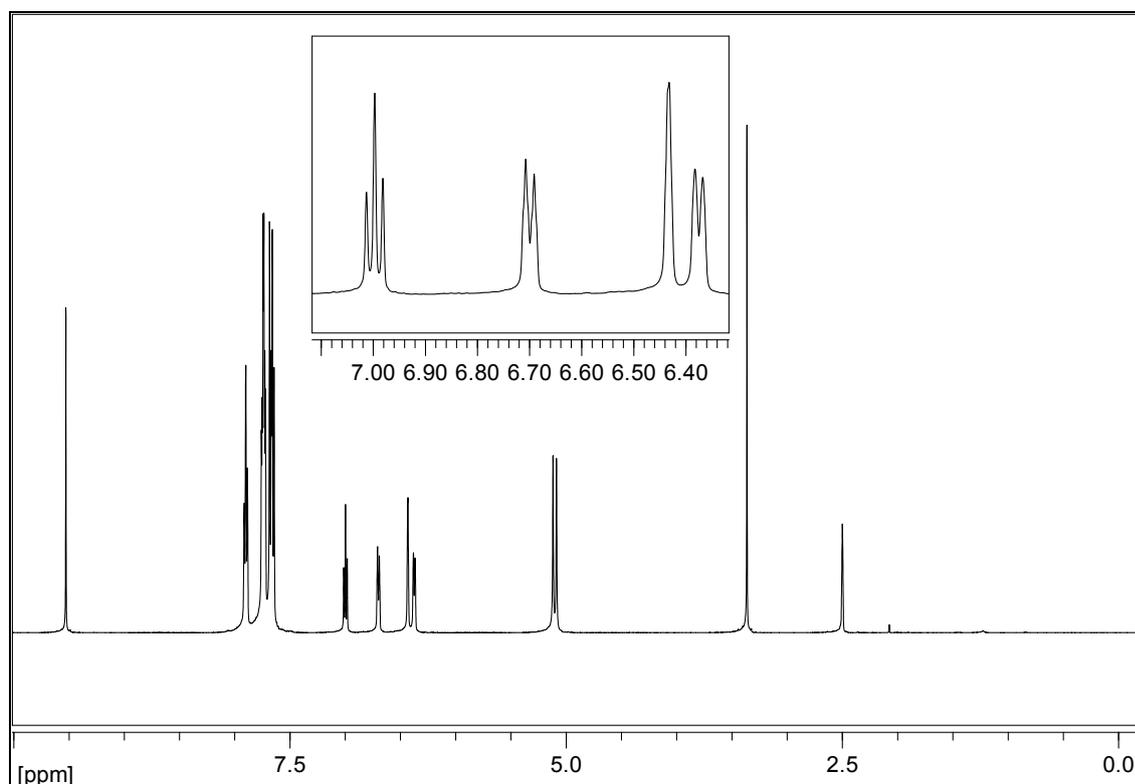


Abb.220: 1H -NMR₅₀₀ (DMSO- d_6) von (3-Hydroxyphenyl)triphenylphosphonium-bromid **31a**

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 5.10$ (d, 2 H, $^2J_{HP} = 15.7$ Hz, **7-H**), 6.37 (d, 1 H, $^3J_{HH} = 7.4$ Hz, **6-H**), 6.43 (s, 1 H, **2-H**), 6.69 (d, 1 H, $^3J_{HH} = 8.1$ Hz, **4-H**), 6.99 (t, 1 H, $^3J_{HH} = 7.9$ Hz, **5-H**), 7.66 (m, 6 H, **2', 6'-H**), 7.74 (m, 6 H, **3', 5'-H**), 7.89 (m, 3 H, **4'-H**), 9.53 (s, 1 H, **OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 28.04$ (d, $^1J_{CP} = 46.7$ Hz, **7-C**), 115.19 (d, $^5J_{CP} = 3.7$ Hz, **4-C**), 117.74 (d, $^3J_{CP} = 5.5$ Hz, **2-C**), 117.88 (d, $^1J_{CP} = 85.4$ Hz, **1'-C**), 121.27 (d, $^3J_{CP} = 5.6$ Hz, **6-C**), 128.93 (d, $^2J_{CP} = 8.6$ Hz, **1-C**), 129.57 (d, $^4J_{CP} = 2.9$ Hz, **5-C**), 129.96 (d, $^3J_{CP} = 12.3$ Hz, **3', 5'-C**), 133.90 (d, $^2J_{CP} = 9.9$ Hz, **2', 6'-C**), 134.94 (d, $^4J_{CP} = 2.6$ Hz, **4'-C**), 157.41 (d, $^4J_{CP} = 2.9$ Hz, **3-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{202}$ (DMSO- d_6 / 85%ige H_3PO_4):

$\delta = 24.17$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3400$ (O-H-Valenzschwingung), 3085 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2886 - 2787 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1611 , 1508 (C=C-Valenzschwingung), 1485 (CH-Deformationsschwingung), 1438 (P-Phenyl), 1290 , 1111 (C-O-Valenzschwingung), 797 , 741 , 716 , 689 (vier bzw. fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

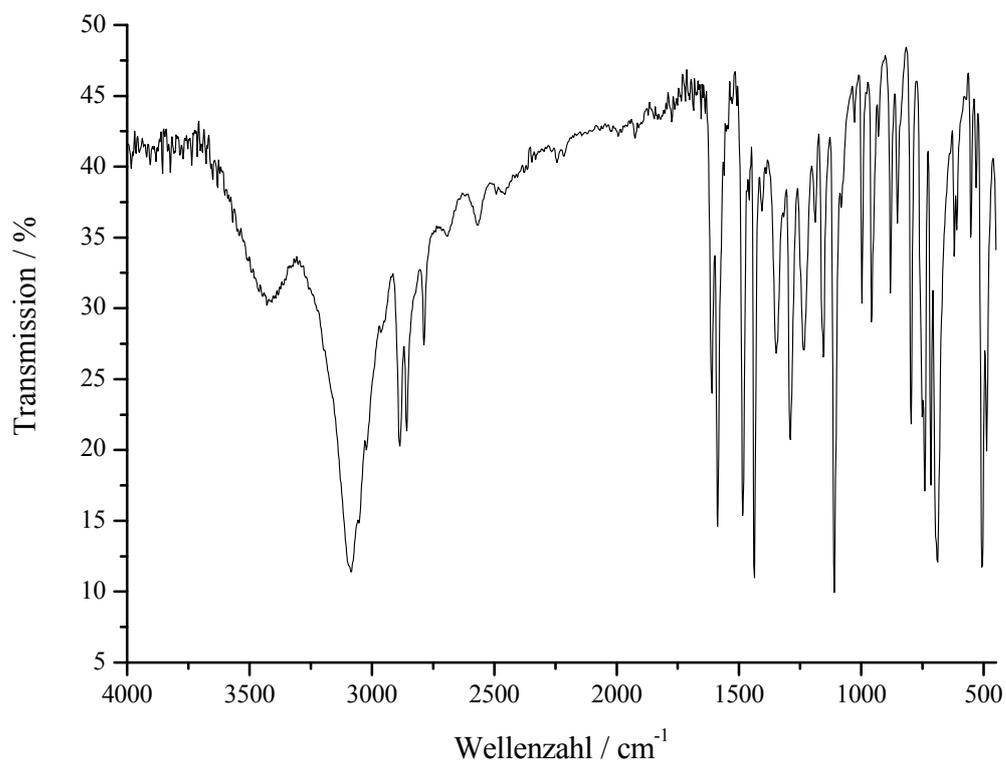


Abb.221: IR-Spektrum (KBr) von (3-Hydroxyphenyl)triphenylphosphonium-bromid **31a**

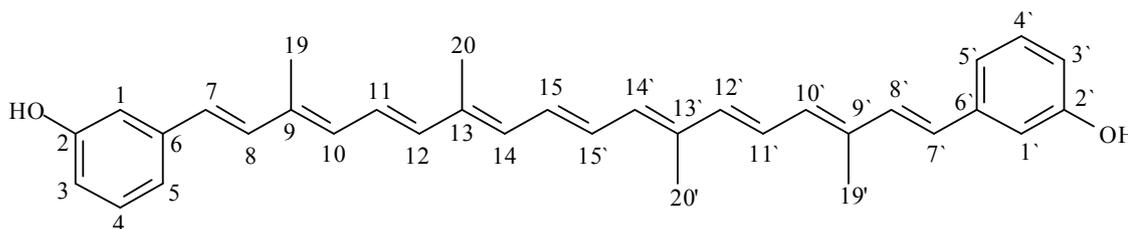
Massenspektrum (FAB+MNBA):

m/z (%) = 370.4 (29) $[M+1]^+$, 369.4 (100) $[M]^+$, 262 (5), 183.2 (8), 154.2 (28), 136.2 (17).

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 369.140281, calc.($C_{25}H_{22}OP^+-Br$) 369.140113

4.3.6 V6: 2,2'-Dihydroxy-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **31**



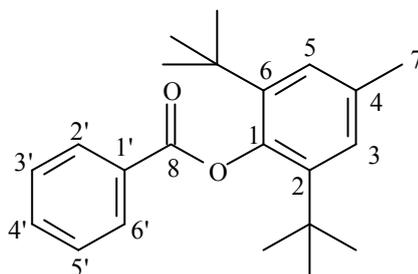
In 180 ml absolutem Tetrahydrofuran werden 6.0 g (13 mmol) (3-Hydroxybenzyl)triphenylphosphonium-bromid **31a** suspendiert. Unter Argon und Kühlung mit einer Eis/Kochsalz-Mischung werden innerhalb von 60 min 15 ml (24 mmol) *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan) zugetropft. 0.66 g (2.2 mmol) Crocetindialdehyd **14** werden in 50 ml Dichlormethan gelöst und innerhalb von 30 min zu der dunkelroten Suspension tropfenweise zugegeben. Anschließend wird noch 1 h bei RT nachgerührt. Danach wird auf 5 °C abgekühlt und mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure (2 %) hydrolysiert. Es wird mit Tetrahydrofuran extrahiert und mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan/Diethylether 9:1 an Kieselgel 60 chromatographiert. Unter Destillation bei Normaldruck wird das Lösemittelgemisch gegen simultan zugetropftes Ethanol (30 ml) ausgetauscht. Die Mischung wird 3 h zum Rückfluss erhitzt und anschließend 12 h bei -20 °C auskristallisiert. Es wird abfiltriert, mit wenig kaltem Ethanol gewaschen und der Feststoff im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.41 g (0.86 mmol), $M(C_{34}H_{36}O_2) = 476.7$ g/mol
39 %

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 499.260746$, calc. $(C_{34}H_{36}O_2Na)$ 499.260487

Die übrigen spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[17] überein.

4.3.7 V7: Benzoessäure-(2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenyl)ester **39**

In 100 ml trockenem Tetrahydrofuran werden 4.0 g (0.10 mol) Natriumhydrid (60 % in Paraffin) aufgeschlämmt. 22 g (0.10 mol) 2,6-Di-*tert*-butyl-4-methylphenol **33** (BHT) werden in 100 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und unter Argon und Eiswasserkühlung innerhalb von 30 min zugetropft. Anschließend wird die Suspension 3 h zum Rückfluß erhitzt. Die Mischung wird abgekühlt und 18 g (0.13 mmol) Benzoensäurechlorid werden innerhalb von 20 min zugetropft. Nach 12 h Rühren bei RT werden 1.5 ml Wasser zugegeben. Der entstandene Niederschlag wird abfiltriert und verworfen. Die organische Phase wird mit gesättigter Ammoniumchloridlösung extrahiert, über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der ölige Rückstand wird mit 200 ml Ethanol versetzt und das Produkt 16 h bei 5 °C auskristallisiert. Anschließend wird der entstandene Feststoff **39** abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 11 g (34 mmol), M (C₂₂H₂₈O₂) = 324.5 g/mol

34 % Lit.^[69]: 79 %

Smp.: 138 °C Lit.^[67] 138 °C

¹H-NMR₅₀₀ (CDCl₃):

δ = 1.33 (s, 18 H, C(CH₃)₃), 2.36 (s, 3 H, **7-H**), 7.18 (s, 2 H, **3**, **5-H**), 7.55 (m, 2 H, B-Teil eines [AB]₂C-Systems, **3'**, **5'-H**), 7.66 (m, 1 H, C-Teil eines [AB]₂C-Systems, **4'-H**), 8.25 (m, 2 H, A-Teil eines [AB]₂C-Systems, **2'**, **6'-H**) ppm.

¹³C{¹H}-NMR₁₂₅ (CDCl₃):

δ = 21.6 (**7-C**), 31.6 (C(CH₃)₃), 35.3 (C(CH₃)₃), 127.1 (**3**, **5-C**), 128.8 (**3'**, **5'-C**), 130.4 (**2'**, **6'-C**), 130.6 (**1'-C**), 133.4 (**4'-C**), 134.6 (**4-C**), 142.2 (**2**, **6-C**), 145.9 (**1-C**), 166.9 (**8-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3076$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2970 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1732 (C=O-Valenzschwingung), 1598, 1582 (C=C-Valenzschwingung), 1396, 1365 (C-H-Deformationsschwingung, *tert*-butyl-Gruppen), 1186, 1112 (C-O-Valenzschwingung), 711 (fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

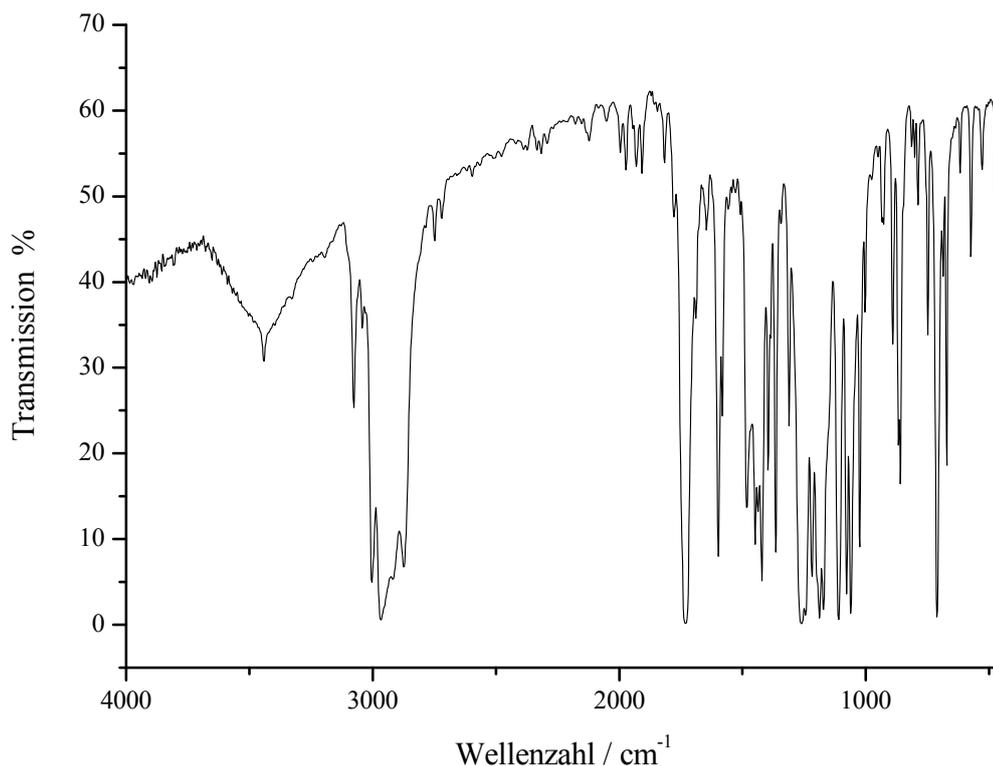


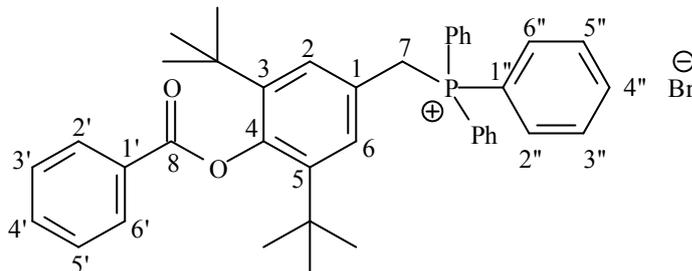
Abb..222: IR-Spektrum (KBr) von Benzoessäure-(2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenyl)ester **39**

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 325.1 (1) $[\text{M}+\text{H}]^+$, 324.1 (6) $[\text{M}]^+$, 106 (8), 105 (100), 77 (10).

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 347.198150$, calc.($\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_2\text{Na}$) 347.198280

4.3.8 V8: (4-Benzoyloxy-3,5-di-*tert*-butylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **40**

9.0 g (28 mmol) Benzoesäure-(2, 6-di-*tert*-butyl-4-methylphenyl)ester **39** werden in 100 ml trockenem Tetrachlorkohlenstoff gelöst und 4.9 g (27 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) wird zugegeben. Nach der Zugabe von 50 mg (0.21 mmol) wasserfreiem Dibenzoylperoxid wird die Mischung unter UV-Bestrahlung 2 h zum Rückfluß erhitzt. Die Suspension wird 12 h bei RT stengelassen. Anschließend wird abfiltriert und die Lösung mit destilliertem Wasser gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird in 80 ml trockenem Dichlormethan gelöst und mit 7.3 g (28 mmol) Triphenylphosphin versetzt. Nach 24 h Rühren bei RT wird die Mischung in 2 l Diethylether eingetropft. Der Feststoff **40** wird abfiltriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 15 g (23 mmol), $M(C_{40}H_{42}BrO_2P) = 665.7 \text{ g/mol}$

81 %

Lit.^[69]: 90 %

Smp.: >250 °C

Lit.^[69]: >320 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 1.05$ (s, 18 H, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 5.33 (d, 2 H, $^2J_{HP} = 13.6 \text{ Hz}$, **7-H**), 6.97 (d, 2 H, $^4J_{HH} = 2.7 \text{ Hz}$, **2, 6-H**), 7.54 (m, 2 H, **3', 5'-H**), 7.65 [m, 13 H, **4', 2'', 3'', 5'', 6''-H**], 7.75 (m, 3 H, **4''-H**), 8.19 (m, 2 H, **2', 6'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} (CDCl_3):

$\delta = 31.2$ ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 31.6 (d, $^1J_{CP} = 46.6 \text{ Hz}$, **7-C**), 35.3 ($\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 117.7 (d, $^1J_{CP} = 85.7 \text{ Hz}$, **1''-C**), 123.7 (d, $^2J_{CP} = 8.8 \text{ Hz}$, **1-C**), 128.9 (**3', 5'-C**), 129.5 (d, $^3J_{CP} = 5.4 \text{ Hz}$, **2, 6-C**), 130.0 (**1'-C**), 130.1 (**2', 6'-C**), 130.1 (d, $^3J_{CP} = 12.3 \text{ Hz}$, **3'', 5''-C**), 133.7 (**4'-C**), 134.5 (d, $^2J_{CP} = 9.8 \text{ Hz}$, **2'', 6''-C**), 134.8 (d, $^4J_{CP} = 2.7 \text{ Hz}$, **4''-C**), 143.5 (d, $^4J_{CP} = 3.7 \text{ Hz}$, **3, 5-C**), 148.5 (d, $^5J_{CP} = 4.7 \text{ Hz}$, **4-C**), 166.7 (**8-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR₂₀₂ (CDCl_3 / 85%ige H_3PO_4):

$\delta = 24.98$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3057$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2961-2783 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1733 (C=O-Valenzschwingung), 1598, (C=C-Valenzschwingung), 1437 (P-Phenyl), 1396, 1364 (C-H-Deformationsschwingung, *tert*-butyl-Gruppen), 1190, 1112 (C-O-Valenzschwingung), 748, 712 (fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

