

Untersuchung und Entwicklung von Methoden zur Synthese glykosidischer Carotinoide

Inaugural-Dissertation

zur

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

vorgelegt von

Diplom-Chemiker Stefan Herweg

aus Opladen, jetzt Leverkusen

April 2008

Aus dem
Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

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

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

Koreferent: Prof. Dr. T. J. J. Müller

Tag der mündlichen Prüfung: 24.04.2008

Herrn Prof. Dr. H.-D. Martin danke ich für die Vergabe
des Themas, seine Hilfeleistungen und den mir überlassenen
Freiraum bei der Gestaltung dieser Arbeit.

Auch eine Enttäuschung,
wenn sie nur gründlich und endgültig ist,
bedeutet einen Schritt vorwärts.

Max Planck (1858 – 1947)

Abkürzungen

AMD	Altersbedingte Makuladegeneration (Augenerkrankung)
ATP	Adenosintriphosphat
Car	Carotinoid(e)
Chl	Chlorophyll
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DC	Dünnschichtchromatographie
Deform.	Deformationsschwingung (IR-Spektroskopie)
DIBAH	Diisobutylaluminiumhydrid
DIT	Dithranol (1,8,9-Trihydroxyanthracen)
DMAPP	Dimethylallylpyrophosphat
FAB	Fast Atom Bombardement
Gent	Gentiobiose
GGPP	Geranylgeranylpyrophosphat
Glc	Glucose
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
HMF	5-Hydroxymethylfurfural
IPP	Isopentenylpyrophosphat
IPC	Isopinocampheyl
ISC	Inter System Crossing
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
L	Lipid(e)
NBA	3-Nitrobenzylalkohol
R_f	<u>Retentionsfaktor</u> , [im angelsächsischen: <i>relative to (solvent) front</i>] ^[1]
RP	<i>reverse phase</i> (Kieselgelphase umgekehrter Polarität)
sh	(angelsächsisch: shoulder) <u>S</u> hulter
TBAPF6	Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat
THF	Tetrahydrofuran
TMSOTf	Trimethylsilyltrifluormethansulfonat
<i>p</i> -TosOH	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
UV	ultraviolett, (Spektroskopie: Wellenlängenbereich 100-380 nm)
Valenz	Valenzschwingung (Infrarotspektroskopie)
VIS	<i>visible</i> , sichtbar (Spektroskopie: Wellenlängenbereich 380-750 nm)

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Carotinoide - Strukturen und Vorkommen	1
1.1.1 Xanthophylle	3
1.1.2 Apocarotinoide	4
1.1.3 Glykosidische Carotinoide	5
1.2 Carotinoide - Funktion und Bedeutung	7
1.3 Kohlenhydrate	11
1.3.1 Vorkommen	11
1.3.2 Strukturen	11
1.3.3 Ausgewählte Funktionen	14
2. Problemstellung	17
3. Syntheseteil	19
3.1 Syntheseplanung	19
3.1.1 Glykosylierungsmethoden	25
3.1.2 Carotinoidsynthesen	29
3.2 Synthese der Kohlenhydratderivate	32
3.2.1 Synthese von Penta- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranose (54)	32
3.2.2 Synthese von Penta- <i>O</i> -acetyl- β -D-galactopyranose (56)	33
3.2.3 Synthese von 2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranose (57)	34
3.2.4 Synthese von (2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (58)	37
3.2.5 Synthese von α -D-Acetobromglucose (29)	39
3.2.6 Synthese von Octa- <i>O</i> -acetylmaltose (60)	40
3.2.7 Synthese von Hepta- <i>O</i> -acetylmaltose (61)	41
3.2.8 Synthese von Octa- <i>O</i> -benzoylmaltose (62)	42
3.2.9 Versuch der Synthese von Hepta- <i>O</i> -benzoylmaltose (63)	43
3.3 Synthese der Carotinoide	45
3.3.1 Der sterische Verlauf der Wittig-Reaktion	46
3.3.2 <i>all</i> -(<i>E</i>)-Isomerisierung der Xanthophylle	50
3.3.3 Synthese von Astaxanthin (9)	51
3.3.4 Synthese von Cryptoxanthin (68)	53
3.3.5 Synthese von 3-Hydroxyechinenon (69)	54
3.3.6 Synthese von Zeaxanthin (18)	55

3.3.7 Synthese von Astacin (75)	58
3.3.8 Synthese von Astaxanthindiacetat (76)	60
3.3.9 Synthese von Cryptoxanthintrichloracetimidat (77)	61
3.3.10 Synthese von 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (79)	62
3.3.11 Synthese von Endgruppen für die Carotinoidsynthese	63
3.3.11.1 Synthese von 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (82)	63
3.3.11.2 Synthese von	65
(4-Hydroxyphenyl)methyltriphenylphosphonium-bromid (85)	65
3.4 Glykosylierungsversuche	67
3.4.1 Glykosylierungsversuche mittels Säure-Katalyse	67
3.4.1.1 Glykosylierungsversuche mit β -D-Penta- <i>O</i> -acetylglucopyranose (54)	69
3.4.1.2 Glykosylierungsversuche mit Penta- <i>O</i> -acetyl- β -D-galactopyranose (56)	72
3.4.1.3 Glykosylierungsversuche mit 2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetylglucopyranose (57)	72
3.4.2 Die Trichloracetimidat-Methode	73
3.4.2.1 Glykosylierungsversuche mit	73
(2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetylglucopyranosyl)trichloracetimidat (58)	73
3.4.3 Die Koenigs-Knorr-Methode	76
3.4.3.1 Versuch der Glykosylierung von Phosphoniumsalz 45	76
3.4.3.2 Versuch der Glykosylierung von Phosphoniumsalz 46	78
3.4.3.3 Versuch der Glykosylierung von 4-Hydroxybenzaldehyd (80)	79
3.4.3.4 Versuch der Glykosylierung von 3-Hydroxybenzaldehyd (99)	80
3.4.3.5A Versuch der Glykosylierung von Cyclohexanol (101)	81
3.4.3.5B Versuch der Glykosylierung von Cyclohexanol (101)	81
3.4.3.6 Glykosylierung von Cryptoxanthin (68)	82
3.4.3.7 Glykosylierung von Astaxanthin (9)	85
3.4.3.8 Glykosylierung von 3-Hydroxyechinenon (69)	87
3.4.3.9 Glykosylierung von 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (79)	89
3.4.4 Entfernen der Acetylschutzgruppe	91
3.4.5 Probleme und Ergebnisse der Glykosylierungsversuche	94
3.5 Untersuchungen an ausgewählten Carotinoiden	98
3.5.1 UV/VIS-Spektroskopie der glykosidischen Carotinoide 110 und 111	98
3.5.1.1 Aggregationseigenschaften des Carotinoids 110	98
3.5.1.2 Aggregationseigenschaften des glykosidischen Xanthophylls 111	102
3.5.2 Cyclovoltammometrie	104

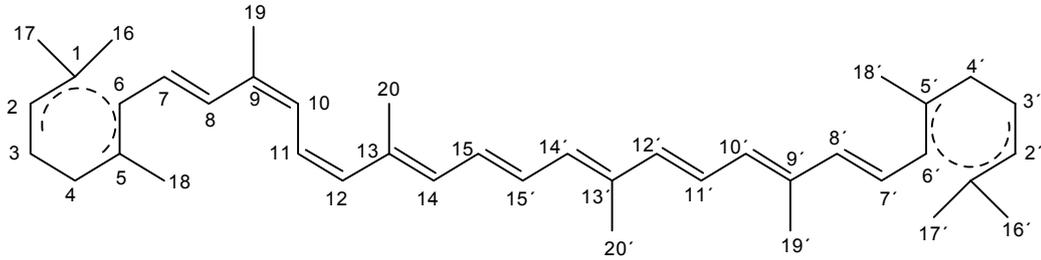
3.6 Zusammenfassung	109
4. Experimentalteil	116
4.1 Allgemeines	116
4.2 Chemikalien	118
4.3 Chromatographische Methoden	120
4.3.1 Filtersäulen	120
4.3.2 Dünnschichtchromatographie	120
4.3.3 Säulenchromatographie	122
4.3.3.1 Säulenchromatographie unter Normaldruck	122
4.3.3.2 Automatisierte Niederdruckchromatographie (<i>Flash-Chromatographie</i>)	123
4.3.3.3 Hochdrucksäulenchromatographie (HPLC)	123
4.4 Versuchsdurchführungen	125
4.4.1 Penta- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranose (54)	125
4.4.2 Penta- <i>O</i> -acetyl- β -D-galactopyranose (56)	127
4.4.3 2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl-D-glucopyranose (57)	129
4.4.4 (2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl-D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (58)	131
4.4.5 α -D-Acetobromglucopyranose (29)	132
4.4.6 Octa- <i>O</i> -acetylmaltose (60)	133
4.4.7 Hepta- <i>O</i> -acetylmaltose (61)	135
4.4.8 Octa- <i>O</i> -benzoylmaltose (62)	137
4.4.9 Astaxanthin (9)	138
4.4.10 Cryptoxanthin (68)	140
4.4.11 3-Hydroxyechinenon (69)	142
4.4.12 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β , Φ -carotin (79)	145
4.4.13 Zeaxanthin (18)	149
4.4.14 Astacin (75)	150
4.4.15 Astaxanthindiacetat (76)	151
4.4.16 Cryptoxanthintrichloracetimidat (77)	152
4.4.17 (2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)cryptoxanthin (95)	155
4.4.18 Bis(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)astaxanthin (106)	157
4.4.19 3'(2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)hydroxyechinenon (89)	164
4.4.20 2'(2,3,4,6-Tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (108)	
166	
4.4.21 2'Glucopyranosyl-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (111)	168

4.4.22 Bisglucopyranosylastaxanthin (110)	170
4.4.23 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (82)	173
4.4.24 (4-Hydroxyphenyl)methylphosphonium-bromid (85)	174
Literaturverzeichnis	
Anhang	

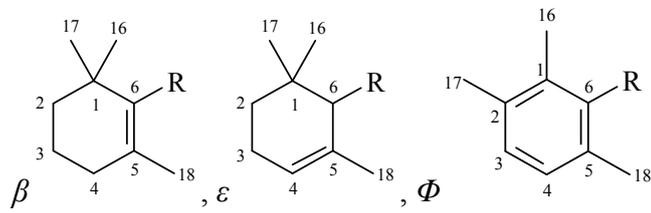
Anmerkung

Die Nummerierung der Kohlenstoffatome der Carotinoide und entsprechender Synthesebausteine erfolgt in Analogie zur IUPAC Carotinoid-Nomenklatur.^[2]

Carotinoide:



Endgruppen:



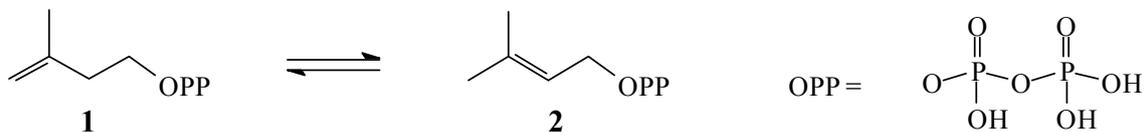
1. Einleitung

1.1 Carotinoide - Strukturen und Vorkommen

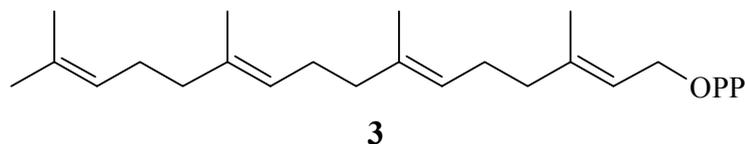
Auf der Erde produzieren Pflanzen, Pilze und Bakterien schätzungsweise drei Tonnen Carotinoide pro Sekunde. In Pflanzen und Mikroorganismen können Carotinoide *de novo* synthetisiert werden, es sind derzeit mehr als 700 Carotinoide bekannt.^[3]

Die Physiologie des Menschen und Tieres ist nicht dazu befähigt, Carotinoide zu erzeugen, allenfalls die Umwandlung mit der Nahrung zugeführter Carotinoide gelingt.^[4]

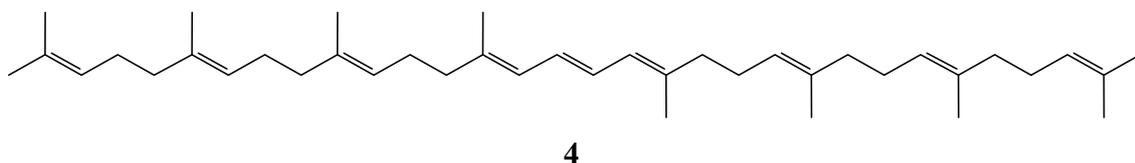
In höheren Pflanzen erfolgt die Bildung der Carotinoide meist ausgehend von Acetyl-Coenzym A über die Schlüsselsubstanzen 3-Methyl-3-butenylpyrophosphat (**1**, Isopentenylpyrophosphat, IPP), und 3-Methyl-2-butenylpyrophosphat (**2**, Dimethylallylpyrophosphat, DMAPP) welche im Gleichgewicht stehen. IPP **1** und DMAPP **2** stellen die aktive Form des Isoprens in der Biogenese der Terpene dar.



Durch sequentielle Kondensation von Dimethylallylpyrophosphat (**2**) mit drei Einheiten Isopentenylpyrophosphat (**1**), katalysiert durch Geranylgeranylpyrophosphatsynthase, entsteht 2,6,10,14-Tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraenylpyrophosphat (**3**, Geranylgeranylpyrophosphat, GGPP).

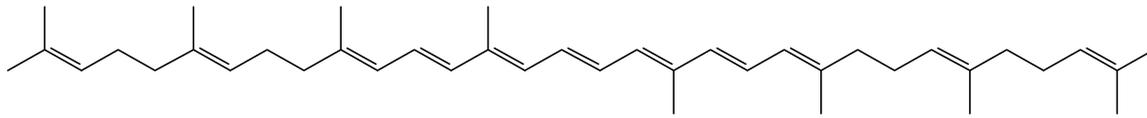


Phytoensynthase dimerisiert Geranylgeranylpyrophosphat **3** zu Phytoen (**4**).

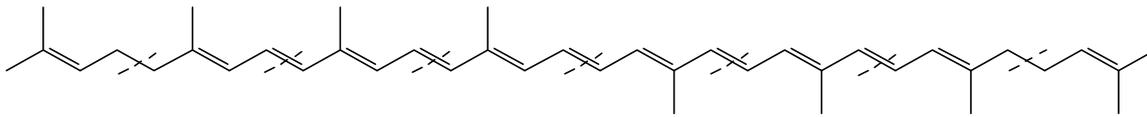


Beim Phytoen (**4**) handelt es sich bereits um ein Carotinoid mit einem C₄₀-Grundgerüst, aus diesem wird mit Hilfe von Phytoendesaturase ζ-Carotin (**5**) gebildet.^[5, 6]

ζ-Carotindesaturase überführt ζ-Carotin (**5**) in Lycopin (**6**), in Bakterien und Pilzen erfolgt eine sequenzielle Dehydrierung von Phytoen (**4**) zu Lycopin (**6**) über ein einziges Enzym.^[4]



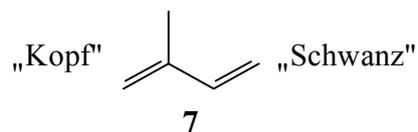
5



6

(als Sequenz von Isopreneinheiten)

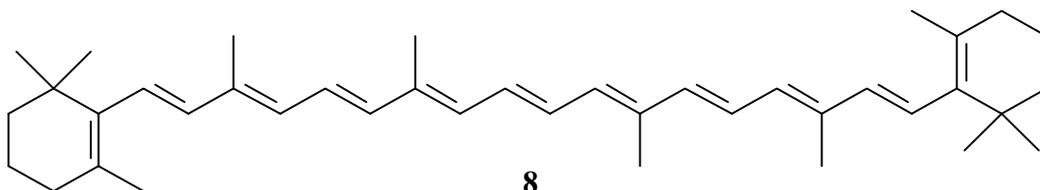
Lycopin (**6**) stellt biosynthetisch das Grundgerüst der Carotinoide dar, ein Tetraterpen, das aus acht Isopreneinheiten aufgebaut ist. In Carotinoiden sind vier Isopreneinheiten zu einem Diterpen „Kopf-Schwanz“ verknüpft. Zwei dieser Diterpene sind „Schwanz-Schwanz“ verknüpft, woraus ein symmetrisches Grundgerüst resultiert. In der Polyenkette stehen die zentralen Methylgruppen dadurch in 1,6-Position und die Methylgruppen entlang der Polyenkette in 1,5-Position zueinander.^[2, 7]



7

Abb. 1: „Isopren“ (7, 2-Methylbuta-1,3-dien).

Ausgehend von Lycopin können biosynthetisch unter Wirkung von Cyclasen Carotinoide mit cyclischen Endgruppen entstehen. Der bekannteste Vertreter und seit seiner Entdeckung, in der Karotte (*Daucus carota*), durch Wackenroder 1831 auch Namensgeber der Substanzklasse, ist das β-Carotin (**8**).^[8]



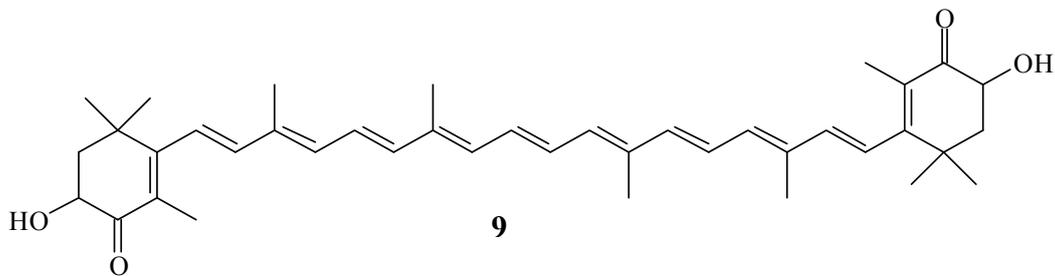
8

Das große kommerzielle Interesse an Carotinoiden führte zur Totalsynthese von β,β -Carotin (**8**) durch Karrer, Eugster, Inhoffen und Milas im Jahre 1950.^[9] Die großtechnische Herstellung von β,β -Carotin (**8**) gelang bereits vier Jahre später.^[4] Für das Jahr 1995 waren Kapazitäten von über 500 Tonnen β,β -Carotin (**8**) als Pigment für Lebens- und Futtermittel geplant.^[10]

1.1.1 Xanthophylle

Unter Wirkung von Hydroxylasen können die Carotinoide in eine sauerstoffhaltige Spezies überführt werden, auf diese Weise erhält man die Xanthophylle (Trivialnamenendung „Xanthin“). Die Derivatisierung an den Enden der Pflanzenpigmente führt zu symmetrischen und unsymmetrischen Spezies, sie können Hydroxy- und, oder Ketofunktionen besitzen.

Bei vielen Xanthophyllen sind optische Isomere denkbar, in Organismen wird aber meist ausschließlich eines gebildet. In der Biosynthese der Xanthophylle wird am häufigsten durch die β -Carotin-Hydroxylase die C3-Position der cyclischen Endgruppen mit Sauerstoff funktionalisiert.^[5, 6] Die C4-Position mit Sauerstoff zu funktionalisieren gelingt hauptsächlich den Algen, eine Ausnahme bildet hier das Adonisröschen, aus dessen Blüten Astaxanthin (**9**) isoliert werden kann.^[11]



Im Tierreich ist Astaxanthin (**9**) ein häufig anzutreffendes Ketoxanthophyll, besonders in einigen Krustentieren und Fischen. Es kann dort gebunden in Proteinkomplexen vorkommen, wie es im Hummer der Fall ist. In Form eines Esters findet man es in der Haut einiger Fische sowie in freier Form, in der es das Muskelgewebe von Wildlachsen und Forellen pigmentiert.^[12]

Des Weiteren sind in Xanthophyllen Epoxy-, Carboxy- und Methoxygruppen zu finden. Verantwortlich für die Farbgebung der Carotinoide ist ihr Polyensystem, natürliche Carotinoide zeigen eine Farbe von gelb über orange bis tiefrot.

Der Mensch ist schon immer von den Farben in der Natur begeistert gewesen und hat stets versucht sie für sich zu nutzen.

Safran, das wohl kostbarste aller Gewürze wird bereits seit 3500 Jahren kultiviert. 150000 Narben aus einer blauviolett blühenden Krokusart (*Crocus sativus Linnaeus*) ergeben in etwa 1 kg Gewürz und entsprechen 2000 m² Anbaufläche. Im Kaschmirtal sammeln Mönche noch heute Safran, um damit ihre Kleidung einzufärben. Plinius der Ältere berichtet vom Safran als Farbmittel. Safran wurde nicht nur zum Färben und Würzen von Speisen verwendet, sondern auch um Zinn oder Silber wie Gold erscheinen zu lassen.

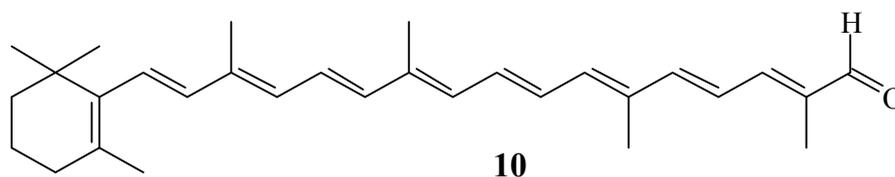
Die Möglichkeit Lebensmittel durch Farben fast jeder Nuance attraktiver zu machen und gesünder erscheinen lassen, führt dazu, dass der Mensch für diese Zwecke diese Pflanzenpigmente mittlerweile auch in industriellem Maßstab herstellt.

Carotinoide bieten sich neben anderen Naturfarben besonders als Lebensmittelfarben an. Sie kommen als Pflanzenpigmente bereits in natürlichen Nahrungsquellen vor. Eine Reihe von ihnen ist durch ihre Provitamin A-Aktivität essentiell für den Menschen und findet daher in Nahrungsergänzungsmitteln Verwendung.

1.1.2 Apocarotinoide

Xanthophylle sind sauerstoffhaltige Carotinoide, deren C₄₀-Kohlenstoffgerüst nicht zerstört ist. Wird die Einführung von Sauerstoff in das carotinoidische Kohlenstoffgrundgerüst über den Abbau einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung vorgenommen, so erhält man Apocarotinoide.^[2]

Großtechnisch hergestellt wird beispielsweise Citranaxanthin (**10**), es findet seine Verwendung als Tierfuttermittelzusatz.^[13, 14]



Vitamin A (Retinol) ist der Vorläufer des bekanntesten Vertreters der Apocarotinoide, des Retinals (**11**). Dieses ist im Sehpurpur an Opsin gebunden und für die Umwandlung von sichtbarem Licht in elektrochemische Impulse verantwortlich (siehe Abb. 2).^[15, 16]

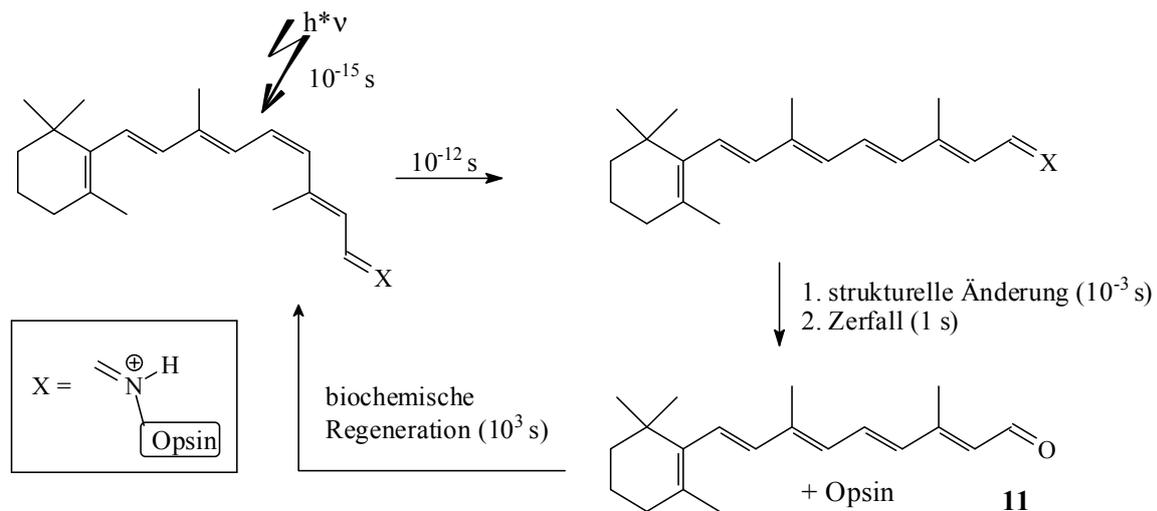
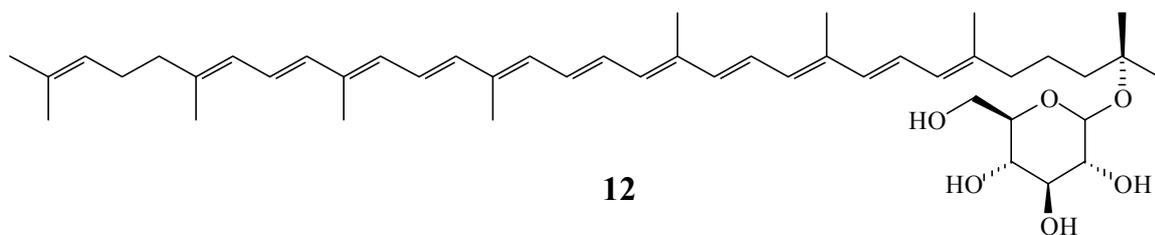


Abb. 2: E/Z-Isomerisierung des Retinals (11), Schematische Verknüpfung im Rhodopsin.