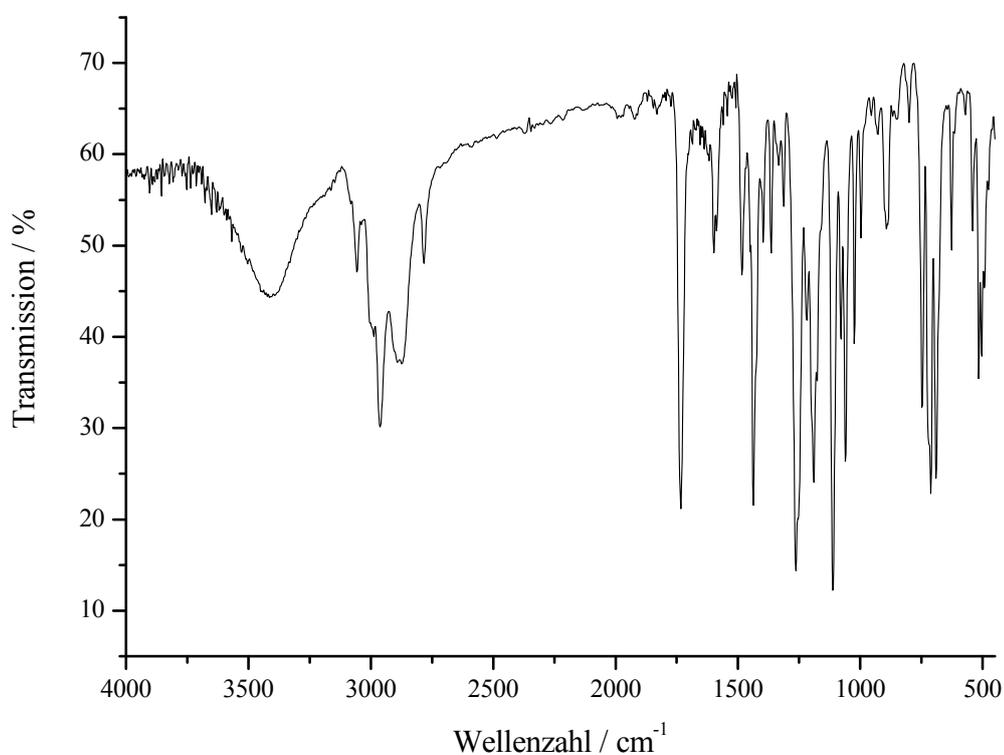


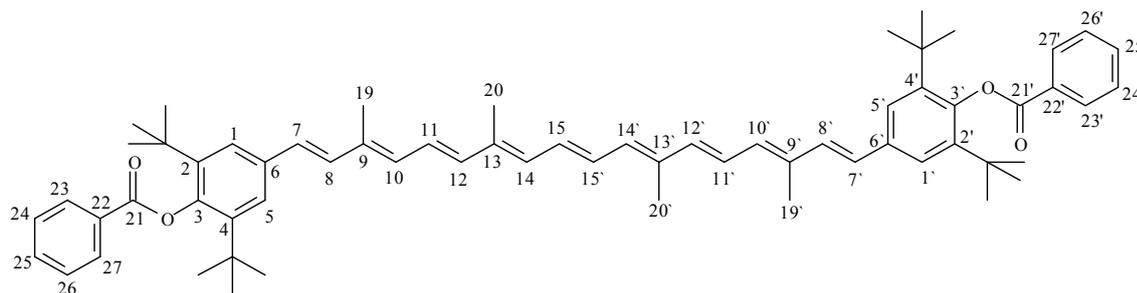
Abb. 223: IR-Spektrum (KBr) von (4-Benzoyloxy-3,5-di-*tert*-butylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **40**

Massenspektrum [MALDI (DIT : CHCl_3 , 1:2)]:

$m/z = 585.22$, calc. ($\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{O}_2\text{P}^+ \text{-Br}$) 585.29

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 585.291697$, calc. ($\text{C}_{40}\text{H}_{42}\text{O}_2^+ \text{-Br}$) 585.292307

4.3.9 V9: 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin 41


6.0 g (9.0 mmol) (4-Benzoyloxy-3,5-di-*tert*-butylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **40** werden in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran unter Argon vorgelegt. Die Suspension wird mit einer Eis/Kochsalz-Mischung gekühlt. Innerhalb von 30 min werden 5.6 ml (9.0 mmol) *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan) über eine Spritze zugetropft. Dabei färbt sich die Mischung dunkelrot. Anschließend werden 0.90 g (3.0 mmol) Crocetininaldehyd **14** in 25 ml Dichlormethan gelöst und innerhalb von 15 min zugetropft. Unter Ausschluss von Licht wird 90 min bei 25 °C nachgerührt. Unter Eiswasserkühlung wird mit verdünnter Schwefelsäure hydrolysiert und mit Dichlormethan extrahiert. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Magnesiumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Entfernung des Lösemittels am Rotationsverdampfer wird der Rückstand mit 30 ml Ethanol aufgenommen. Die Suspension wird unter Argon 3 h zum Rückfluß erhitzt. Das Produkt **41** wird bei 0 °C auskristallisiert und über eine Fritte (Pore 3) abfiltriert, mit 15 ml kaltem Ethanol gewaschen und im Exsikkator unter Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 2.1 g (2.3 mmol), M (C₆₄H₇₆O₄) = 909.3 g/mol

76 % bezogen auf **14** Lit.^[69]: 73 %

Smp.: 128 °C Lit.^[69]: 123-125 °C

¹H-NMR₅₀₀ (CDCl₃):

δ = 1.36 (s, 36 H, C(CH₃)₃), 2.01 (s, 6 H, **19**, **19'**-H), 2.08 (s, 6 H, **20**, **20'**-H), 6.31 (m, 2 H, **14**, **14'**-H), 6.38 (d, 2 H, ³J = 11.4 Hz, **10**, **10'**-H), 6.44 (d, 2 H, ³J = 14.6 Hz, **12**, **12'**-H), 6.61 (d, 2 H, ³J = 15.9 Hz, **7**, **7'**-H), 6.66-6.73 (m, 4 H, **11**, **11'**, **15**, **15'**-H), 6.86 (d, 2 H, ³J = 15.9 Hz, **8**, **8'**-H), 7.44 (s, 4 H, **1**, **1'**, **5**, **5'**-H), 7.54-7.57 (m, 4 H, **24**, **24'**, **26**, **26'**-H), 7.65-7.68 (m, 2 H, **25**, **25'**-H), 8.24-8.26 (m, 4 H, **23**, **23'**, **27**, **27'**-H) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl₃):

$\delta = 12.81$ (**19**, **19'**-C), 12.96 (**20**, **20'**-C), 31.52 (C(CH₃)₃), 35.48 (C(CH₃)₃), 124.39 (**1**, **1'**, **5**, **5'**-C), 125.08 (**11**, **11'**-C), 127.78 (**7**, **7'**-C), 128.82 (**24**, **24'**, **26**, **26'** -C), 130.25 (**15**, **15'**-C), 130.39 (**23**, **23'**, **27**, **27'**-C), 130.49 (**22**, **22'**-C), 132.85 (**10**, **10'**-C), 132.97 (**14**, **14'**-C), 133.19 (**8**, **8'**-C), 133.45 (**25**, **25'**-C), 134.76 (**6**, **6'**-C), 135.69 (**9**, **9'**-C), 136.61 (**13**, **13'**-C), 138.04 (**12**, **12'**-C), 142.90 (**2**, **2'**, **4**, **4'**-C), 147.64 (**3**, **3'**-C), 166.75 (**21**, **21'**-C) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3030\text{-}2999$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), $2963\text{-}2872$ (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1741 (C=O-Valenzschwingung), 1395 , 1364 (C-H-Deformationsschwingung, *tert*-butyl-Gruppen), 1262 , 1187 (C-O-Valenzschwingung), 962 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 891 (isoliertes aromatisches H), 708 (fünf benachbarte aromatische H) cm^{-1} .

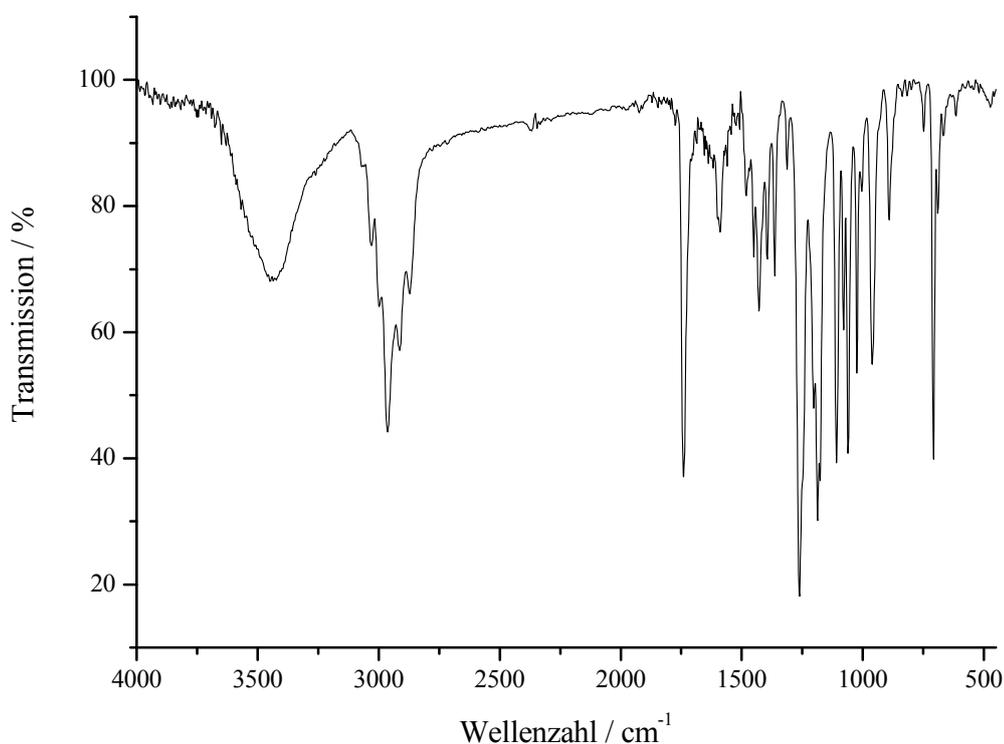


Abb..224: IR-Spektrum (KBr) von 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **41**

4.3 Versuchsbeschreibungen

UV/VIS (Chloroform):

λ_{\max} ($\epsilon / \text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) = 460, 483 (110000), 517 nm.

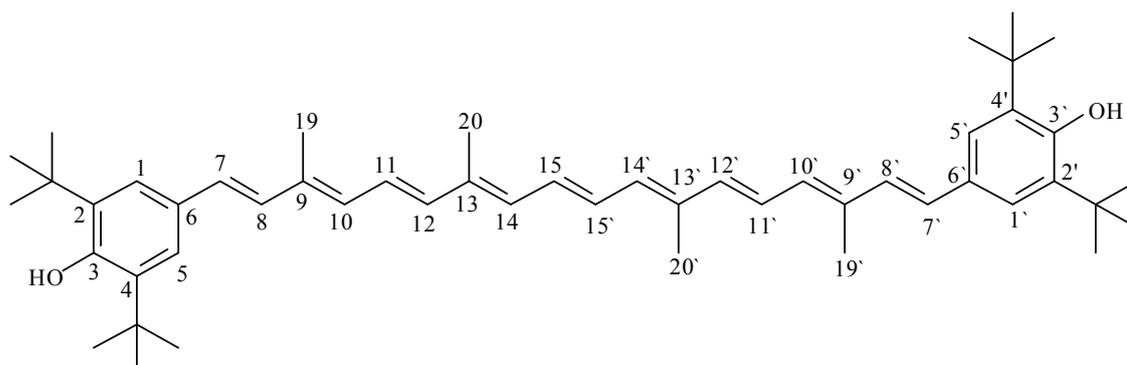
Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:10)]:

m/z = 908.6, calc.(C₆₄H₇₆O₄) 908.6

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 931.563583, calc.(C₆₄H₇₆O₄Na) 931.563453

4.3.10 V10: 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **13**



0.70 g (0.77 mmol) 3,3'-Di(benzoyloxy)-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ,Φ -carotin **41** werden in 15 ml trockenem Dichlormethan vorgelegt. Unter Eiswasserkühlung und Argon werden 10 ml (12 mmol) Diisobutylaluminiumhydrid (1.2 M in Toluol) über eine Spritze innerhalb von 30 min zugetropft. Anschließend wird 45 min bei RT nachgerührt. Die Reaktionsmischung wird auf 100 g Eis gegeben und unter Rühren mit 300 ml verdünnter Schwefelsäure (3 %) versetzt. Nach Auflösung des Niederschlages wird mit Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird zur Reinigung mit Dichlormethan an Kieselgel 60 chromatographiert. Unter Destillation bei Normaldruck wird das Dichlormethan gegen simultan zugetropftes Methanol (20 ml) ausgetauscht. Die entstandene Suspension wird 2 h auf 0 °C gekühlt, filtriert und mit wenig kaltem Methanol gewaschen. Das Produkt wird im Vakuum getrocknet und unter Argon gelagert.

Ausbeute: 0.48 g (0.69 mmol), $M(C_{50}H_{68}O_2) = 701.1$ g/mol

89 %

Lit.^[69]: 78 %

Smp.: > 100° C Zersetzung

Lit.^[69]: 95 °C, Zersetzung

¹H-NMR₅₀₀ (CDCl₃):

$\delta = 1.47$ (s, 36 H, C(CH₃)₃), 1.99 (s, 6 H, **19**, **19'-H**), 2.05 (s, 6 H, **20**, **20'-H**), 5.25 (s, 2 H, **3**, **3'-OH**), 6.28 (m, 2 H, **14**, **14'-H**), 6.33 (d, 2 H, ³*J* = 11.4 Hz, **10**, **10'-H**), 6.40 (d, 2 H, ³*J* = 14.9 Hz, **12**, **12'-H**), 6.56 (d, 2 H, ³*J* = 15.9 Hz, **7**, **7'-H**), 6.56-6.71

(m, 4 H, **11**, **11'**, **15**, **15'-H**), 6.76 (d, 2 H, $^3J = 15.9$ Hz, **8**, **8'-H**), 7.27 (s, 4 H, **1**, **1'**, **5**, **5'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl₃):

$\delta = 12.80$ (**19**, **19'-C**), 12.97 (**20**, **20'-C**), 30.26 (C(CH₃)₃), 34.34 (C(CH₃)₃), 123.24 (**1**, **1'**, **5**, **5'-C**), 125.16 (**11**, **11'-C**), 128.36 (**7**, **7'-C**), 129.06 (**6**, **6'-C**), 130.08 (**15**, **15'-C**), 130.95 (**8**, **8'-C**), 131.75 (**10**, **10'-C**), 132.64 (**14**, **14'-C**), 135.98 (**9**, **9'-C**), 136.09 (**2**, **2'**, **4**, **4'-C**), 136.55 (**13**, **13'-C**), 137.39 (**12**, **12'-C**), 153.69 (**3**, **3'-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3431$ (O-H-Valenzschwingung), 2956, 2909 (C-H-Valenzschwingung), 1604, 1509 (C=C-Valenzschwingung), 1438 (C-H-Deformationsschwingung), 1390, 1360, 1235 (C-H-Deformationsschwingung, *tert*-butyl-Gruppen), 1154 (C-O-Valenzschwingung), 962 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 888 (isoliertes aromatisches H) cm⁻¹.

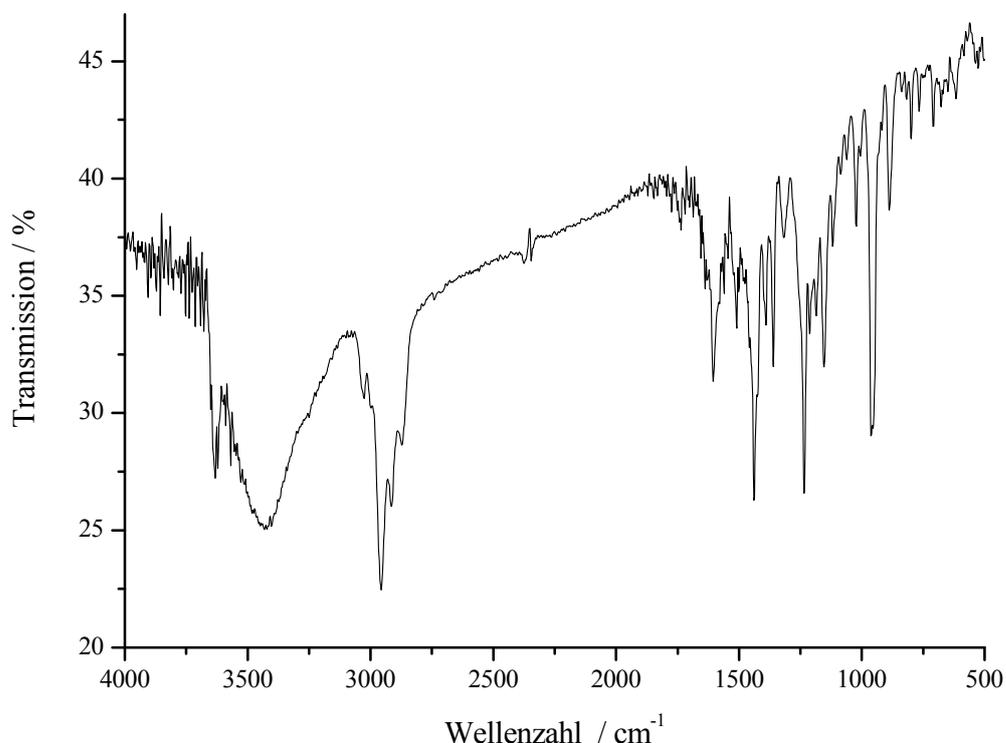


Abb. 225: IR-Spektrum (KBr) von 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ , Φ -carotin **13**

UV/VIS (Chloroform):

λ_{\max} ($\epsilon / \text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) = 462, 489 (116000), 523 nm.

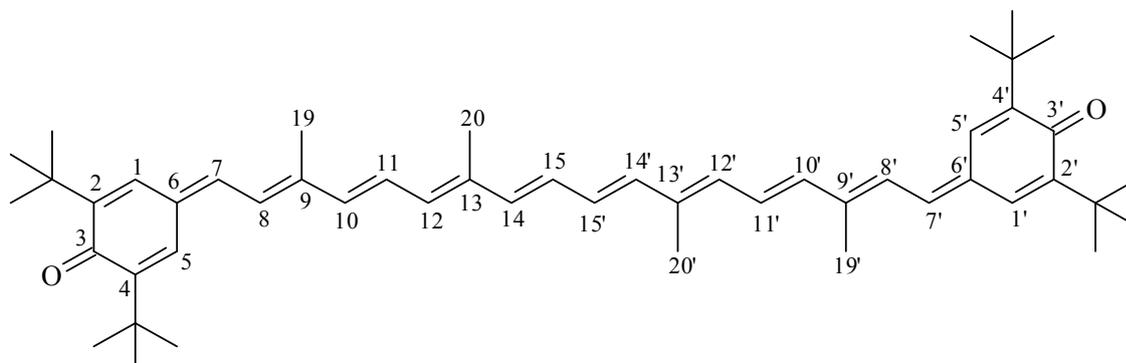
Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

m/z = 700.5, calc.(C₅₀H₆₈O₂) 700.5

Hochaufgelöste Masse (ESI^{neg}):

m/z = 699.514655, calc.(C₅₀H₆₇O₂-H) 699.514434

4.3.11 V11: 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-*retro-Φ,Φ*-carotin-3,3'-dion **36**



0.20 g (0.29 mmol) 3,3'-Dihydroxy-2,4,2',4'-tetra-*tert*-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor- Φ, Φ -carotin **36** werden in 50 ml absolutem Aceton vorgelegt. Unter Argon und Eiswasserkühlung werden portionsweise 0.57 g (1.0 mmol) Silbercarbonat-Celite zugegeben. Anschließend wird 1 h bei RT nachgerührt. Die Suspension wird mit Eiswasser 2 h abgekühlt, über eine Fritte (Pore 4) filtriert und der Rückstand wird mit wenig eiskaltem Aceton gewaschen. Das Produkt wird mit Dichlormethan aus dem Rückstand in der Fritte gelöst und am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan an Kieselgel 60 chromatographiert. Das Laufmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt **36** im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.19 g (0.27 mmol), $M(C_{50}H_{66}O_2) = 699.1 \text{ g/mol}$

95 %

Smp.: 224-225 °C

$^1\text{H-NMR}_{500} (CD_2Cl_2)$:

$\delta = 1.30$ (s, 18 H, $^{trans}C(CH_3)_3$), 1.33 (s, 18 H, $^{cis}C(CH_3)_3$), 2.03 (s, 6 H, **19, 19'-H**), 2.16 (s, 6 H, **20, 20'-H**), 6.36 (d, 2 H, $^3J = 11.7 \text{ Hz}$, **12, 12'-H**), 6.50 (m, 2 H, **14, 14'-H**), 6.57 (m, 2 H, **15, 15'-H**), 6.61 (d, 2 H, $^3J = 14.9 \text{ Hz}$, **10, 10'-H**), 6.91 (d, 2 H, $^3J = 13.0 \text{ Hz}$, **8, 8'-H**), 6.99 (d, 2 H, $^4J = 2 \text{ Hz}$, **1, 1'-H**), 7.00 (m, 2 H, **11, 11'-H**), 7.11 (d, 2 H, $^3J = 13.0 \text{ Hz}$, **7, 7'-H**), 7.51 (d, $^4J = 2 \text{ Hz}$, **5, 5'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CD₂Cl₂):

$\delta = 13.00$ (**19**, **19'**-C), 13.11 (**20**, **20'**-C), 29.58 (^{trans}C(CH₃)₃), 29.65 (^{cis}C(CH₃)₃), 35.26 (^{trans}C(CH₃)₃), 35.76 (^{cis}C(CH₃)₃), 125.43 (**5**, **5'**-C), 127.52 (**8**, **8'**-C), 129.65 (**11**, **11'**-C), 130.97 (**15**, **15'**-C), 131.11 (**6**, **6'**-C), 133.28 (**12**, **12'**-C), 135.00 (**1**, **1'**-C), 137.83 (**7**, **7'**-C), 137.91 (**10**, **10'**-C), 138.28 (**14**, **14'**-C), 139.56 (**13**, **13'**-C), 145.74 (**9**, **9'**-C), 147.53 (**4**, **4'**-C), 148.31 (**2**, **2'**-C), 186.32 (**3**, **3'**-C) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 2955$ (C-H-Valenzschwingung), 1606 (C=O-Valenzschwingung, konjugiert), 1509 (C=C-Valenzschwingung), 977 , 947 (C-H- Deformationsschwingung, all-trans) cm⁻¹.

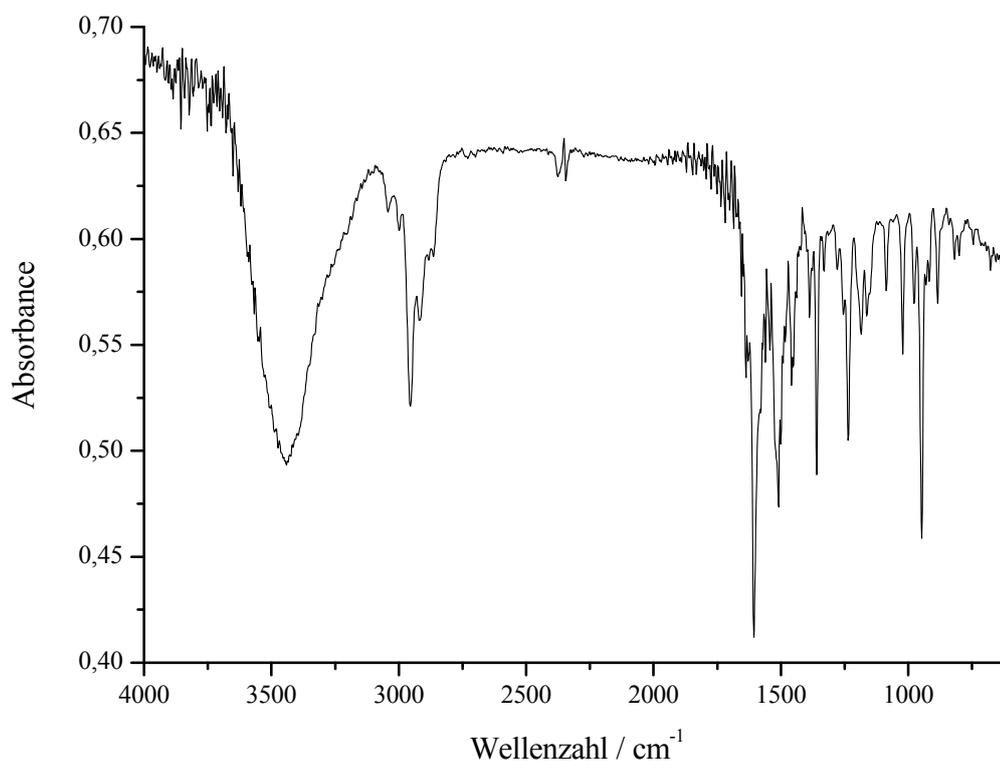


Abb.226: IR-Spektrum (KBr) von 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **36**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 699.4$, calc.(C₅₀H₆₆O₂+H) 699.5

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 721.495502$, calc.($C_{50}H_{66}O_2Na$) 721.495227

UV/VIS (CH_2Cl_2):

$\lambda_{max} (\epsilon / L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}) = 578 (145000) \text{ nm}$.

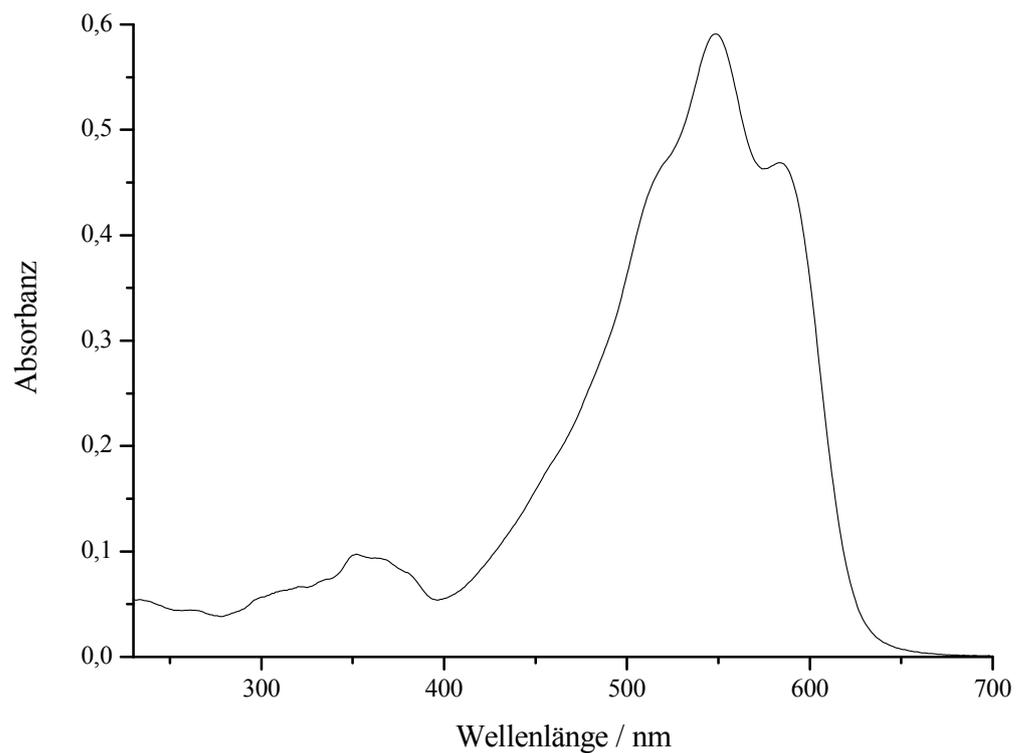
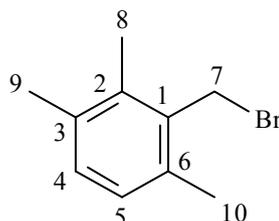


Abb.227: UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan) von 3,4-Dihydro-2,4,2',4'-di-tert-butyl-16,17,18,16',17',18'-hexanor-4,3'-retro- Φ, Φ -carotin-3,3'-dion **36**

4.3.12 V12: 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47**

25.0 g (186 mmol) 1,2,3,4-Tetramethylbenzol **50** (Prehnitol) werden mit einer Spatelspitze Dibenzoylperoxid in 80 ml absolutem Tetrachlorkohlenstoff vorgelegt. Nach Zugabe von 24.8 g (140 mmol) *N*-Bromsuccinimid (NBS) wird die Mischung 60 min zum Rückfluss erhitzt. Anschließend wird mittels Eisbad abgekühlt, der Feststoff über eine Fritte (Pore 4) abfiltriert und es wird mit wenig kaltem Tetrachlorkohlenstoff nachgewaschen. Die gelbliche Flüssigkeit wird mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen und die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand wird fraktioniert destilliert.

14 g (66 mmol) über Destillation nicht trennbares Gemisch (Sdp.: 111-132°C, 1 mbar) von 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** und 2,3,4-Trimethylbenzylbromid **48** wird zur Trennung mit 30 ml Triethylamin versetzt. Es wird 8 h bei 50 °C Ölbadtemperatur gerührt und anschließend 12 h bei RT nachgerührt. Dabei fällt **48** als Ammoniumsalz **49** aus. Das Gemisch wird in 100 ml Ether suspendiert, der Feststoff **49** wird abfiltriert und verworfen. Nun wird die Ethernischung fünfmal mit gesättigter Ammoniumchloridlösung und anschließend einmal mit destilliertem Wasser gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt.

Ausbeute: 7.7 g (36 mmol), $M(C_{10}H_{13}Br) = 213.1 \text{ g/mol}$

26 % bezogen auf NBS

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 2.28$ (s, 3 H, **9-H**), 2.34 (s, 3 H, **8-H**), 2.40 (s, 3 H, **10-H**), 4.62 (s, 2 H, **7-H**), 6.94 (d, 1 H, $^3J = 7.8 \text{ Hz}$, **5-H**), 7.02 (d, 1 H, $^3J = 7.8 \text{ Hz}$, **4-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl₃):

$\delta = 14.97$ (**8-C**), 19.29 (**10-C**), 20.48 (**9-C**), 30.05 (**7-C**), 127.75 (**4-C**), 130.26 (**5-C**), 133.84 , 134.85 , 134.88 (**2, 3, 6-C**), 135.99 (**1-C**) ppm.

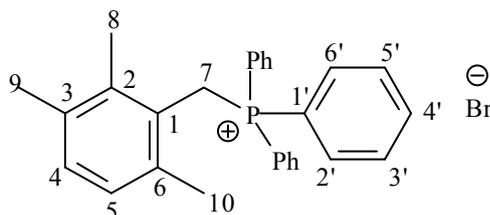
IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 2960$ (C-H-Valenzschwingung), 1458 (C=C-Valenzschwingung), 811 (zwei benachbarte aromatische H), 620 (Alkyl-Hal) cm^{-1} .

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 214 (9), $[\text{M} (^{81}\text{Br})]^+$, 214 (9), $[\text{M} (^{79}\text{Br})]^+$, 133 (100) $[\text{M-Br}]^+$.

4.3.13 V13: (2,3,6-Trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid 42



5.0 g (23 mmol) 2,3,6-Trimethylbenzylbromid **47** werden in 100 ml Diethylether vorgelegt. Zu dieser Lösung werden 6.6 g (25 mmol) Triphenylphosphin portionsweise zugegeben. Es wird 5 Tage bei RT gerührt. Anschließend wird der entstandene Feststoff filtriert, mit wenig Diethylether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 9.7 g (20 mmol), $M(C_{28}H_{28}BrP) = 475.4 \text{ g/mol}$

87 %

Smp.: 242-243 °C

Lit.^[62]: 242.5-245 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 1.67$ (s, 3 H, **8-H**), 1.79 (s, 3 H, **10-H**), 2.04 (s, 3 H, **9-H**), 5.22 (d, 2 H, $^2J_{HP} = 13.9 \text{ Hz}$, **7-H**), 6.78 (d, 1 H, $^3J = 7.6 \text{ Hz}$, **5-H**), 6.97 (d, 1 H, $^3J = 7.6 \text{ Hz}$, **4-H**), $7.5\text{-}7.8$ (m, 15 H, **-PPh₃**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{125}$ (CDCl_3):

$\delta = 17.1$ (**8-C**), 20.7 (**10-C**), 21.2 (**9-C**), 28.1 (d, $^1J_{CP} = 46.0 \text{ Hz}$, **7-C**), 118.2 (d, $^1J_{CP} = 84.2 \text{ Hz}$, **1'-C**), 130.1 (d, $^3J_{CP} = 12.5 \text{ Hz}$, **3', 5'-C**), 134.4 (d, $^2J_{CP} = 9.7 \text{ Hz}$, **2', 6'-C**), 135.0 (d, $^4J_{CP} = 2.9 \text{ Hz}$, **4'-C**), 125.1 (d, $^2J_{CP} = 9.6 \text{ Hz}$, **1-C**), 128.5 (d, $^4J_{CP} = 3.6 \text{ Hz}$, **5-C**), 130.3 (**4-C**), 135.5 (d, $^4J_{CP} = 3.6 \text{ Hz}$, **3-C**), 135.9 (d, $^3J_{CP} = 5.6 \text{ Hz}$, **6-C**), 137.2 (d, $^3J_{CP} = 5.6 \text{ Hz}$, **2-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{202}$ ($\text{CDCl}_3 / 85\% \text{ige H}_3\text{PO}_4$):

$\delta = 20.39$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3056-2872$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch und C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1580, (C=C-Valenzschwingung), 1441 (P-Phenyl), 809, 752, 722, 691 (zwei bzw. fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

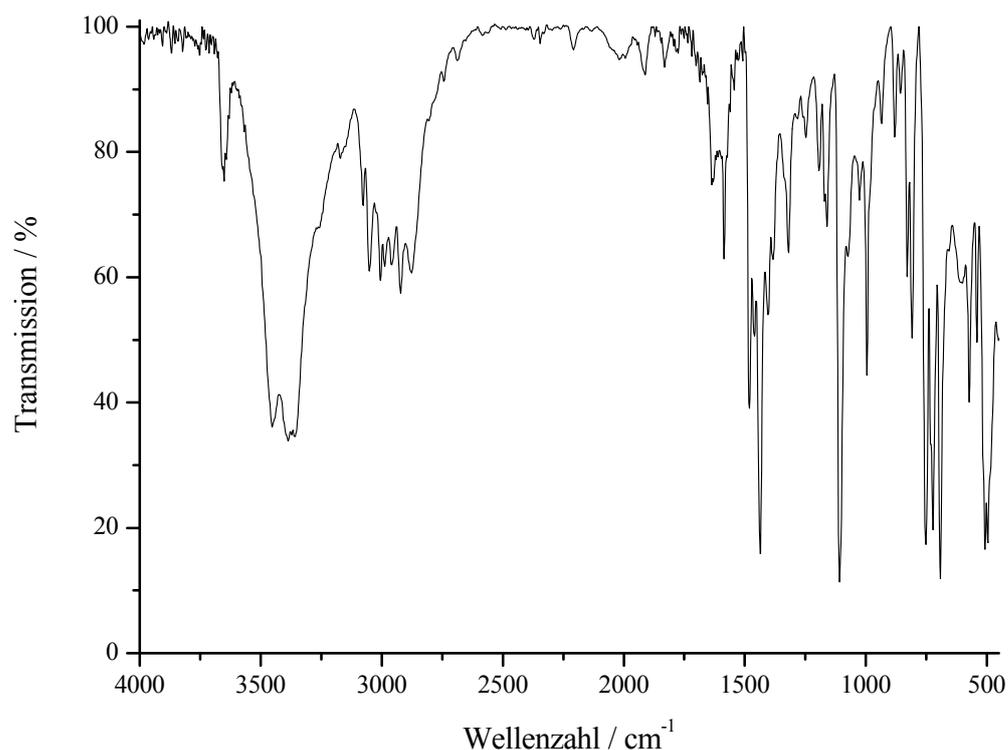


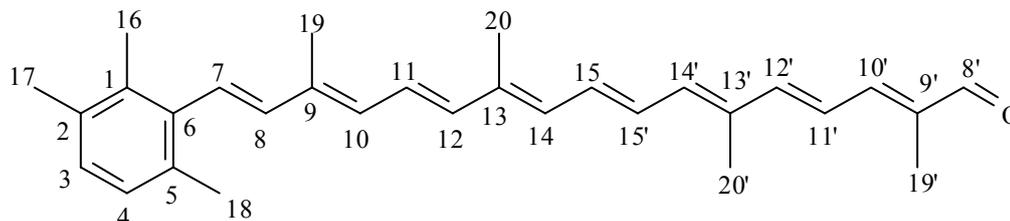
Abb.228: IR-Spektrum (KBr) von (2,3,6-Trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **47**

Massenspektrum [MALDI (DIT :CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 395.0$, calc.(C₂₈H₂₈P⁺-Br) 395.1

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 395.192312$, calc.(C₂₈H₂₈P⁺-Br) 395.191999

4.3.14 V14: 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51**

1.0 g (2.1 mmol) 2,3,6-Trimethylbenzyltriphenylphosphonium-bromid **42** werden mit 30 ml trockenem Tetrahydrofuran unter Argon vorgelegt. Es werden über eine Spritze 2.0 ml (3.2 mmol) *n*-Butyllithium (1.6 M in Hexan) unter Eis/Kochsalzkühlung zugetropft. Anschließend wird noch 30 min bei RT gerührt. Die Suspension wird über ein Glasrohr inert in einen Tropftrichter überführt und zu einer Lösung von 0.62 g (2.1 mmol) Crocetindialdehyd **14** in Dichlormethan unter Eiswasserkühlung zugetropft. Es wird 90 min bei RT gerührt und mit 50 ml verdünnter Schwefelsäure (2 %) hydrolysiert. Die Mischung wird mit Dichlormethan extrahiert und mit destilliertem Wasser gewaschen. Anschließend werden die vereinigten organischen Phasen am Rotationsverdampfer eingengt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan an Kieselgel 60 chromatographiert. Die zweite Fraktion ($R_f = 0.6$) wird gesammelt, das Laufmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und der Feststoff im Vakuum getrocknet. Es wird aus Aceton/Petrolether umkristallisiert. Die erste Fraktion enthält Isorenieratin **12** (beidseitig gekoppelt, $R_f = 0.9$) und wird zwecks Isomerisierung weiter aufgearbeitet (siehe Versuch 4.3.15).