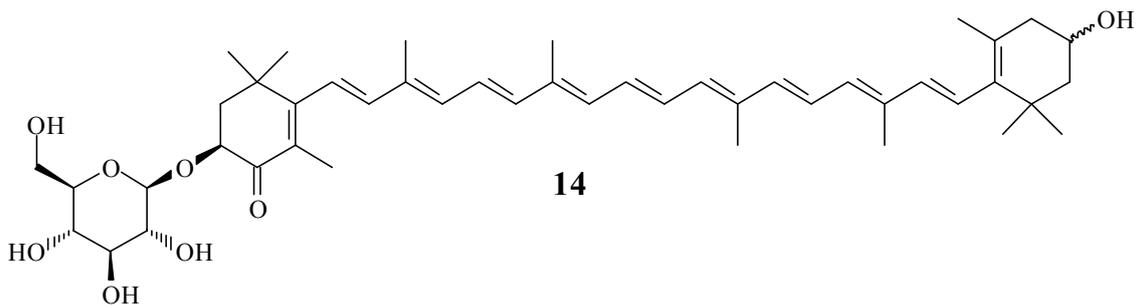
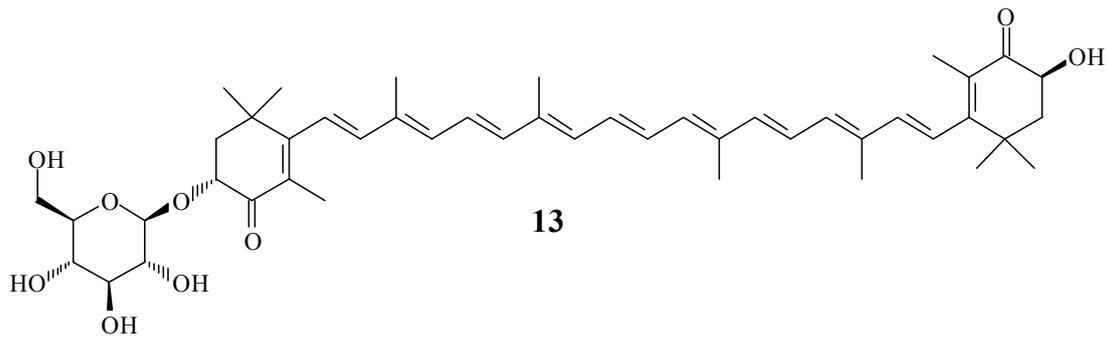
In Pflanzen kommen die Carotinoide hauptsächlich in freier Form sowie als Fettsäureester und gebunden in Proteinkomplexen vor.^[4]

1.1.3 Glykosidische Carotinoide

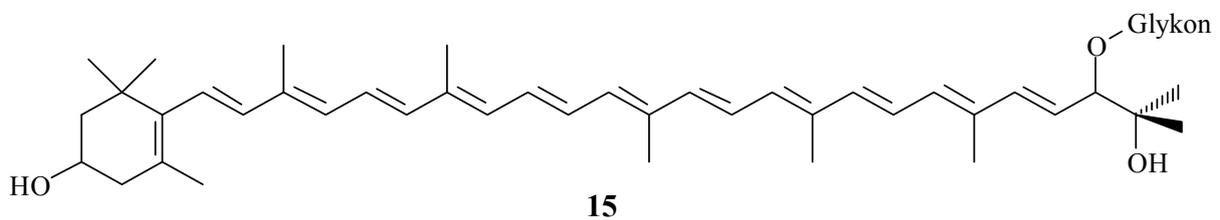
Gemessen an der Gesamtzahl der bisher bekannten Carotinoide finden sich nur wenige glykosidische Vertreter, es gibt beispielsweise Rhodopinglykosid (12) aus einigen Purpurbakterien.^[17]



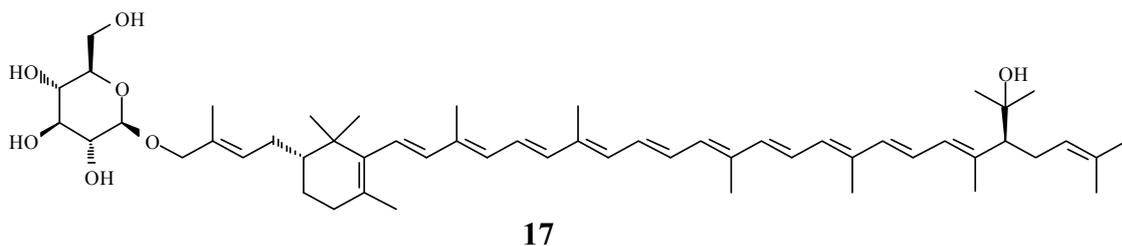
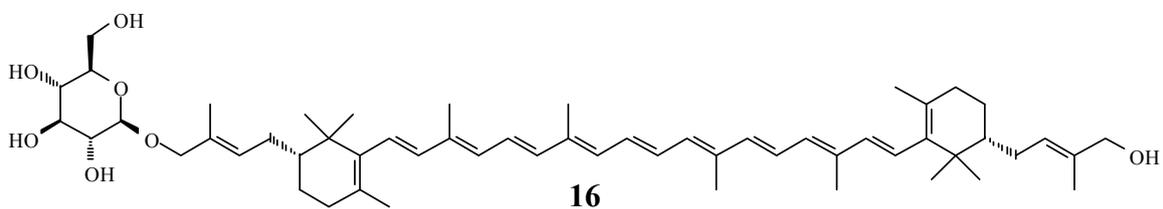
Aus einigen Bakterien und Pilzen sind 3,3'-Carotinoid-Glucopyranoside bekannt. Das marine *Agrobacterium aurantiacum* ist beispielsweise in der Lage Astaxanthin (9) und ihm verwandte Xanthophylle zu produzieren. Aus diesem konnten das (3S,3'S)-Astaxanthin- β -D-glucopyranosid (13) neben dem (3S,3'R)-Adonixanthin- β -D-glucopyranosid (14) isoliert werden.^[18]



In Pflanzen ist Myxoxanthophyll, glykosidisch gebunden an Rhamnose oder Glucose (Glu), an der Photosynthese beteiligt.^[19] Myxoxanthophyllfucopyranoside (**15**) sind aus Purpurbakterien isoliert worden.^[20]



Als ungewöhnlich kann man aus dem *Curtobacterium flaccumfaciens* isolierte Glykoside (**16**, **17**) bezeichnen, sie leiten sich vom Bisanhydrobacterioruberin ab.^[21]

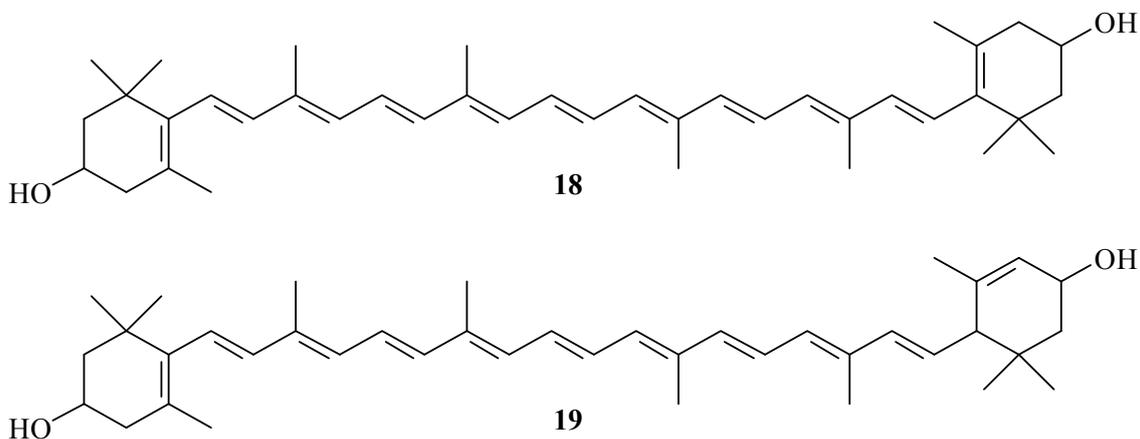


1.2 Carotinoide - Funktion und Bedeutung

Von rund 50 Carotinoiden ist ihre Provitamin A-Aktivität bekannt, sie sind unter anderem für den menschlichen Organismus essentiell.^{1) [22]} Die grundlegende Funktionsweise des Retinals im Sehprozess ist heutzutage gut verstanden. Die Bedeutung der Carotinoide ist jedoch nicht auf diese Fähigkeit beschränkt.

Ein Mangel an Carotinoiden kann sogar zu gesundheitlichen Problemen führen. Eine immer häufiger auftretende Erkrankung die das Auge betrifft ist die Altersbedingte Makuladegeneration (AMD). Die Altersbedingte Makuladegeneration ist mit dem Verlust der zentralen Sehschärfe verbunden. Die AMD tritt in einer feuchten und einer trockenen Form auf, beide Formen sind bisher nicht heilbar.

Die *Macula lutea* liegt in der Sehgrube (*Fovea centralis*) des Auges, Zeaxanthin (**18**) und Lutein (**19**) pigmentieren sie. Diätetische Aufnahme dieser Xanthophylle sollen die AMD zumindest verlangsamen können.^[23-26] Die Absorptionsmaxima der beiden Verbindungen liegen, abhängig vom Lösungsmittel, um 450 nm, dadurch sind sie in der Lage energiereiches blaues Licht zu filtern und die Blutgefäße und Nervenzellen hinter der *Macula lutea* zu schützen.^[24, 27]



Nicht nur in Bezug auf die AMD liegt ein großer Augenmerk auf den Eigenschaften der Carotinoide (Car), denn ihnen wird eine physiologische Langzeitwirkung in Bezug auf die Verhinderung oder zumindest die Verzögerung auch anderer degenerativer Krankheiten zugesprochen.^[28]

¹⁾ Nicht alle 50 Carotinoide müssen mit der Nahrung aufgenommen werden.

Durch kurzwelliges, energiereiches UV-Licht entstehen Radikale oder Spezies in sehr energiereichen, angeregten Zuständen, Carotinoide sind befähigt diese meist schädlichen Verbindungen zu deaktivieren. Durch energiereiche UV-Strahlung entstehen in der obersten Hautschicht freie Radikale, meist erfolgt dies an labilen ungesättigten Lipiden (L) und führt zu reaktiven Lipidperoxyradikalen $L-O-O^{\bullet}$, welche schädigend in einer Radikalkettenreaktion weiterreagieren können.

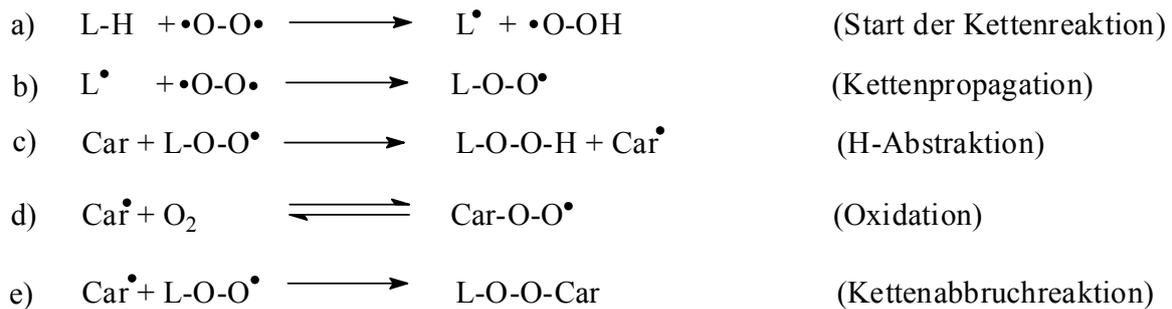


Abb. 3: Deaktivierung von Lipidperoxyradikalen durch Carotinoide.

Das Polyensystem der Carotinoide ist unter physiologischen Bedingungen befähigt das Gleichgewicht der Oxidation (siehe Abb. 3 d) auf die linke Seite zu verschieben, da ein resonanzstabilisiertes Carotinoidradikal entsteht. Das Carotinoidradikal reagiert in der Kettenpropagation merklich langsamer, woraus schließlich eine Abbruchreaktion resultiert.^[29] Des Weiteren spielen die Carotinoide eine zentrale Rolle in der Photosynthese, dort erfüllen die Xanthophylle gleich mehrere Aufgaben. Als Antennenmoleküle sorgen sie für eine größere Effektivität bei der Übertragung von elektromagnetischer Strahlung auf das Chlorophyll (Chl), da dieses allein nur einen geringeren Teil sichtbaren Lichtes absorbieren kann. Chlorophyll a, das in allen grünen Pflanzen vorhanden ist zeigt schmale Absorptionsmaxima bei $\lambda = 430$ und 662 nm. Die Xanthophylle absorbieren Licht im Bereich um 450 nm bis 480 nm und besitzen zudem eine breite Bande, sie ermöglichen dem Blattgrün dadurch die effektivere Nutzung eines breiteren Bereiches des elektromagnetischen Spektrums (siehe Abb. 4).^[19]

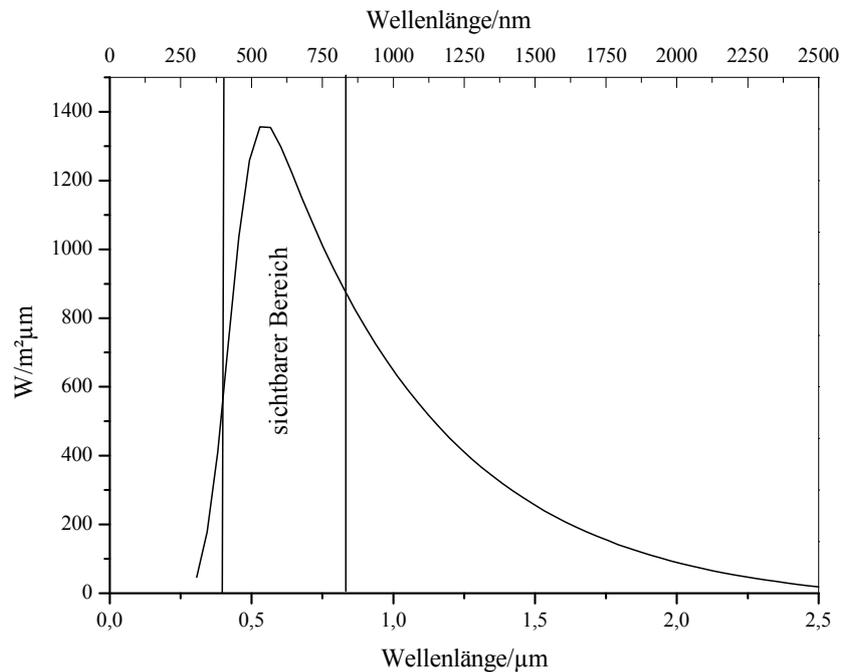


Abb. 4: Idealisiertes Spektrum der terrestrischen Strahlung der Sonne ohne Absorption von Ozon, Sauerstoff oder Wasser in der Atmosphäre.

Im Zuge der Photosynthese wird Chlorophyll in einer schädlichen Nebenreaktion durch Lichtabsorption in den Singulett-Zustand überführt. Ein kleiner Teil des angeregten Chlorophylls geht durch inter-system-crossing (ISC) in den Triplettzustand über. In diesem Zustand kann durch die Reaktion mit Sauerstoff, im Grundzustand, Singulett-Sauerstoff entstehen (siehe Abb. 5). Dies ist eine sehr reaktive Form des Sauerstoffs, die Chlorophyll und andere Pflanzenteile zerstören kann. Durch Oxidation ist Singulett-Sauerstoff auch in der Lage Nukleinsäuren, verschiedene Aminosäuren in Proteinen und ungesättigte Fettsäuren zu zerstören.^[30]

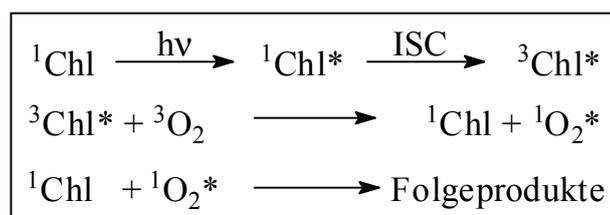


Abb. 5: Anregung von Sauerstoff durch Chlorophyll und Folgereaktionen.

Carotinoide sind durch ihren Chromophor in der Lage Singulett-Sauerstoff zu quenchen oder triplettangeregtes Chlorophyll in seinen elektronischen Grundzustand zu versetzen (siehe Abb. 6).^[31]

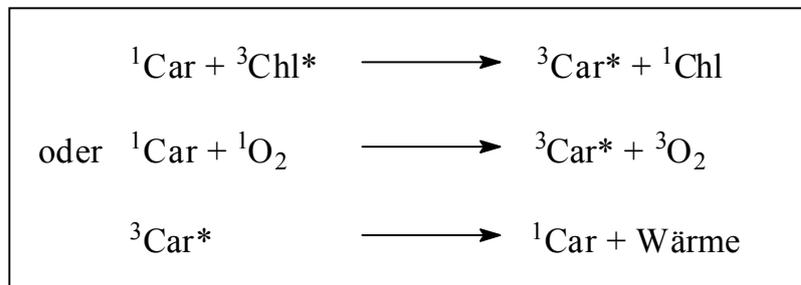


Abb. 6: Deaktivierung von Singulett-Sauerstoff durch Carotinoide.

Am effektivsten wirken Carotinoide mit mindestens neun konjugierten Doppelbindungen in ihrem Polyensystem, denn dann liegt die Triplettenergie der Carotinoide unter dem ${}^1\Delta_g$ Zustand des Sauerstoff (96 kJ/mol).^[32]

1.3 Kohlenhydrate

Kohlenhydrat ist als Sammelbegriff im historischen Sinne zu verstehen. Die vormalig, in der organischen Chemie, für eine Vielzahl von Verbindungen verwendete Definition „Hydrat der Kohle“ mit den Summenformeln $C_n(H_2O)_n$ *Monosaccharide* und $C_n(H_2O)_m$ *Oligo-* oder *Polysaccharide* trifft für viele Kohlenhydrate nicht zu.

1.3.1 Vorkommen

Quantitativ sind die Kohlenhydrate unter den Naturstoffen, die am Aufbau von Organismen beteiligt sind, am stärksten vertreten. Jährlich produzieren grüne Landpflanzen $2 \cdot 10^{11}$ Tonnen Kohlenhydrate (*de novo*), dies entspricht ca. 10 % des Kohlenhydratbestandes auf dem Land. Die meisten Kohlenhydrate (90 %) sind in Bäumen zu finden.

In den Meeren werden Kohlenhydrate von Algen gebildet, vermutlich in der gleichen Größenordnung wie an Land.^[33]

Die Kohlenhydrate erfüllen, biologisch bedeutend, drei Hauptaufgaben:

- In Einzellern und höheren Organismen bilden sie im wesentlichen Stütz- und Gerüstelemente, die der Mechanik der Lebewesen optimal angepasst sind.
- Sie sind Bestandteil der extrazellulären Matrix und tragen durch Modifikation von Glykokonjugaten zur Zell-Erkennung bei.
- Sie stellen für den höheren Organismus eine leicht mobilisierbare Kohlenstoffquelle dar, die zur Energiespeicherung genutzt werden kann.

1.3.2 Strukturen

Bisher konnten 250 natürlich vorkommende Monosaccharide identifiziert werden. Formal leiten sich die Kohlenhydrate von Glycerinaldehyd (Aldosen) und „1,3-Dihydroxyaceton“ (Ketosen) ab (siehe Abb. 7), mit wachsender Kohlenstoffkette verdoppelt sich die Zahl der Stereoisomere mit jedem zusätzlichen Kohlenstoffatom. Durch Strukturvariation, sprich der Substitution von Hydroxygruppen mit Wasserstoff, Alkylresten oder auch Aminogruppen, steigt die Diversität der Kohlenhydrate um ein weiteres.

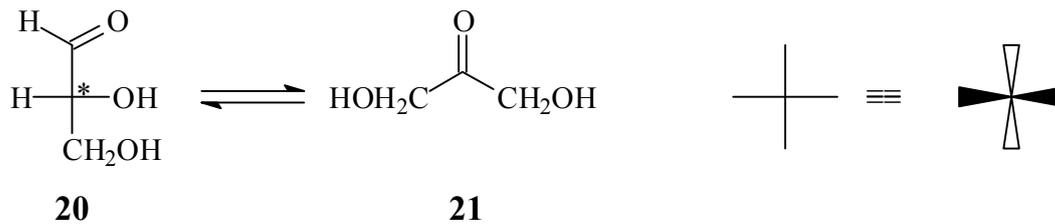


Abb. 7: *D*-Glyceraldehyd (**20**) in Fischerprojektion und „1,3-Dihydroxyacetone“ (**21**) in Lewis-Schreibweise.

Eine typische graphische Darstellungsform der Kohlenhydrate stellt neben der Keilstrichformel und der Haworth-Projektion die Fischer-Projektion dar. Mit der Fischer-Projektion sind Stereodeskriptoren (D-/L-) eingeführt worden, die Aussagen über die Konfiguration der Kohlenhydrate erlauben. Die Orientierung der Hydroxygruppe im untersten Stereozentrum der Kohlenstoffkette ist hierfür ausschlaggebend. Befindet sich die Hydroxygruppe auf der rechten Seite der Kette spricht man von D-Konfiguration, andernfalls von L-Konfiguration (siehe Abb. 7).

Die systematische Verlängerung der Kohlenstoffkette führt über die Tetrosen und Pentosen zu den Hexosen, sowohl bei den Aldosen, wie auch den Ketosen.

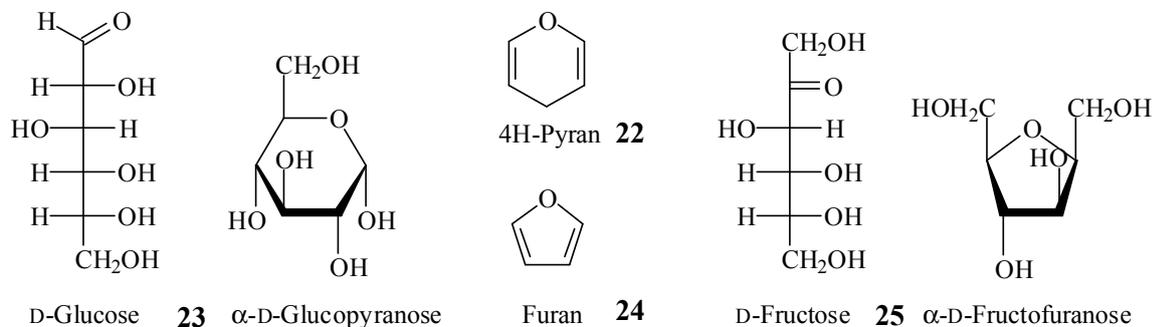


Abb. 8: *D*-Glucose (**23**) und *D*-Fructose (**25**) jeweils in Fischer- und Haworth-Projektion. Furan (**24**) und 4H-Pyran(**22**) in der Lewis-Schreibweise.

Die bekanntesten Vertreter der Hexosen sind die Glucose (**23**, *Aldohexose*) und die Fructose (**25**, *Ketohexose*). Die Benennung der cyclischen Kohlenhydrate orientiert sich je nach Ringgröße an den Formen der Furane **24** und Pyrane **22**. Die *D*-Fructose (**25**) tritt häufig in ihrer furanosen Form auf (siehe Abb. 8), zur Ausbildung des 5-Ringes ist die *D*-Glucose (**23**) ebenfalls in der Lage. Die cyclische Form der *D*-Glucose (**23**) heißt, wenn sie einen 6-Ring bildet *D*-Glucopyranose (**23**). Die *D*-Glucopyranose (**23**) entspricht einem cyclischen Halbacetal.

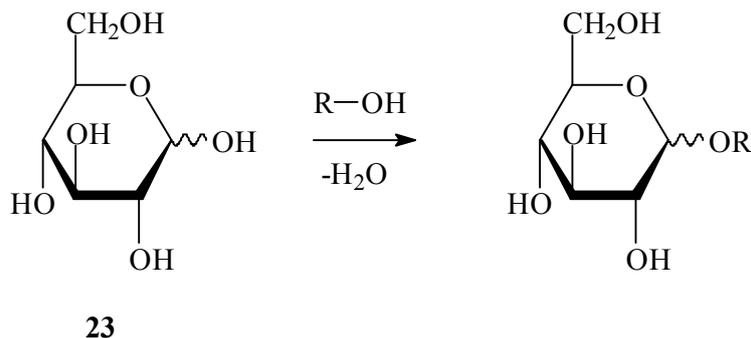


Abb. 9: Reaktion der D-Glucopyranose (23) mit einem Alkohol zu seinem Vollacetal (Glykosid).

Die glykosidische Bindung ist die wichtigste und häufigste Verknüpfungsart in der Kohlenhydrate vorkommen, sie entspricht der Ausbildung eines Vollacetals (siehe Abb. 9).^[34] Bei Glykosiden muss man strukturell zwei verschiedene Produkte (Diastereomere) unterscheiden, die im Fall der Kohlenhydrate als Anomere bezeichnet werden (siehe Abb. 10).

Entscheidend für die Zuordnung zu α bzw. β ist die Position des Substituenten am C1-Atom bezüglich der Carbinolgruppe an C5 des Kohlenhydrates.

Befinden sich die Alkoholgruppe an C5 und der Substituent an C1 auf der gleichen Seite des Ringes handelt es sich um das β -Anomer, andernfalls spricht man vom α -Anomer (siehe Abb. 10). Hauptsächlich findet die Verknüpfung über die Hydroxygruppen an C1, C4 und C6 der Kohlenhydrate statt.

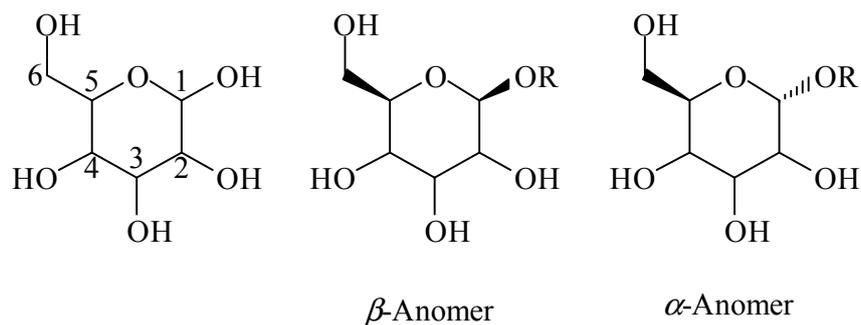


Abb. 10: Nummerierung von Aldohexopyranosen und Unterschied ihrer β - und α -Anomere.^[33]

Durch die Bildung von Glykosiden ist die Verknüpfung von Monosacchariden zu Disacchariden (2 Monomere), Oligosacchariden (3 bis einige Hundert Monomere) und Polysacchariden möglich. Die Verwendung von mehreren, auch unterschiedlicher Monosacchariden ist dabei auch denkbar.

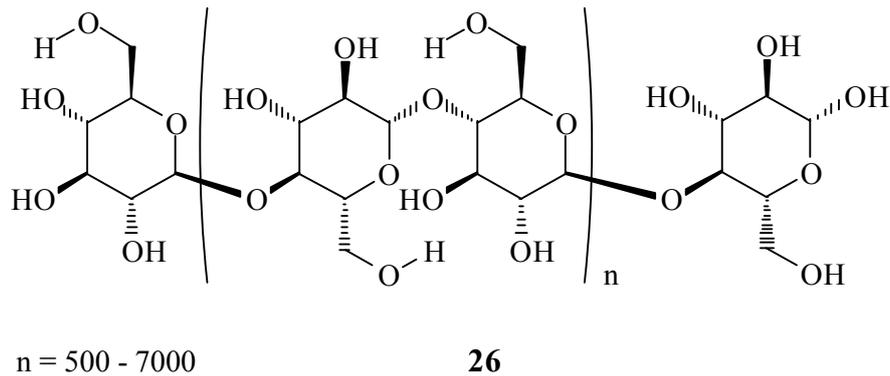


Abb. 11: Cellulose(26); 1,4- β -glykosidisch verknüpfte Glucopyranose.

Polysaccharide können, wie die Cellulose (**26**) aus mehreren tausend Glucoseeinheiten bestehen. Im Fall der Cellulose wird durch die 1,4- β -glykosidische Verknüpfung ein Strang erhalten (siehe Abb. 11). Durch statistische Verzweigung am Kohlenstoff C6 können diese Stränge eine für den Aufbau von Zellwänden geeignete flächige Struktur ausbilden. Aufgrund ihrer hohen Molekülmasse und Struktur ist Cellulose nicht mehr in Wasser löslich.

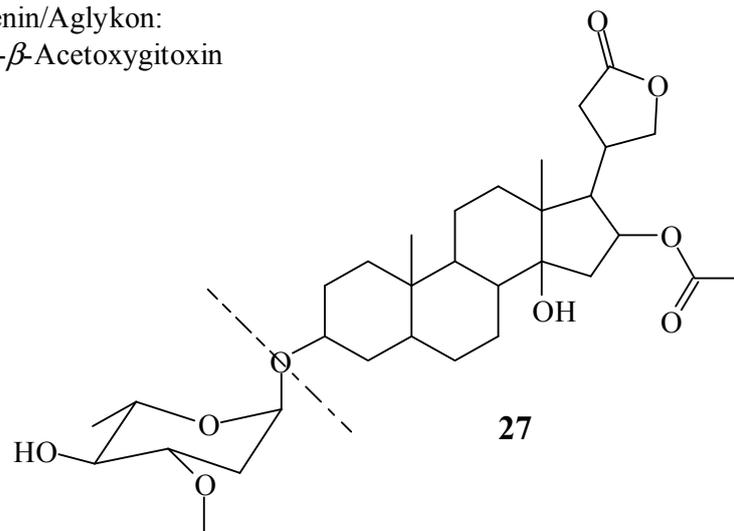
Das Kohlenhydrat kann auch an verschiedenste Alkohole, Thiole oder Selenole gebunden sein. Die Kohlenhydratkomponente wird dabei als Glykon bezeichnet und ist glykosidisch mit einem kohlenhydratfreiem Teil dem Aglykon, auch Genin genannt, verbunden. Es sind C-, O-, S- und Se-Glykoside bekannt. Die Aglykone sind häufig unpolar und werden durch die Verknüpfung mit einem Zucker wasserlöslich.

Entsprechende Verbindungen mit Aminen sollen Glykosylamine genannt werden, da sie ein abweichendes chemisches Verhalten aufweisen.

1.3.3 Ausgewählte Funktionen

Steroidglykoside stellen eine wichtige Arzneigruppe dar, sie repräsentieren herzwirksame Medikamente und werden daher auch als Herzglykoside bezeichnet. Sie haben Einfluss auf die Natrium-Kalium-ATPase und bewirken sehr effektiv eine Verminderung der Herzfrequenz.^[35]

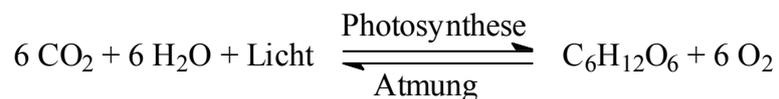
Genin/Aglykon:
16- β -Acetoxyligoxin



Glykon:
L-3-Methoxy-2-deoxyrhamnopyranose

Abb. 12: *Oleandrin (27)*, ein Herzglykosid.^[36]

Photosynthetisch entstehen aus Kohlendioxid und Wasser die beiden Produkte Sauerstoff und Kohlenhydrate, dies erfolgt enzymatisch. Die notwendige Reaktionsenergie wird, mit Hilfe von Chlorophyll a, aus Licht zur Verfügung gestellt.