Ausbeute: 0.17 g (0.40 mmol), M ($C_{30}H_{36}O$) = 412.6 g/mol

19 % bezogen auf Crocetindialdehyd **14**

Smp.: 162 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 1.91$ (s, 3 H, **19'-H**), 2.02 (s, 3 H, **20'-H**), 2.03 (s, 3 H, **20-H**), 2.11 (s, 3 H, **19-H**), 2.24 (s, 3 H, **16-H**), 2.28 (s, 6 H, **17, 18-H**), 6.23 (d, 1 H, $^3J = 11.4$ Hz, **10-H**), 6.29 (m, 2 H, **8, 14-H**), 6.41 (d, 1 H, $^3J = 15.0$ Hz, **12-H**), 6.46 (d, 1 H, $^3J = 11.6$ Hz, **14'-H**), 6.62-6.78 (m, 6 H, **7, 11, 11', 12', 15, 15'-H**), 6.95 (d, 1 H, $^3J = 10.8$ Hz, **10'-H**), 6.97 (s, 2 H, **3, 4-H**), 9.46 (s, 1 H, **8'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl₃):

$\delta = 9.62$ (**19'-C**), 12.68 (**19-C**), 12.81 (**20'-C**), 12.90 (**20-C**), 17.03 (**16-C**), 20.48 (**17-C**), 20.98 (**18-C**), 122.69 (**11'-C**), 125.85 (**11-C**), 126.93 (**7-C**), 127.1 (**4-C**), 128.12 (**3-C**), 129.38 (**15'-C**), 131.92 (**10-C**), 132.31 (**14-C**), 132.88 (**15-C**), 133.51 (**5-C**), 134.23 (**1-C**), 134.37 (**2-C**), 135.29 (**13'-C**), 136.23 (**9'-C**), 136.70 (**9-C**), 137.48 (**14'-C**), 137.53 (**6-C**), 137.63 (**12-C**), 138.40 (**13-C**), 138.86 (**8-C**), 145.88 (**12'-C**), 149.26 (**10'-C**), 194.50 (**8'-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3060\text{-}2850$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch und Methylgruppen), 1665 (C=O-Valenzschwingung), 1610 , 1522 (C=C-Valenzschwingung), 1183 (C-O-Valenzschwingung), 963 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 804 (zwei benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

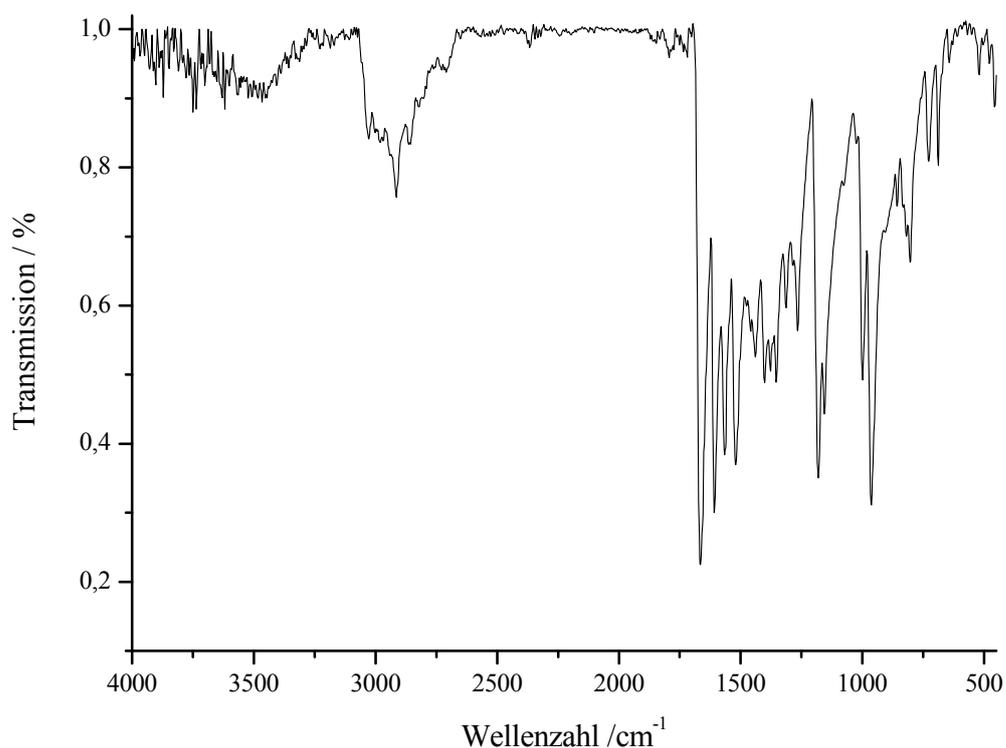


Abb.229: IR-Spektrum (KBr) von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 413.3 (3) $[M+1]^+$, 412.3 (9) $[M]^+$, 133 (100).

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 412.276614, calc.($C_{30}H_{36}O$) 412.276804

UV/VIS (Chloroform):

λ_{\max} ($\epsilon / L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) = 468 nm.

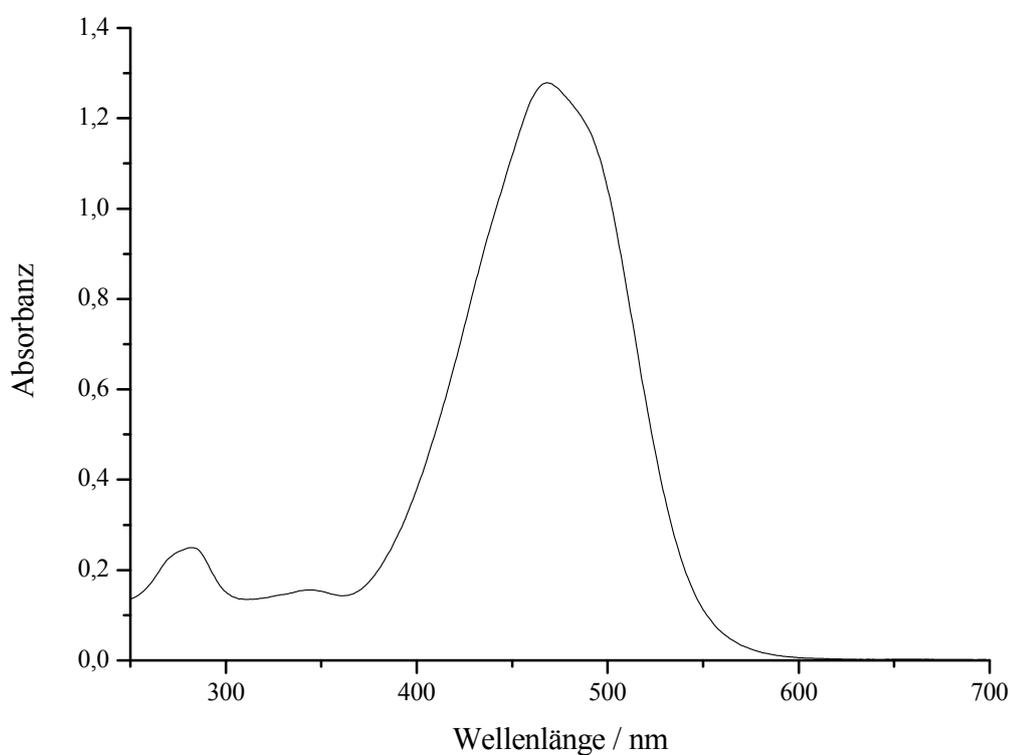
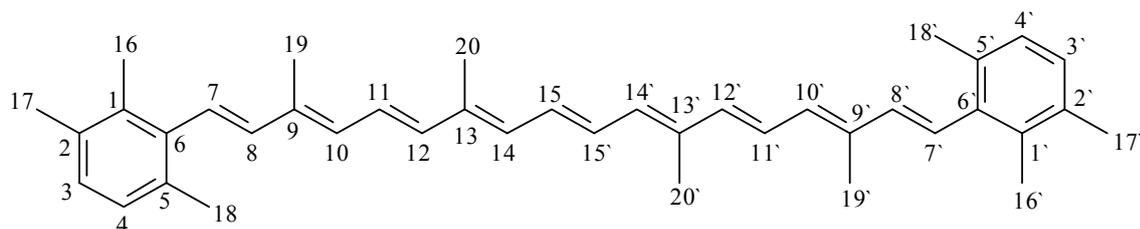


Abb.230: UV/VIS-Spektrum (Chloroform) von 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51**

4.3.15 V15: Isorenieratin 12



Die erste Fraktion der Säulenchromatographie der Synthese des 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-als **51** (siehe Kapitel 4.3.14) wird am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand in 15 ml Ethanol 3 h zum Rückfluss erhitzt. Die Mischung wird 12 h bei 0 °C aufbewahrt, filtriert, mit wenig eiskaltem Methanol gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.25 g (0.47 mmol), $M(C_{40}H_{48}) = 528.8$ g/mol

23 % bezogen auf Crocetindialdehyd **14**

Smp.: 207 °C Lit.:^[62] 207-208 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 2.01$ (s, 6 H, **20**, **20'-H**), 2.10 (s, 6 H, **19**, **19'-H**), 2.25 (s, 6 H, **16**, **16'-H**), 2.28 (s, 6 H, **17**, **17'-H**), 2.29 (s, 6 H, **18**, **18'-H**), 6.23 (d, 2 H, $^3J = 11.4$ Hz, **10**, **10'-H**), 6.29 (d, 2 H, $^3J = 16.4$ Hz, **8**, **8'-H**), 6.29 (m, 2 H, **14**, **14'-H**), 6.41 (d, 2 H, $^3J = 14.9$ Hz, **12**, **12'-H**), 6.62 (d, 2 H, $^3J = 16.4$ Hz, **7**, **7'-H**), 6.66 (m, 2 H, **15**, **15'-H**), 6.71 (m, 2 H, **11**, **11'-H**), 6.98 (s, 4 H, **3,3',4,4'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} (CDCl_3):

$\delta = 12.79$ (**19**, **19'-C**), 12.83 (**20**, **20'-C**), 17.05 (**16**, **16'-C**), 20.51 (**17**, **17'-C**), 21.00 (**18**, **18'-C**), 124.84 (**11**, **11'-C**), 126.47 (**7**, **7'-C**), 127.16 (**4**, **4'-C**), 128.06 (**3**, **3'-C**), 130.18 (**15**, **15'-C**), 132.13 (**10**, **10'-C**), 132.82 (**14**, **14'-C**), 133.56 (**5**, **5'-C**), 134.24 (**1**, **1'-C**), 134.41 (**2**, **2'-C**), 135.48 (**9**, **9'-C**), 136.51 (**13**, **13'-C**), 137.67 (**6**, **6'-C**), 138.00 (**12**, **12'-C**), 138.99 (**8**, **8'-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3026$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2914 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 964 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 808 (zwei benachbarte aromatische H) cm^{-1} .

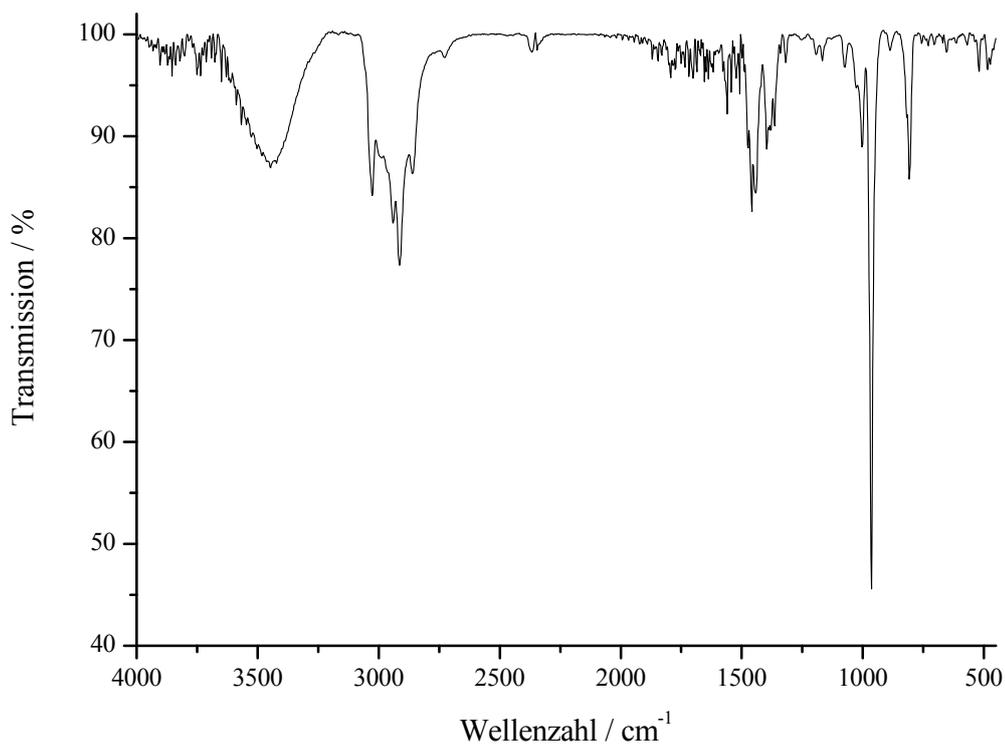


Abb.231: IR-Spektrum (KBr) von Isorenieratin 12

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 528.28$, calc.(C₄₀H₄₈) 528.38

Hochaufgelöste Masse (EI):

$m/z = 528.375599$, calc.(C₄₀H₄₈) 528.375042

UV/VIS (*n*-Hexan):

λ_{\max} ($\epsilon / \text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$) = 281 (23000), 451 (123000), 478 (107000) nm.

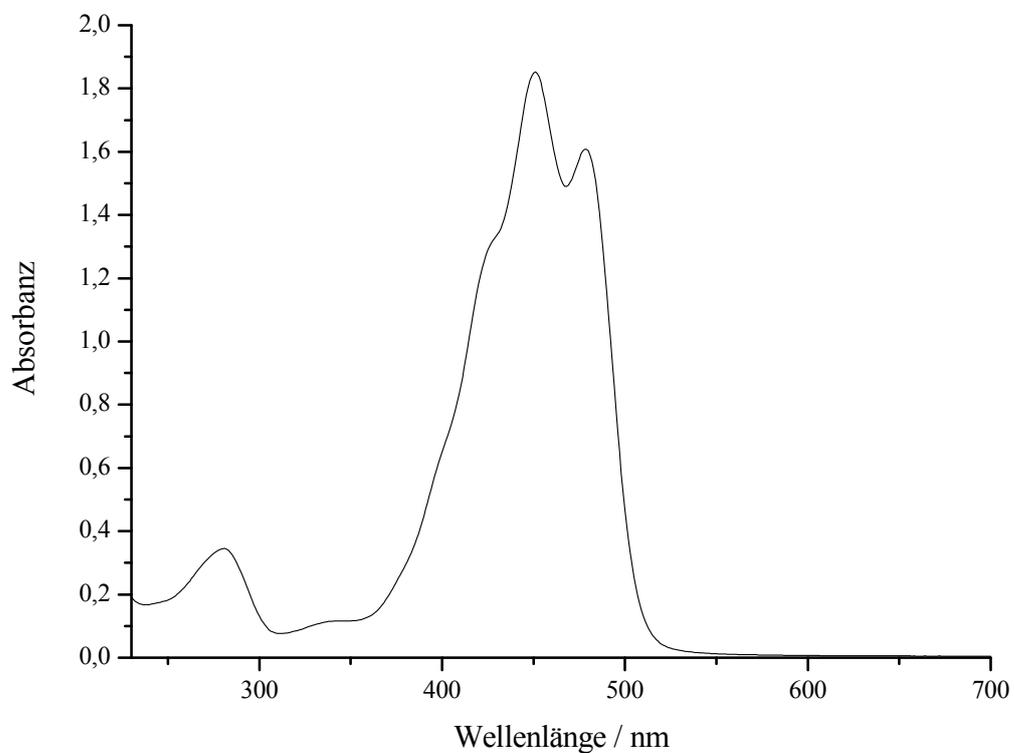
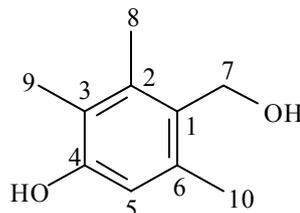


Abb.232: UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan) von Isorenieratin 12

4.3.16 V16: 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzylalkohol **56**

5.0 g (30 mmol) 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzaldehyd **53** werden mit 0.78 g (3.0 mmol) Titan(IV)oxidacetylacetonat **55** [TiO(acac)₂] in 50 ml Acetonitril vorgelegt. Unter Eiswasserkühlung werden anschließend portionsweise 15 g (40 mmol) Natriumborhydrid zugegeben und 2 h bei RT gerührt. Nun wird vorsichtig mit 20 ml Wasser hydrolysiert und das Reaktionsgemisch über eine Fritte (h = 10 cm, d = 4 cm), die zu 2/3 mit Celite gefüllt ist, abfiltriert. Es wird noch zweimal mit je 20 ml Tetrahydrofuran gespült und das gesamte Filtrat mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die organische Phase wird über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Feststoff **56** wird in Ethylacetat/(Petrolether 60-80) umkristallisiert und nach Filtration im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 4.6 g (28 mmol), M(C₁₀H₁₄O₂) = 166.2 g/mol
93 %

Smp.: 168-169 °C Lit.^[99]: 169 °C

¹H-NMR₅₀₀ (DMSO-d₆):

δ = 2.01 (s, 3 H, **9-H**), 2.19 (s, 3 H, **8-H**), 2.22 (s, 3 H, **10-H**), 4.39 (d, 2 H, ³J = 4.9 Hz, **7-H**), 4.43 (t, 1 H, ³J = 4.9 Hz, -CH₂OH), 6.44 (s, 1 H, **5-H**), 8.94 (s, 1 H, Ar-OH) ppm.

¹³C{¹H}-NMR₁₂₅ (DMSO-d₆):

δ = 11.72 (**9-C**), 15.30 (**8-C**), 19.31 (**10-C**), 57.31 (**7-C**), 113.74 (**5-C**), 119.55 (**3-C**), 128.64 (**1-C**), 134.08 (**6-C**), 136.85 (**2-C**), 153.72 (**4-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ (Zuordnung) = 3420, 3187 (O-H-Valenzschwingung), 2951, 2915 (C-H-Valenzschwingung), 1597 (C=C-Valenzschwingung), 1460, 1312 (OH-Deformationsschwingung), 1282, 1088 (C-O-Valenzschwingung), 972, 860 cm^{-1} .

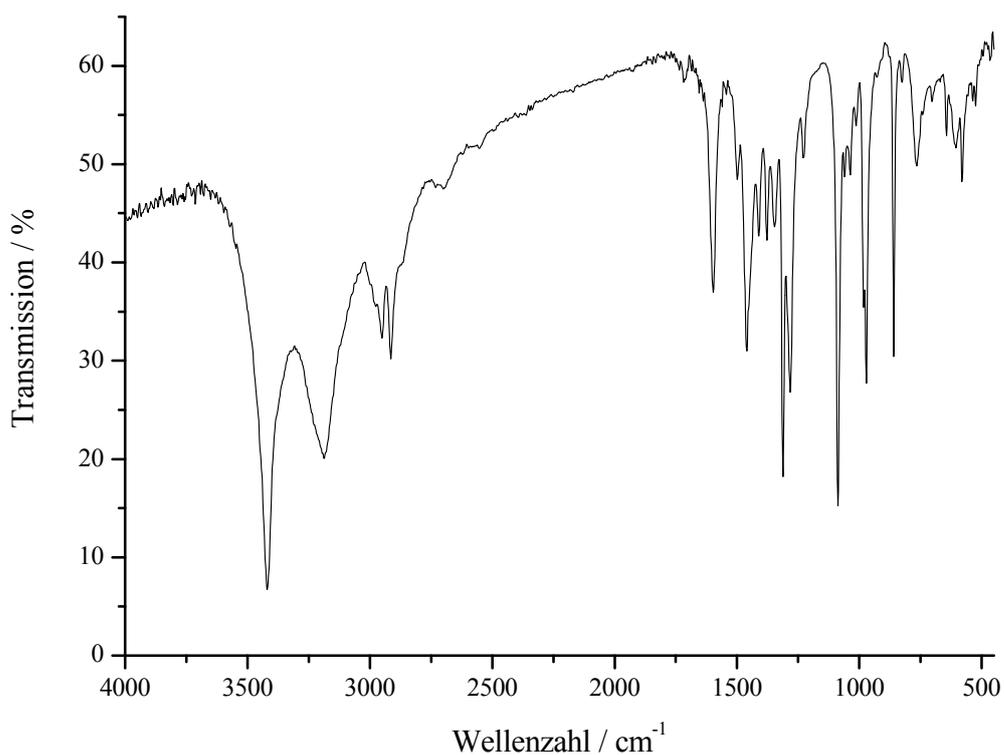


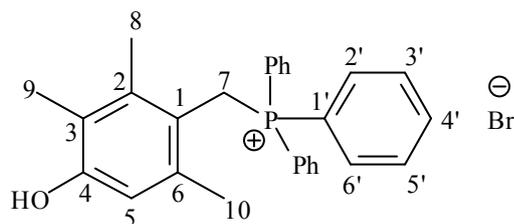
Abb.233: IR-Spektrum (KBr) von 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzylalcohol 56

Massenspektrum (EI):

m/z (%) = 166 (60), $[M]^+$, 151 (20), $[M-CH_3]^+$, 148 (100) $[M-OH]^+$, 137 (19) $[M-2*CH_3]$, 133 (12) $[M-2*OH]^+$, 123 (25), 105 (50), 91 (21).

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 166.099379, calc.($C_{10}H_{14}O_2$) 166.099265

4.3.17 V17: (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **52**

4.0 g (21 mmol) 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzylalkohol **56** werden in 100 ml Dichlormethan vorgelegt. Unter Eiswasserkühlung werden portionsweise 7.2 g (21 mmol) Triphenylphosphonium-bromid zugegeben. Es wird 72 h bei RT gerührt. Anschließend wird das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt, der Feststoff wird in 30 ml Acetonitril suspendiert und 90 min bei RT gerührt. Der Feststoff **52** wird filtriert und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 9.3 g (19 mmol), $M(C_{28}H_{28}BrOP) = 491.4 \text{ g/mol}$

90 %

Smp.: >250 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 1.51$ (s, 3 H, **9-H**), 1.63 (s, 3 H, **8-H**), 1.86 (s, 3 H, **10-H**), 4.87 (d, 2 H, $^2J_{HP} = 13.6$ Hz, **7-H**), 6.44 (s, 1 H, **5-H**), 7.53 (m, 6 H, **-PPh₃**), 7.70 (m, 6 H, **-PPh₃**), 7.91 (m, 3 H, **4'-H**), 9.39 (s, 1 H, **OH**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{125}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 11.9$ (**9-C**), 16.6 (**8-C**), 20.3 (**10-C**), 25.7 (d, $^1J_{CP} = 45.1$ Hz, **7-C**), 114.6 (d, $^2J_{CP} = 9.1$ Hz, **1-C**), 114.9 (d, $^4J_{CP} = 2.5$ Hz, **5-C**), 117.9 (d, $^1J_{CP} = 83.4$ Hz, **1'-C**), 121.3 (d, $^4J_{CP} = 3.6$ Hz, **3-C**), 129.9 (d, $^3J_{CP} = 12.3$ Hz, **3', 5'-C**), 134.1 (d, $^2J_{CP} = 9.6$ Hz, **2', 6'-C**), 135.0 (d, $^4J_{CP} = 2.4$ Hz, **4'-C**), 135.9 (d, $^3J_{CP} = 5.4$ Hz, **6-C**), 138.2 (d, $^3J_{CP} = 4.7$ Hz, **2-C**), 154.8 (d, $^5J_{CP} = 3.7$ Hz) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR $_{202}$ (DMSO- d_6 / 85%ige H_3PO_4):

$\delta = 19.32$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3400 (O-H-Valenzschwingung), 3060-2850 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch und Methylgruppen), 1588 (C=C-Valenzschwingung), 1438 (P-Phenyl), 1276, 1107 (C-O-Valenzschwingung), 748, 722, 691 (fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

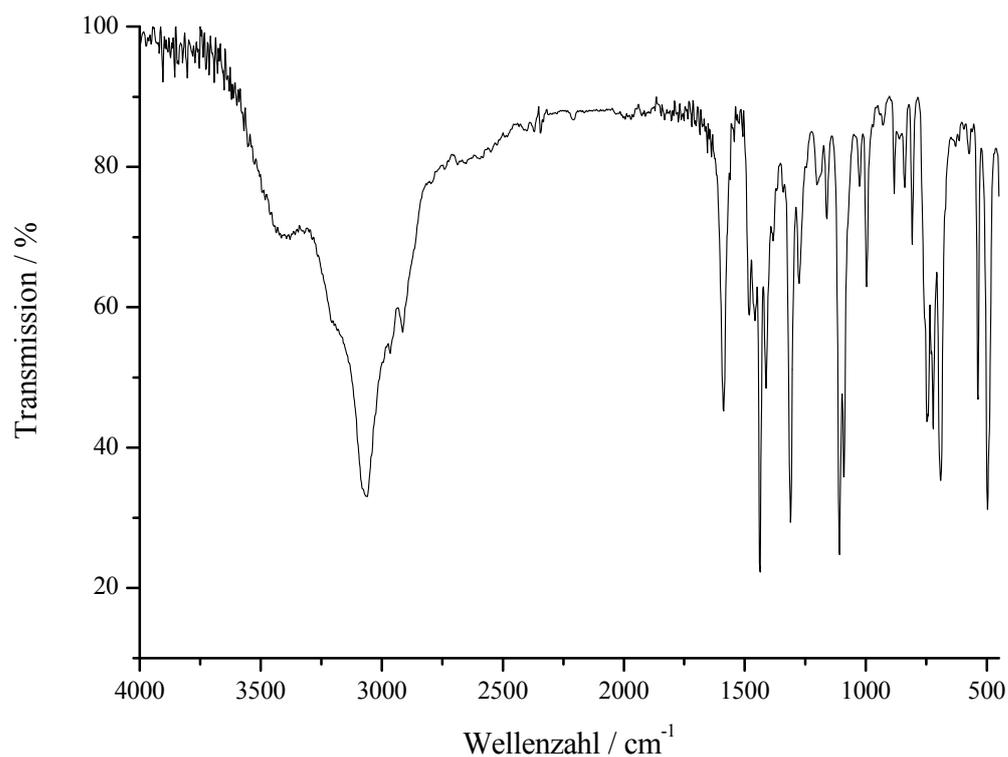


Abb.234: IR-Spektrum (KBr) von (4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid **52**

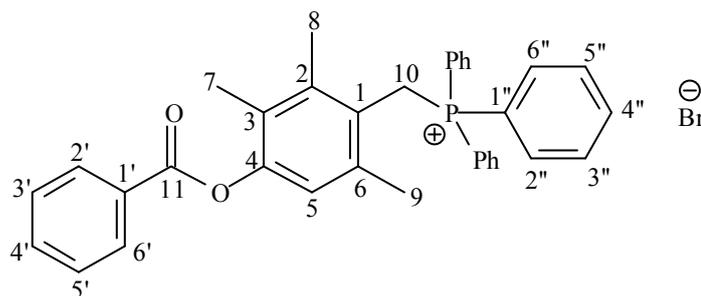
Massenspektrum (FAB+NBA):

m/z (%) = 412.4 (29) $[\text{M}+1]^+$, 391.5 (10), 307.3 (11), 289.3 (11), 263.2 (34), 262.2 (22).

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 411.187232, calc.($\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{OP}^+-\text{Br}$) 411.187240

4.3.18 V18: (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid 57



2.0 g (4.1 mmol) 4-Hydroxy-2,3,6-trimethylbenzyltriphenylphosphonium-bromid **52** werden in 40 ml frisch destilliertem Pyridin vorgelegt. Unter Eiswasserkühlung werden langsam 0.60 g (4.3 mmol) Benzoylchlorid zugetropft. Anschließend wird die Suspension, wobei der Feststoff allmählich in Lösung übergeht, 2.5 h bei RT gerührt. Unter Eiskühlung wird mit 20 ml Wasser hydrolysiert und es werden 50 ml Dichlormethan zugegeben. Es wird zehnmal mit gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen und die organische Phase wird in 1.5 L Diethylether eingetropft. Der weiße Feststoff **57** wird über eine Fritte (Pore 4) filtriert, mit Ether gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 1.9 g (3.2 mmol), $M(C_{35}H_{32}BrO_2P) = 595.5$ g/mol

78 %

Smp.: 235-237 °C

1H -NMR₅₀₀ (DMSO- d_6):

$\delta = 1.62$ (s, 3 H, **8-H**), 1.76 (s, 3 H, **9-H**), 1.87 (s, 3 H, **7-H**), 5.06 (d, 2 H, $^2J_{HP} = 14.3$ Hz, **10-H**), 6.91 (s, 1 H, **5-H**), 7.54 - 7.58 (m, 6 H, Teil des $-PPh_3$), 7.63 - 7.65 (m, 3 H, B- und C-Teil eines $[AB]_2C$ -Systems, **3'**, **4'**, **5'-H**), 7.72 - 7.77 (m, 6 H, Teil des $-PPh_3$), 7.93 - 7.96 (m, 3 H, **4''-H**), 8.15 - 8.17 (m, 2 H, A-Teil eines $[AB]_2C$ -Systems, **2'**, **6'-H**) ppm.

$^{13}C\{^1H\}$ -NMR₁₂₅ (DMSO- d_6):

$\delta = 12.7$ (**7-C**), 16.8 (**8-C**), 20.0 (**9-C**), 25.7 (d, $^1J_{CP} = 46.8$ Hz, **10-C**), 117.5 (d, $^1J_{CP} = 84.0$ Hz, **1''-C**), 122.2 (d, $^4J_{CP} = 3.2$ Hz, **5-C**), 123.3 (d, $^2J_{CP} = 9.0$ Hz, **1-C**), 127.5 (d, $^4J_{CP} = 3.9$ Hz, **3-C**), 128.5 (**1'-C**), 129.1 (**3'**, **5'-C**), 129.7 (**4'-C**), 129.9 (**2'**, **6'-C**), 130.0 (d, $^3J_{CP} = 12.4$ Hz, **3''**, **5''-C**), 134.2 (d, $^2J_{CP} = 9.9$ Hz, **2''**, **6''-C**), 135.2 (d, $^4J_{CP} = 2.0$ Hz, **4''-C**), 136.9 (d, $^3J_{CP} = 5.2$ Hz, **6-C**), 139.1 (d, $^3J_{CP} = 5.1$ Hz, **2-C**), 148.6 (d, $^5J_{CP} = 4.9$ Hz, **4-C**), 164.3 (**11-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR₂₀₂ (DMSO-d₆ / 85%ige H₃PO₄):

$\delta = 20.72$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3055$ (O-H-Valenzschwingung), 3055(C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2928 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1731 (C=O-Valenzschwingung), 1585 (C=C-Valenzschwingung), 1438 (P-Phenyl), 1258, 1107 (C-O-Valenzschwingung), 750, 715, 691 (fünf benachbarte H im Aromaten) cm⁻¹.

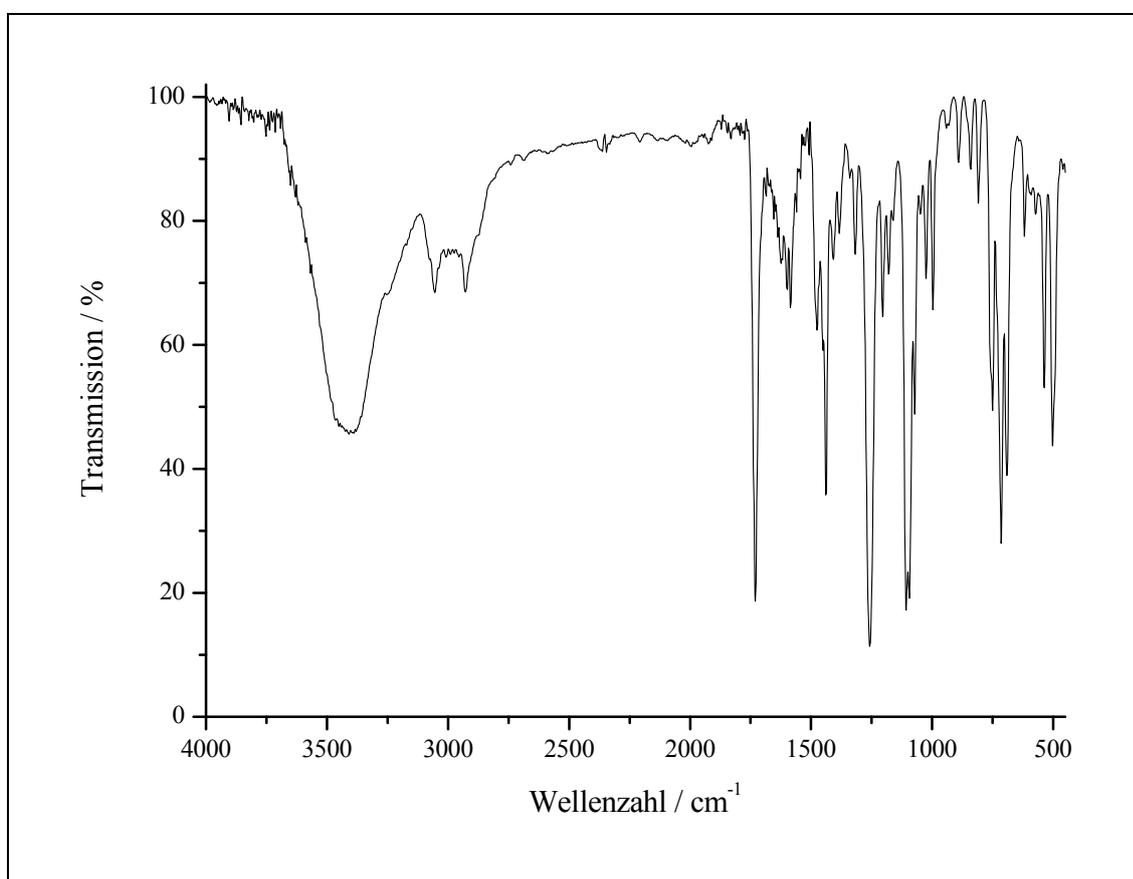


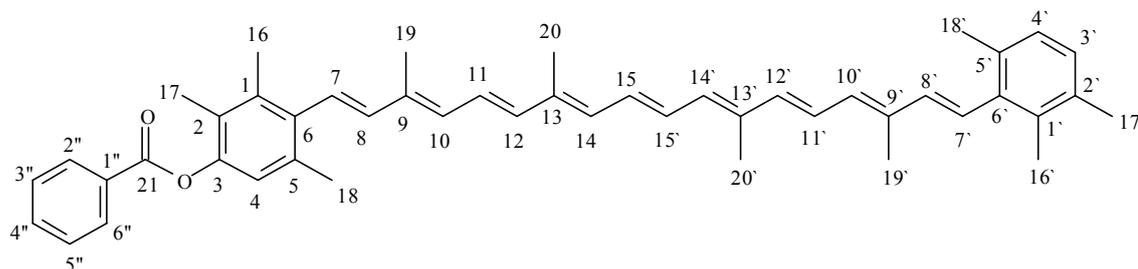
Abb.235: IR-Spektrum (KBr) von (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphonium-bromid 57

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:5)]:

$m/z = 515.1$, calc.(C₃₅H₃₂BrO₂P⁺-Br) 515.2

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 515.213445$, calc.(C₃₅H₃₂BrO₂P⁺-Br) 515.213788

4.3.19 V19: 3-Benzoyloxy- Φ , Φ -carotin **63**

0.37 g (0.63 mmol) (4-Benzoyloxy-2,3,6-trimethylbenzyl)triphenylphosphoniumbromid **57** werden in 40 ml trockenem Tetrahydrofuran vorgelegt. Unter Argon und Kühlung auf $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit einer Eis/Kochsalz-Mischung werden innerhalb von 30 min 0.90 ml (1.6 mmol) Lithiumdiisopropylamid (1.8 M in THF/Heptan/Ethylbenzol) zugegeben. 0.10 g (0.24 mmol) 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51** werden in 10 ml Dichlormethan gelöst und in die Reaktionsmischung getropft. Anschließend wird 90 min bei RT gerührt. Danach wird mit 30 ml verdünnter Schwefelsäure (2 %) hydrolysiert. Es wird mit Dichlormethan extrahiert und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingedunstet und der Rückstand wird mit Dichlormethan an Kieselgel 60 chromatographiert. Das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Zur Isomerisierung wird das Produkt in 15 ml Ethanol 3 h zum Rückfluss erhitzt. Die Suspension wird 2 h bei $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt, filtriert, mit wenig eiskaltem Ethanol gewaschen und der Feststoff **63** im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 0.15 g (0.23 mmol), $M(\text{C}_{47}\text{H}_{52}\text{O}_2) = 648.9\text{ g/mol}$

96 % bezogen auf 1,2,5-Trimethyl-8'-apo- Φ -carotin-8'-al **51**

Smp.: 125-127 $^{\circ}\text{C}$

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 2.01$ (s, 6 H, **20**, **20'-H**), 2.09 (s, 6 H, **19**, **19'-H**), 2.13 (s, 3 H, **17-H**), 2.24 (s, 3 H, **16'-H**), 2.28 (2·s, 6 H, **16**, **17'-H**), 2.29 (2·s, 6 H, **18**, **18'-H**), 6.21 - 6.26 (m, 2 H, **10**, **10'-H**), 6.27 - 6.32 (m, 4 H, **8**, **8'**, **14**, **14'-H**), 6.41 , 6.42 (2·d, 2 H, $^2\cdot^3J = 14.9\text{ Hz}$, **12**, **12'-H**), 6.58 (d, 2 H, $^3J = 16.0\text{ Hz}$, **7**, **7'-H**), 6.66 (m, 2 H, **15**, **15'-H**), 6.71 (m, 2 H, **11**, **11'-H**), 6.87 (s, 1 H, **4-H**), 6.97 (s, 2 H, **3'**, **4'-H**), 7.53 (m, 2 H, **3''**, **5''-H**), 7.65 (m, 1 H, **4''-H**), 8.25 (m, 2 H, **2''**, **6''-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (CDCl₃):

$\delta = 12.8$ (**19**, **19'**, **20**, **20'-C**), 12.95 (**17-C**), 17.04 (**16'-C**), 17.61 (**16-C**), 20.49 (**17'-C**), 20.99 (**18**, **18'-C**), 120.69 (**4-C**), 124.78 , 124.84 (**11**, **11'-C**), 125.99 (**2-C**), 126.26 , 126.46 (**7**, **7'-C**), 127.15 (**4'-C**), 128.05 (**3'-C**), 128.56 (**3''**, **5''-C**), 129.61 (**1''-C**), 130.15 (**2''**, **6''-C**), 130.25 (**15**, **15'-C**), 132.13 , 132.33 (**10**, **10'-C**), 132.82 , 132.90 (**14**, **14'-C**), 133.48 (**4''-C**), 133.55 (**5'-C**), 134.23 (**1'-C**), 134.39 (**2'-C**), 134.69 (**6-C**), 135.34 (**13-C**), 135.48 (**13'-C**), 135.87 (**5-C**), 136.37 (**1-C**), 136.48 (**9-C**), 136.53 (**9'-C**), 137.66 (**6'-C**), 137.99 , 138.14 (**12**, **12'-C**), 138.98 (**8'-C**), 139.32 (**8-C**), 147.67 (**3-C**), 165.27 (**21-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3027$ (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2913 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1735 (C=O-Valenzschwingung), 1638 (C=C-Valenzschwingung), 1260 , 1092 (C-O-Valenzschwingung), 963 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 802 , 705 (zwei bzw. fünf benachbarte aromatische H) cm^{-1} .

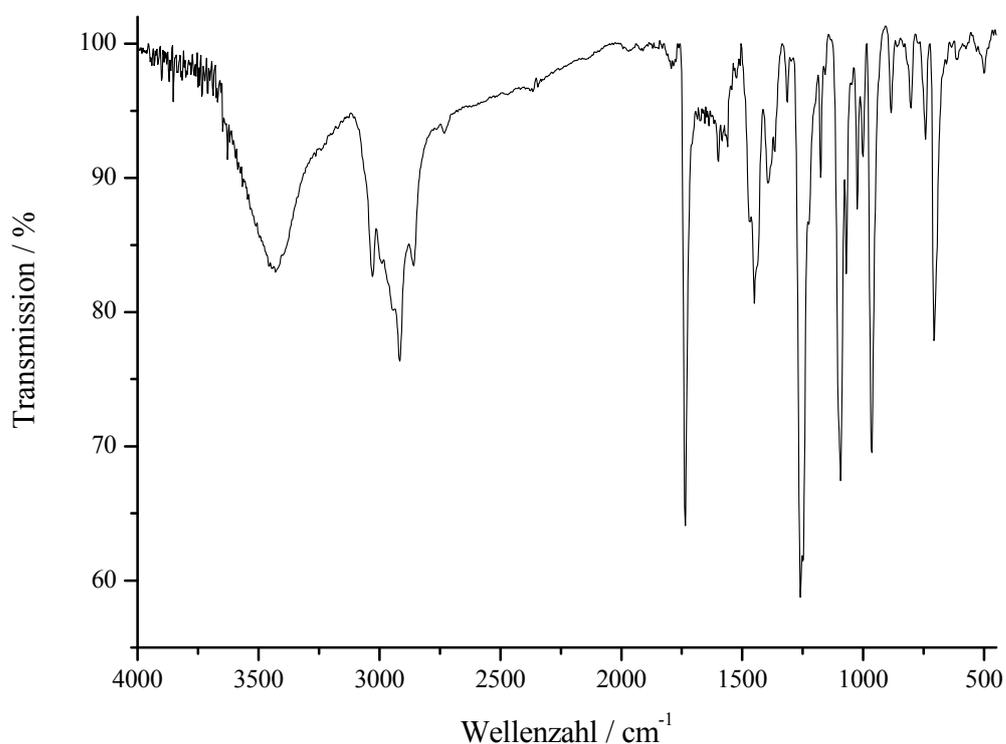


Abb.236: IR-Spektrum (KBr) von 3-Benzoyloxy- Φ,Φ -carotin **63**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:5)]:

$m/z = 648.4$, calc.(C₄₇H₅₂O₂) 648.4

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

$m/z = 671.385946$, calc.(C₄₇H₅₂O₂Na) 671.386839

UV/VIS-Spektrum (THF):

λ_{\max} ($\epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) = 283 (23800), 460 (123000), 487 (106000) nm.