Das Hauptprodukt der Photosynthese ist die D-Glucopyranose (**23**), sie wird als Polysaccharid in Form von Stärke (Pflanze), oder Glykogen (Mensch, Tier) gespeichert.^[28]

In einem Mol Glucose sind 2813.5 kJ gespeichert.^[37] Die Energiemenge die in der gesamten Flora durch Photosynthese - in einem Jahr - umgesetzt wird, entspricht mit $4 \cdot 10^{18}$ kJ der zehnfachen Menge des weltweiten Energieverbrauchs (*durch Menschen verursacht*).^[38] Die Bestandteile der Stärke, Amylose (**28**) und Amylopektin, werden im tierischen Stoffwechsel unter Freisetzung der gespeicherten Energie zu Wasser und Kohlendioxid umgesetzt.

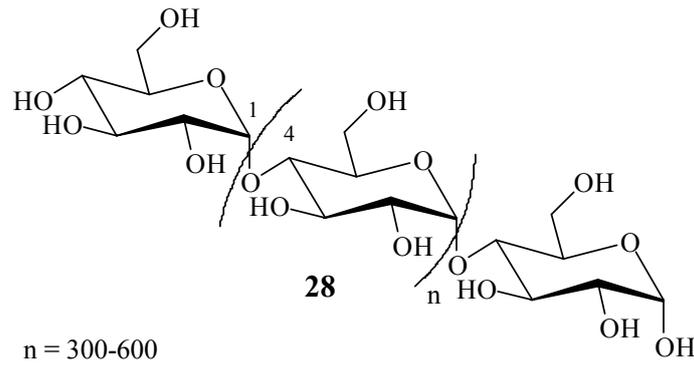


Abb. 13: Amylose(28); 1,4- α -glykosidisch verknüpfte Glucopyranose.^[39]

Kohlenhydrate stellen zusammen mit Fetten und Proteinen die Grundlage unserer Nahrung dar. Der von der deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlene Tagesbedarf an Kohlenhydraten beträgt 390 g. Durchschnittlich 100 g Kohlenhydrate müssen mit der Nahrung aufgenommen werden, damit es nicht zu Stoffwechselstörungen kommt. Nicht allein als Energiespeicher sind Kohlenhydrate von Bedeutung, Stoffwechseltoxine wie Phenole können als Glucuronide (siehe Abb. 14) entgiftet werden.^[40]

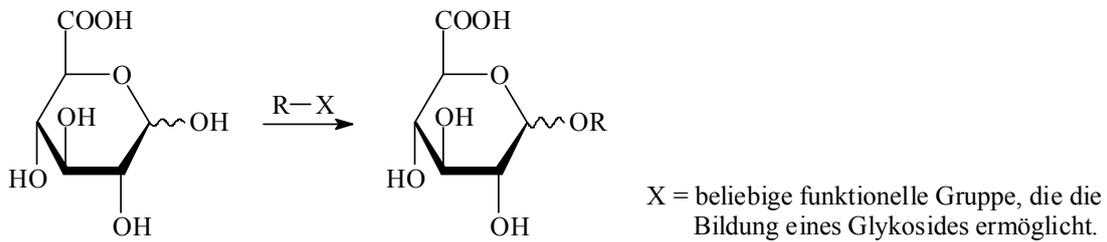


Abb. 14: Schematische Darstellung der Synthese eines Glucuronides.

2. Problemstellung

Der Lebensraum von Bakterien ist prinzipiell durch den Temperaturbereich in dem Wasser, nach Möglichkeit im flüssigen Zustand, zu finden ist bestimmt. Es finden sich Spezialisten für jeden Temperaturbereich, wobei die Grenzen fließend sein können.

In Gebieten mit geothermischer Energie finden sich Bakterien, die in einem optimalen Temperaturbereich von 50 °C bis 65 °C existieren. Thermophile Bakterien sind solche, die in Regionen leben, in denen Temperaturen von 45 °C bis 100 °C herrschen. Bei Temperaturen um 70 °C besitzen viele von ihnen ein Wachstumsmaximum, wenn nötig erzeugen sie, durch Thermogenese die lebensnotwendige Wärme selber.^[41]

In den Zellmembranen des Eubakteriums *Thermus thermophilus* finden sich glykosidische Carotinoide. Yokoyama und Mitarbeitern gelang es diese zu isolieren und zu identifizieren. Es sind sechs verschiedene glykosidische Carotinoide (siehe Abb. 15). Es handelt sich dabei um Zeaxanthinmono- und Zeaxanthindiglycopyranoside, an deren Kohlenstoffatom C6 Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge gebunden sind. Die Thermostabilität wird der Anwesenheit der Carotinoide zugesprochen, daher werden diese auch Thermozeaxanthin und Thermobiszeaxanthin genannt.^[42-44]

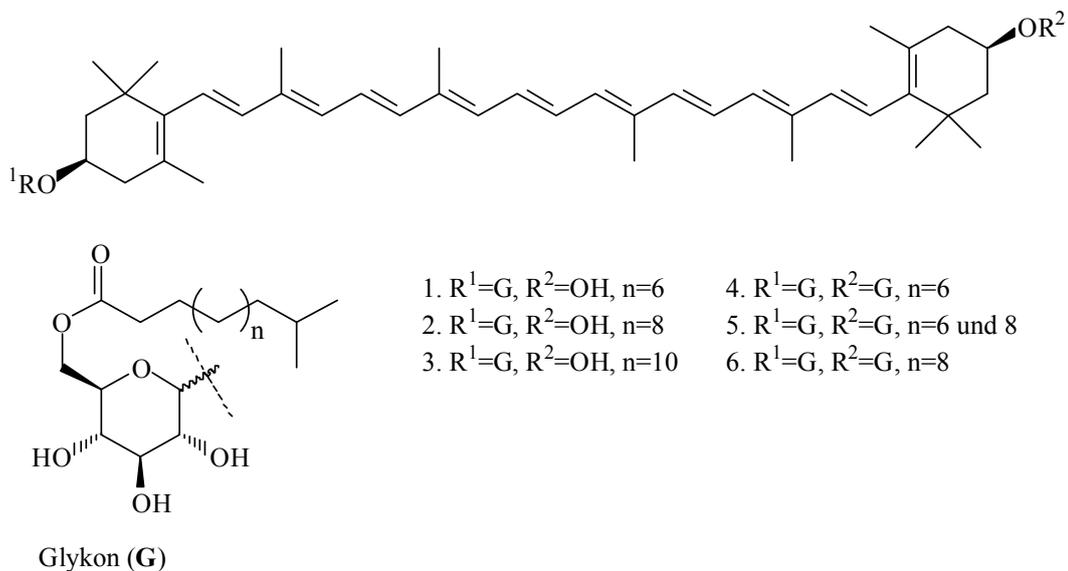


Abb. 15: Strukturen der aus *Thermus thermophilus* isolierten Carotinoide.

Diese Carotinoidglykoside stabilisieren vermutlich die Membran, indem sie mit dem polaren Glykon an der Oberfläche liegen und mit ihrem Fettsäureteil im Inneren der

Lipid-Doppelschicht verankert sind. Sie wirken quasi als Niete oder Spange, die die beiden Teile der Lipid-Doppelschicht zusammenhalten und ermöglichen so das Wachstum der Bakterien bei höheren Temperaturen.^[44]

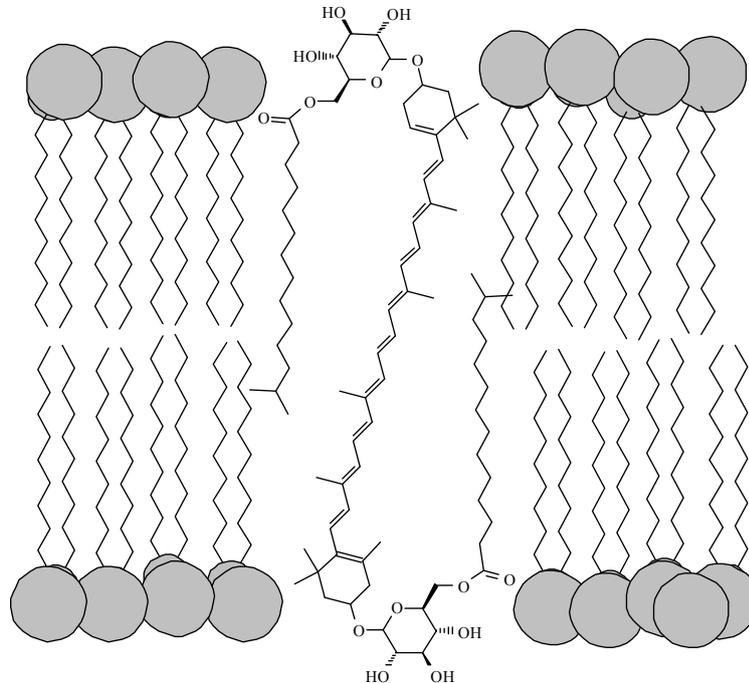


Abb. 16: Mögliche Anordnung eines Thermocarotinoides in einer Lipid-Doppelschicht.

Bekannte Methoden zur Glykosidierung (*Koenigs-Knorr*) konnten bisher nicht mit zufriedenstellendem Erfolg genutzt werden um glykosidische Carotinoide zu synthetisieren. Ziel dieser Arbeit ist es Methoden zu entwickeln, die es gestatten glykosidische Carotinoide darzustellen, damit an ihnen ihre Eigenschaften bezüglich Aggregation, eventuelle Stabilisierungen von Membranen und auch Wasserlöslichkeit untersucht werden können.

Als Zielmoleküle sind carotinoidische Glykoside angestrebt, die jedoch keinen Fettsäureester am Glykon tragen. Auch diese sollten bereits die notwendige Amphiphilie aufweisen, um sich wie die bekannten Thermozeaxanthine in Membrane einbringen zu lassen und diese dort zu stabilisieren.

3. Syntheseteil

Das Ziel einer Synthese ist neben der Darstellung eines bestimmten Moleküls auch meist die Entwicklung einer Methode, welche es erlaubt mit einer geringen Zahl von Bausteinen ein möglichst großes Maß an funktionellen Verbindungen zu erhalten. Wenn die Verknüpfung der einzelnen Bausteine nicht in einem einzigen Schritt zu erlangen ist, empfiehlt es sich Bausteine parallel darzustellen. Es ist wünschenswert, in konvergenter Synthese Bausteine unterschiedlicher Funktionalitäten zu Zielverbindungen mit bestimmten Eigenschaften zusammenzuführen.

3.1 Syntheseplanung

Es existieren bereits einige in der Literatur bekannte Arbeiten zur Darstellung glykosidischer Carotinoide, diese sollen hier kurz vorgestellt werden, um die geplante Vorgehensweise zu erläutern.

Nach Koenigs-Knorr erhalten Pfander und Hodler die Mono- und Diglucopyranoside von Zeaxanthin (**18**) jeweils in 10%iger Ausbeute. Dazu lösen sie das 3,3'-Dihydroxy- β,β -carotin **18** mit α -D-Acetobromglucose (**29**) in Diethylether und rühren nach Zugabe von festem Silbercarbonat bei $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$. Die Reaktionskontrolle erfolgt dünnschichtchromatographisch. Nach einer Reaktionszeit von 20 Tagen beenden sie die Glykosylierung.^[45]

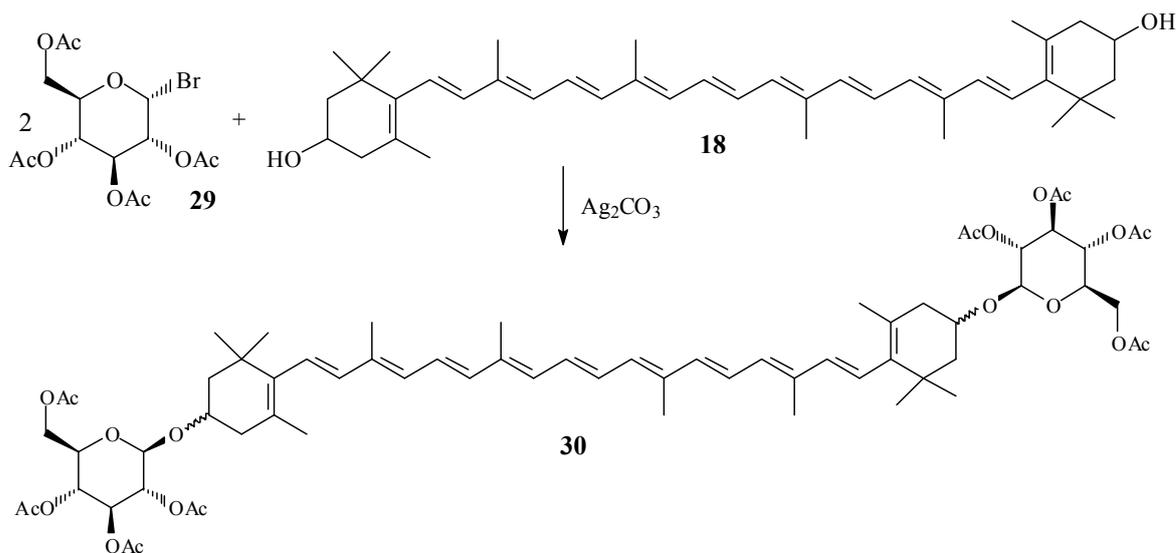


Abb. 17: Skizze des Synthesepinzips von peracetyliertem Zeaxanthinbisglucopyranosid (**30**) nach Pfander und Hodler.^[45]

Für das Gelingen der Reaktion ist nach Pfander die Qualität der Silbersalze (Oxid, bzw. Carbonat) von entscheidender Bedeutung.^[21] Der größte Nachteil dieser Methode ist neben der langen Reaktionszeit die geringe Ausbeute (10 %), wenn man bedenkt, dass Reaktionen an Carotinoiden im Allgemeinen in größeren Ausbeuten gelingen können.

Aus dem Gewürz Safran kann das Protocrocin (**31**) isoliert werden, es ist dem Zeaxanthinbisglucopyranosid (siehe Abb. 17) strukturell verwandt, es trägt zusätzliche, glykosidisch gebundene Kohlenhydrateinheiten an C8 und 8' des Carotinoidgerüsts.

Protocrocin (**31**) gilt als Vorläufer für Picrocrocin (**32**), einem Bitterstoff des Safrans und Crocin (**33**), bzw. Crocetin. Crocetin ist eine C₂₀-Dicarbonsäure, die den Apocarotinoiden zugeordnet wird. Man spricht vom Crocin (**33**) wenn Crocetin glykosidisch an Glucose oder Gentiobiose (Gent) gebunden ist.

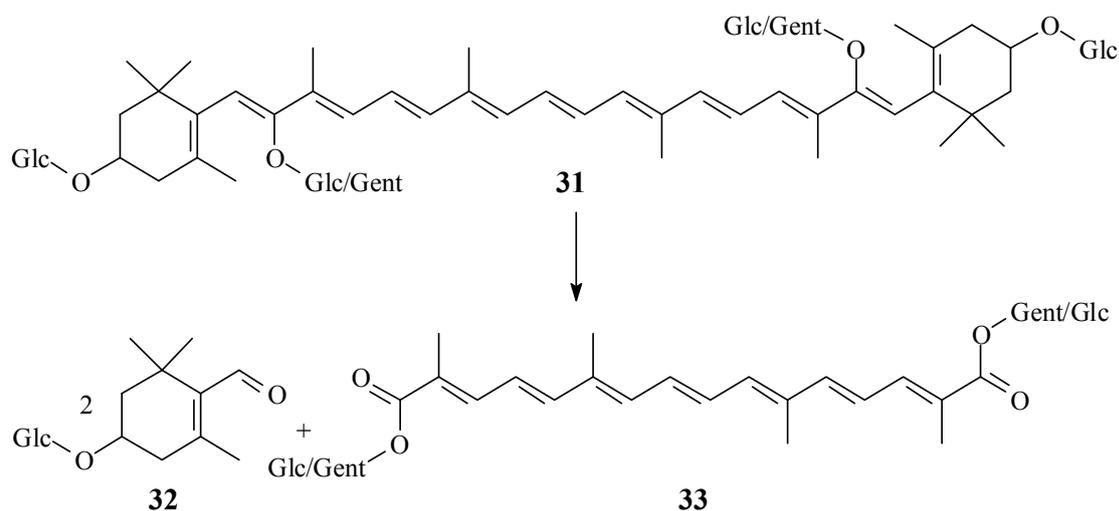


Abb. 18: Protocrocin(**31**) als Precursor für Picrocrocin(**32**) und Crocin(**33**).

Pfander und Wittwer gelingt die Darstellung des Crocetin-di(β -D-glucopyranosyl)esters (**33**) in einer Ausbeute von 70 %. Sie setzen dazu das Diimidazol- (**34**) sowie das Di(1*H*-1,2,4-triazol)derivat (**35**) des Crocetins mit ungeschützter β -D-Glucopyranose (**23**) in zweifachem Überschuss in Pyridin mit Natriumhydrid als Base um.^[46]

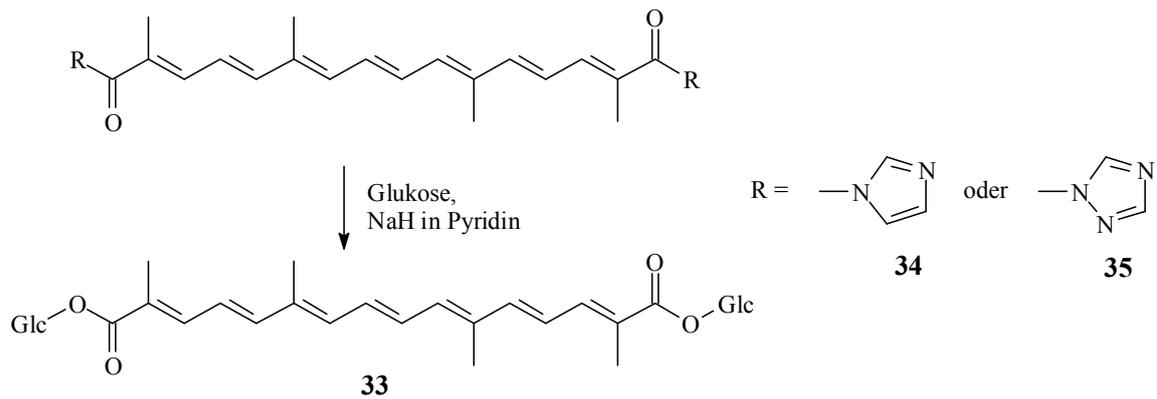


Abb. 19: Syntheschema zur Darstellung von Crocin (**33**) nach Pfander und Wittwer.

Mayer und Santer nutzen die Koenigs-Knorr-Methode für die Synthese von Picrocrocin (**32**). Hierzu lösen sie (3*R*)-3-Hydroxy- β -cyclogeranylacetat (**36**) und 1.2 Äquivalente α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) in Benzol. Die Zugabe von Silberoxid erfolgt in zweimolarem Verhältnis zu α -D-Acetobromglucose (**29**). Die Lösung wird 18 Stunden zum Rückfluss erhitzt, nach Abkühlung erfolgt Filtration an *Speedex* und entfärben mit Aktivkohle. Anschließend wird mit Natriumchloridlösung gewaschen, getrocknet und eingedampft. Durch Chromatographie an Kieselgel und Kristallisation aus Ethanol erhalten sie das Glykosid in einer Ausbeute von 23 %. Die Acetylschutzgruppen werden unter Zemplén-Bedingungen entfernt.^[47] Die glykosidische Bindung ist im sauren Milieu instabil und kann hydrolysiert werden, darüber hinaus ist im Basischen die Eliminierung von Glucose möglich, aus diesen Gründen wählen sie milde Reaktionsbedingungen für die Oxidation. Die abschließende Oxidation der Carotinoid-Endgruppe erfolgt daher mittels Pyridiniumchlorochromat. Die Ausbeute, ausgehend von der Glykosylierung bis zum Picrocrocin (**32**) beträgt zwei Prozent, wobei die Oxidation mit 10 % die geringste Ausbeute beträgt.^[48]

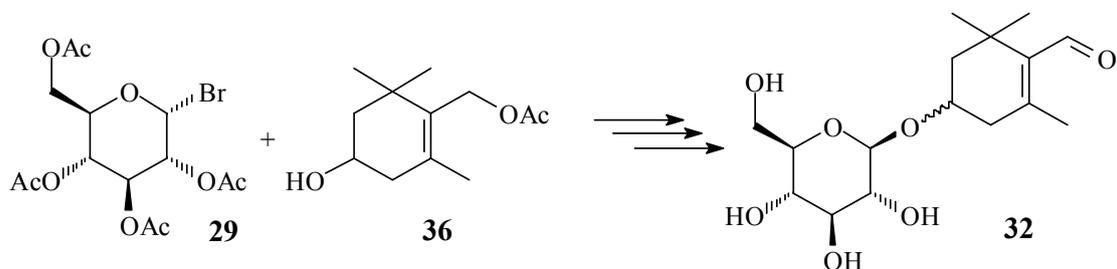


Abb. 20: Skizze des Synthesepinzips von Picrocrocin (**32**) nach Mayer und Santer.^[48]

Picrocrocin (**32**) kann als eine Vorstufe für die Synthese eines glykosylierten C₁₀-Phosphoniumsalzes verstanden werden, das als Synthesebaustein nach Verlängerung der Polyenkette bei der Darstellung von glykosylierten Carotinoiden Verwendung finden kann.

Dieses Prinzip - Glykosylierung der carotinoidischen Endgruppe und Aufbau des vollständigen Carotinoids, haben Yamano und Mitarbeiter in einer aufwendigen, mehrstufigen Totalsynthese umgesetzt. Ausgehend von (3*R*)-3-Hydroxy- β -ionon (**37**) durch die Verwendung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- α -D-glucopyranosylbromid (**38**) gelang Ihnen die Darstellung einer glykosidisch gebundenen Endgruppe **39** in einer Ausbeute von 36 %. Das 3-(2,3,4,6-Tetra-*O*-benzoyl- β -D-glucopyranosyl)- β -ionon **39** wird in einer Sequenz von mehreren Syntheseschritten durch die Verlängerung der Polyenkette zum Glucopyranosyl-12'-apo- β -carotin-12'-al (**40**) umgesetzt. Durch die Wittig-Reaktion des Glykosides **40** mit [(3-Hydroxy- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**41**) gelingt Ihnen die Synthese von Zeaxanthin- β -D-glucopyranosid **42**.

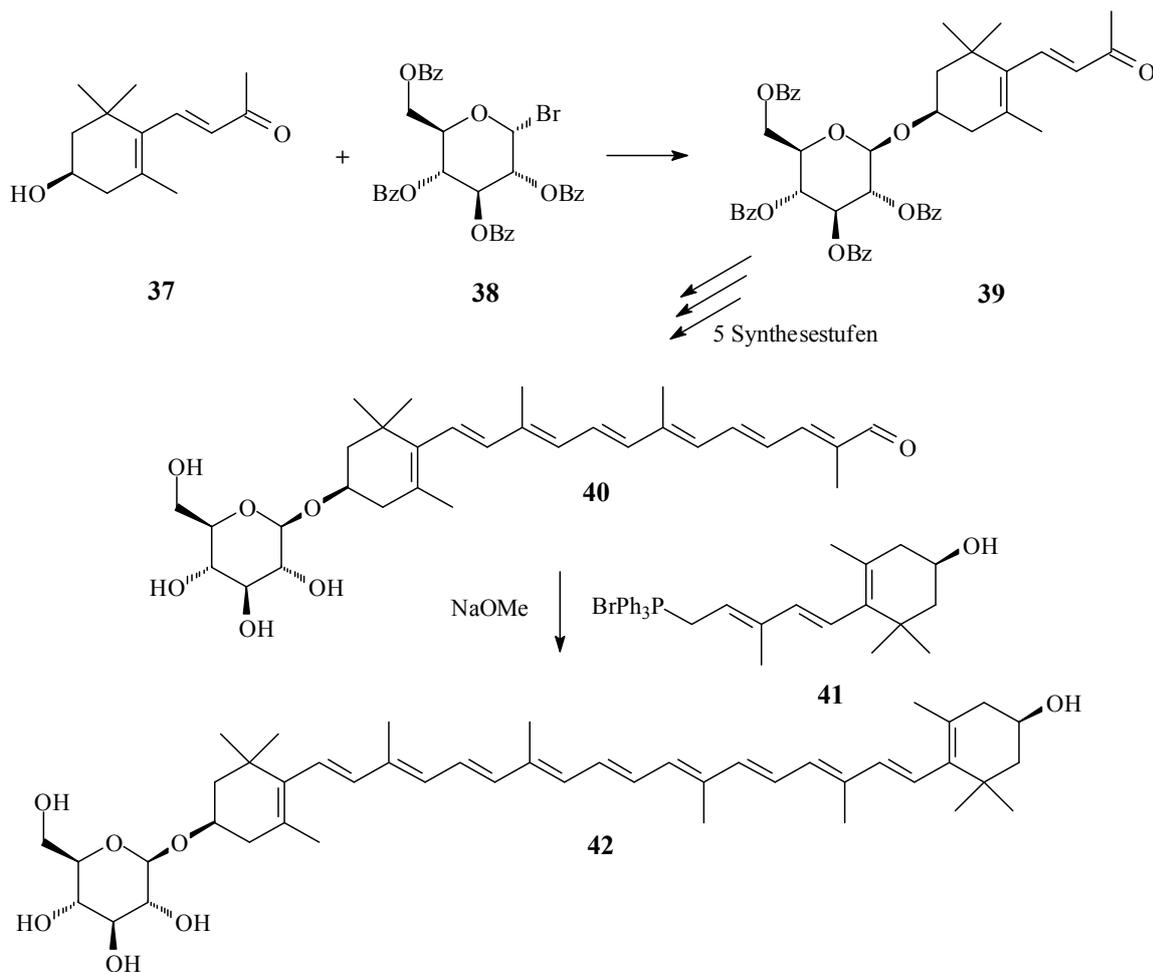
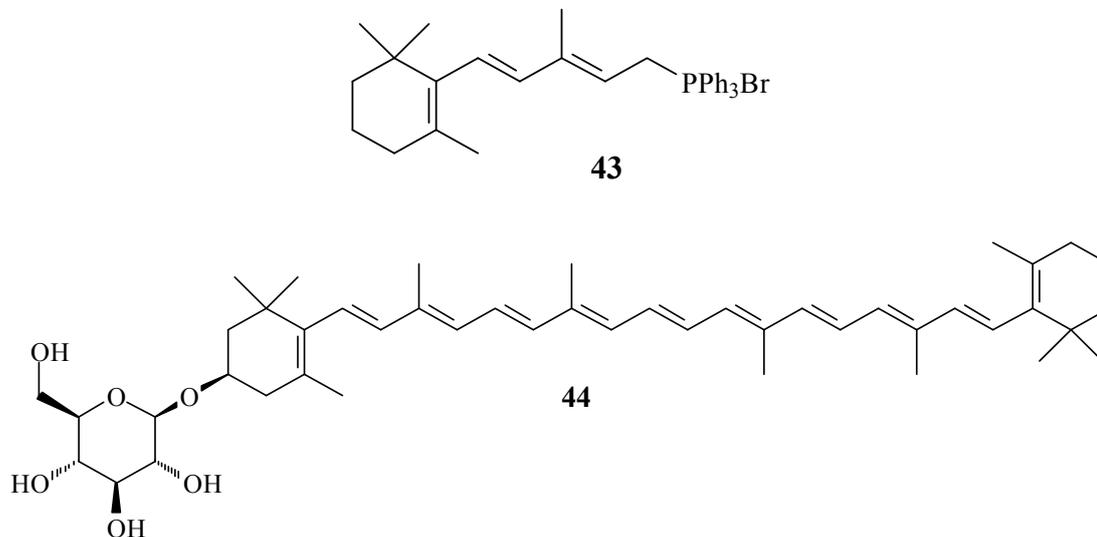


Abb. 21: Synthesepinzip nach Yamano zur Darstellung von Zeaxanthin- β -D-glucopyranosid (**42**).^[49]

In analoger Vorgehensweise gelang ihnen in einer Wittig-Reaktion unter Verwendung von $[(\beta\text{-Ionyliden)ethyl}]$ triphenylphosphonium-chlorid (**43**) und Glucopyranosyl-12'-apo- β -carotin-12'-al (**40**) die Synthese von Cryptoxanthin- β -D-glucopyranosid (**44**).



Thermocryptoxanthin und Thermozeaxanthin erhalten sie durch die Veresterung der Hydroxygruppe an C6 durch 13-Methyltetradecanoylchlorid in Pyridin.^[49]

Anstelle von (3*R*)-3-Hydroxy- β -cyclogeranylacetat (**36**) oder (3*R*)-3-Hydroxy- β -ionon (**37**) sollen im Rahmen dieser Arbeit Phosphoniumsalze eingesetzt werden. Die Phosphoniumsalze sind bei Raumtemperatur gut zu lagern, was einen Vorteil gegenüber Estern und Aldehyden bildet, weil diese hydrolysiert oder auch oxidiert werden können. Ein weiterer Vorteil ist die Verfügbarkeit der Phosphoniumverbindungen **45** und **46** aus einer Kooperation mit der BASF. Die Phosphoniumsalze werden unter Wittig-Bedingungen für die Synthese von Xanthophyllen wie Cryptoxanthin, Zeaxanthin oder auch Astaxanthin verwendet.