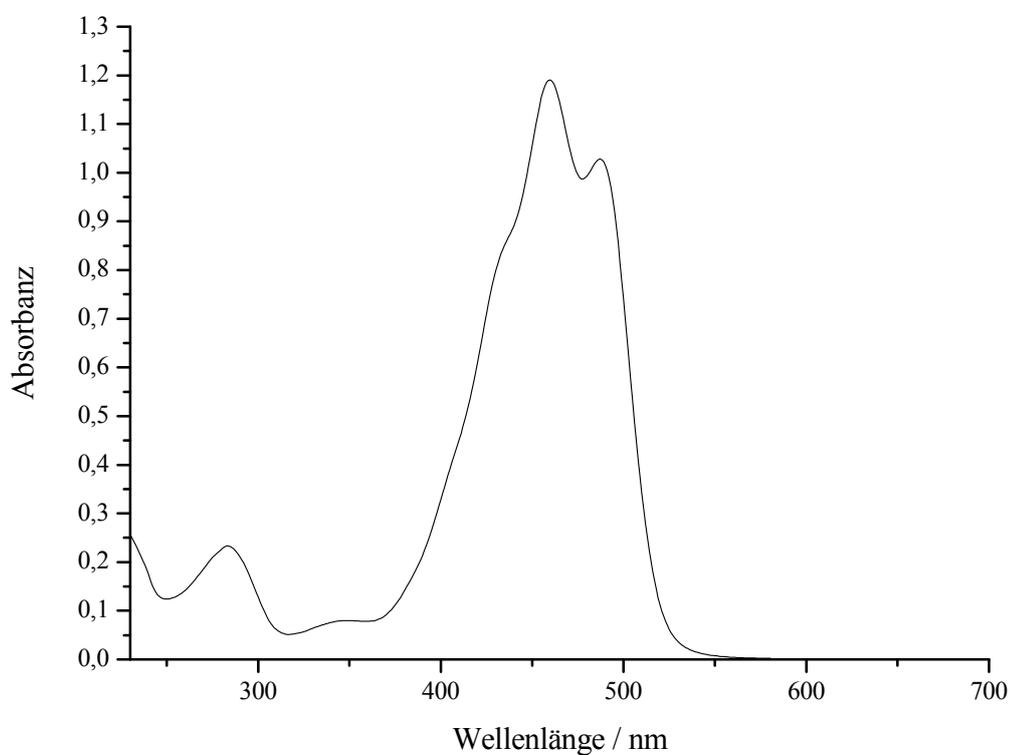
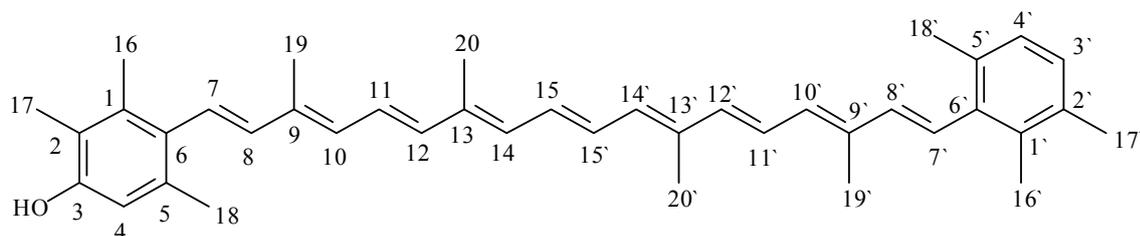


Abb.237: UV/VIS-Spektrum (THF) von 3-Benzoyloxy- Ψ, Ψ -carotin **63**

4.3.20 V20: 3-Hydroxy- Φ,Φ -carotin 10

0.10 g (0.15 mmol) 3-Benzoyloxy- Φ,Φ -carotin **63** werden in 20 ml trockenem Dichlormethan vorgelegt. Unter Argon und Eiswasserkühlung werden innerhalb von 30 min 1.0 ml (1.2 mmol) Diisobutylaluminiumhydrid (1.2 M in Toluol) zugetropft. Anschließend wird 90 min bei RT gerührt. Danach wird der Ansatz auf 50 g Eis geschüttet und unter Rühren solange 2%ige Schwefelsäure vorsichtig zugegeben bis sich der Niederschlag komplett aufgelöst hat. Es wird mit Dichlormethan extrahiert und mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird in 10 ml Ethanol 3 h zum Rückfluss erhitzt und die Mischung 12 h bei 0 °C auskristallisiert. Anschließend wird filtriert, mit wenig kaltem Methanol gewaschen und der Feststoff **10** wird im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 68 mg (0.12 mmol), $M(C_{40}H_{48}O) = 544.8 \text{ g/mol}$

83 %

Smp.: 181-182 °C

Lit.:^[37] 178 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CDCl_3):

$\delta = 1.99$ (s, 6 H, **20, 20'-H**), 2.08 (s, 6 H, **19, 19'-H**), 2.17 (s, 3 H, **17-H**), 2.24 (s, 9 H, **16, 16', 18-H**), 2.27 (s, 6 H, **17', 18'-H**), 4.57 (s, 1 H, **OH**), 6.15 - 6.75 (m, 15 H, **Polyenkette, 4-H**), 6.96 (s, 2 H, **3', 4'-Ar-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ - NMR_{125} (CDCl_3):

$\delta = 11.8$ (**17-C**), 12.8 (**19, 19', 20, 20'-C**), 17.0 (**16'-C**), 17.5 (**16-C**), 20.5 (**17'-C**), 20.95 , 20.99 (**18, 18'-C**), 114.2 (**4-C**), 120.0 (**2-C**), 124.8 , 124.9 (**11, 11'-C**), 126.4 , 126.5 (**7, 7'-C**), 127.1 (**4'-C**), 128.1 (**3'-C**), 128.2 (**6-C**), 130.1 , 130.2 (**15, 15'-C**), 131.7 (**10-C**), 132.1 (**10'-C**), 132.7 , 132.8 (**14, 14'-C**), 133.5 (**5'-C**), 134.2 (**1'-C**), 134.3 (**5-C**), 134.4 (**2'-C**), 135.4 , 135.6 (**9, 9'-C**), 136.3 , 136.4 (**13, 13'-C**), 136.4 (**1-C**),

137.7 (**6'-C**), 137.8 (**12-C**), 138.0 (**12'-C**), 138.6 (**8-C**), 138.99 (**8'-C**), 151.9 (**3-C**) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu}$ = 3420 (O-H-Valenzschwingung), 3029, 2917 (C-H-Valenzschwingung), 1595 (C=C-Valenzschwingung), 1458 (C-H-Deformationsschwingung), 1079 (C-O-Valenzschwingung), 964 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 805 (zwei benachbarte H am Aromaten) cm^{-1} .

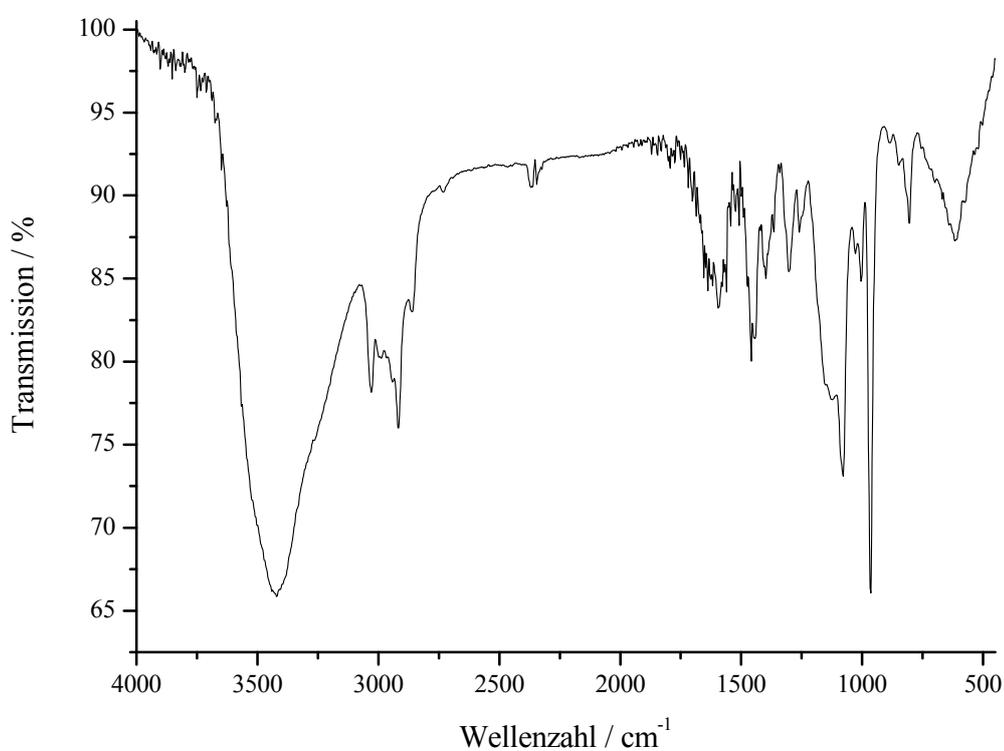


Abb.238: IR-Spektrum (KBr) von 3-Hydroxy- Φ,Φ -carotin **10**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

m/z = 544.35, calc.(C₄₀H₄₈O) 544.37

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 567.359732, calc.(C₄₀H₄₈ONa) 567.359259

UV/VIS (Ethanol):

λ_{\max} ($\epsilon / \text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$) = 280 (20700), 456 (122000), 481 (107000) nm.

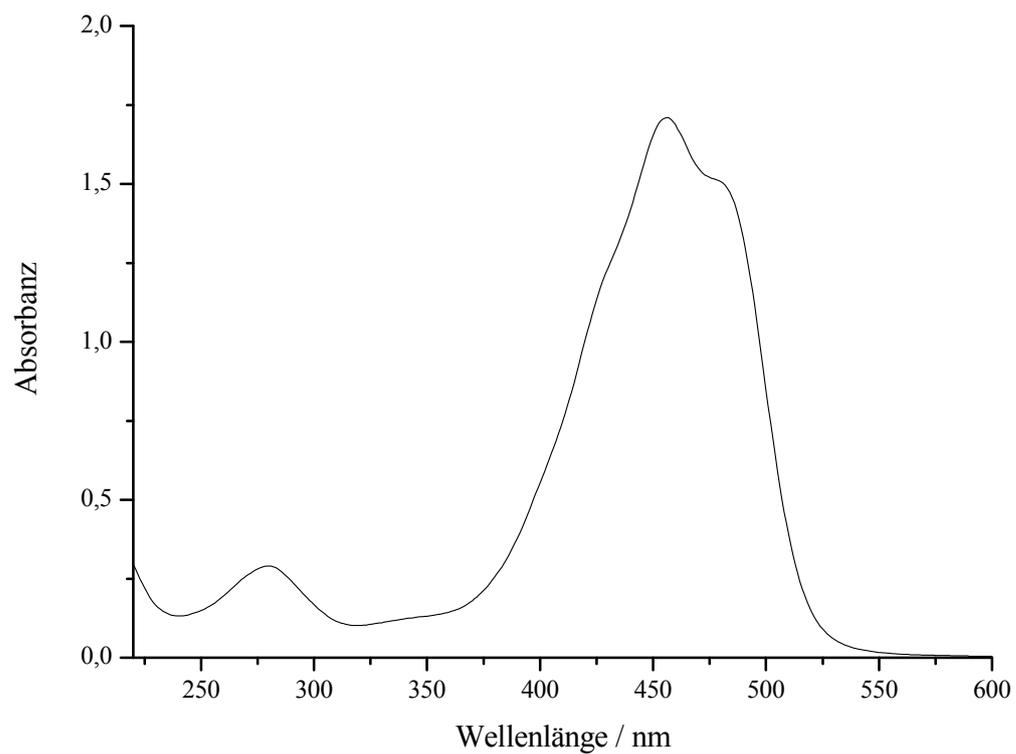
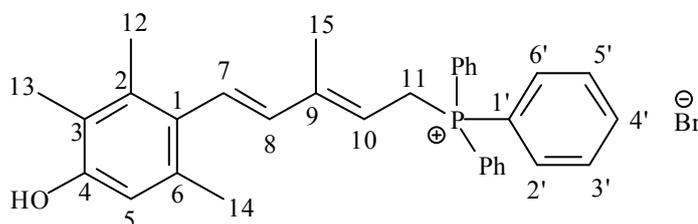


Abb.239: UV/VIS-Spektrum (Ethanol) von 3-Hydroxy- Ψ, Ψ -carotin **10**

4.3.21 V22: [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methyl-penta-2,4-dien-1-yl]triphenylphosphonium-bromid **65**



10 g (43 mmol) [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)]-3-methyl-pent-1,4-dien-3-ol **67** werden in 100 ml Dichlormethan vorgelegt. Bei 0 °C werden portionsweise 15 g (44 mmol) Triphenylphosphonium-bromid zugegeben. Anschließend wird 72 h bei RT gerührt. Unter Destillation bei Normaldruck wird das Dichlormethan simultan gegen zugetropftes Acetonitril ausgetauscht. Die abgekühlte Suspension wird filtriert, der Feststoff **65** mit wenig eiskaltem Acetonitril gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 20 g (36 mmol), $M(C_{33}H_{34}BrOP) = 557.5 \text{ g/mol}$

84 %

Smp.: 247 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (DMSO- d_6):

$\delta = 1.48$ (d, 3 H, $^5J_{HP} = 3.7 \text{ Hz}$, **15-H**), 1.99 (s, 3 H, **13-H**), 2.08 (s, 6 H, **12**, **14-H**), 4.67 (dd, 2 H, $^2J_{HP} = 16.8 \text{ Hz}$, $^3J_{HH} = 7.8 \text{ Hz}$, **11-H**), 5.45 (dd, 1 H, $^3J_{HP} = 14.8 \text{ Hz}$, $^3J_{HH} = 7.8 \text{ Hz}$, **10-H**), 6.10 (d, 1H, $^3J_{HH} = 16.4 \text{ Hz}$, **7-H**), 6.44 (dd, 1 H, $^5J_{HP} = 2.3 \text{ Hz}$, $^3J_{HH} = 16.4 \text{ Hz}$, **8-H**), 6.50 (s, 1 H, **5-H**), 7.70-7.96 (m, 15 H, -PPh₃), 9.06 (s, 1 H, -OH) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -NMR₁₂₅ (DMSO- d_6):

$\delta = 11.7$ (**13-C**), 12.2 (d, $^4J_{CP} = 2.6 \text{ Hz}$, **15-C**), 17.0 (**12-C**), 20.6 (**14-H**), 22.4 (d, $^1J_{CP} = 48.9 \text{ Hz}$, **11-C**), 113.9 (**5-C**), 114.3 (d, $^2J_{CP} = 11.0 \text{ Hz}$, **10-C**), 118.2 (d, $^1J_{CP} = 85.0 \text{ Hz}$, **1'-C**), 119.8 (**3-C**), 127.3 (**1-C**), 127.9 (d, $^4J_{CP} = 4.5 \text{ Hz}$, **8-C**), 130.0 (d, $^3J_{CP} = 12.5 \text{ Hz}$, **3'**, **5'-C**), 132.8 (**6-C**), 133.7 (d, $^2J_{CP} = 9.7 \text{ Hz}$, **2'**, **6'-C**), 134.9 (d, $^4J_{CP} = 2.5 \text{ Hz}$, **4'-C**), 135.1 (**2-C**), 135.7 (d, $^5J_{CP} = 5.2 \text{ Hz}$, **7-C**), 142.7 (d, $^3J_{CP} = 13.9 \text{ Hz}$, **9-C**), 153.5 (**4-C**) ppm.

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ -NMR₂₀₂ (DMSO- d_6 / 85%ige H_3PO_4):

$\delta = 22.35$ ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3422$ (O-H-Valenzschwingung), 3085 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2923, 2861 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1588 (C=C-Valenzschwingung), 1438 (P-Phenyl), 1290, 1111 (C-O-Valenzschwingung), 740, 719, 687 (fünf benachbarte H im Aromaten) cm^{-1} .

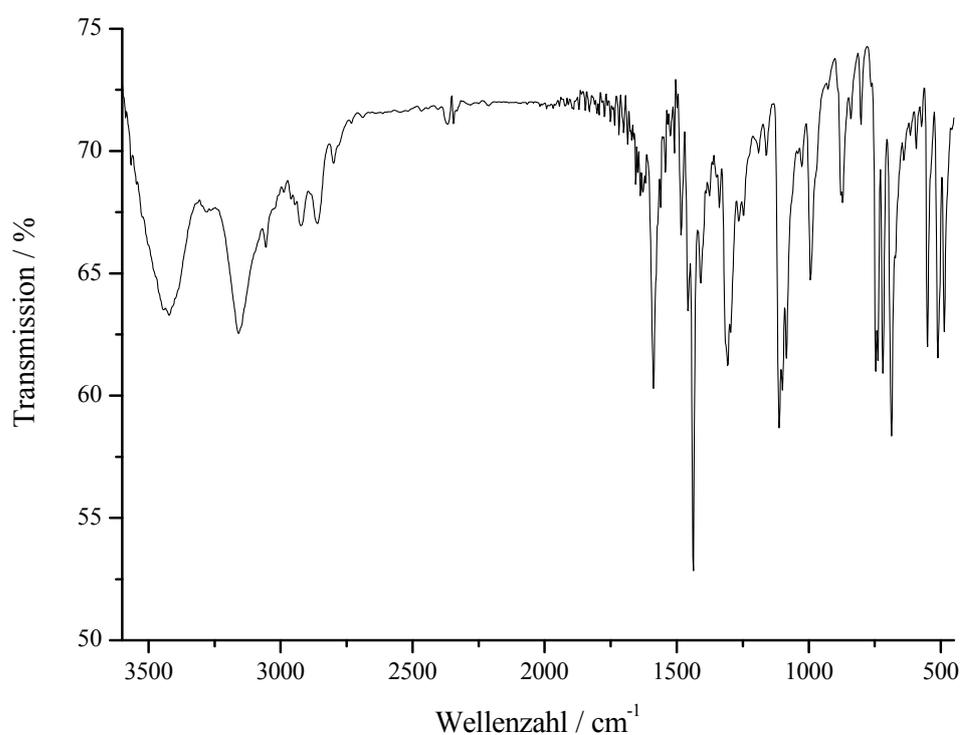


Abb.240: IR-Spektrum (KBr) von [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methylpenta-2,4-dien-1-yl]triphenylphosphonium-bromid **65**

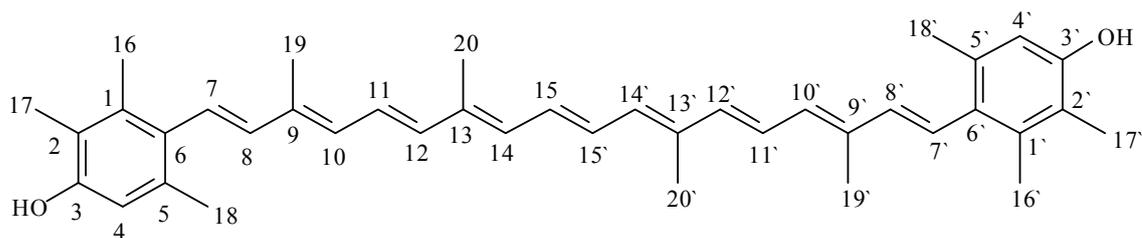
Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 477.11$, calc.(C₃₃H₃₄OP⁺-Br) 477.23

Elementaranalyse:

berechnet: C = 71.10 %; H = 6.15 %

gefunden: C = 71.03 % H = 6.15 %

4.3.22 V22: 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

3.0 g (5.4 mmol) [5-(4-Hydroxy-2,3,6-trimethylphenyl)-3-methyl-penta-2,4-dien-1-yl]triphenylphosphonium-bromid **65** werden mit 0.39 g (2.4 mmol) C₁₀-Dialdehyd **15** unter Inertgas vorgelegt. Man gibt 50 ml einer Mischung von Ethanol/1,2-Epoxybutan (3:1) hinzu und es wird 20 h zum Rückfluss erhitzt. Das Lösemittel wird anschließend am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand aus Tetrahydrofuran/Acetonitril umkristallisiert.

Ausbeute: 0.84 g (1.5 mmol), M(C₄₀H₄₈O₂) = 560.8 g/mol
62 % ^[106]

Smp.: 228-230 °C Lit.^[37]: 229 °C

¹H-NMR₅₀₀ (DMSO-d₆):

δ = 1.96 (s, 6 H, 20, 20'-H), 2.03 (s, 12 H, 17, 17', 19, 19'-H), 2.16 (s, 12 H, 16, 16', 18, 18'-H), 6.22-6.28 (m, 4 H, 8, 8', 10, 10'-H), 6.35 (m, 2 H, 14, 14'-H), 6.41 (d, 2 H, ³J = 14.8 Hz, 12, 12'-H), 6.52 (s, 2 H, 4, 4'-H), 6.58 (d, 2 H, ³J = 16.1 Hz, 7, 7'-H), 6.68-6.74 (m, 4 H, 11, 11', 15, 15'-H), 9.08 (s, 2 H, OH) ppm.

¹³C{¹H}-NMR₁₂₅ (DMSO-d₆):

δ = 11.83 (17, 17'-C), 12.51 (20, 20'-C), 12.55 (19, 19'-C), 17.21 (16, 16'-C), 20.86 (18, 18'-C), 114.06 (4, 4'-C), 119.90 (2, 2'-C), 125.14 (11, 11'-C), 126.57 (7, 7'-C), 127.92 (6, 6'-C), 130.32 (15, 15'-C), 131.39 (10, 10'-C), 132.63 (14, 14'-C), 132.99 (5, 5'-C), 135.21 (1, 1'-C), 135.54 (9, 9'-C), 136.23 (13, 13'-C), 137.34 (12, 12'-C), 137.42 (8, 8'-C), 153.46 (3, 3'-C) ppm.

IR (KBr):

$\tilde{\nu} = 3430$ (OH-Valenzschwingung), 3030 (C-H-Valenzschwingung, aromatisch), 2987 , 2913 (C-H-Valenzschwingung, Methylgruppen), 1587 , 1560 (C=C-Valenzschwingung), 1439 (C-H-Deformationsschwingung, Methylgruppen), 1296 (OH-Deformationsschwingung), 1076 (C-O-Valenzschwingung), 962 (C-H-Deformationsschwingung, all-trans), 849 (aromatisches H) cm^{-1} .

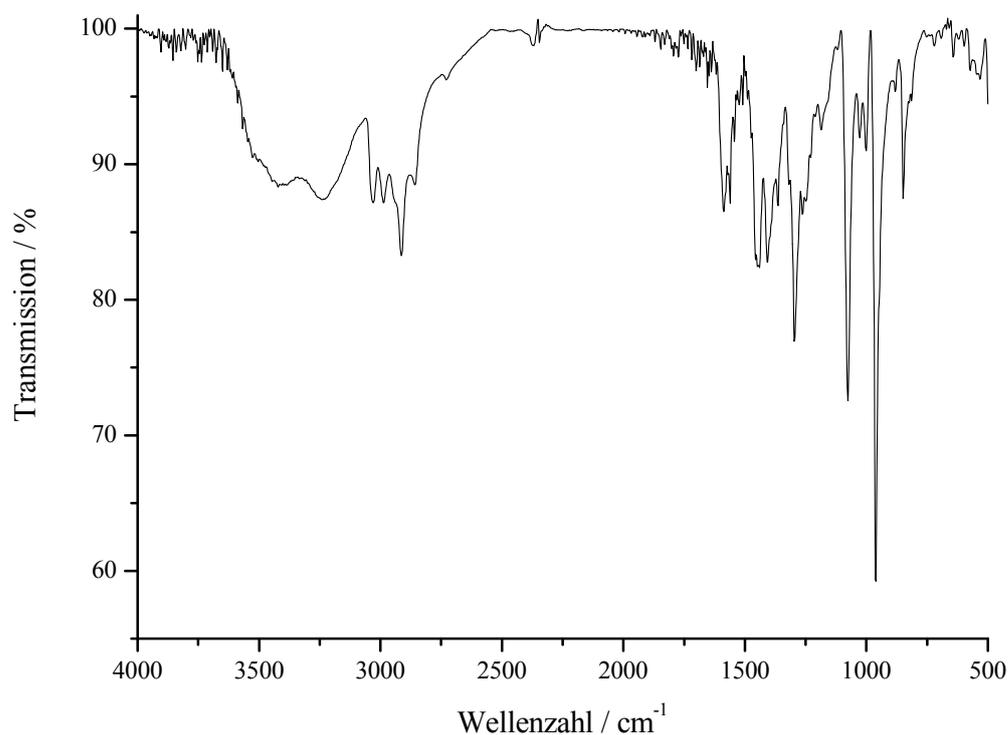


Abb.241: IR-Spektrum (KBr) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

$m/z = 560.3$, calc.(C₄₀H₄₈O₂) 560.3

Hochaufgelöste Masse (EI/DE):

$m/z = 560.365431$, calc.(C₄₀H₄₈O₂) 560.365057

UV/VIS (THF):

$\lambda_{\text{max}} (\epsilon / \text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}) = 466 (128000) \text{ nm.}$

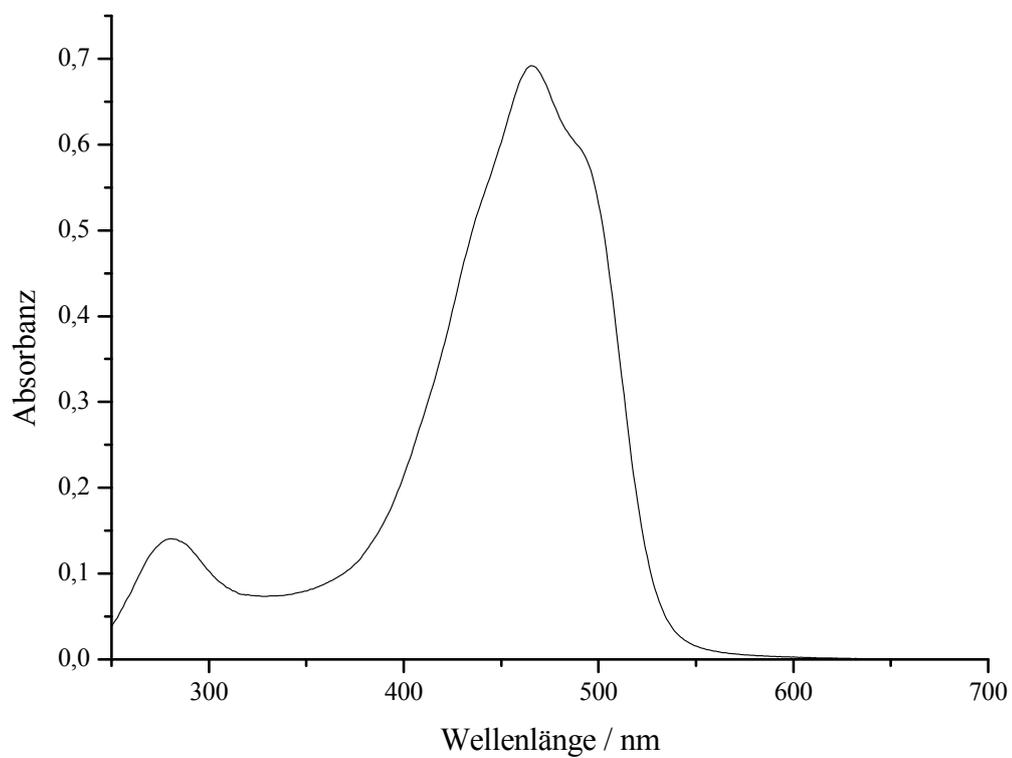
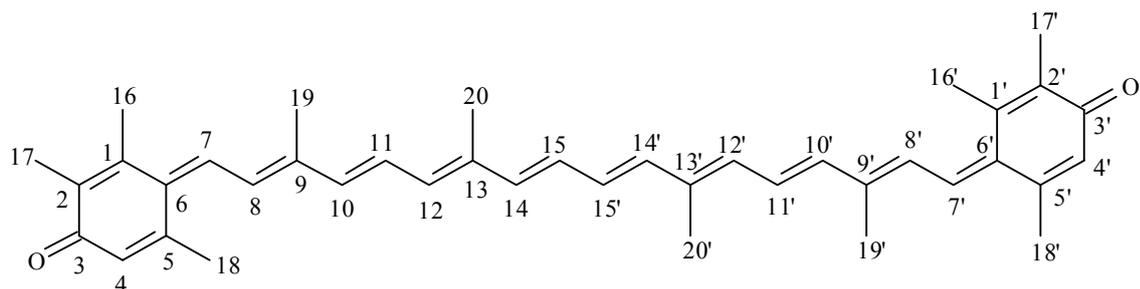


Abb.242: UV/VIS-Spektrum (THF) von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9**

4.3.23 V23: 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion 11

0.17 g (0.23 mmol) 3,3'-Dihydroxyisorenieratin **9** werden mit 50 ml trockenem Aceton versetzt. Nun wird unter Rühren in geringem molarem Überschuss Silbercarbonat-Celite (0.57 g enthalten 1.0 mmol Ag_2CO_3) zugegeben und 30 min bei 60 °C Ölbadtemperatur erwärmt. Anschließend wird der Kolben im Eisbad abgekühlt, die kalte Suspension über eine Fritte (Pore 4) abfiltriert und mit wenig kaltem Aceton nachgespült. Das Produkt wird mit Dichlormethan aus dem Feststoffgemisch in der Fritte gelöst und abgesaugt. Die blaue Lösung wird am Rotationsverdampfer eingengt. Zur Reinigung wird das Rohprodukt mit Aceton/Hexan 1:1 an Kieselgel 60 chromatographiert und nach Entfernung des Lösemittelgemisches am Rotationsverdampfer im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 78 mg (0.14 mmol), $M(\text{C}_{40}\text{H}_{46}\text{O}_2) = 558.8 \text{ g/mol}$

61 %

Smp.: >250 °C

$^1\text{H-NMR}_{500}$ (CD_2Cl_2): siehe auch Kapitel 2.3.9

$\delta = 2.0\text{-}2.4$ (m, 30 H, Methylgruppen), 6.2 (s, 2 H, **4**, **4'-H**), 5.3 (CH_2Cl_2), 6.3 (d, 2 H, $^3J = 11.5 \text{ Hz}$, **12**, **12'-H**), 6.4-6.6 (m, 6 H, **10**, **10'**, **14**, **14'**, **15**, **15'-H**), 6.9-7.1 (m, 4 H, **8**, **8'**, **11**, **11'-H**), 7.4 (d, 1 H, $^3J = 12.6 \text{ Hz}$, **7-H**), 7.6 (d, 1 H, $^3J = 12.5 \text{ Hz}$, **7'-H**) ppm.

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}\text{-NMR}_{125}$ (CD_2Cl_2):

$\delta = 11.9, 12.3$ (**17,17'-C**), 12.9, 13.1 (**19,19',20,20'-C**), 17.1, 17.6 (**16'-C**), 20.9 (**18-C**), 21.3 (**16-C**), 25.5 (**18'-C**), 126.5, 129.2 (**4,4'-C**), 129.9 (**8-C**), 130.1, 130.4, 130.6, 131.2, 131.5, 132.2, 133.2, 133.5 (**12-C**) 133.9 134.8 (**7-C**), 135.3, 136.6 (**7'-C**), 138.2 (**10-C**), 138.3 (**14-C**), 139.0, 140.0, 142.6, 144.5, 146.0, (**9, 9'-C**), 147.7, 148.2, 148.6, 185.7, 185.8 (**3, 3'-C**) ppm.

IR (Film, CH₂Cl₂):

$\tilde{\nu} = 2920$ (C-H-Valenzschwingung), 1620 (C=O-Valenzschwingung, konjugiert), 1515 (C=C-Valenzschwingung), 975, 956 (C-H- Deformationsschwingung, all-trans) cm⁻¹.

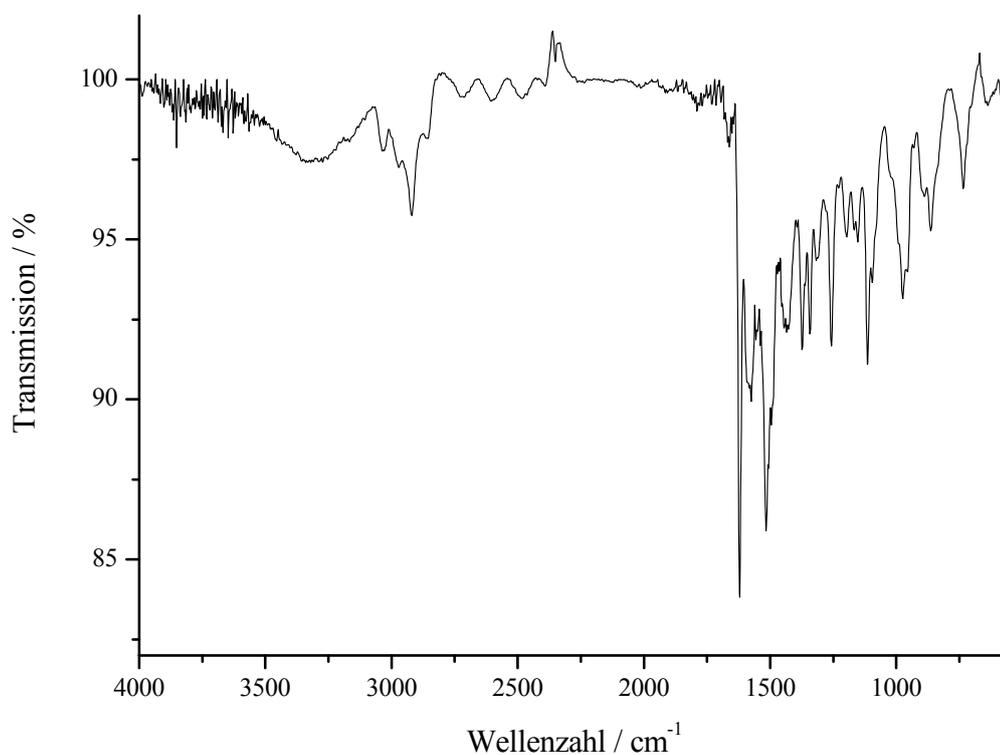


Abb.243: IR-Spektrum (CH₂Cl₂) von 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ , Φ -carotin-3,3'-dion **II**

Massenspektrum [MALDI (DIT:CHCl₃, 1:2)]:

m/z = 560.25, calc.(C₄₀H₄₈O+2) 560.37

Hochaufgelöste Masse (ESIpos):

m/z = 581.338995, calc.(C₄₀H₄₆O₂Na) 581.339270

UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan):

$\lambda_{\max} (\epsilon / \text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}) = 548 (151000) \text{ nm}$.

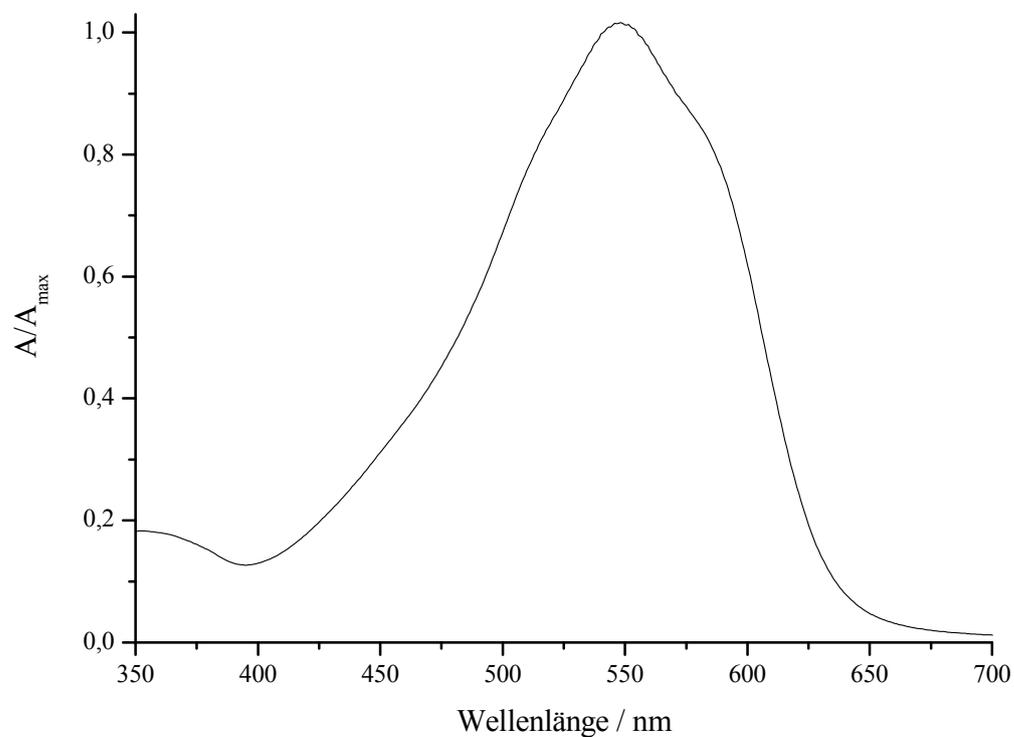


Abb.244: UV/VIS-Spektrum (*n*-Hexan) von 3,4-Dihydro-4,3'-retro- Φ,Φ -carotin-3,3'-dion **11**

4.4 Anhang

4.4.1 Oxidationsgeschwindigkeiten der Druckmessungen

Tab.16: Kalibrierung bei 15 und 150 Torr

Kalibrierung	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
150 Torr	-0.12726	84.72	± 0.01
15 Torr	-0.11492	76.50	± 0.01

Tab.17: Auswertung der Druckmessung von 3-Hydroxyisorenieratin **10** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00227	1.51	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.07839	52.18	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.09797	65.22	± 0.02

Tab.18: Auswertung der Druckmessung von 3-Hydroxyisorenieratin **10** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00815	5.43	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.06827	45.45	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.08804	58.60	± 0.03

Tab.19: Auswertung der Druckmessung von BHT-Carotinoid 13 bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00487	3.24	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.05351	35.62	± 0.04
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.09960	66.30	± 0.03

Tab.20: Auswertung der Druckmessung von BHT-Carotinoid 13 bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00590	3.95	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.03545	23.59	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.08549	56.91	± 0.02

Tab.21: Auswertung der Druckmessung von BHT-Chinon 36 bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	0.00417	2.78	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.07836	52.16	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.10385	69.13	± 0.02

Tab.22: Auswertung der Druckmessung von BHT-Chinon **36** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00333	2.22	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.06978	46.45	± 0.02
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.08777	58.43	± 0.02

Tab.23: Auswertung der Druckmessung von DHIR-Chinon **11** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00762	5.0726	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.09593	63.86	± 0.02
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.11533	76.76	± 0.03

Tab.24: Auswertung der Druckmessung von DHIR-Chinon **11** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00623	4.15	± 0.03
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.07575	50.43	± 0.02
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.08869	59.04	± 0.03

Tab.25: Auswertung der Druckmessung von 3,3'-Dimethyloxyisorenieratin **64** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00887	5.90	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.11147	74.21	± 0.01
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.12234	81.44	± 0.01

Tab.26: Auswertung der Druckmessung von 3,3'-Dimethyloxyisorenieratin **64** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.0079	5.26	± 0.03
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.0961	63.97	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.0973	64.70	± 0.01

Tab.27: Auswertung der Druckmessung von Isorenieratin **12** bei 150 Torr

c (Isorenieratin) mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00977	6.50	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.11290	75.16	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.11443	76.18	± 0.02

Tab.28: Auswertung der Druckmessung von Isorenieratin **12** bei 15 Torr

c (Isorenieratin) mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00346	2.30	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.08261	54.99	± 0.02
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.10071	67.04	± 0.02

Tab.29: Auswertung der Druckmessung von meta-Carotinoid **31** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.000835	0.56	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.04648	30.94	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.09510	63.31	± 0.02

Tab.30: Auswertung der Druckmessung von meta-Carotinoid **31** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	+0.00542	3.61	± 0.03
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.02952	19.65	± 0.07
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.07823	52.07	± 0.02

Tab.31: Auswertung der Druckmessung von *ortho*-Carotinoid **30** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.000212	0.141	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.100600	66.97	± 0.03
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.11566	76.99	± 0.02

Tab.32: Auswertung der Druckmessung von *ortho*-Carotinoid **30** bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.00219	1.46	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.08131	54.12	± 0.01
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.10186	67.81	± 0.03