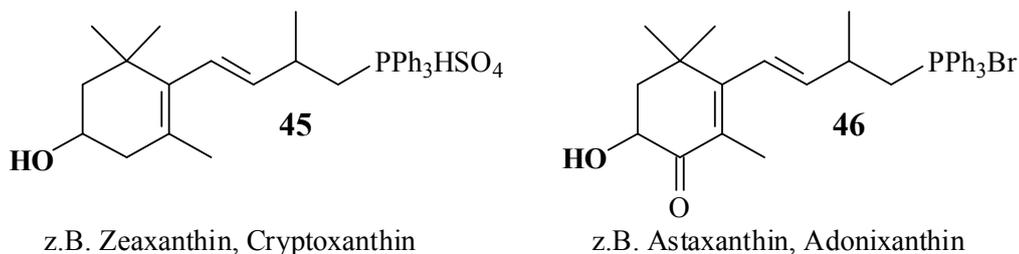


Abb. 22: Phosphoniumsalze für die Synthese von Carotinoiden in einer Wittig-Reaktion.

Den beiden aufgeführten Phosphoniumsalzen **45** und **46** ist ein für die Bildung von *O*-Glykosiden notwendiges Strukturmerkmal gemein, sie tragen beide eine Hydroxygruppe, wodurch die Möglichkeit der Bildung eines Acetales gegeben ist.

Durch die Glykosylierung der Endgruppe und den anschließenden Aufbau des vollständigen Carotinoides sollte die Synthese einer großen Zahl an verschiedenen Glykosiden möglich sein. Mono- und Diglykoside von Carotinoiden wie Zeaxanthin (**18**), Cryptoxanthin oder auch Astaxanthin (**9**) sollten so gebildet werden können, wodurch eine Reihe von Verbindungen unterschiedlichster Eigenschaften erhalten werden kann.

Im Folgenden sollen die Möglichkeiten aufgeführt werden, wie man Glykoside erhalten kann und wie Carotinoide nach der Wittig-Reaktion dargestellt werden können, um so glykosidische Carotinoide zu erhalten.

3.1.1 Glykosylierungsmethoden

Durch die große Bedeutung, die Glykoside besitzen, sind im Laufe der Zeit eine Reihe von Glykosylierungsmethoden entwickelt worden. Im frühen 19. Jahrhundert findet die Chemie der Kohlenhydrate ihren Anfang. 1880 bereits beginnt Emil Fischer seine grundlegenden Untersuchungen an Kohlenhydraten, unter anderem gelingt ihm die Bestimmung der Konfiguration der meisten bis dahin bekannten Kohlenhydrate. Darüber hinaus entwickelt er eine Methode zur Darstellung von Glykosiden.^[33]

Die von Fischer entwickelte Synthese stellt wohl eine der ältesten und auch einfachsten dar.

- **Säurekatalysierte Glykosylierungsmethoden**

In Gegenwart von Protonen- oder Lewis-Säuren bringt man Alkohole mit Kohlenhydraten zur Reaktion, dabei nutzt man die erhöhte Reaktivität der halbacetalischen Hydroxygruppe in Monosacchariden. Bei der klassischen Fischer-Synthese löst man das Monosaccharid in einem hohen Überschuss Alkohol, dem man einige Prozent trockenen Chlorwasserstoff zusetzt. Dann wird die Lösung solange erhitzt, bis dünnschicht-chromatographisch oder mittels Polarimetrie kein Umsatz mehr zu erkennen ist.^[50] Als Produkte erhält man anomere α - und β -Glykoside. Eine Vereinfachung des Verfahrens stellt in der heutigen Zeit der Einsatz von sauren Ionentauschern dar.^[51, 52]

Die gebräuchlichen Glykosylierungsmethoden bedingen oft den Überschuss an Aglykon. Hier ist dieses Aglykon unter anderem ein durch teils vielstufige, aufwendige Synthese darzustellendes Carotinoid. Durch diesen Umstand stellt dies hier einen großen Kostenfaktor dar.

Im Falle der Xanthophylle gestalten sich Reaktionen im sauren Medium als problematisch, da auch die Eliminierung einer Hydroxygruppe denkbar ist.

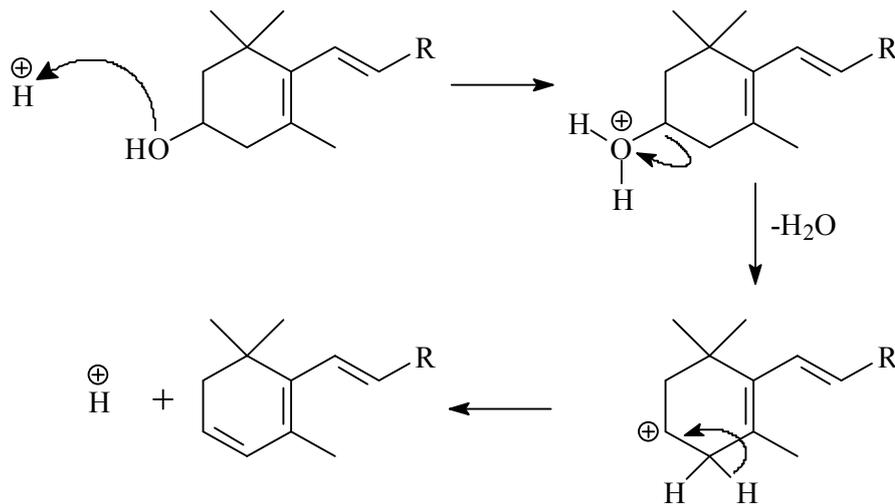


Abb. 23: Mechanismus einer denkbaren Nebenreaktion der Xanthophylle, im sauren Medium.

- **Transglykosidierungsreaktionen**

Modernere Synthesemethoden vermindern die Zahl der zur Reaktion befähigten Hydroxygruppen, durch die Einführung von Schutzgruppen und erhöhen die Reaktivität des Glykons durch die Funktionalisierung der anomeren Hydroxygruppe.

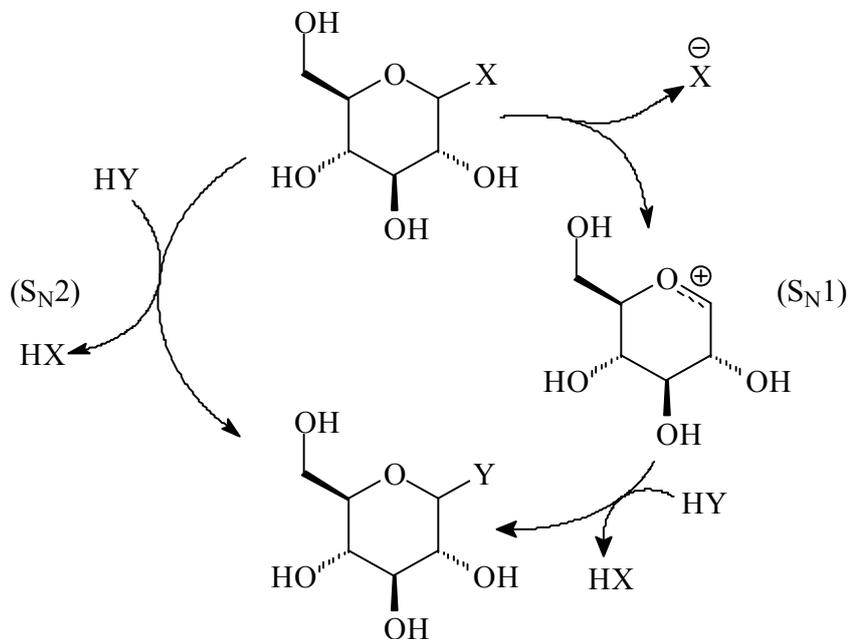


Abb. 24: Allgemeines Syntheseprinzip von Glykosiden.^[33]

- **Koenigs-Knorr-Methode**

Eine weit verbreitete und bewährte Methode ist die Glykosylierung nach Koenigs-Knorr, die seit 1901 bekannt ist. Nach Koenigs-Knorr erfolgt die Umsetzung von Glykosylhalogeniden mit Alkoholen in Gegenwart von löslichen oder unlöslichen Schwermetallsalzen oder organischen Basen. Als Schwermetallsalze finden meist Silbercarbonat und -oxid, seltener Quecksilber- oder Cadmiumsalze Verwendung.

Die Glykosylhalogenide, besonders Chloride und Bromide, werden meist als *O*-acetyl-Derivate eingesetzt. Bei ihrer Bildung entsteht bevorzugt thermodynamisch kontrolliert und durch den anomeren Effekt stabilisiert entstehen α -Anomere, die mit Aglykonen zu β -Glykosiden reagieren. Mit unlöslichen Silbersalzen als Hilfsreagenz verlaufen die Glykosylierungen häufig nach einem S_N2 -Mechanismus (siehe Abb. 25).^[53]

Ein Nachteil der Koenigs-Knorr-Methode unter Verwendung von Silbersalzen ist eine ihrer Fähigkeiten, sie sind in der Lage oxidativ wirken zu können. Zudem ist die geringe Stabilität der Glykosylhalogenide ungünstig, was eine Lagerung derselben erschwert, so dass sie ständig frisch hergestellt werden müssen.

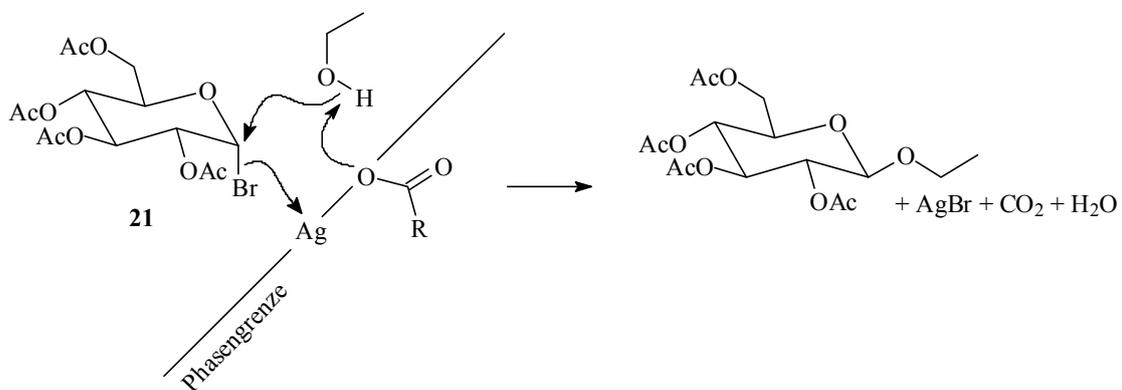


Abb. 25: Mechanismus der Katalyse der Koenigs-Knorr-Reaktion nach Wulff.^[53]

- **Trichloracetimidatmethode**

Eine sich immer stärker verbreitende alternative Synthesemethode ist die Trichloracetimidat-Methode nach Schmidt (siehe Abb. 26, rechts). Durch die basenkatalysierte Addition von geschützten Sacchariden, die eine freie Hydroxygruppe besitzen, an Trichloracetonitril kann ihr Imidat in guten Ausbeuten erhalten werden. In Abhängigkeit

von verwendeter Base und Schutzgruppen kann man selektiv α - oder β -Trichloracetimide erhalten und diese lewissäurekatalysiert mit einem Alkohol zu β - und α -Glykosiden umsetzen.

Das Glykosylierungspotential der Trichloracetimide ist so groß, dass neben *C*- und *O*-Glykosiden, sowie Glykosylaminen auch *S*-Glykoside erhalten werden können.^[54]

Weniger bekannt und verbreitet ist die Aktivierung von geschützten Sacchariden mittels arylsubstituierter Ketenimine zu arylsubstituierten Glykosylimidaten (siehe Abb. 26, links). Die Imidate haben den großen Vorteil, dass sie leicht kristallin erhalten werden können und einfacher zu lagern sind als die Glykosylhalogenide.

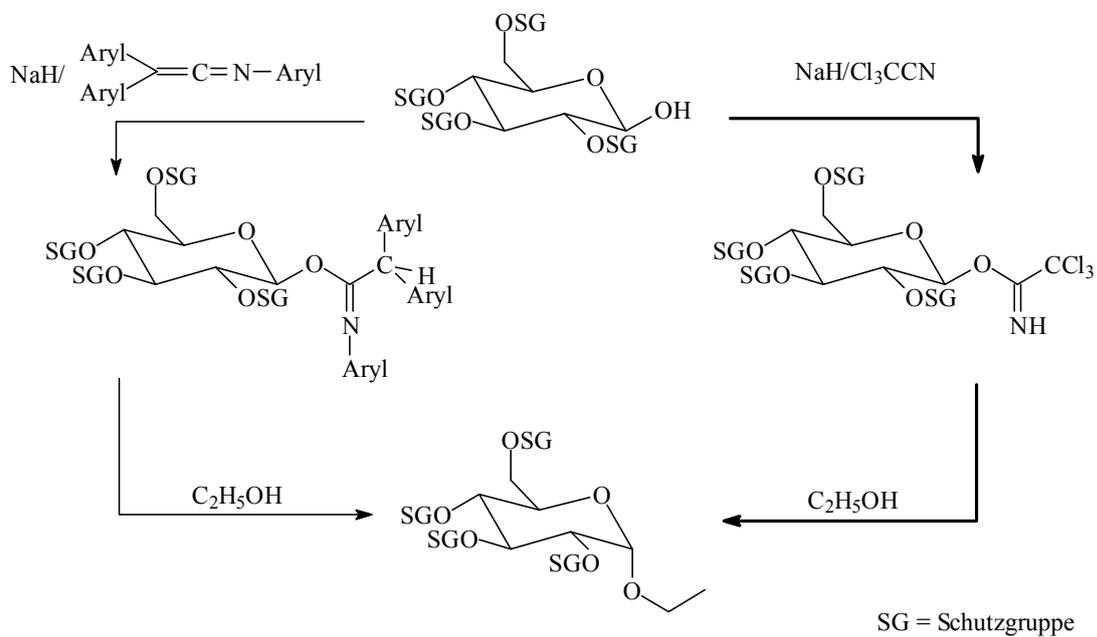
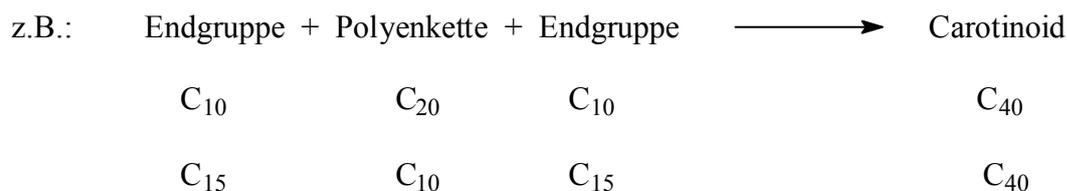


Abb. 26: Syntheseprinzip der Imidatmethode, am Beispiel eines Ethylglykosides.^[54]

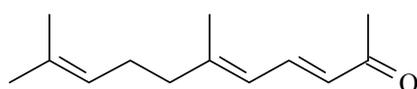
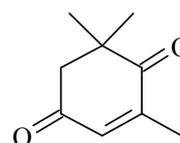
3.1.2 Carotinoidsynthesen

Der Aufbau von Carotinoiden und Xanthophyllen unter Wittig-Bedingungen erfolgt im Allgemeinen in einer separaten Synthese der Endgruppen und der Polyenkette als Mittelbausteine, welche dann assoziativ zum Zielmolekül verknüpft werden. Aus einer Vielzahl von Vorgehensweisen seien hier nur zwei wichtigsten schematisch skizziert:



Die Größe der Carotinoidbausteine hat sich durch zahlreiche Optimierungen der einzelnen Syntheseschritte und die Verfügbarkeit der Ausgangsverbindungen als vorteilhaft erwiesen. Es finden Aldehyde als Synthesebausteine Verwendung, da diese im Vergleich zu entsprechenden Ketonen eine größere Reaktivität zeigen.

Als Vorläufer der cyclischen β -Carotinendgruppe ist hier (3*E*,5*E*)-6,10-Dimethylundeca-3,5,9-trien-2-on (**47**, Pseudoionon) zu nennen, ebenso wie das 2,6,6-Trimethylcyclohex-2-en-1,4-dion (**48**, Oxoisophoron) für die Xanthophyllendgruppen, wie man sie beispielsweise im Astaxanthin (**9**) und Zeaxanthin (**18**) findet.

**47****48**

Die Struktur der Carotinoide erlaubt unterschiedliche Methoden zum Aufbau des Kohlenstoffgerüsts. Wird beispielsweise das Kohlenstoffgerüst über die Ausbildung einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindung realisiert, bieten sich unter anderem die Wittig- und Wittig-Horner-Emmons-Reaktion, die McMurry-Reaktion, sowie die Aldolkondensation an.^[55-60]

Die McMurry-Reaktion ist allerdings auf die Synthese symmetrischer Carotinoide limitiert, wobei diese zudem keine Sauerstoffatome tragen dürfen.

Verknüpft man entsprechende Synthesebausteine durch Bildung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Einfachbindungen so verwendet man meist die Grignard-Reaktion^[61] oder die Stille-Kupplung.^[62]

Nachdem John K. Stille 1986 in der Zeitschrift „Angewandte Chemie“ über die Kupplung von Organostannanen mit organischen Elektrophilen berichtet, konnte sie sich unter seinem Namen als eine der generellsten und selektivsten palladiumkatalysierten Kreuzkupplungen etablieren.^[63]

Brückner, Vaz und Mitarbeiter nutzen in der Synthese des 6'-*epi*-Peridinins (**53**), welches zytostatisch wirkt und eine wesentliche Rolle in der marinen Photosynthese spielt, das enorme Potential der Stille-Kupplung. Durch die Stille-Kupplung bleibt im entscheidenden Syntheseschritt zum Aufbau des Polyensystems die Stereochemie der Endgruppe erhalten.^[64]

Aufgrund ihrer Bedeutung soll die Synthese hier kurz vorgestellt werden. Für die Synthese des Peridinins **53** stellen Brückner und Olpp ausgehend von β -Ionon in einer Sequenz aus sechs Syntheseschritten ein Organostannan **49** her. Dieses setzen sie mit dem Bromid **50** in einer zweistufigen Reaktion um zu dem Butenolid **51**, welches zusätzlich eine Aldehydfunktion trägt.^[65-68]

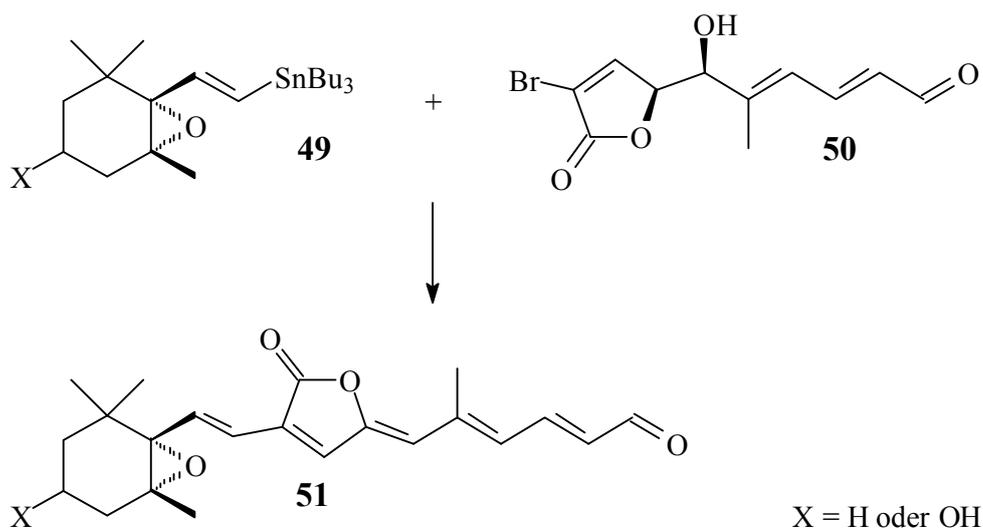


Abb. 27: Skizze des Synthesepinzips für das Butenolid **51**.

Vaz und Mitarbeiter gelingt in einer Julia-Kocienski-Olefinierung^[69, 70] die Darstellung des C₃₇-Carotinoids **53**. Dazu setzen sie das Butenolid **51** mit dem Alkylbenzthiazol-2-ylsulfonat **52** in Anwesenheit von Natriumhexamethyldisilazan um.

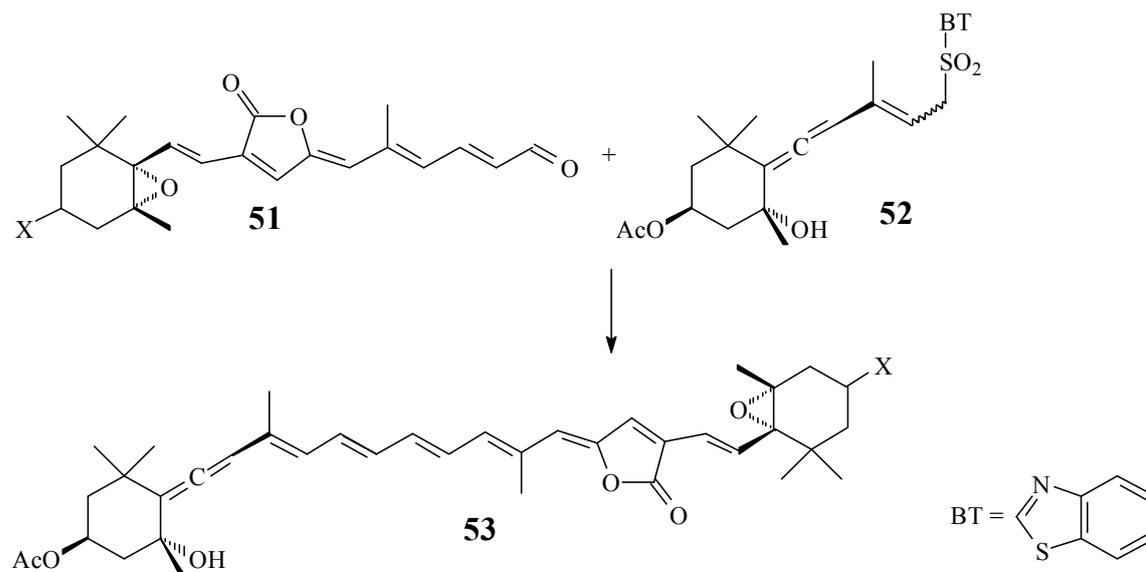


Abb. 28: Skizze des Synthesepinzips für 6'-epi-Peridin (53).

Industriell verlaufen die Wittig- bzw. Wittig-Horner-Emmons-Reaktion mit guten Ausbeuten. Durch die bereits erwähnte Kooperation stehen C₂₀- und C₁₀-Dialdehyde zur Verfügung, die als Mittelbausteine eingesetzt werden. Die Synthesestrategie erfolgt analog der industriellen Synthese von β -Carotin. Die Endgruppen, Phosphonate oder Phosphoniumsalze werden allerdings so gewählt, dass sie die gewünschte Funktionalität besitzen.^[4]

Die Endgruppen der Carotinoide sollten für die Glykosylierung Heteroatome besitzen. Es bieten sich daher solche Endgruppen an, die Sauerstoffatome tragen, wie man es von den Xanthophyllen Zeaxanthin (18) und Astaxanthin (9) kennt.



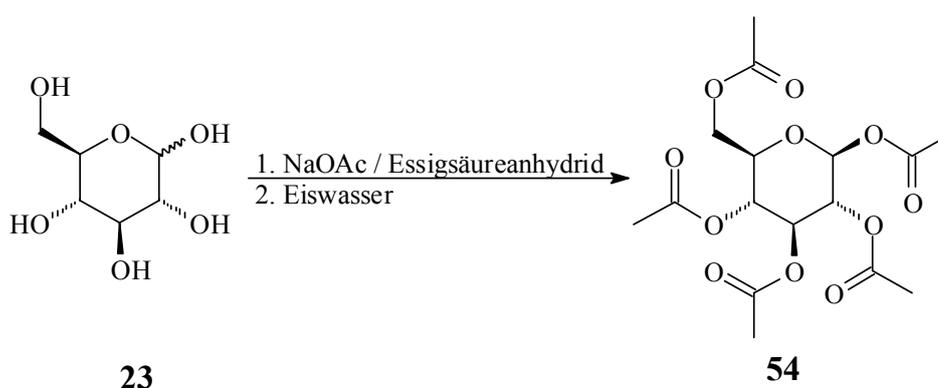
Abb. 29: Endgruppen a) in Zeaxanthin (18) und b) in Astaxanthin (9).

Apocarotinoide sind für die Synthese asymmetrischer Carotinoide notwendig und tragen hier die β -Carotinendgruppe. Zwei Apocarotinoide mit unterschiedlich langer Polyenkette, ein C₂₅- und ein C₃₀-Aldehyd stehen zur Verfügung.^[4]

3.2 Synthese der Kohlenhydratderivate

Die Methoden zur Knüpfung einer glykosidischen Bindung sind in Kapitel 3.1.1 angesprochen worden. Es sind durch Säuren katalysierte Synthesen oder Transglykosylierungsreaktionen, wobei die Zuordnung zu den Methoden mit Überschneidungen verbunden ist. Im Folgenden werden die Synthesen der Kohlenhydratderivate aufgezeigt, die zur Glykosylierung notwendig sind.

3.2.1 Synthese von Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**)



Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) wird oft durch die Einhorn-Acylierung von Glucose (**23**) (bzw. Glucose-Monohydrat) mit Acetylchlorid in Pyridin dargestellt. Der Nachteil dieser Reaktion ist, dass Pyridin und Wasser die Kristallisation des Produktes erschweren können und mitunter nur schwer aus dem Produkt zu entfernen sind.

V1

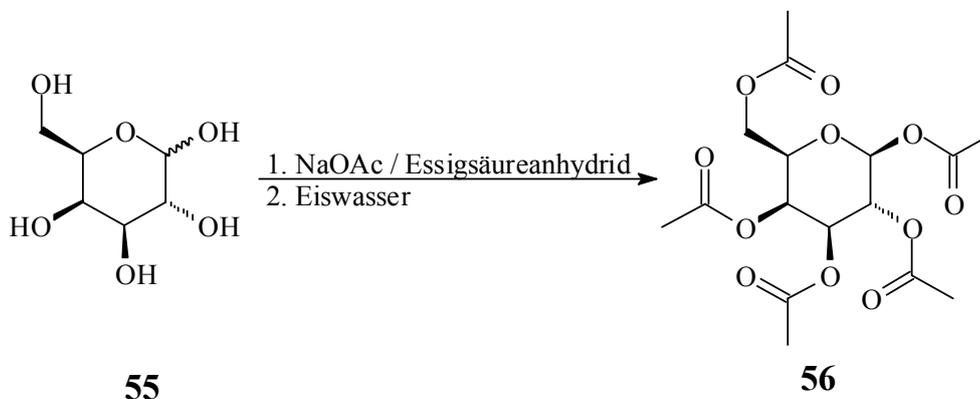
Die Synthese der pentaacetylierten Glucopyranose **54** erfolgt hier nach einer Vorschrift von Fischer.^[71] Hierzu suspendiert man Glucose-Monohydrat mit der äquimolaren Menge Natriumacetat in zehnmolaren Menge an Essigsäureanhydrid. Man erhitzt diese Suspension auf 80 °C. Bei dieser Temperatur lösen sich die Feststoffe und eine exotherme Veresterungsreaktion findet statt, dies kann durch die spontane Erhöhung der Reaktionstemperatur auf 110 °C festgestellt werden. Man rührt noch zwei weitere Stunden bei dieser Temperatur, dabei verfärbt sich die Lösung leicht gelblich.

Zur Beendigung der Reaktion gießt man das Reaktionsgemisch rasch in einem dünnen Strahl auf ein großes Volumen Eiswasser. Man rührt die Lösung aus der nach kurzer Zeit das Produkt kristallisiert. Durch mehrfaches Verreiben mit Wasser und absaugen befreit man von überschüssigem Essigsäureanhydrid.

Zur Reinigung wird das Rohprodukt aus technischem Ethanol kristallisiert. Anfangs findet man eine wachsartige Konsistenz, nach Filtration und anschließendem Trocknen im

Vakuum (12 mbar, 65 °C) erhält man das pentaacetylierte Derivat **54** als feinkristallinen Feststoff in einer Ausbeute von 48 %.

3.2.2 Synthese von Penta-*O*-acetyl- β -D-galactopyranose (**56**)



Die vollständige Acylierung der Galactose (**55**) zur Penta-*O*-acetyl- β -D-galactopyranose (**56**) erfolgt in Analogie zu obiger Vorschrift von Fischer, welche die Darstellung der Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) ermöglicht.