Tab.33: Auswertung der Druckmessung von *para*-Carotinoid **17** bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.02973	19.79	± 0.02
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.09308	61.96	± 0.01
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.11354	75.58	± 0.01

Tab.34: Auswertung der Druckmessung von *para*-Carotinoid 17 bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit 10^{-8} mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	-0.02695	17.94	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.08158	54.31	± 0.01
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.09909	65.97	± 0.03

Tab.35: Auswertung der Druckmessung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin 9 bei 150 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	0.00655	4.36	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.07062	47.01	± 0.02
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.10004	66.59	± 0.01

Tab.36: Auswertung der Druckmessung von 3,3'-Dihydroxyisorenieratin 9 bei 15 Torr

Konzentration mol/L	Steigung Torr / min	Oxidationsgeschwindigkeit mol / (L·s)	σ mol / (L·s)
$2 \cdot 10^{-4}$	0.00475	3.16	± 0.01
$4 \cdot 10^{-5}$	-0.05168	34.30	± 0.04
$2 \cdot 10^{-5}$	-0.08958	59.63	± 0.02

5 Literatur

- [1] K. Meyer, *Chemie in Unserer Zeit* **2002**, 36, 178.
- [2] *Pure and Applied Chemistry* **1975**, 41, 405.
- [3] G. L.-J. Britton, S. ;Pfander H., **1995**, *IA:Isolation and Analysis*.
- [4] K. H. Wagner, I. Elmadfa, *Annals of Nutrition and Metabolism* **2003**, 47, 95.
- [5] D. Baltschun, S. Beutner, K. Briviba, H. D. Martin, J. Paust, M. Peters, S. Rover, H. Sies, W. Stahl, A. Steigel, F. Stenhorst, *Liebigs Annalen-Recueil* **1997**, 1887.
- [6] R. Schmidt, *Journal of Physical Chemistry A* **2004**, 108, 5509.
- [7] R. Schmidt, *Photochemistry and Photobiology* **2006**, 82, 1161.
- [8] J. Mildel, E. F. Elstner, J. Grabmann, *Molecular Nutrition & Food Research* **2007**, 51, 956.
- [9] M. T. Schroeder, E. M. Becker, L. H. Skibsted, *J. Agric. Food Chem.* **2006**, 54, 3445.
- [10] H. Ernst, *Pure and Applied Chemistry* **2002**, 74, 1369.
- [11] www.bccresearch.com.
- [12] J. A. Del Campo, M. Garcia-Gonzalez, M. G. Guerrero, *Applied Microbiology and Biotechnology* **2007**, 74, 1163.
- [13] Dieter Horn, *Angewandte Makromolekulare Chemie* **1989**, 166, 139.
- [14] N. Anantachoke, M. Makha, C. L. Raston, V. Reutrakul, N. C. Smith, M. Saunders, *Journal of the American Chemical Society* **2006**, 128, 13847.
- [15] H. Auweter, H. Haberkorn, W. Heckmann, D. Horn, E. Luddecke, J. Rieger, H. Weiss, *Angewandte Chemie-International Edition* **1999**, 38, 2188.
- [16] F. Khachik, F. F. de Moura, E. Y. Chew, L. W. Douglass, F. L. Ferris, J. Kim, D. J. S. Thompson, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **2006**, 47, 5234.
- [17] M. Korger, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **2005**.
- [18] R. e. a. Bone, *Nutrition and Metabolism* **2007**, 4.
- [19] D. Heber, Q. Y. Lu, *Experimental Biology and Medicine* **2002**, 227, 920.

- [20] K. Q. Hu, C. Liu, H. Ernst, N. I. Krinsky, R. M. Russell, X. D. Wang, *Journal of Biological Chemistry* **2006**, *281*, 19327.
- [21] F. Z. Lian, D. E. Smith, H. Ernst, R. M. Russell, X. D. Wang, *Carcinogenesis* **2007**, *28*, 1567.
- [22] M. Gajic, S. Zaripeh, F. R. Sun, J. W. Erdman, *Journal of Nutrition* **2006**, *136*, 1552.
- [23] R. Scherrers, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **2005**.
- [24] M. Yamaguchi, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1957**, *30*, 111.
- [25] M. Yamaguchi, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1958**, *31*, 51.
- [26] M. Yamaguchi, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1957**, *30*, 979.
- [27] H. Krugel, P. Krubasik, K. Weber, H. P. Saluz, G. Sandmann, *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids* **1999**, *1439*, 57.
- [28] C. H. E. Richard Buchecker, Carter Litchfield,, *Helvetica Chimica Acta* **1977**, *60*, 2780.
- [29] S. Liaaen-Jensen, B. Renstrom, T. Ramdahl, M. Hallenstvet, P. Bergquist, *Biochemical Systematics and Ecology* **1982**, *10*, 167.
- [30] Nybraaten.G, Liaaen-Jensen.S, *Acta Chemica Scandinavica* **1971**, *25*, 370.
- [31] M. Yamaguchi, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1959**, *32*, 1171.
- [32] P. K. M. C. Khosla, *Helvetica Chimica Acta* **1960**, *43*, 453.
- [33] F. Arcamone, B. Camerino, E. Cotta, Francesc.G, A. Grein, S. Penco, C. Spalla, *Experientia* **1969**, *25*, 241.
- [34] F. Arcamone, Franceschi, G., 493446, Italien, **1970**.
- [35] N. Grecz, G. M. Dack, *Journal of Bacteriology* **1961**, *82*, 241.
- [36] D. Jones, J. Watkins, S. K. Erickson, *Journal of General Microbiology* **1973**, *77*, 145.
- [37] W. Kohl, H. Achenbach, H. Reichenbach, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 207.
- [38] G. Hussein, U. Sankawa, H. Goto, K. Matsumoto, H. Watanabe, *Journal of Natural Products* **2006**, *69*, 443.
- [39] G. Bartalucci, J. Coppin, S. Fisher, G. Hall, J. R. Helliwell, M. Helliwell, S. Liaaen-Jensen, *Acta Crystallographica Section B-Structural Science* **2007**, *63*, 328.

- [40] F. Guyomarc'h, A. Binet, L. Dufosse, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **2000**, 24, 64.
- [41] F. Guyomarc'h, A. Binet, L. Dufosse, *International Journal of Food Microbiology* **2000**, 57, 201.
- [42] M. Ferchichi, D. Hemme, M. Nardi, N. Pamboukdjian, *Journal of General Microbiology* **1985**, 131, 715.
- [43] L. Dufosse, P. Mabon, A. Binet, *Journal of Dairy Science* **2001**, 84, 354.
- [44] M. H. Famelart, A. Kobilinsky, C. Bouillanne, M. J. Desmazeaud, *Applied Microbiology and Biotechnology* **1987**, 25, 442.
- [45] A. Onraedt, W. Soetaert, E. Vandamme, *Biotechnology Letters* **2005**, 27, 527.
- [46] P. Galaup, A. Gautier, Y. Piriou, A. De Villeblanche, A. Valla, L. Dufosse, *Innovative Food Science & Emerging Technologies* **2007**, 8, 373.
- [47] W. Bockelmann, T. Hoppe-Seyler, *International Dairy Journal* **2001**, 11, 307.
- [48] C. Feurer, T. Vallaey, G. Corrieu, F. Irlinger, *Journal of Dairy Science* **2004**, 87, 3189.
- [49] L. Dufosse, M. C. de Echanove, *Food Research International* **2005**, 38, 967.
- [50] P. Krubasik, G. Sandmann, *Molecular and General Genetics* **2000**, 263, 423.
- [51] P. Krubasik, G. Sandmann, *Biochemical Society Transactions* **2000**, 28, 806.
- [52] G. L.-J. Britton, S. ; Pfander H., *Carotenoids-Synthesis, Vol. 2*, Birkhäuser, **1996**.
- [53] E. Widmer, *Pure and Applied Chemistry* **1985**, 57, 741.
- [54] H. Ernst, *Pure and Applied Chemistry* **2002**, 74, 2213.
- [55] G. Wittig, H. Pommer, in *Ger. Pat. 954, 247*, **1956**.
- [56] S. Kock, *Diplomarbeit, Universität Düsseldorf* **2004**.
- [57] A. Nonnenmacher, R. Mayer, H. Plieninger, *Liebigs Annalen Der Chemie* **1983**, 2135.
- [58] J. Buddrus, *Chemische Berichte-Recueil* **1974**, 107, 2050.
- [59] J. Buddrus, Kimpenha.W, *Chemische Berichte-Recueil* **1974**, 107, 2062.
- [60] E. Widmer, M. Soukup, R. Zell, E. Broger, H. P. Wagner, M. Imfeld, *Helvetica Chimica Acta* **1990**, 73, 861.
- [61] E. Widmer, R. Zell, E. A. Broger, Y. Crameri, H. P. Wagner, J. Dinkel, M. Schlageter, T. Lukac, *Helvetica Chimica Acta* **1981**, 64, 2436.

- [62] R. D. G. Cooper, J. B. Davis, B. C. L. Weedon, *Journal of the Chemical Society* **1963**, 5637.
- [63] W. von Doering, C. Sotiriou-Leventis, W. R. Roth, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2747.
- [64] G. M. Williams, M. J. Iatropoulos, J. Whysner, *Food and Chemical Toxicology* **1999**, *37*, 1027.
- [65] R. Kahl, H. Kappus, *Zeitschrift Fur Lebensmittel-Untersuchung Und-Forschung* **1993**, *196*, 329.
- [66] C. C. Yeh, J. G. Chung, H. C. Wu, Y. C. Li, Y. M. Lee, C. F. Hung, *Food and Chemical Toxicology* **2000**, *38*, 977.
- [67] G. H. Stillson, D. W. Sawyer, C. K. Hunt, *Journal of the American Chemical Society* **1945**, *67*, 303.
- [68] K. Omura, *Journal of Organic Chemistry* **1991**, *56*, 921.
- [69] M. Schmidt, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **2001**.
- [70] S. Frixel, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **2002**.
- [71] O. Gräf, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **1994**.
- [72] M. Tulp, L. Bohlin, *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2005**, *13*, 5274.
- [73] O. Volker, *Hoppe-Seylers Zeitschrift Fur Physiologische Chemie* **1953**, *292*, 75.
- [74] O. Volker, *Naturwissenschaften* **1954**, *41*, 405.
- [75] H. B. Richard Kuhn, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft (A and B Series)* **1933**, *66*, 828.
- [76] M. S. Erich Widmer, Reinhard Zell, Emil Broger, Bruno Lohri, Roman Marbet, Teodor Lukáč, *Helvetica Chimica Acta* **1982**, *65*, 944.
- [77] E. Widmer, R. Zell, H. Grass, R. Marbet, *Helvetica Chimica Acta* **1982**, *65*, 958.
- [78] M. Merzlyak, A. Solovchenko, S. Pogosyan, *Photochemical & Photobiological Sciences* **2005**, *4*, 333.
- [79] Q. M. Han, S. Katahata, Y. Kakubari, Y. Mukai, *Tree Physiology* **2004**, *24*, 609.
- [80] M. Fetizon, M. Golfier, *Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences Serie C* **1968**, *267*, 900.
- [81] G. Lowe, F. G. Torto, B. C. L. Weedon, *Journal of the Chemical Society* **1958**, 1855.
- [82] L. I. Smith, C. L. Agre, *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 652.

- [83] T. L. Ho, T. W. Hall, *Synthetic Communications* **1981**, *11*, 371.
- [84] A. Uzarewicz, *Roczniki Chemii* **1963**, *37*, 1637.
- [85] G.-J. M. Gruter, O. S. Akkerman, F. Bickelhaupt, *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4473.
- [86] R. Ruegg, M. Montavon, G. Ryser, G. Saucy, U. Schwieter, O. Isler, *Helvetica Chimica Acta* **1959**, *42*, 854.
- [87] A. J. Aasen, S. L. Jensen, *Acta Chemica Scandinavica* **1967**, *21*, 970.
- [88] J. Deli, P. Molnar, Z. Matus, G. Toth, A. Steck, U. A. Niggli, H. Pfander, *Helvetica Chimica Acta* **1998**, *81*, 1815.
- [89] H. Pfander, A. Lachenmeier, M. Hadorn, *Helvetica Chimica Acta* **1980**, *63*, 1377.
- [90] E. Markifischer, P. Uebelhart, C. H. Eugster, *Helvetica Chimica Acta* **1987**, *70*, 1994.
- [91] A. R. Valla, D. L. Cartier, B. G. Valla, R. Y. Le Guillou, Z. R. Andriamialisoa, R. Labia, D. E. Breithaupt, S. M. Savy, A. Binet, L. H. Dufosse, *Helvetica Chimica Acta* **2003**, *86*, 3314.
- [92] S. Akiyama, S. Nakatsuji, S. Eda, *Tetrahedron Letters* **1979**, 2813.
- [93] A. Valla, Z. Andriamialisoa, B. Valla, R. Labia, R. Le Guillou, L. Dufosse, D. Cartier, *European Journal of Organic Chemistry* **2007**, 711.
- [94] A. Furstner, B. Bogdanovic, *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1996**, *35*, 2442.
- [95] B. F. Lutnaes, G. Kildahl-Andersen, J. Krane, S. Liaaen-Jensen, *Journal of the American Chemical Society* **2004**, *126*, 8981.
- [96] H. Hagiwara, Y. Eda, K. Morohashi, T. Suzuki, M. Ando, N. Ito, *Tetrahedron Letters* **1998**, *39*, 4055.
- [97] J. S. Fitzgerald, *J. appl. Chem.* **1955**, 289.
- [98] W. R. Bollag, R.; Gottlieb R., in *Ger. Offen.*, **1974**.
- [99] Dakshina.H, M. Santappa, *Journal of Organic Chemistry* **1962**, *27*, 1839.
- [100] B. Zeynizadeh, *Zeitschrift Fur Naturforschung Section B-a Journal of Chemical Sciences* **2003**, *58*, 1220.
- [101] E. S. Hand, K. A. Belmore, L. D. Kispert, *Helvetica Chimica Acta* **1993**, *76*, 1928.

- [102] M. Momenteau, B. Looock, P. Seta, E. Bienvenue, B. Depenoux, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 4893.
- [103] M. M. Hesse, H. ; Zeeh, B., *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*, 7. Auflage ed., **2005**.
- [104] N. Okukado, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1974**, *47*, 2345.
- [105] Nybraaten.G, Liaaen-jensen.S, *Acta Chemica Scandinavica Series B-Organic Chemistry and Biochemistry* **1974**, *B 28*, 584.
- [106] H. Ernst, in *Gordon Research Conference on Carotenoids*, Ventura, California, **2007**.
- [107] H. Ernst, Ludwigshafen, BASF AG, **2005**.
- [108] O. O. Tutorskaya, A. M. Tuguzova, M. A. Miropolskaya, G. I. Samokhvalov, *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **1990**, *26*, 1087.
- [109] O. O. Tutorskaya, M. A. Miropolskaya, G. I. Samokhvalov, *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **1991**, *27*, 2588.
- [110] O. O. Tutorskaya, M. A. Miropolskaya, G. I. Samokhvalov, *Zhurnal Organicheskoi Khimii* **1991**, *27*, 1423.
- [111] S. Hertzberg, S. Liaaen-jensen, *Acta Chemica Scandinavica Series B-Organic Chemistry and Biochemistry* **1985**, *39*, 629.
- [112] K. H. Konig, W. Schulze, G. Moller, *Chemische Berichte-Recueil* **1960**, *93*, 554.
- [113] Z. T. Münch, *Liebigs Annalen Der Chemie* **1904**, *335*, 157.
- [114] K. U.R., S. G, *Grundlagen der qualitativen und quantitativen Analyse*, Thieme, **1996**.
- [115] S. Liaaen-jensen, G. W. Francis, C. R. Enzell, *Acta Chemica Scandinavica* **1969**, *23*, 727.
- [116] J. K. Zhou, A. Rieker, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **1997**, 2795.
- [117] K.-P. Z. J. Heiss, A. Rieker,, *Organic Mass Spectrometry* **1969**, *2*, 1325.
- [118] G. Englert, M. Vecchi, *Journal of Chromatography* **1982**, *235*, 197.
- [119] A. G. Andrewes, G. Englert, G. Borch, H. H. Strain, S. Liaaen-jensen, *Phytochemistry* **1979**, *18*, 303.
- [120] J. O. Morley, R. M. Morley, A. L. Fitton, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 11479.
- [121] H. R. Sliwka, S. Liaaen-jensen, *Acta Chemica Scandinavica* **1994**, *48*, 679.

- [122] J. A. G. Christian Rocaboy, *Chemistry - A European Journal* **2003**, 9, 88.
- [123] D. Murtinho, M. Pineiro, M. M. Pereira, A. M. D. Gonsalves, L. G. Arnaut, M. D. Miguel, H. D. Burrows, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2* **2000**, 2441.
- [124] H. Togo, S. Abe, G. Nogami, M. Yokoyama, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1999**, 72, 2351.
- [125] H. Togo, T. Nabana, K. Yamaguchi, *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 8391.
- [126] H. Kropf, *Chemie Ingenieur Technik - CIT* **1964**, 36, 759.
- [127] R. C. Mordi, J. C. Walton, G. W. Burton, L. Hughes, K. U. Ingold, D. A. Lindsay, D. J. Moffatt, *Tetrahedron* **1993**, 49, 911.
- [128] N. V. Yanishlieva, K. Aitzetmuller, V. G. Raneva, *Fett-Lipid* **1998**, 100, 444.
- [129] A. Mortensen, *Free Radical Research* **2002**, 36, 211.
- [130] S. Voutilainen, T. Nurmi, J. Mursu, T. H. Rissanen, *American Journal of Clinical Nutrition* **2006**, 83, 1265.
- [131] G. W. Burton, K. U. Ingold, *Science* **1984**, 224, 569.
- [132] A. El-Agamey, G. M. Lowe, D. J. McGarvey, A. Mortensen, D. M. Phillip, T. G. Truscott, A. J. Young, *Archives of Biochemistry and Biophysics* **2004**, 430, 37.
- [133] A. El-Agamey, D. J. McGarvey, *Free Radical Research* **2007**, 41, 295.
- [134] E. Choe, D. B. Min, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2006**, 46, 1.
- [135] O. T. Kasaikina, LE-Ben-Un, *Dokl. Acad. Nauk SSSR* **1979**, 249, 392.
- [136] H. D. Martin, C. Ruck, M. Schmidt, S. Sell, S. Beutner, B. Mayer, R. Walsh, *Pure and Applied Chemistry* **1999**, 71, 2253.
- [137] H. Tsuchihashi, N. Kigoshi, M. Iwatsuki, E. Niki, *Archives of Biochemistry and Biophysics* **1995**, 323, 137.
- [138] T. Hamasaki, K. Chin, N. Okukado, Yamaguch.M, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1973**, 46, 1553.
- [139] H. Wamhoff, *Nachrichten Aus Der Chemie* **2007**, 55, 739.
- [140] Lothar Jaenicke, *Chemie in unserer Zeit* **2007**, 41, 9.
- [141] B. e. al., *Nature* **2006**, 444, 337.
- [142] X. Vitrac, A. Bornet, R. Vanderlinde, J. Valls, T. Richard, J.-C. Delaunay, J.-M. Merillon, P.-L. Teissedre, *J. Agric. Food Chem.* **2005**, 53, 5664.

-
- [143] G. Bucholski, *Diplomarbeit, Universität Düsseldorf* **2000**.
- [144] T. Hoffmann, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **2003**.
- [145] D. Kersting, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **1996**.
- [146] C. R. Lambert, H. S. Black, T. G. Truscott, *Free Radical Biology and Medicine* **1996**, *21*, 395.
- [147] D. Baltschun, *Dissertation, Universität Düsseldorf* **1992**.
- [148] S. Hunig, H. Balli, H. Conrad, A. Schott, *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1964**, *676*, 36.
- [149] S. Hunig, A. Schott, H. Conrad, H. Balli, *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1964**, *676*, 52.
- [150] I. I. Koleva, H. A. G. Niederlander, T. A. van Beek, *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 3373.
- [151] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, *Free Radical Biology and Medicine* **1999**, *26*, 1231.
- [152] A. Hercouet, M. Le Corre, *Tetrahedron Letters* **1979**, *20*, 2145.
- [153] M. I. Dawson, P. D. Hobbs, K. Kuhlmann, V. A. Fung, C. T. Helmes, W.-R. Chao, *J. Med. Chem.* **1980**, *23*, 1013.