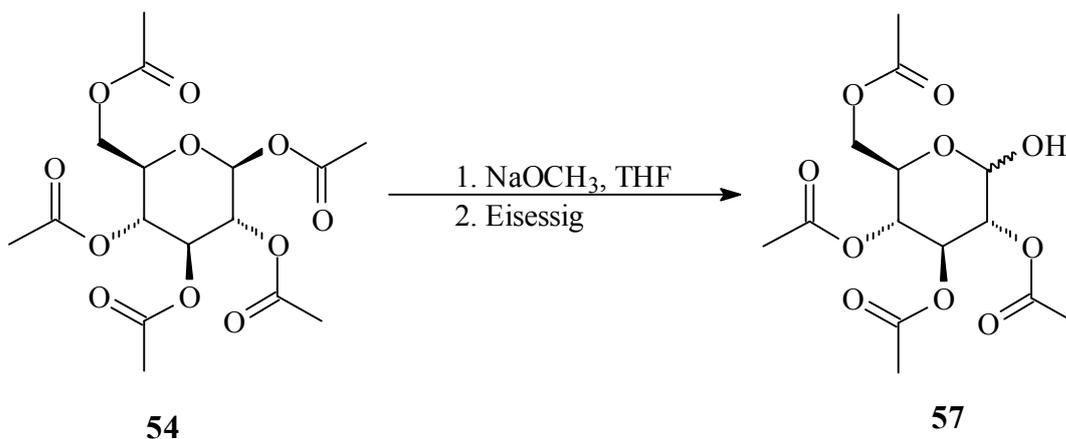
Man dispergiert D-(+)-Galactopyranose (**55**) mit der äquimolaren Menge Natriumacetat in der zehnmolaren Menge Essigsäureanhydrid. Diese Suspension wird langsam auf 80 °C. erhitzt.

V2

Ebenso wie bei der Acylierung des Glucosemonohydrates **23** beginnt mit dem Lösen der Feststoffe eine exotherme Reaktion. Im Vergleich zur Veresterung des Glucose-Monohydrates **23** kann man eine noch größere Steigerung der Temperatur im Reaktionsvolumen feststellen. Rasches Ansteigen auf Temperaturen bis 125 °C, mit gleichzeitiger starker Schaumentwicklung ist dabei möglich. Man rührt noch zwei weitere Stunden bei 100 °C, dabei verfärbt sich die Lösung leicht bräunlich.

Zur Beendigung der Reaktion gießt man das heiße Reaktionsgemisch, unter Rühren, zügig in einem sehr dünnen Strahl auf Eiswasser. Nach kurzer Zeit kann man die Kristallisation eines farblosen Feststoffes beobachten. Man filtriert und verreibt dann den Niederschlag so lange mit Wasser, bis kein Essigsäuregeruch mehr wahrgenommen werden kann. Der Feststoff wird dann noch einmal in Wasser aufgenommen. Man lässt diese Suspension über Nacht stehen. Es wird am Büchner-Trichter abgesaugt, man spült den Rückstand mit wenig kaltem Wasser. Der Feststoff wird aus technischem Ethanol kristallisiert und wird im Vakuum bei 12-14 mbar und 65 °C getrocknet. Man erhält die peracetylierte Galactopyranose **56** in 65%iger Ausbeute.

3.2.3 Synthese von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**)



Für die Synthese selektiv am C1-Kohlenstoff funktionalisierter, reaktiver Kohlenhydrate sind mehrere Methoden beschrieben, da sie zum Aufbau von Di-, Oligo- und Polysacchariden, vor allem auch in biologischer und pharmazeutischer Sicht von großem Interesse sind. Hier ist es nicht gelungen diese Methoden mit Erfolg anzuwenden, daher sollen sie hier kurz skizziert werden.

Die selektive Spaltung der labilen acetalischen Bindung kann durch verschiedenste Methoden erreicht werden. Chittenden beschreibt 1988 die Synthese von Glucose- und Galactosetetraacetat, durch die selektive Verseifung der peracetylierten Kohlenhydrate an C1 mittels wässriger Trifluoressigsäure (90%ig).^[72] Ein Verfahren das im Fall der Glucopyranose zu einem sirupartigen Gemisch der α - und β -Anomere führt, was hier nicht gewünscht ist. Zudem muss bei diesem Verfahren die Trifluoressigsäure azeotrop mit Toluol entfernt werden, was auch bei kleinen Mengen viel Zeit beansprucht.

Alternativ bieten sich beispielsweise Aminolysereaktionen mit Ammoniak, Hydrazinacetat oder Benzylamin (siehe Abb. 30) an. Die Darstellung des Derivates **57** durch die Aminolyse der Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) gelang im Rahmen dieser Arbeit in nur 15%iger Ausbeute und war, trotz mehrfacher Versuche, nicht reproduzierbar.

Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) wird, unter guter Kühlung durch Wasser mit Benzylamin versetzt und gerührt bis sich nach kurzer Zeit Kristalle abscheiden. Nach kurzer Zeit entsteht eine breiige Masse. Man versetzt diesen Brei mit trockenem Diethylether und saugt von den Kristallen ab, wäscht diese nochmals mit Diethylether. Man erhöht das Volumen der Lösung mit Chloroform und wäscht diese Lösung mehrfach mit 5 N Salzsäure. Es wird neutral gewaschen und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. Der sirupartige Rückstand wird über Phosphor-

pentoxid getrocknet, bevor er mit Diethylether verrieben wird. Auf diese Weise fallen kleinste Mengen Kristalle aus.^[73]

Die beschriebene Prozedur der Trocknung und Kristallisation muss mehrfach wiederholt werden, bis die gesamte Menge an Produkt erhalten werden kann.

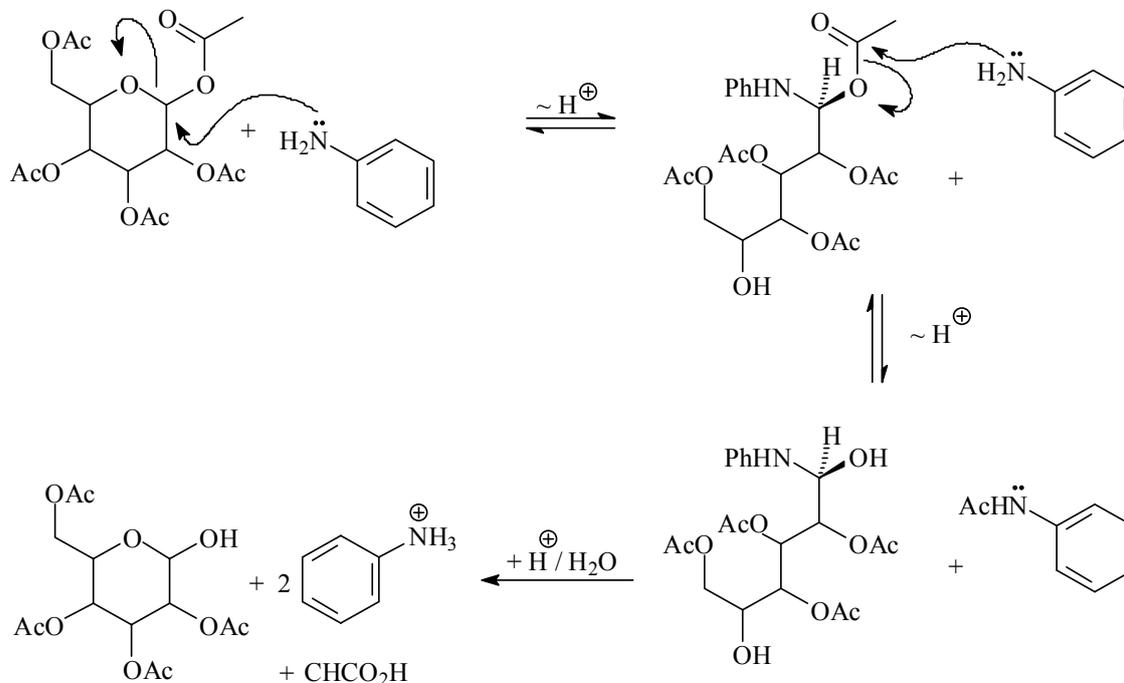
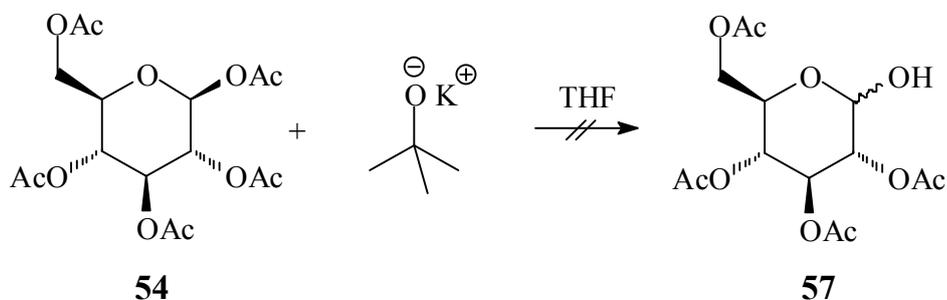


Abb. 30: Mechanismus der Aminolyse einer peracetylierten Pyranose.

Vasin und Razin haben durch die Umesterung mittels Kalium-*tert*-butylat einen Weg gezeigt, auf dem man leicht und schnell freie Hydroxygruppen aus *O*-acetylgeschützten Verbindungen erhalten kann. Dazu werden diese in Diethylether gelöst und bei 0-20 °C mit der 1-1.2 M Menge an Kalium-*tert*-butylat versetzt. Die Reaktion wird durch Filtration an Aluminiumoxid beendet.^[74]



Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) wird hier in trockenem Tetrahydrofuran (THF) gelöst. In der Kälte wird portionsweise die äquimolare Menge Kalium-*tert*-butylat in fester Form zugegeben. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch an

Kieselgel 60-Platten verfolgt. Innerhalb weniger Minuten ist die gesamte Menge an peracetylierter Glucose umgesetzt. Allerdings kann diese Methode hier nicht zur selektiven 1-*O*-Deacylierung genutzt werden, da viel zu schnell alle Hydroxygruppen der peracetylierten Glucose **54** entschützt werden.

Die besten Ergebnisse lieferten hier die partiellen Verseifungen der acetylierten Zucker unter Zemplén Bedingungen. Frisch hergestellte Natriumalkoholate aus Methanol oder Ethanol werden dazu mit *O*-acetylgeschützten Kohlenhydraten in den entsprechenden Alkoholen umgesetzt.

Hier werden abweichend von der beschriebenen Methode festes Natriummethanolat und auch andere Lösemittel als Alkohole verwendet.^[47, 75]

Diese Methode wurde bereits 1992 von Lin, und Mitarbeiter zur Darstellung der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**), dazu versetzen sie eine Lösung von Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) in Tetrahydrofuran in der Kälte mit der zehnmolaren Menge an Natriummethanolat (97 %) und rühren diese für sechs Stunden bei Raumtemperatur.

In einer Umesterung entstehen dann Essigsäuremethylester und das Glucosederivat **57**. Die Reaktion wird durch die Zugabe von Essigsäure beendet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mit Dichlormethan versetzt, danach wird mit Wasser gewaschen und die organische Phase über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Rohprodukt wird durch Mitteldruckchromatographie (*Flash-Chromatographie*) an Kieselgel gereinigt. Diese Prozedur nach Lin liefert die 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**) als Sirup in einer Ausbeute von 70 %. Diese Methode konnte hier in mehrfachen Versuchen allerdings nur mit Ausbeuten im Bereich von 10-20 % reproduziert werden.^[76]

Da die bisher beschriebenen Methoden nicht den gewünschten Erfolg hatten, musste nach einer weiteren Alternative gesucht werden. Erfolg versprechend erschien eine Methode, welche Itoh bereits 1986 vorgestellt hat. Itoh gelingt in einer schnellen Reaktion die 1-*O*-Desacylierung an einer Reihe von vollständig acetylgeschützten Kohlenhydraten.^[77] Für die selektive Umesterung verwendet er, so wie Lin und Mitarbeiter, festes Natriummethanolat und legt die pentaacetylierten Kohlenhydrate in trockenem Tetrahydrofuran vor. Portionenweise erfolgt die Zugabe der Base. Es wird allerdings nur die zweimolare

Menge an Natriummethanolat verwendet und bereits nach sehr kurzer Reaktionszeit wird die Reaktion durch Zugabe von Eisessig gestoppt.

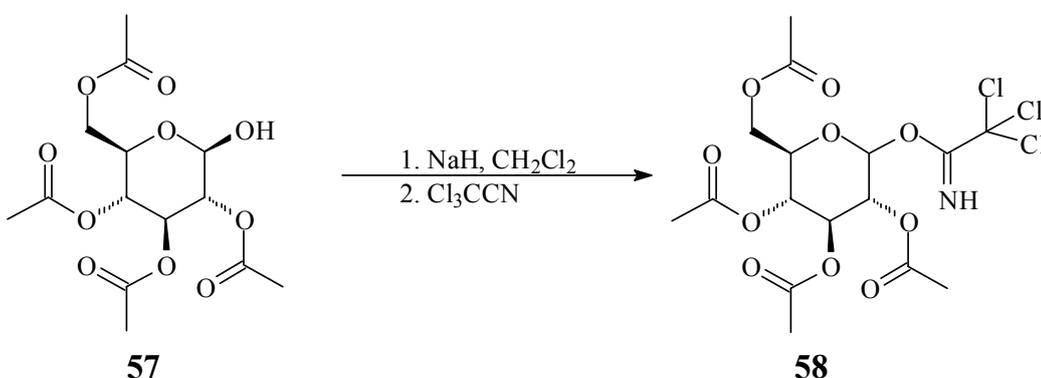
Die hier verwendeten Substanzmengen liegen im Gegensatz zu Itoh im Bereich mehrerer Gramm, daher ergibt sich die Notwendigkeit einer Abwandlung seiner Vorgehensweise. Die Reaktion erfolgt bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ und erfordert bei zweimolarer Menge an Methanolat eine derart lange Reaktionszeit, dass man auch mehrfach und unspezifisch entschützte Kohlenhydrate als Nebenprodukt erhält.

Durch die Zugabe von Natriummethanolat in 3.5facher Menge zur peracetylierten Verbindung **54** verläuft die Reaktion bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ mit ausreichender Geschwindigkeit, ohne jedoch soviel Reaktionswärme zu erzeugen, dass Nebenreaktionen von Bedeutung sind. Sofort nach Zugabe der Base wird der Fortschritt der Reaktion durch Dünnschichtchromatographie (DC) an Kieselgel 60 verfolgt. [R_f -Wert, **54**: 0.6; Hexan/Essigester (1:2), Sprühreagenz S1] (siehe Kapitel 4.3.2)

V3

Nachdem dünnschichtchromatographisch keine Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) mehr zu erkennen ist, wird mit einem geringen Überschuss konzentrierter Essigsäure die Reaktion beendet. Man rührt in der Kälte weiter und saugt dann von Natriumacetat ab, das nach einiger Zeit wachstartig aus Tetrahydrofuran kristallisiert. Man wäscht den Rückstand mit wenig kaltem Tetrahydrofuran. Das Lösungsmittel wird bei milder Temperatur am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet und aus Diethylether kristallisiert. Die Ausbeute an 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**) beträgt bei diesem Verfahren 56 %.

3.2.4 Synthese von (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (**58**)



Nach Schmidt wird 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**) in trockenem Methylenchlorid gelöst und vorgelegt. Trichloroacetonitril und Natriumhydrid werden danach bei

Raumtemperatur hinzu gegeben. Nach 20 Minuten wird durch Filtration vom Hydrid getrennt und das Volumen der Lösung vermindert. Mit Diethylether als Laufmittel wird anschließend über eine kurze Säule an Kieselgel filtriert. Das Imidat **58** wird nach Schmidt auf diese Weise in einer Ausbeute von 85 % erhalten.^[54] Hier kann, auch unter peinlichster Einhaltung der von Schmidt aufgeführten Arbeitsweise keine Ausbeute größer 24 % erzielt werden.

Im Allgemeinen bilden sich die Trichloracetimidate durch Anlagerung von Alkoholen an Trichloracetonitril leicht, bei primären, kurzkettigen Alkoholen sogar stark exotherm.^[78]

Dieser Befund und die bereits angemerkte schlechte Ausbeute führten zu einer Reihe von Variationen der vorherrschenden Reaktionsbedingungen. Dabei erfolgt die Reaktionskontrolle mittels DC an Kieselgel 60. [R_f -Wert, **58**: 0.76; Hexan/Essigester (1:3)]. Nach kurzer Zeit stellt man fest, dass neben dem gewünschten Produkt auch Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**, R_f -Wert: 0.56) und mehrfach ungeschützte Kohlenhydrate entstehen. Dies lässt sich nur über die Reaktivität des Alkoholates der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**) erklären und stimmt mit den Beobachtungen die Zemplén macht überein (siehe Abb. 31).^[75]

V4

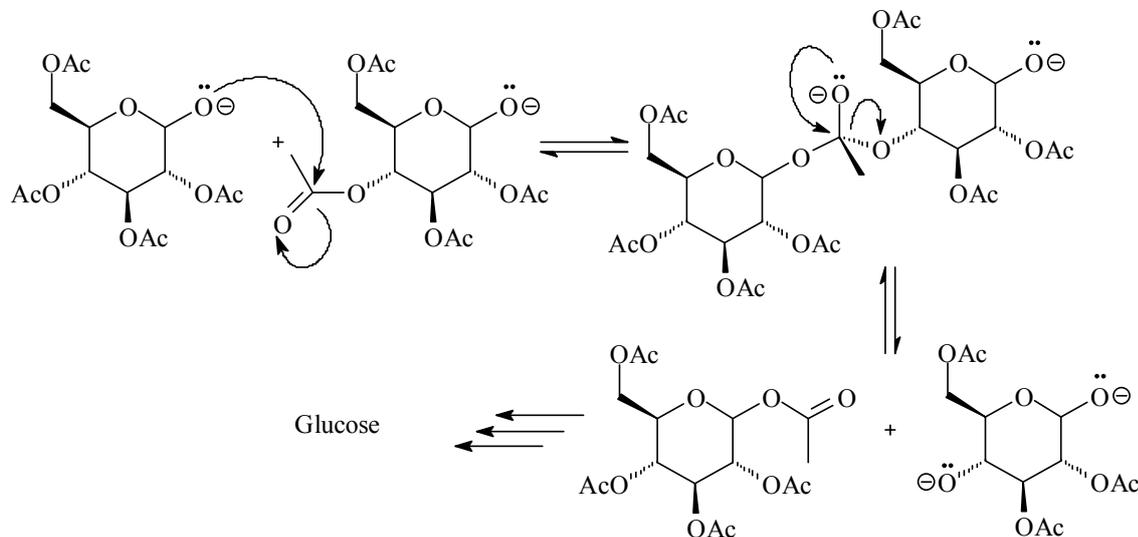
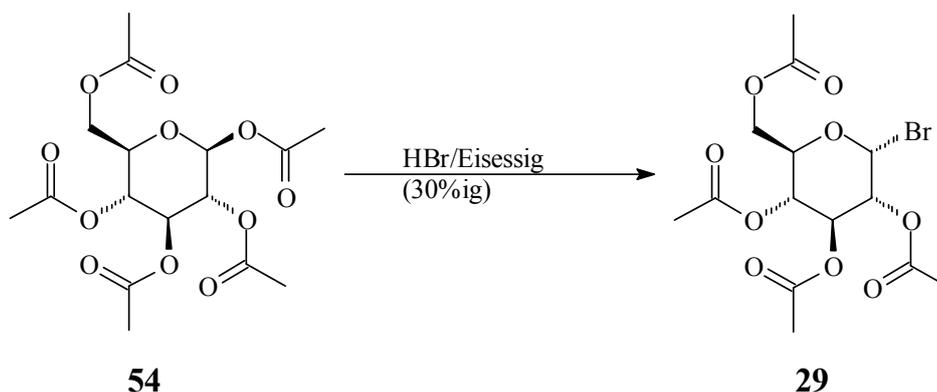


Abb. 31: Vorgeschlagener Verlauf der Nebenreaktionen.^[75]

Eine stärkere Abkühlung des Reaktionsgemisches führt jedoch nicht zu einer größeren Ausbeute an Imidat. Führt man diese Reaktion bei Temperaturen bis zu -18 °C durch, so stellt man fest, dass kaum Produkt gebildet wird.

Beendet man die Reaktion nach 30 Minuten bei 0-5 °C so kann man neben Penta- (**54**) und 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucose (**57**) akzeptable Mengen des Imidates **58** erhalten. Das Produkt kann durch Filtration an Kieselgel 60 und anschließender Kristallisation aus Diethylether gereinigt werden. Die Ausbeute beträgt unter diesen Bedingungen 40 %.

3.2.5 Synthese von α -D-Acetobromglucose (**29**)

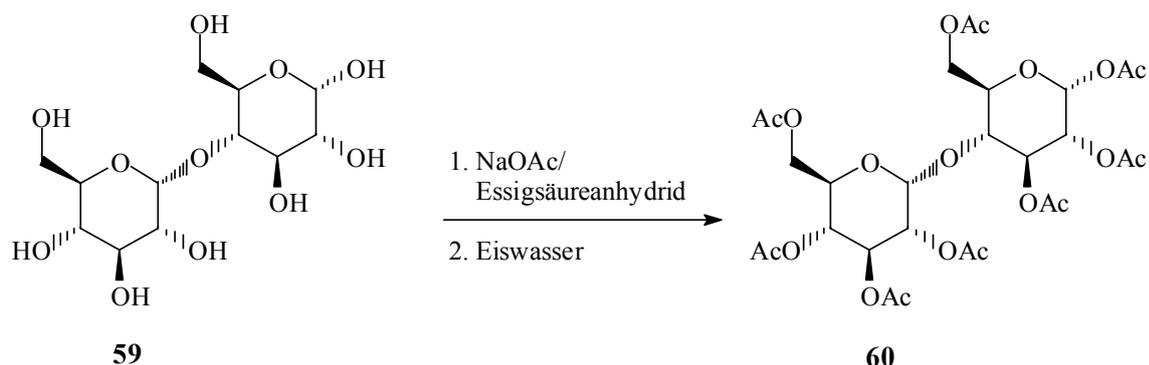


Bei der α -D-Acetobromglucose (**29**) handelt es sich um eines der ältesten und bekanntesten Glucosederivate, dass dazu genutzt wird um Glucose an organische Moleküle zu binden. Sie ist ein Paradebeispiel für die Funktionalisierung und Aktivierung eines Kohlenhydrates.

Die Synthese der α -D-Acetobromglucose (**29**) ist auch in einem Reaktionsschritt möglich, in dieser Arbeit erfolgt die Darstellung jedoch ausgehend von zuvor gereinigter Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**).

Nach Freudenberg und Armstrong wird die peracetylierte Glucose **54** bei 0 °C mit einer gut gekühlten Lösung von 30 % Bromwasserstoff in Eisessig versetzt. Durch heftiges Rühren wird das Derivat in Lösung gebracht. Nach zweistündiger Reaktionsdauer wird die Reaktionslösung auf Eiswasser gegossen. Nach kurzer Zeit fällt das Produkt aus. Am Büchner-Trichter saugt man das Lösungsmittel ab und wäscht das Produkt mit sehr wenig eiskaltem Wasser. Man nimmt den Feststoff mit Diethylether auf und befreit vom Wasser. In der Kälte kristallisiert das Produkt **29** innerhalb von drei Tagen und kann nach Filtration und Trocknen in 44%iger Ausbeute erhalten werden.^[71]

3.2.6 Synthese von Octa-*O*-acetylmaltose (**60**)



Mit dem Ziel Glykoside zu synthetisieren, welche Disaccharide als Glykon besitzen sollen geeignete Kohlenhydrate hergestellt werden, die den notwendigen Anforderungen der typischen Glykosylierungsmethoden genügen. In der Literatur finden sich zahlreiche Beispiele für den Aufbau von Di-, Oligo- und Polysacchariden, diese sind dabei, je nach Zielsetzung mit unterschiedlichem Aufwand zu erhalten.

Ivanova und Mitarbeiter beispielsweise stellen in mehreren Syntheseschritten mit der von Schmidt vorangetriebenen Trichloracetimidat-Methode verschiedene Disaccharide dar. Dies gelingt ihnen durch die lewissäurekatalysierte Reaktion von benzoylgeschützten Kohlenhydraten, wobei der eine Reaktionspartner an C4 eine freie Hydroxygruppe trägt und der andere an C1 mit Trichloracetimidat als Abgangsgruppe aktiviert wurde.^[79]

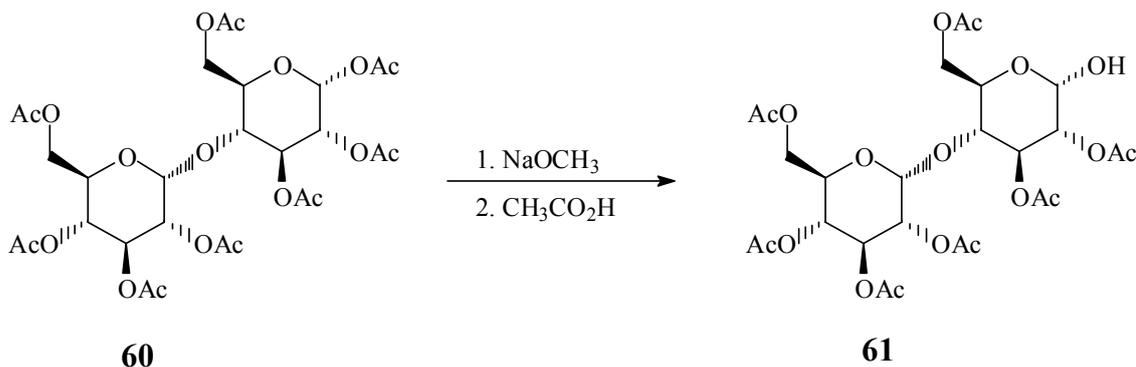
Matsubara stellt 1961 ausgehend von Octa-*O*-acetylmaltose eine Reihe von Hepta-*O*-acetylphenylglykosiden her. Dies gelingt ihm in einer wenig aufwendigen Synthese. Dazu suspendiert er die Maltose (**59**) mit Natriumacetat in Essigsäureanhydrid, erhitzt dieses Gemisch langsam auf 100 °C und rührt nach einer heftig startenden Reaktion für zwei Stunden. Zur Beendigung der Reaktion gießt man auf Eis und fügt dann Wasser hinzu. Ein gelblich, braunes Öl sammelt sich am Gefäßboden. Man dekantiert das überstehende Wasser ab. Das Öl wird zur vollständigen Hydrolyse mit Wasser überschichtet und über Nacht in den Kühlschrank gestellt. Der Feststoff wird abfiltriert und in Chloroform gelöst, mit reichlich Wasser gewaschen und über Calciumchlorid getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand in heißem Methanol gelöst. In 37%iger Ausbeute kristallisiert das Produkt aus Methanol.^[80]

V6

Hier wird mit der Maltose (**59**) ähnlich verfahren, allerdings wird hier nur auf eine Temperatur von 80 °C erhitzt. Nach zwei Stunden gießt man direkt auf Eiswasser und verreibt dann den nach kurzer Zeit ausfallenden Feststoff mehrfach mit Wasser, um überschüssiges Essigsäureanhydrid zu zerstören. Man schlemmt den Feststoff abschließend in

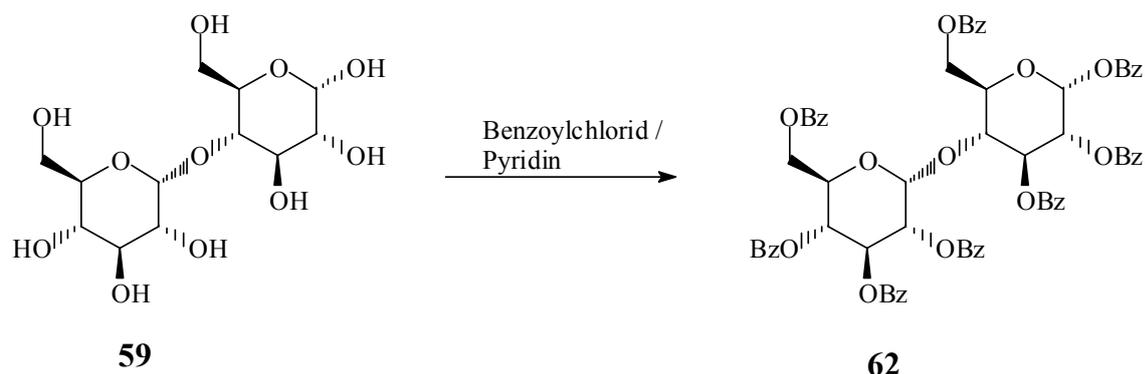
Wasser auf und vervollständigt die Hydrolyse über Nacht. Das Rohprodukt wird am Büchner-Trichter als Rückstand erhalten. Die derivatisierte Maltose **60** kann, zur Reinigung aus Ethanol (96%ig) kristallisiert, in einer Ausbeute von 41 % gewonnen werden.

3.2.7 Synthese von Hepta-*O*-acetylmaltose (**61**)



Analog zu der Arbeitsweise nach Itoh kann durch die Reaktion von Octa-*O*-acetylmaltose (**60**) mit Natriummethanolat, die selektiv 1-*O*-deacylierte Maltose **61** erhalten werden. Dazu wird die peracetylierte Maltose **60** in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und vorgelegt. Die Lösung wird auf -18 °C abgekühlt. Danach erfolgt portionenweise Zugabe von festem Natriummethanolat. Die Reaktion wird nach der Zugabe der Base dünn-schichtchromatographisch verfolgt. Die DC erfolgt an Kieselgel 60-Platten mit einem Lösemittelgemisch Hexan/Essigester (1:1) als Laufmittel (R_f **61**: 0.86). Kann durch DC keine Octa-*O*-acetylmaltose (**60**) mehr festgestellt werden, wird die Reaktion durch die Zugabe konzentrierter Essigsäure beendet. Man rührt noch kurze Zeit zur Vervollständigung der Kristallisation, saugt vom Natriumsulfat ab und wäscht mit wenig THF. Der Feststoff wird, über Phosphorpentoxid, im Exsikkator getrocknet. Zur Reinigung wird das Produkt **61** aus Ethanol/Hexan (5:1) kristallisiert. Die Ausbeute beträgt hier 76 %.

3.2.8 Synthese von Octa-*O*-benzoylmaltose (**62**)



Die Verwendung von Benzoesäureestern als Schutzgruppen von Hydroxygruppen bietet, gerade in der Chemie der Kohlenhydrate einen entscheidenden Vorteil gegenüber der Acetyl- besonders aber der Benzylschutzgruppe, denn im Allgemeinen kristallisieren die benzylierten Derivate ausgesprochen gut aus verschiedenen Lösemittel. Aus diesem Grund gelingt die Reinigung der benzylierten Produkte recht einfach.

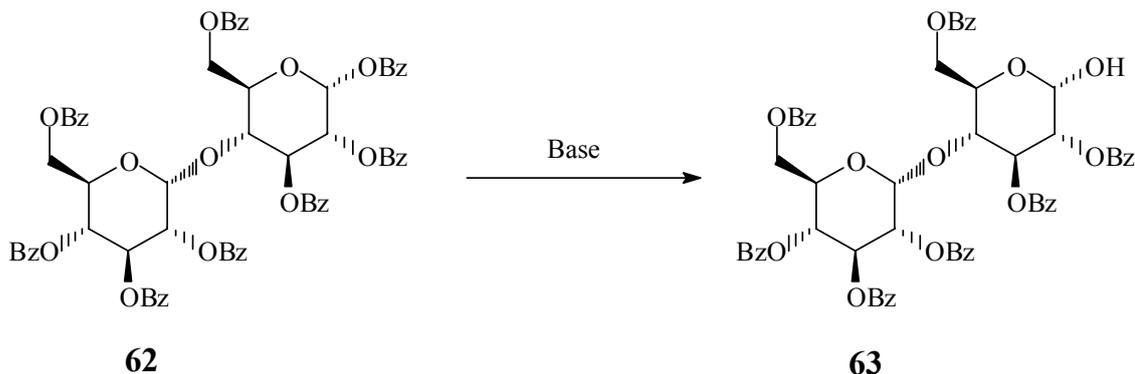
V8

In Anlehnung an die Einhorn-Acylierung gelingt die Synthese hier durch die Umsetzung von Maltose (**59**) mit Benzoylchlorid. Hierzu wird Maltose (**59**) in trockenem und frisch destilliertem Pyridin gelöst. Nachdem die Lösung auf 0 °C abgekühlt ist, wird unter Rühren langsam das Säurechlorid mit 15 % Überschuss zugetropft.

Nach einiger Zeit zeigt sich die Abscheidung von farblosen Kristallen. Man vervollständigt die Kristallisation über Nacht.

Am Büchner-Trichter wird das Produkt abgesaugt. Nach dieser Filtration wird die Octa-*O*-benzoylmaltose (**62**) zur Reinigung in einem 1:1-Gemisch aus Aceton/Methanol ausgekocht, da es hier nicht gelingt den Niederschlag, welcher stark quillt, zu lösen. Das Maltosederivat **62** wird nach erneuter Filtration im Vakuum getrocknet (14 mbar, 70 °C) und in einer Ausbeute von 71 % erhalten.

3.2.9 Versuch der Synthese von Hepta-*O*-benzoylmaltose (**63**)



Wie bereits beschrieben stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung, welche selektiv die 1-*O*-Desacylierung ermöglichen. Sie seien hier nur kurz erwähnt. Die Reagenzien sind zahlreich. Natrium- und Kaliumalkoholate reagieren beispielsweise in einer Umesterungsreaktion.

Eine Aminolyse ist durch Ammoniak, Benzylamin, Hydraziniumacetat, Ammoniumcarbonat, Diethylamin und Dimethylamin möglich.^[81-84]

Ivanova und Mitarbeitern gelingt die Aminolyse unter Verwendung von Dimethylamin. Sie lösen hierfür die benzoylgeschützten Disaccharide in einem Lösemittelgemisch aus Tetrahydrofuran und Acetonitril. Bei Raumtemperatur erhalten sie nach 25-48 Stunden selektiv verseifte Disaccharide in ungefähr 70-80%iger Ausbeute.^[79]

Barrientos gelingt es verschiedene Disaccharide, unter ihnen auch die Octa-*O*-benzoylmaltose selektiv an C1 durch Hydraziniumacetat zu verseifen.^[85]

Eine weiteres Verfahren nutzt den Weg über intermediär hergestellte Glykosylhalogenide, welche dann in Aceton oder Diethylether gelöst mit Wasser zur Reaktion gebracht werden.^[86]

Hier gelingt jedoch weder durch Reaktion mit Natriummethanolat oder Kalium-*tert*-butylat eine Umesterung^[74] noch die Aminolyse durch Benzylamin, Dimethylamin oder Ammoniumcarbonat die Darstellung der Hepta-*O*-benzoylmaltose (**63**).

Im Verlauf der Aminolyse mittels Benzylamin bildet sich ein unerwartet stabiles Addukt (siehe Abb. 32), das sich selbst durch die Zugabe von Salzsäure nicht hydrolysieren lässt. Massenspektroskopisch kann dieses Addukt neben Oxidationsprodukten identifiziert werden. Kernspinresonanzexperimente konnten nicht durchgeführt werden, da das Addukt zwischenzeitlich durch Lagerung an der Luft zerstört wurde.

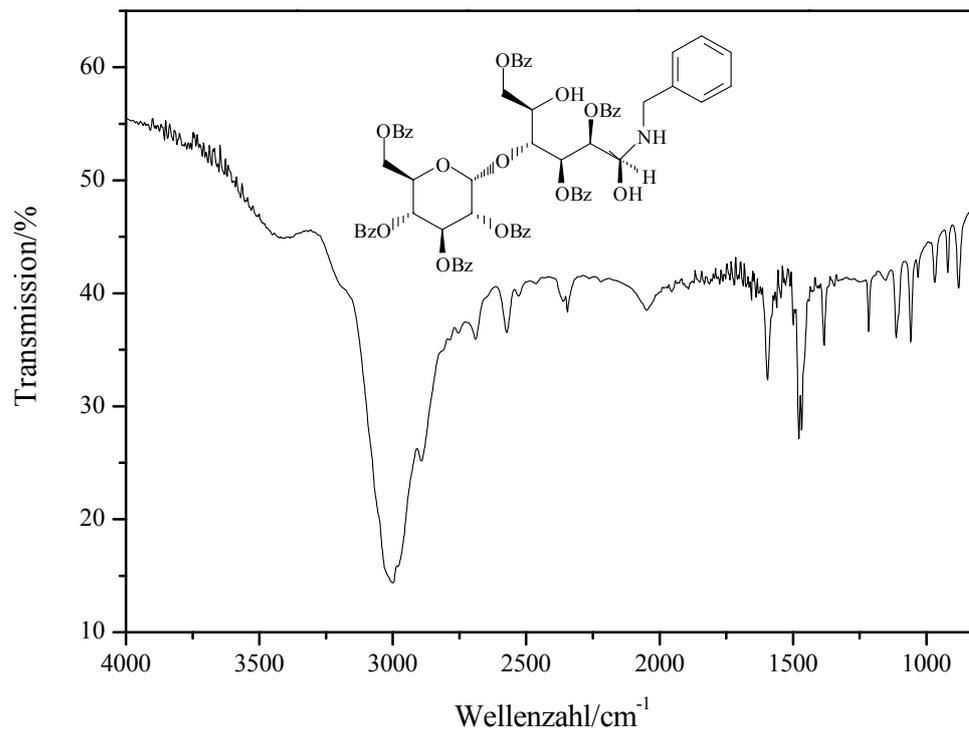
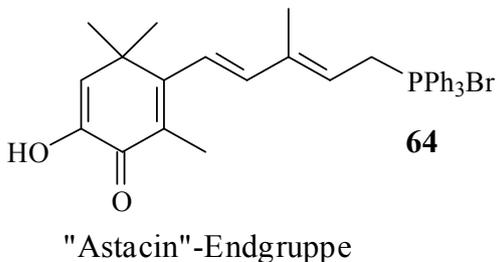
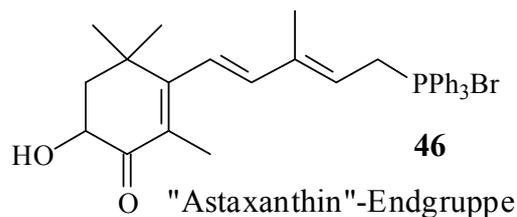
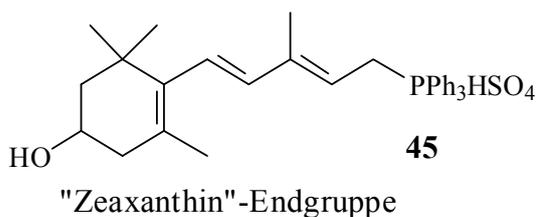


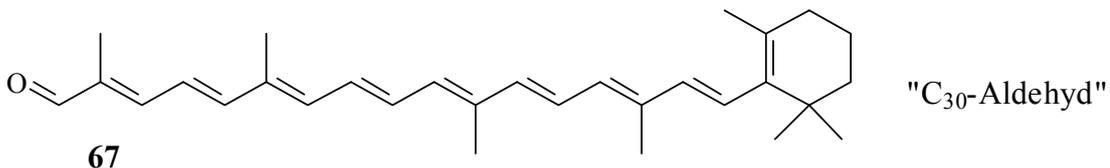
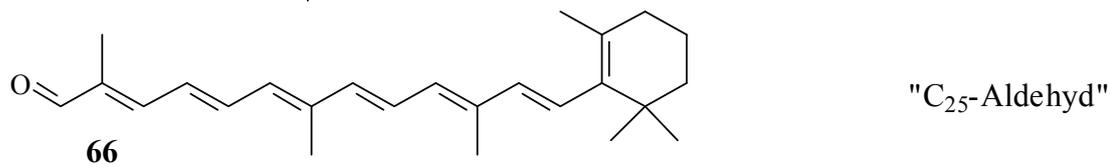
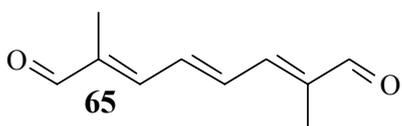
Abb. 32: IR-Spektrum des Adduktes aus Octa-O-benzoylmaltose (**62**) und Benzylamin, (Pressling, KBr).

3.3 Synthese der Carotinoide

Die meisten in dieser Arbeit verwendeten Komponenten, für die Synthese der Carotinoide durch Wittig-Reaktion, wurden wie bereits erwähnt von der BASF zur Verfügung gestellt. Es handelt sich um Phosphoniumsalze, welche die Endgruppen **45**, **46** und **64** darstellen. Die Aldehyde (Apocarotinoide) **66** und **67** tragen bereits das Polyensystem. Der Aldehyd **65** kann für den Aufbau, bzw. die Verlängerung der Polyenkette genutzt werden.

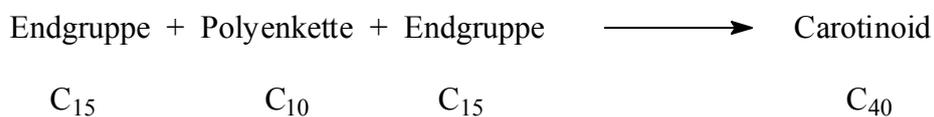


C₁₅-Endgruppen

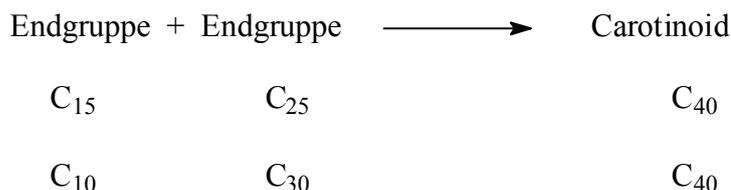


Für die Darstellung der symmetrischen, sowie unsymmetrischen Carotinoide stehen hier prinzipiell drei Möglichkeiten zur Verknüpfung der Carotinoidbausteine zur Verfügung:

symmetrische Carotinoide



unsymmetrische Carotinoide



3.3.1 Der sterische Verlauf der Wittig-Reaktion

Die von Wittig und Schöllkopf entwickelte Methode einer Olefin-Synthese liefert bei der Reaktion von Aldehyden und Ketonen mit Phosphoniumsalzen isomere (*E*)- und (*Z*)-Produkte. Die Ursachen soll hier kurz diskutiert werden.

Im ersten Reaktionsschritt erfolgt die Deprotonierung eines Phosphoniumsalzes, in deren Verlauf ein Ylid entsteht, welches mit der Ylenform in mesomerem Gleichgewicht steht.

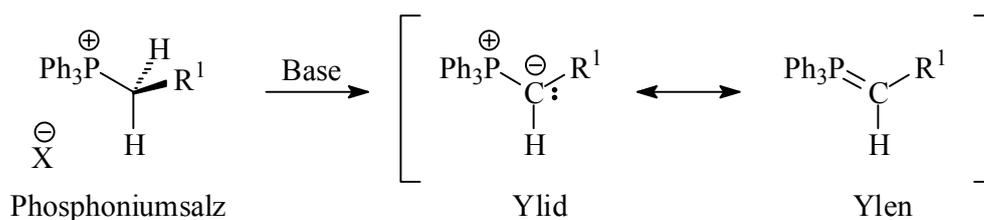


Abb. 33: Aus dem Phosphoniumsalz erfolgt durch Deprotonierung die Ylidbildung.

Für die Entstehung von (*E*)- bzw. (*Z*)-Produkt ist die Form des Oxaphosphetans entscheidend, welches im Verlauf der Reaktion gebildet wird. Der genaue Verlauf der Reaktion ist bis heute nicht bekannt. Zwei alternative Mechanismen für die Bildung des Oxaphosphetans werden diskutiert. Der genaue Verlauf der Reaktion ist nicht bekannt, eventuell folgt die Reaktion je nach den vorherrschenden Bedingungen dem einen oder anderen Mechanismus.

1. Nukleophiler Angriff

Der erste hier diskutierte Mechanismus ist ein zweistufiger. Im ersten Schritt erfolgt ein nukleophiler Angriff des Ylides auf die Carbonylfunktion. Der nukleophile Angriff folgt der Bürgi-Dunitz-Trajektorie zufolge in einem Winkel von 107°. [87] Das Resultat dieses Schrittes ist ein offenkettiges, zwitterionisches Zwischenprodukt. Im zweiten Schritt

erfolgt ein Ringschluss durch den nukleophilen Angriff des Sauerstoffanions auf das Phosphoniumion zum Oxaphosphetan (siehe Abb.: 35 *b, c*).

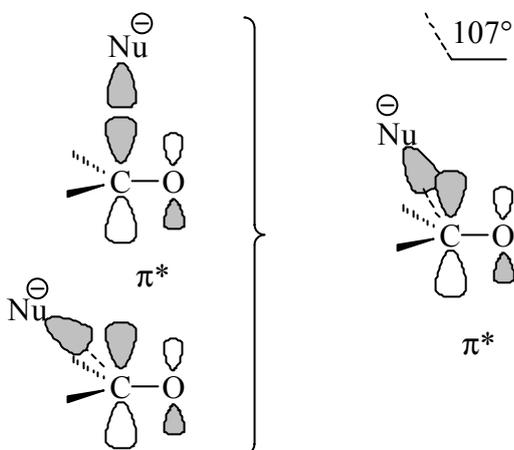


Abb. 34: Der Bürgi-Dunitz-Winkel resultiert aus größtmöglicher Überlappung und geringster elektrostatischer Abstoßung.^[87]

Der erste Schritt, der nukleophile Angriff, bestimmt bereits die Stereochemie der Reaktion. Das planare Ylid (meomeriestabilisiertes Carbanion) greift wie bereits gesagt die Carbonylverbindung entlang der Bürgi-Dunitz-Trajektorie an (Abb. 34). Dabei besitzt der Übergangszustand eine gestaffelte Anordnung. Die aus dieser Geometrie resultierende Tordierung der beiden Moleküle zueinander (siehe Abb. 35, Reaktionen *b, c*) führt dazu, dass einer der Substituenten des Ylides sich besonders stark an die Carbonylfunktion annähert. Aus sterischen Gründen muss diese Position vom kleinsten Substituenten (hier Wasserstoff) eingenommen werden. Daraus ergeben sich zwei diastereomere Übergangszustände.

In aller Regel ist nun der Triphenylphosphonium-Rest des Ylides größer als der Rest R^1 . Daher ist aus sterischen Gründen das Diastereomer nach Reaktionspfad *b* das stabilere: Der große Triphenylphosphonium-Rest des Ylides steht nahe dem kleinen Rest der Carbonylverbindung (Wasserstoff) und der kleine Rest des Ylides (R^1) steht nahe dem großen Rest der Carbonylverbindung (R^2).

Aus diesem Übergangszustand bildet sich das Betain, welches als „ Z^c “-Betain bezeichnet wird. Das „ Z^c “-Betain schließt Ring zum *cis*-Oxaphosphetan, welches zum (*Z*)-Produkt zerfällt.

Aus dem gesagten ergibt sich, dass aus kinetischen Gründen das (*Z*)-Produkt entstehen muss, wenn das Oxaphosphetan in einem zweistufigen Mechanismus über einen nukleophilen Angriff gebildet wird.

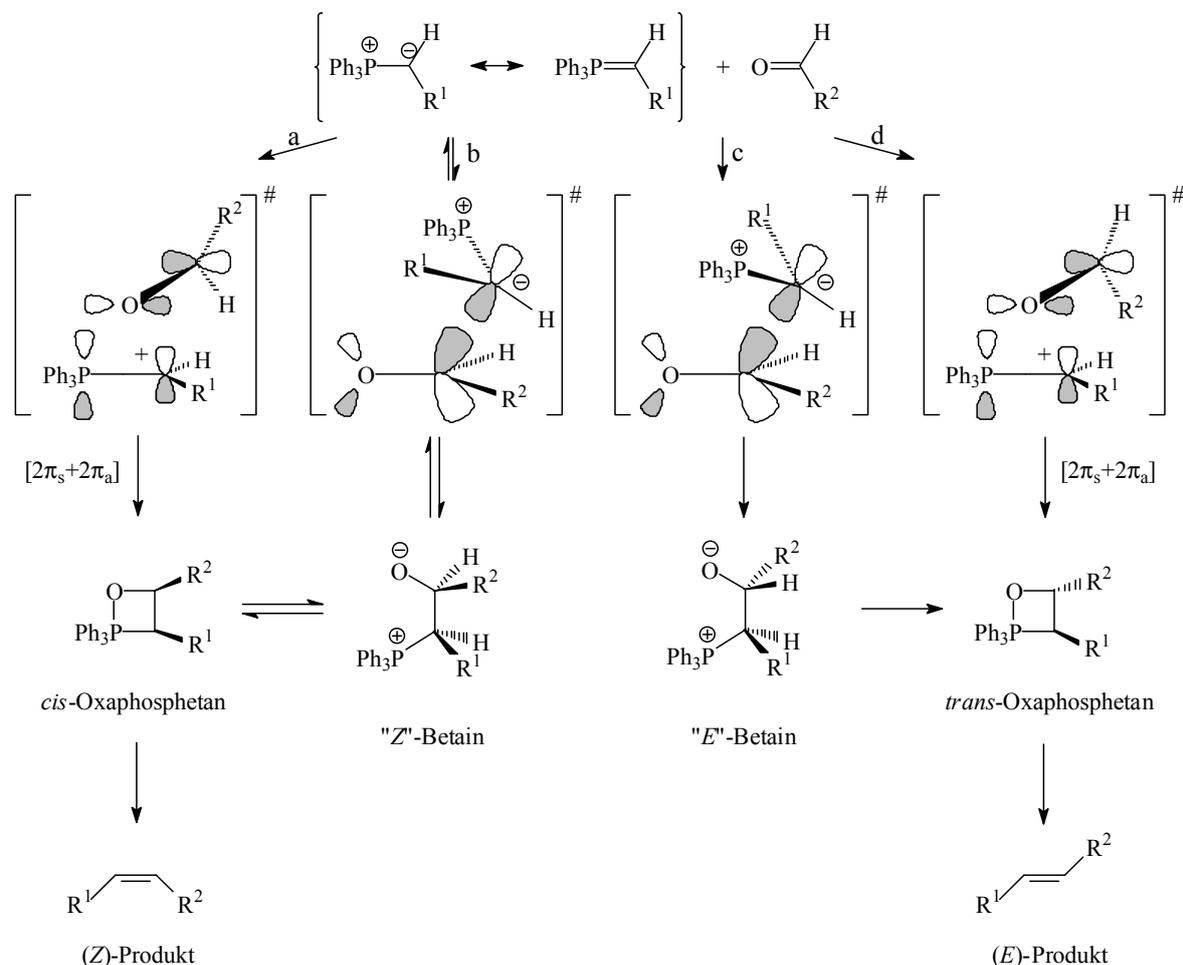


Abb. 35: Sterischer Verlauf der Wittig-Reaktion.^[88]

2. $[2\pi_s+2\pi_a]$ -Cycloaddition

In einem alternativen Reaktionsverlauf wird über eine $[2\pi_s+2\pi_a]$ -Cycloaddition direkt ein Oxaphosphetan gebildet. Die Übergangszustände sind in Abbildung 35, Reaktionswege *a* und *d* gezeigt. Wie bei dem nukleophilen Reaktionspfad gibt es zwei diastereomere Übergangszustände. Im Übergangszustand des Reaktionsweges *d* steht der Rest R^2 der Carbonylverbindung in Richtung auf das Ylid, im Reaktionsweg *a* steht der kleinere Wasserstoff an dieser Position. Daher ist der Reaktionsweg *a* sterisch weniger gehindert und das Produkt dieser Reaktion, das *cis*-Oxaphosphetan das kinetische Produkt.

Im letzten Reaktionsschritt zerfallen die Oxaphosphetane in Triphenylphosphinoxid und das jeweilige Olefin. Die Triebkraft der Reaktion ist die hohe Affinität des Phosphors zu Sauerstoff und die damit verbundene Bildung von Triphenylphosphinoxid.

3. Kinetische und thermodynamische Kontrolle

Unabhängig vom Mechanismus ist die Bildung des *cis*-Oxaphosphetans kinetisch bevorzugt. Für labile Ylide, das sind Ylide, bei denen die negative Ladung am Kohlenstoffatom nicht durch weitere funktionelle Gruppen mesomeriestabilisiert ist, wird daher auch bevorzugt die Bildung des *Z*-Olefins beobachtet.

Für stabilisierte Ylide wird der erste Schritt der Reaktion (speziell für den Weg zum *Z*-Produkt) reversibel. Dies führt zur Einstellung des Gleichgewichtes zwischen *cis*- und *trans*-Oxaphosphetan. Es bildet sich ein Überschuss an stabilerem *trans*-Oxaphosphetan (sterisch) und das *E*-Produkt entsteht bevorzugt.

Es ist also möglich, durch die Wahl der Substituenten am Ylid zu bestimmen, ob die Reaktion kinetisch oder thermodynamisch kontrolliert abläuft.

3.3.2 *all-(E)*-Isomerisierung der Xanthophylle

Durch die Reaktionsbedingungen bei der Wittig-Reaktion entsteht oft ein Isomerenmisch (siehe Kapitel 3.3.1), was dazu führen kann, dass Produkte nicht gut kristallisieren. Darüber hinaus wird die Auswertung der spektroskopischen Daten erleichtert, wenn *all-(E)*-Isomere erhalten werden können. Die Isomerisierung von Carotinoiden erfolgt üblicherweise durch das Erhitzen der gelösten Carotinoide nach Zugabe geringer Mengen Bortrifluoridetherat oder Iod.^[89] Die Zugabe dieser Katalysatoren führt mitunter auch zur Zerstörung der Carotinoide. Im Falle des Iods sind Iodradikale an der Isomerisierung beteiligt, was natürlich konkurrierende Radikalreaktionen wie die Oxidation initiieren kann.

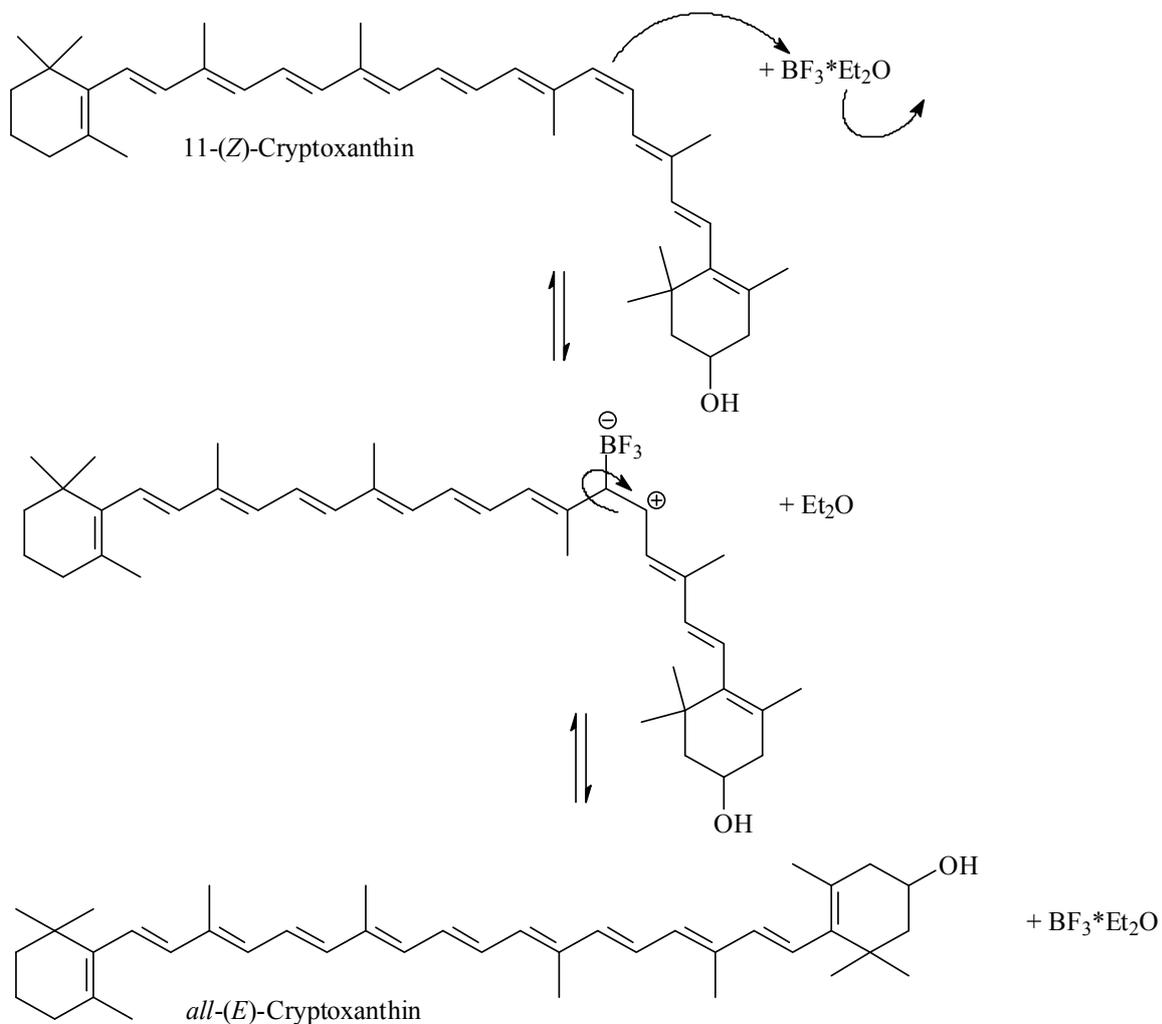
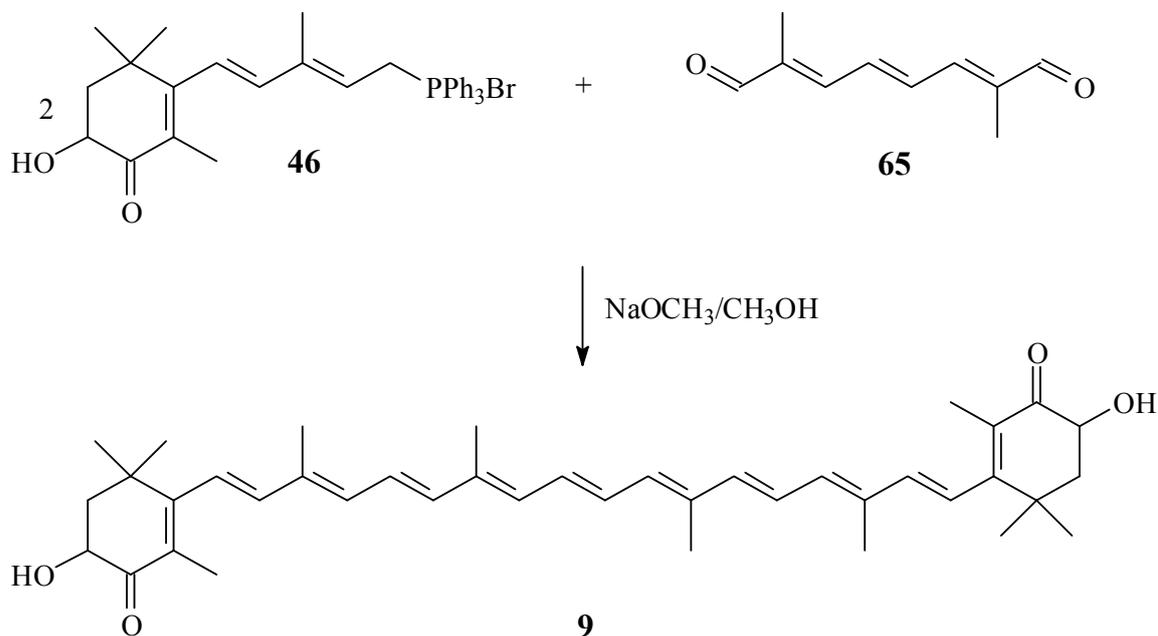


Abb. 36: Mechanismus der *E/Z*-Isomerisierung unter dem Einfluss von Bortrifluoridetherat.

In Zusammenarbeit mit der BASF wurde eine alternative Methode gefunden. Die hier dargestellten Xanthophylle können, in Lösemitteln digeriert, thermisch in die *all-(E)*-Form isomerisiert werden. Dazu wird eine Dispersion der Carotinoide in Heptan, Methanol oder Ethanol erhitzt. Der Verlauf der Isomerisierung kann in einigen Fällen sogar dünnschichtchromatographisch verfolgt werden. Nach der *all-(E)*-Isomerisierung kann es bezüglich der Löslichkeit zu stark veränderten Eigenschaften kommen, so dass weitere Synthesestufen problematisch verlaufen können.

3.3.3 Synthese von Astaxanthin (9)



In den Jahren um 1980 gelingt zwei Arbeitsgruppen die Synthese des Astaxanthins (9) durch die Anwendung der Wittig-Kupplung.

Ausgehend von 2,6,6-Trimethylcyclohex-2-en-1,4-dion (48, Oxoisophoron) gelingt Kienzle und Mayer die Synthese des 5-(4-Hydroxy-2,6,6-trimethyl-3-oxo-cyclohex-1-enyl)-3-methyl-penta-2,4-dienylphosphonium-bromides (46). Sie verwenden beim Aufbau der Endgruppe und der Synthese des Carotinoids die Phenoxyacetylschutzgruppe zum Schutz der Hydroxygruppe an C3. Den C₁₅-Baustein 46 setzten sie sowohl mit C₁₀-Dialdehyd 65 oder auch mit 2,7-Dimethylocta-2,6-dien-4-in-1,8-dial durch anschließende partielle Hydrierung am Lindlar-Katalysator zum (3*S*,3*S'*)-Astaxanthin um.^[90] Widmer und Mitarbeiter hingegen verwenden, wie in dieser Arbeit, das Phosphonium-bromid 46 mit freier Hydroxygruppe.^[91]

Zwei Äquivalente Phosphonium-bromid 46 werden zu 2,7-Dimethylocta-2,4,6-trien-1,8-dial (65) gegeben und in trockenem Methanol gelöst. In die klare, gelbliche Lösung gibt

man spatelweise, in kleinen Portionen, Natriummethanolat. Bereits nach der ersten Zugabe von Methanolat verfärbt sich die Lösung tiefviolett, zu diesem Zeitpunkt erfolgt hauptsächlich die einseitige Reaktion zum kettenverlängerten Aldehyd. Nach vollständiger Zugabe der Base wird die Reaktionsapparatur, für 30 Minuten, in schwachem Gasstrom mit Stickstoff gespült. Die Lösung wird erhitzt, man lässt sechs Stunden unter Rückfluss rühren. Anschließend wird auf Raumtemperatur abgekühlt. Die Kristallisation des Produktes wird in der Kälte vervollständigt. Das Astaxanthin (**9**) wird abfiltriert und säulenchromatographisch an Kieselgel 60 gereinigt. Im Anschluss wird das Xanthophyll **9** bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet, danach beträgt die Ausbeute 60 %. Höhere Ausbeuten konnten hier mit dieser Methode nicht erzielt werden. In der Literatur findet man für die Synthese von Carotinoiden recht hohe Ausbeuten, wenn man die Buddrus-Variante anwendet.^[92]

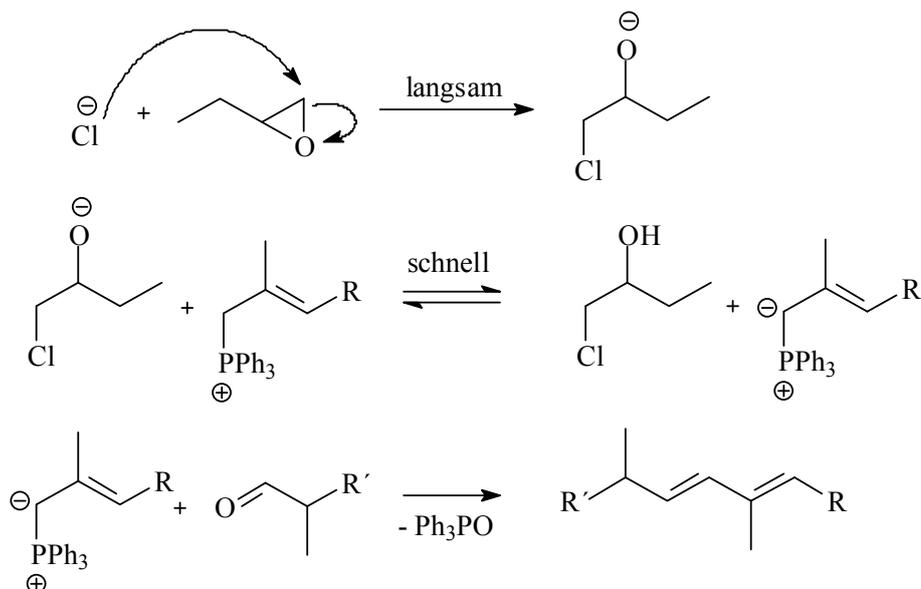


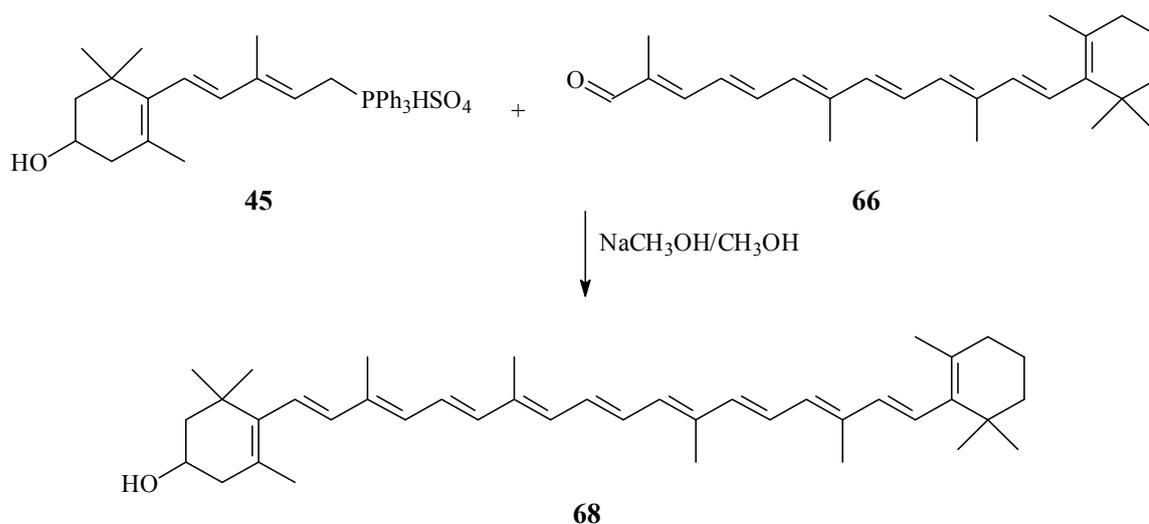
Abb. 37: Mechanismus der Buddrus-Variante.^[92]

Die Buddrus-Variante ist eine alternative, mildere Methode sie verwendet Alkylepoxide zur Erzeugung der Ylide. Voraussetzung ist die Anwesenheit von freien Halogenidionen, da im ersten Reaktionsschritt das Epoxid nukleophil angegriffen wird. Die Halogenidionen stehen durch Dissoziation der Phosphonium-halogenide zu Verfügung. Am besten geeignet scheint hierfür das Bromid-Ion zu sein. Durch diese Ringöffnung entstehen Halogenalkoholate. Die Stoffmenge und die Bildung der Alkoholationen sind dabei bestimmt durch die Dissoziation der Phosphoniumsalze. Die Geschwindigkeit, mit der die Base gebildet wird, ist hauptsächlich abhängig von der Diffusion. Als Resultat ist die

Konzentration der Halogenalkoholate gering, wodurch eine langsame Reaktion abläuft. Dadurch sollte sich, unter diesen milden Bedingungen, die Ausbeute der Reaktion steigern lassen, wieder Erwarten wird dies hier nicht beobachtet. Die Ausbeute sinkt hier, mit der Buddrus-Variante, auf 30 %.

Kienzle und Mayer hingegen weisen mit dieser Methode gute Ausbeuten aus. Widmer und Mitarbeiter verwenden bei der Synthese Natriummethanolat in Methanol.^[90, 91]

3.3.4 Synthese von Cryptoxanthin (68)



Cryptoxanthin (68), ein unsymmetrisches Xanthophyll, kann aus einer Reihe von Früchten isoliert werden, in denen es als Palmitoylester vorkommt.^[93-95]

Im Jahr 1957 gelingt Isler die Synthese mittels Grignard-Reaktion.^[96] Benade zeigt 2001, dass die Synthese des Carotinoids ebenfalls durch eine Wittig-Reaktion erfolgen kann.^[97]

Die Synthese asymmetrischer Carotinoide wurde anfangs kurz skizziert, es werden dabei ein C₁₅- und ein C₂₅-Baustein verknüpft (siehe Kapitel 3.1.2 u. 3.3).

Im Gegensatz zur Methode von Benade werden das [(3-Hydroxy-β-ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-hydrogensulfat (45) und der C₂₅-Aldehyd 66 hier lediglich in technischem Methanol aufgeschlämmt und vorgelegt. Die für die Reaktion notwendige Base, Natriummethanolat wird innerhalb kurzer Zeit in fester Form zugegeben. Die Lösung wird unter Rühren eine Stunde mit Schutzgas gespült. Das Reaktionsgemisch wird sechs Stunden unter Rückfluss erhitzt. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen und vervollständigt die Kristallisation über Nacht in der Kälte. Die Lösung wird filtriert und der Rückstand wird zur Reinigung aus Ethanol kristallisiert. Cryptoxanthin (68) kann in einer Ausbeute von 58 % erhalten werden.

3.3.5 Synthese von 3-Hydroxyechinenon (**69**)

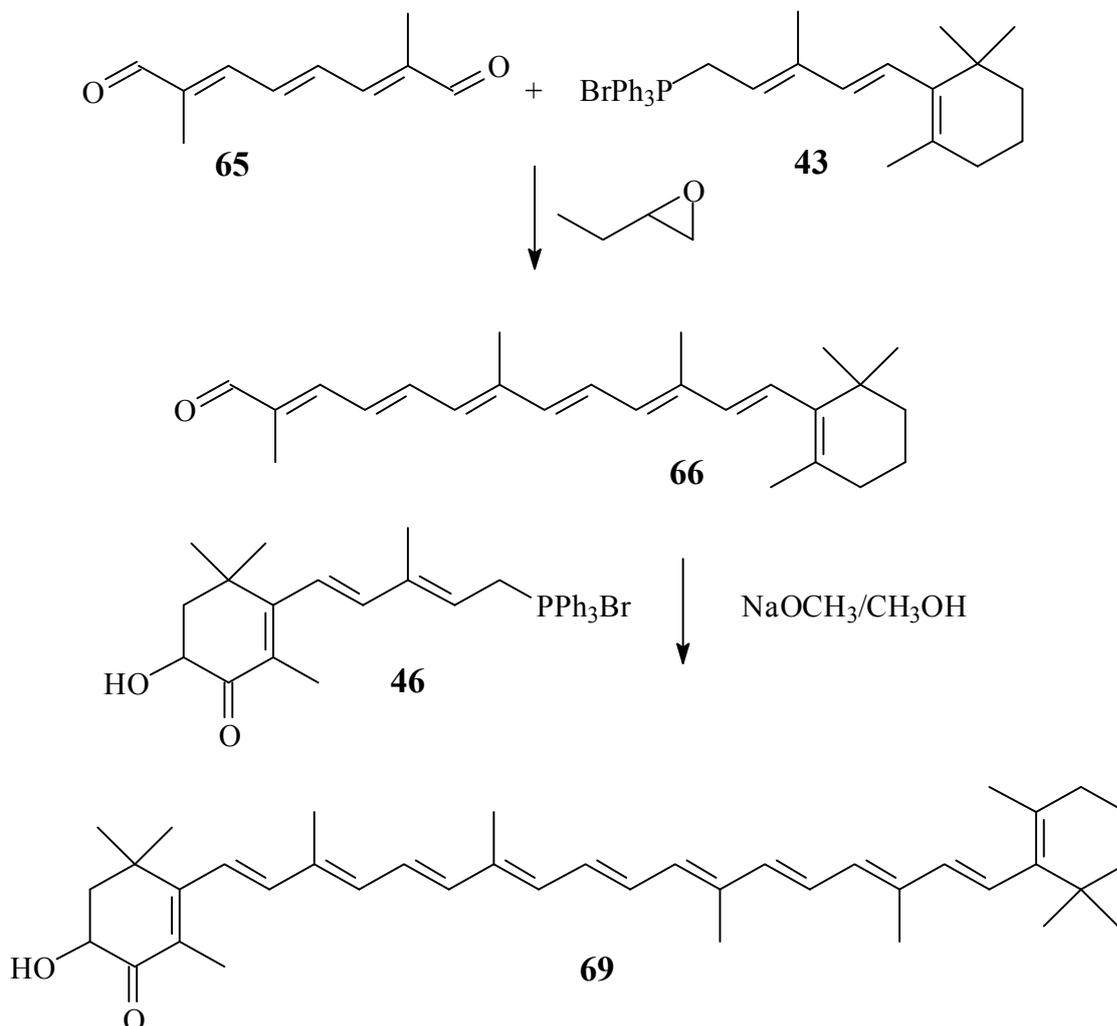


Abb. 38: Syntheseroute des 3-Hydroxyechinenons nach Mayer.^[98]

Die Synthese des (3*R*)- und (3*S*)-Hydroxyechinenons (**69**) gelingt Mayer und Mitarbeitern bereits 1981 durch die Umsetzung von C₂₅-Aldehyd **66** mit den entsprechenden enantiomerenreinen Phosphonium-bromiden **46** in einer Wittig-Reaktion.^[98]

Die für ein asymmetrisches Syntheschema (C₁₅ + C₂₅ = C₄₀) notwendigen C₂₅-Apo-carotinalen erhalten sie durch die Kupplung des 2,7-Dimethylocta-2,4,6-trien-1,8-dial (**65**) und [(β-Ionylidene)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**43**). Das 12'-Apo-β-carotin-12'-al **66** konnte bereits 1937 von Karrer und Mitarbeitern, beim oxidativen Abbau des β-Carotins mit Kaliumpermanganat als Nebenprodukt identifiziert werden.^[99]

Mayer setzt den Aldehyd **66** in einer Wittig-Reaktion mit den isomerenreinen [(3-Hydroxy-4-oxo-β-ionylidene)ethyl]triphenylphosphonium-bromiden **46** zu den isomeren

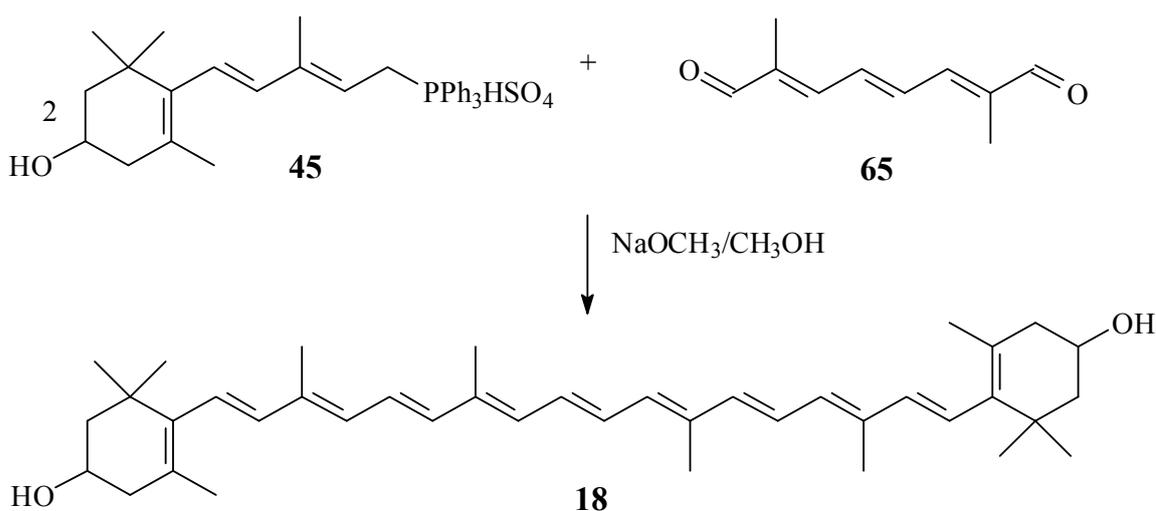
(3*R*)- und (3*S*)-Hydroxyechinenon (**69**) um. Sie verwenden in separaten Reaktionen sowohl 1,2-Epoxybutan als Base und Lösungsmittel (Buddrus-Variante) sowie 1 N methanolische Natriummethanolat-Lösung als Base.

Die Darstellung des 3-Hydroxyechinenons (**69**) erfolgt hier, in Analogie zu Mayer, in einer Wittig-Reaktion. Unter basischen Bedingungen wird das 12'-Apo- β -carotin-12'-al **66** mit dem [(3-Hydroxy-4-oxo- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**46**) umgesetzt.

Die Substanzen werden dazu in trockenem Methanol suspendiert. Als Base dient hier ebenfalls Natriummethanolat, es wird jedoch in fester Form portionsweise zugegeben. V11 Nach vierstündigem Erhitzen zum Rückfluss wird das Volumen der Lösung am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck reduziert. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und die Lösung mit 0.5 M Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Puffer neutralisiert. Man trennt von der wässrigen Phase, um die organische Phase dann mit Wasser zu waschen. Die Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet. Im Anschluss entfernt man das Lösungsmittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer.

Der so erhaltene Rückstand wird erst aus Methanol und anschließend aus Heptan kristallisiert. Die Trocknung des Produktes **69** erfolgt bei Vakuum und Raumtemperatur. Die Ausbeute an 3-Hydroxyechinenon (**69**) beträgt nach diesem Verfahren 56 %.

3.3.6 Synthese von Zeaxanthin (**18**)



Zeaxanthin (**18**), das aus seinem Dipalmitat, dem Physalien, durch alkalische Hydrolyse freigesetzt werden kann, spielt eine wichtige Rolle in der Vegetation und kann daher aus sehr vielen Pflanzen isoliert werden.^[100]

Es beeinflusst im Xanthophyllzyklus die Effektivität der Photosynthesereaktion, indem es bei Bedarf für eine Wärmeabfuhr sorgt. Bei starker Lichteinstrahlung wird Violaxanthin (**71**) mit Hilfe von Ascorbat und NADPH_2 via Antheraxanthin (**70**) zum Zeaxanthin (**18**) reduziert. In einer Dunkelreaktion erfolgt durch Epoxidase katalysiert die Rückreaktion zum Violaxanthin (**55**) (siehe Abb. 39).^[101-103]

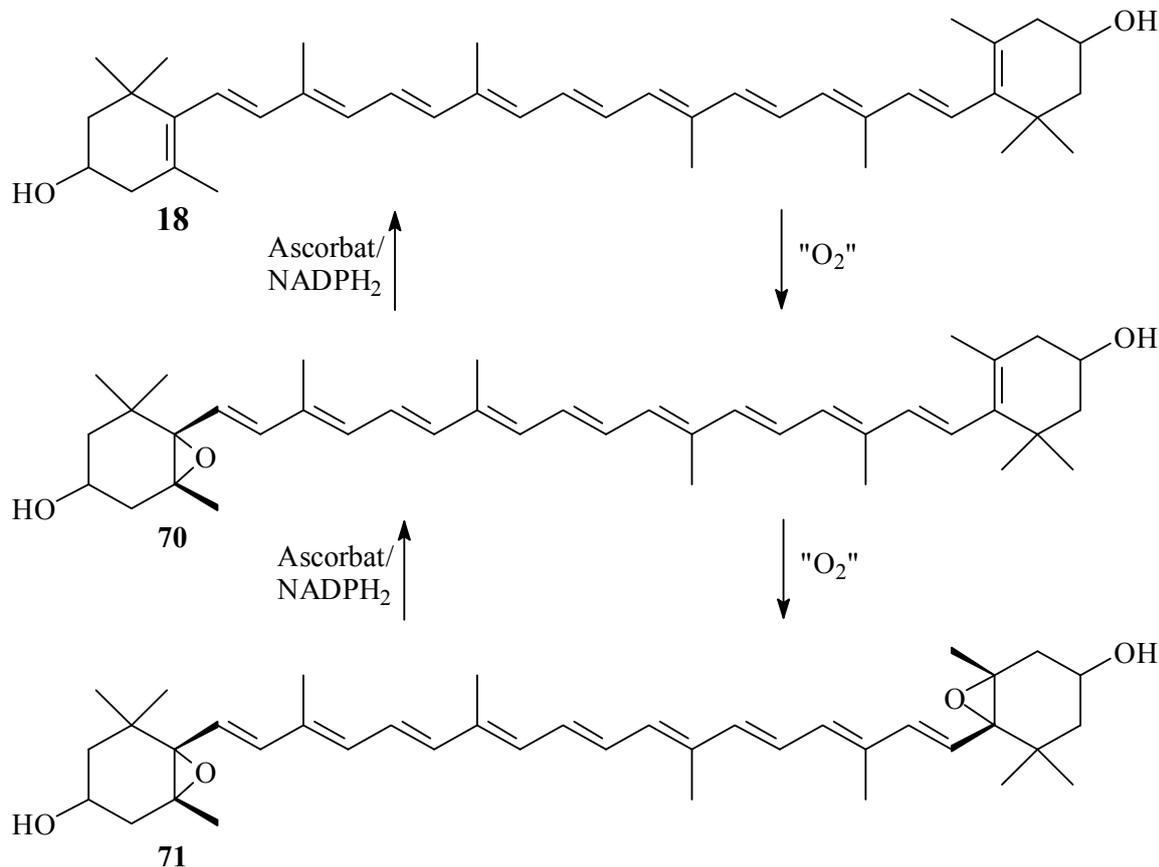


Abb. 39: Schema der Wirkungsweise des Xanthophyllzyklus.^[104]

Isler und Mitarbeiter erhalten Zeaxanthin nach einem Verfahren, das sie zuvor erfolgreich für die Synthese von β -Carotin nutzten. Das Bauprinzip entspricht der Verknüpfung zweier C_{19} -Bausteine, welche die Funktionalität der Endgruppe tragen, mit einem C_2 -Baustein ($\text{C}_{19} + \text{C}_2 + \text{C}_{19} = \text{C}_{40}$).^[96]

Die Synthese des C_{19} -Bausteins erfolgt in einer Sequenz von elf Reaktionen ausgehend vom 3,5,5-Trimethyl-2-cyclohexen-1-on (**72**, Isophoron) stellen sie einen Acetoxy-*iso*- C_{19} -Aldehyd (**73**) her (siehe Abb. 40) Zwei dieser Fragmente verknüpfen sie in einer Grignard-Reaktion durch Acetylenbis(magnesiumbromid). Es schließen sich noch eine Allylumlagerung und palladiumkatalysierte Reduktion des Carotinoidvorläufers **74** zum Zeaxanthin (**18**) an.

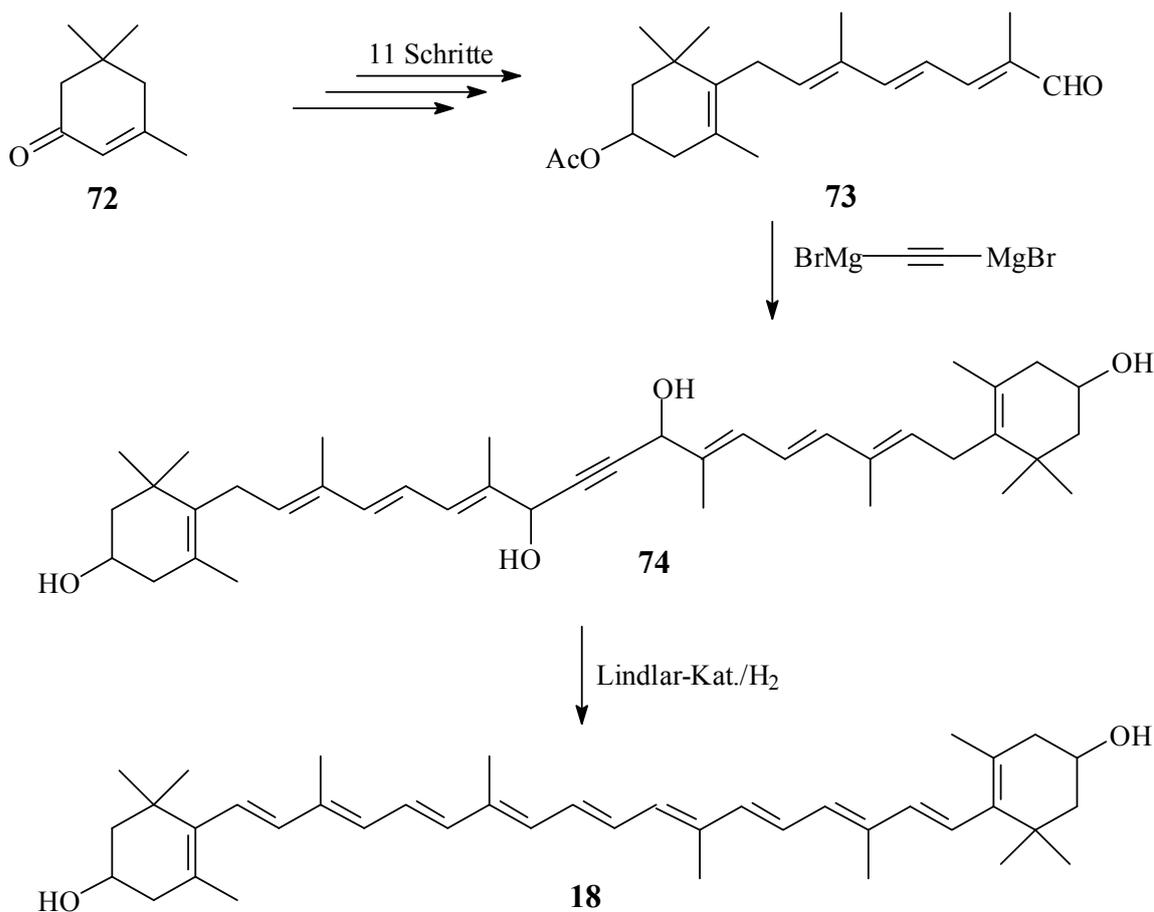


Abb. 40: Schema der Darstellung des Zeaxanthin nach Isler.^[96]

Rüttimann und Mayer berichten 1980 von einer Methode, die es erlaubt die drei optischen Isomere des Zeaxanthins (**18**) herzustellen.^[105] Ausgehend von Safranal, dass sie mit Diisobutylaluminiumhydrid (DIBAH) zum Safranol reduzieren, gelingt ihnen in einer asymmetrischen Hydroborierung die Darstellung der an C3 chiralen Endgruppen. In einer Reihe von Reaktionen stellen sie die optisch aktiven C₁₅-Phosphonium-chloride (**45a**) dar, welche sie in einer Wittig-Kupplung mit dem 2,7-Dimethylocta-2,4,6-trien-1,8-dial (**65**) zum Zeaxanthin (**18**) umsetzen.

Die Darstellung, des bezüglich seiner Endgruppen symmetrischen Carotinoides Zeaxanthins (**18**) erfolgt hier in Analogie durch die Umsetzung von C₁₀-Dialdehyd (**65**) und der zweimolaren Menge an [(3-Hydroxy-β-ionyliden)ethyl]triphenylphosphoniumhydrogensulfat (**45**) in einer Wittig-Reaktion.

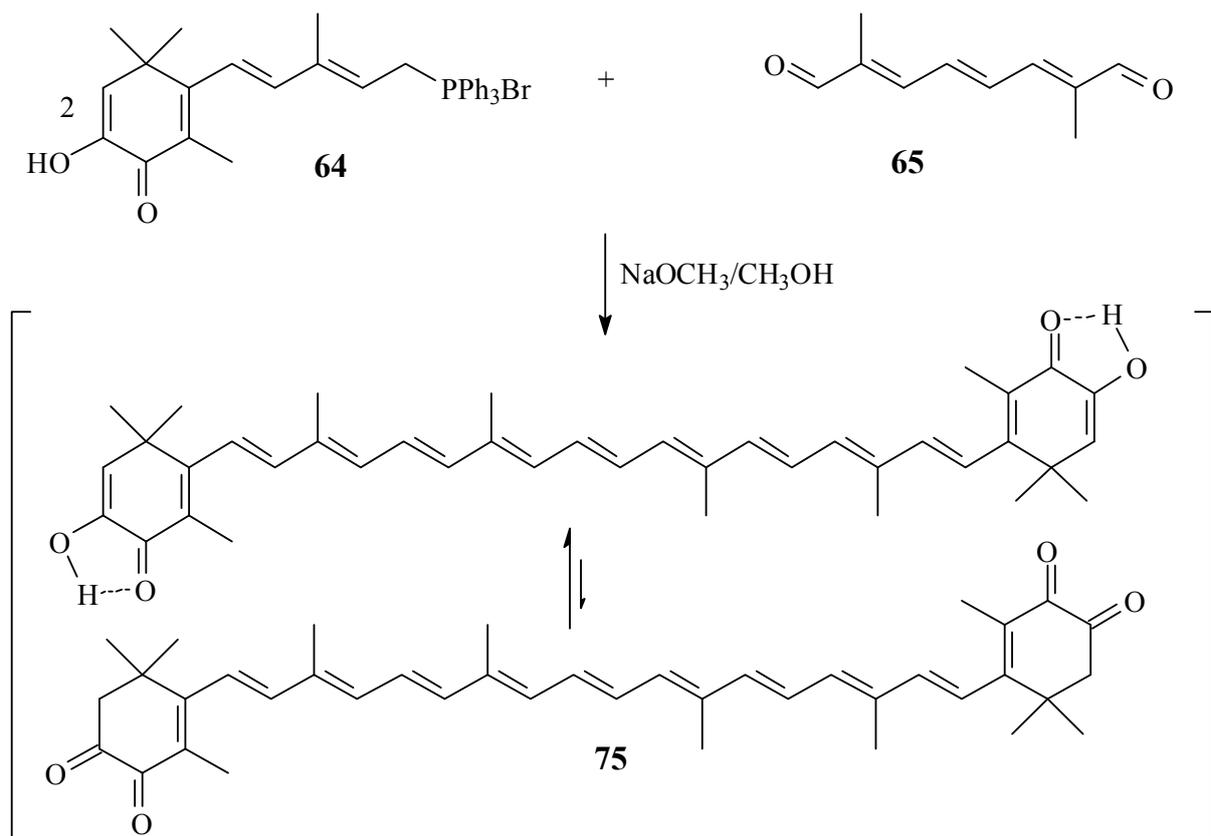
Im Rahmen dieser Arbeit werden das Hydrogensulfat **45** und der Dialdehyd **65** in technischem Methanol gelöst und vorgelegt. Natriummethanolat, in fester Form, dient hier als Base und wird in kleinen Portionen zugegeben, bereits nach der ersten Zugabe verfärbt sich die Lösung tiefrot. Nach Beendigung der Zugabe wird die Lösung kurze Zeit

mit Stickstoff durchspült und dann für vier Stunden zum Rückfluss erhitzt. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch DC an Kieselgelplatten, als Eluent dient ein Lösungsmittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:3).

Zur Beendigung der Reaktion wird die Lösung durch die Zugabe von 0.5 M Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Puffer (pH = 7,2) neutralisiert. Man entfernt den größten Teil des Methanols am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck und erhöht dann das Volumen der verbleibenden Lösung mit Dichlormethan.

Die organische Phase wird abgetrennt und mit Wasser gewaschen, bevor sie mit Natriumsulfat getrocknet wird. Das Lösungsmittel wird bis zur Trockene am Rotationsverdampfer entfernt. Das Xanthophyll **18** wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 (Hexan/Essigester, 1:2) gereinigt. Die Ausbeute an Zeaxanthin (**18**) beträgt nach dieser Vorgehensweise 36 %.

3.3.7 Synthese von Astacin (75)



Astacin soll hier als Referenz für die Identifizierung von Nebenprodukten durch Dünnschichtchromatographie bzw. HPLC-UV/VIS verwendet werden. Die Glykosylierung von Astaxanthin (**9**) nach der Koenigs-Knorr-Methode verläuft durch die

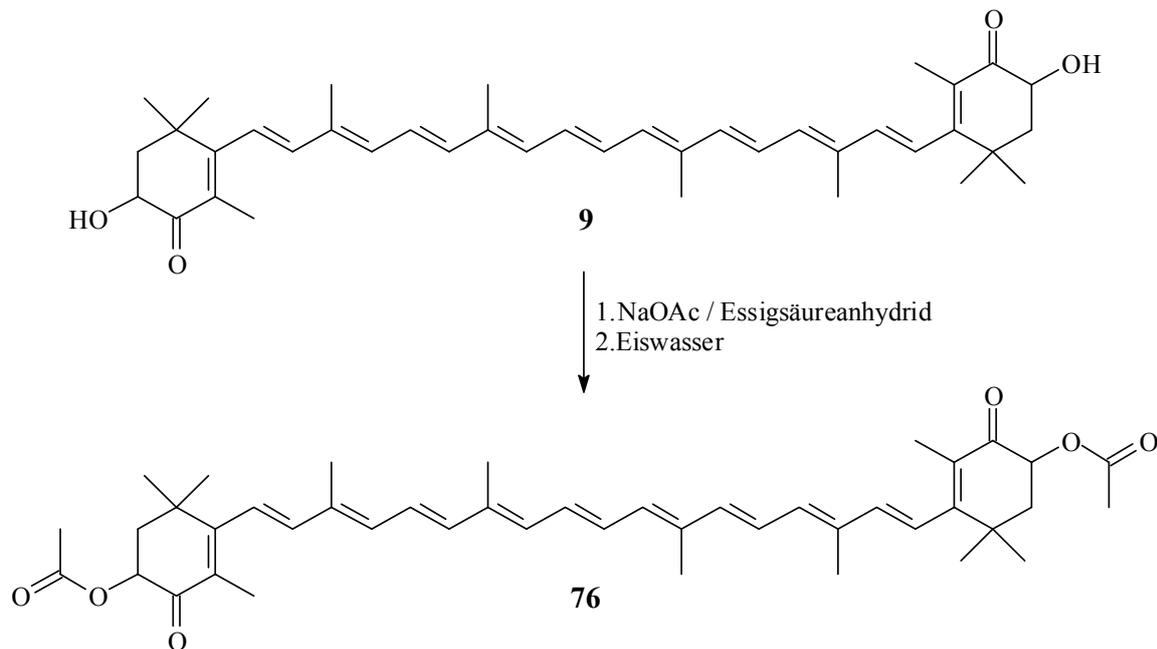
Anwesenheit von Silbercarbonat unter für Alkohole oxidativen Bedingungen. Ein mögliches Nebenprodukt ist also das Oxidationsprodukt. Das Astacin (**75**) ist ein Tetraketon, welches jedoch durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken stabilisiert in der Enol-Form vorliegt

Astacin konnte von Hager und Stransky aus der Pfeil-Grünalge (*Ankistrodesmus*) isoliert werden.^[106] Bernhard und Mitarbeiter erhalten das Astacin (**75**) durch unbeabsichtigte Oxidation bei der Darstellung von Astaxanthin (**9**).^[107]

In einer Wittig-Reaktion werden hier das [(2-Dehydro-3-hydroxy-4-oxo- β -ionyliden)-ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**64**) und das 2,7-Dimethyl-octa-2,4,6-trien-1,8-dial (**65**) umgesetzt. Dazu werden zwei Äquivalente des Bromides **64** und der C₁₀-Dialdehyd **65** in trockenem Methanol vorgelegt. Die zu dem Phosphonium-bromid **64** zweimolare Menge an feinkristallinem Natriummethanolat wird portionenweise beigelegt. Nach der Zugabe der Base wird das Reaktionsgefäß mit Stickstoff gespült, bevor die Lösung zum Rückfluss erhitzt wird. Man rührt so lange bei dieser Temperatur, bis durch dünnschichtchromatographische Reaktionskontrolle keine Veränderung, des Edukt-Produkt-Verhältnisses, mehr festgestellt werden kann.

Zur Beendigung der Reaktion lässt man die Lösung abkühlen, um dann mit 0.5 M Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Puffer das Reaktionsgemisch zu neutralisieren. Die methanolische Lösung wird am Rotationsverdampfer, unter vermindertem Druck, eingengt. Ist das Volumen der Lösung auf ein Zehntel seiner Größe reduziert, wird mit reichlich Methylenchlorid versetzt und vom Wasser befreit. Die organische Phase wird danach mittels Wasser salzfrei gewaschen. Die organische Phase wird über Calciumchlorid getrocknet. Im Anschluss wird am Rotationsverdampfer das gesamte Lösungsmittel entfernt. Durch Kristallisation aus Methanol und daran anschließender Säulenchromatographie an Kieselgel 60 (Laufmittel: Hexan/Essigester (1:2), R_F-Wert: 0.86) gelingt die Reinigung des Produktes. Das Carotinoid **75** wird im Vakuum (50 °C; 15 mbar) getrocknet und in 54%iger Ausbeute erhalten.

3.3.8 Synthese von Astaxanthindiacetat (76)



Astaxanthindiacetat (**76**) soll hier ebenso wie das Astacin als Modells substanz synthetisiert werden. Dies ist von Interesse, weil bei der Glykosylierung nach Koenigs-Knorr die Möglichkeit besteht, dass in einer Nebenreaktion das intermediär gebildete Alkoholat des Xanthophylls **9** nicht wie gewünscht mit dem Glykosylhalogenid **29** zum Glykosid, sondern in einer Umesterungsreaktion zum Acetat **76** reagiert. Astaxanthindiacetat (**76**) soll, wie das Astacin (**75**) als Referenz für die HPLC dienen.

Johansen und Mitarbeiter überführen zur Charakterisierung Xanthophylle, die sie aus Algen isolierten in ihre Acetate. Dies gelingt ihnen durch die Acylierung mittels Essigsäureanhydrid und Pyridin.^[108]

V15

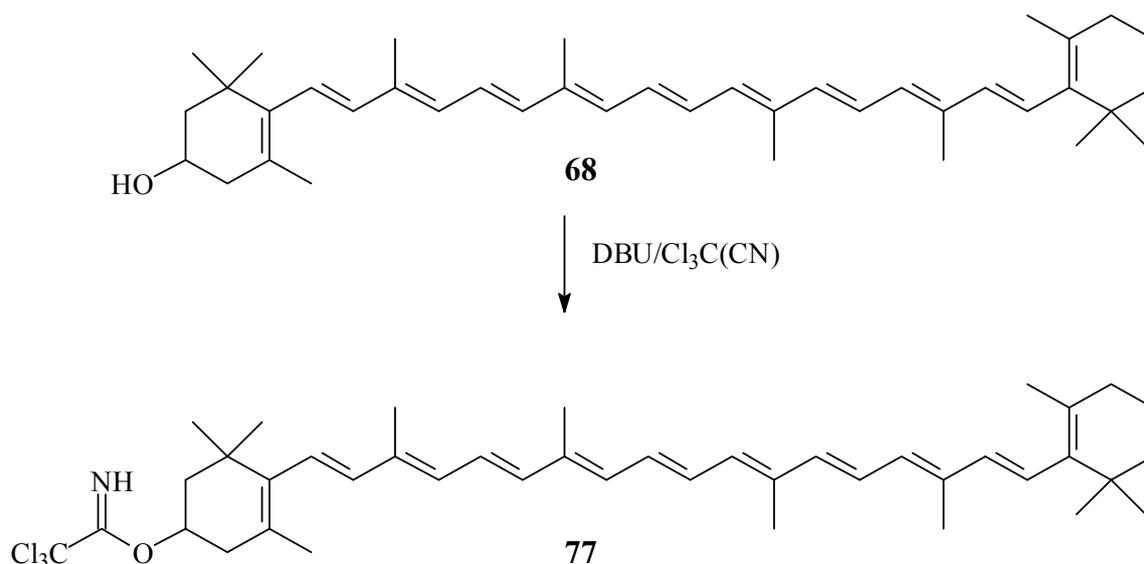
Hier erfolgt die Synthese von Astaxanthindiacetat (**76**) durch die Veresterung des Astaxanthins (**9**) durch Essigsäureanhydrid mit Hilfe von Natriumacetat.

Man suspendiert das Xanthophyll **9** mit zehn Äquivalenten Base in 25 Äquivalenten Essigsäureanhydrid. Die Suspension wird für 30 Minuten mit Stickstoff gespült, anschließend erhitzt man sie auf 80 °C. Erst in der Hitze lösen sich die Edukte. Der Reaktionsverlauf wird durch Dünnschichtchromatographie verfolgt. Bereits nach einer Stunde kann man vollständigen Umsatz feststellen.

Zur Beendigung der Reaktion wird das noch heiße Reaktionsgemisch schnell auf Eiswasser gegossen. Aufgrund der hydrophoben Eigenschaften der Carotinoide bildet das Rohprodukt in der wässrigen Lösung eine hochviskose Masse aus. Mit Methylenchlorid

erhöht man das Volumen, trennt dann die organische Phase ab und wäscht diese Lösung mit Wasser säurefrei. Das Produkt wird zur Reinigung aus trockenem Methanol kristallisiert und bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet. Das Diacetat **76** kann in einer Ausbeute von 85 % erhalten werden.

3.3.9 Synthese von Cryptoxanthintrichloracetimidat (**77**)

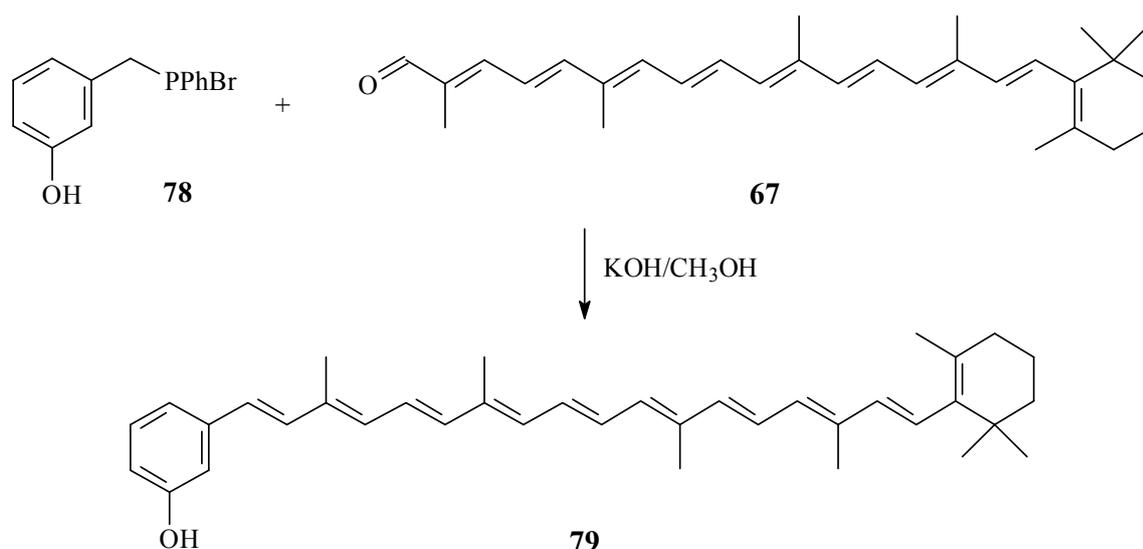


Als Alternative zur Glykosylierung von Cryptoxanthin (**68**) durch die unterschiedlich aktivierten Kohlenhydratderivate, sollte hier ebenso das Carotinoid selbst aktiviert werden. Aus diesem Grund wird es in das Trichloracetimidat **77** überführt, damit es dann lewissäurekatalysiert mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**) zur Reaktion gebracht werden kann.

Cryptoxanthin (**68**) wird in trockenem Methylenchlorid gelöst vorgelegt. Bei Raumtemperatur wird es mit 0.25 Äquivalenten DBU versetzt. Im Anschluss wird die Lösung unter Stickstoffatmosphäre gerührt. Nachdem die Lösung eine Stunde mit Schutzgas gespült wurde, erfolgt das Zutropfen 1.2 M Menge Trichloracetonitril, welches in trockenem Methylenchlorid gelöst ist. Der Verlauf der Reaktion wird mittels DC an Kieselgel 60-Platten kontrolliert, als Laufmittel dient ein Lösungsmittelgemisch aus Hexan/Essigester im Verhältnis 1:2. Das Produkt **77** besitzt unter diesen Bedingungen einen Retentionsfaktor von 0.86. Zur Beendigung der Reaktion eluiert man von Kieselgel 60 (Fa. *Merck*), auf das man das Reaktionsgemisch adsorbiert hat. Auf dem sauren Kieselgel findet allerdings auch schnell die Hydrolyse des Imidates **77** statt.

Damit die Verweildauer des Produktes am Kieselgel möglichst kurz ist, wird dabei mit Hilfe einer Membranpumpe und einer Saugflasche ein gelinder Unterdruck erzeugt (siehe Kap. 4.3.1). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt, um das Imidat **77** anschließend aus Diethylether zu kristallisieren. Es bilden sich dunkelbraun gefärbte, filzige, lange Nadeln. Die Ausbeute an Rohprodukt beträgt nach dieser Prozedur 45 %.

3.3.10 Synthese von 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (**79**)



Hand, Belmore und Kispert haben den Einfluss elektronenziehender und -donierender Substituenten in Arylverbindungen vom Typ **78** bei der Reaktion nach Wittig untersucht. Durch die Reaktion von Benzylphosphoniumsalzen mit dem Aldehyd **67** gelang es ihnen eine Reihe von aromatischen Carotinoiden zu synthetisieren. Dazu wählten sie allerdings den Umweg über die entsprechenden Ylide, die sie durch die Verwendung von Butyllithium, Natriumhydrid oder Natronlauge (50 %) erzeugten. Die Phosphorylide wurden dann mit dem C₃₀-Aldehyd **67** in Tetrahydrofuran/Dichlormethan gelöst und bei Raumtemperatur oder Temperaturen bis 60 °C zur Reaktion gebracht.^[109]

V12

In einer Wittig-Reaktion wird hier 8'-Apo- β -carotin-8'-al (**67**, C₃₀-Aldehyd) mit dem 3-Hydroxybenzyltriphenylphosphonium-bromid (**78**) zum 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (**79**) umgesetzt. Dazu werden sechs Äquivalente des Phosphoniumsalzes **78** in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und eine Stunde in gelindem Gasstrom mit Argon gespült. Unter Kühlung mit einem Eis-Kochsalzbad erfolgt die Zugabe von Butyllithium. Nachdem die gesamte Menge Base zugegeben ist erhält man eine dunkelorange Lösung. Man tropft bei Raumtemperatur innerhalb 30 Minuten den Aldehyd **67**, in Dichlormethan

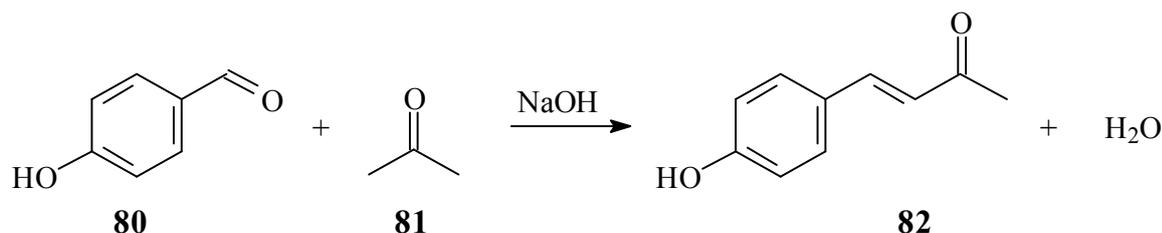
gelöst, hinzu und rührt die Lösung für eine weitere Stunde. Der Verlauf der Reaktion wird nach der Zugabe des Aldehydes **67** dünnschichtchromatographisch an Kieselgel 60 verfolgt, als Laufmittel dient dabei ein Gemisch aus Toluol und Ethylacetat (9:1). Das Norcarotinoid **79** kann mit einem Retentionsfaktor von 0.62 als orangefarbener Punkt unterhalb des Aldehydes **67** (R_f -Wert: 0.65) detektiert werden. Nachdem man durch DC keine Veränderung mehr im Edukt/Produkt-Verhältnis zu erkennen kann, wird die Reaktion durch die Zugabe von hoch verdünnter Schwefelsäure (5%ig) beendet. Man trennt die organische Phase von der wässrigen Phase und wäscht diese mit Chloroform. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittelgemisch wird unter vermindertem Druck, am Rotationsverdampfer entfernt. Im Vorhinein wird die größte Menge des Aldehydes **67** an einer kurzen Filtersäule abgetrennt. Die Reinigung des Produktes erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60. Dazu wird ein Lösemittelgemisch von Hexan/Essigester/Triethylamin (4:4:1) an Kieselgel 60 als Laufmittel verwendet. Durch die Zugabe von Triethylamin wird das phenolische Carotinoid **79** in seinem Adsorptions- und Fließverhalten stark beeinflusst. Auf diese Weise kann eine bessere Trennung erreicht werden. Die endgültige Reinigung erfolgt an einer langen Chromatographiesäule mit dem gleichen Laufmittel. Der Aldehyd **67** besitzt unter diesen Bedingungen einen Retentionsfaktor von 0.82 und das Norcarotinoid **79** einen Retentionsfaktor von 0.64. Erst wenn der C_{30} -Aldehyd **67** abgetrennt ist, wechselt man zu einem Laufmittelgemisch von Hexan/Essigester (1:1). Das Laufmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt und das Carotinoid **79** anschließend im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet. Die Ausbeute beträgt 30 %.^[110]

3.3.11 Synthese von Endgruppen für die Carotinoïdsynthese

3.3.11.1 Synthese von 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (**82**)

Aus dem bärtigen Helmkraut kann das 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (**82**) isoliert werden. Bärtiges Helmkraut welches antimikrobiell wirkt, findet zudem auch in der Therapie von verschiedenen Krebsarten Verwendung.^[111, 112]

Hier soll das Butenon **82** als Ausgangsverbindung für die Synthese eines C_{15} -Bausteines in der Carotinoïdsynthese dienen und sollte als solcher hier glykosyliert werden. (siehe Kapitel 3.4.1.1) Die Darstellung lässt sich in recht guten Ausbeuten realisieren. Hier werden zwei mögliche Wege zur Synthese genutzt.



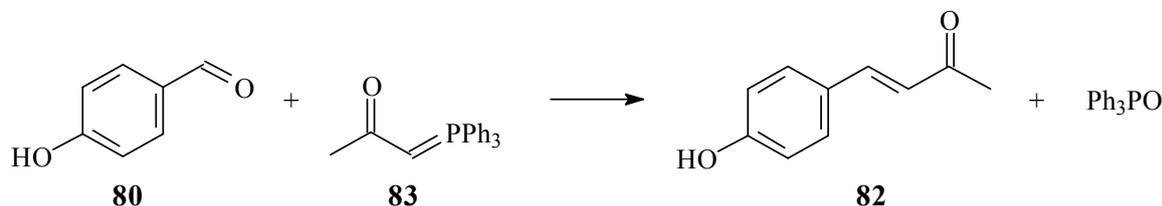
In einer basischen Aldolkondensation mittels Natronlauge kann man 2-Propanon (**81**, Aceton) und 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) zum 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (**82**) kondensieren. Dazu löst man 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) in Aceton (**81**) und fügt festes Natriumhydroxid hinzu. Man erhitzt zum Rückfluss und kann nach kurzer Reaktionszeit das Produkt abfiltrieren. Auf diese Weise erhält man das Butenon **82** nach Kristallisation aus Methanol in einer Ausbeute von 60 %.

V23A

Kad löst den Benzaldehyd **80** in Natronlauge, nach der Zugabe äquimolarer Menge 2-Propanon (**81**) setzt er diese Lösung, in einem, mit einem Uhrglas abgedeckten Becherglas, 15 Minuten lang der Mikrowellenstrahlung (150W) aus. Auf diese Weise erhält er das Produkt **82** in einer Ausbeute von 65 %.^[113]

Unter den basischen Bedingungen der Aldolkondensation ist in Abhängigkeit vom pH-Wert des Reaktionsgemisches die Bildung von 1,5-Bis-(4-hydroxyphenyl)penta-1,4-dien-3-on als Nebenprodukt denkbar. Durch den großen Überschuss an Aceton ist diese Reaktion jedoch weitestgehend unterdrückt. Ebenso kann unter den gewählten Bedingungen weder die Bildung von 4-Methylpent-3-en-2on, 2,6-Dimethylhepta-2,5-dien-4-on noch Isophoron (**72**) beobachtet werden.

Da das Butenon **82** hier vermehrt für die Untersuchung von Glykosylierungsmethoden benötigt wird, wird es zusätzlich in einer Wittig-Reaktion dargestellt, da diese Synthese eine höhere Ausbeute liefert.



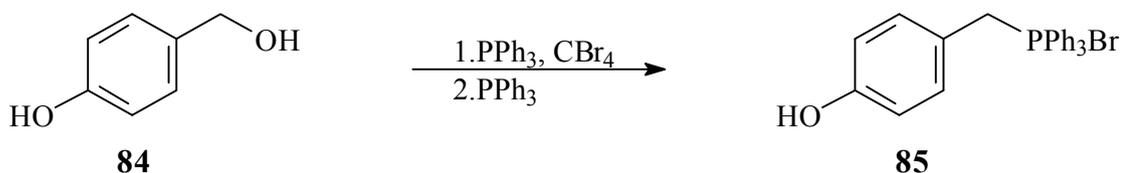
V23B

Ausgehend von Chloraceton kann man durch die Reaktion mit Triphenylphosphin und anschließender Deprotonierung durch 10%ige Natriumcarbonatlösung leicht das Acetonylidetriphenylphosphoran (**83**) erhalten. Das Ylid **83** und das 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) werden in Benzol gelöst und fünf Stunden zum Rückfluss erhitzt. Am Rotationsverdampfer wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Das phenolische

Butenon **82** wird mehrfach aus Methanol (96 %) kristallisiert und im Vakuum getrocknet (15 mbar, 60 °C). Das Produkt kann in einer Ausbeute von 72 % erhalten werden.

3.3.11.2 Synthese von

(4-Hydroxyphenyl)methyltriphenylphosphonium-bromid (**85**)



Phosphoniumsalze werden üblicherweise aus Halogenidverbindungen und Triphenylphosphin synthetisiert. Die dafür benötigten Halogenide können durch radikalische Halogenierung, z. B. Wohl-Ziegler-Bromierung dargestellt werden. Für die Synthese des Phosphonium-bromid **85** hätte man übel riechendes *p*-Kresol (**86**) zum entsprechenden Benzylbromid **87** umsetzen müssen. Eine Alternative zur radikalischen Halogenierung stellt die Halogenierung durch Substitution aus einem Alkohol dar. In einer anschließenden Reaktion mit Triphenylphosphin würde das Phosphoniumsalz erhalten.

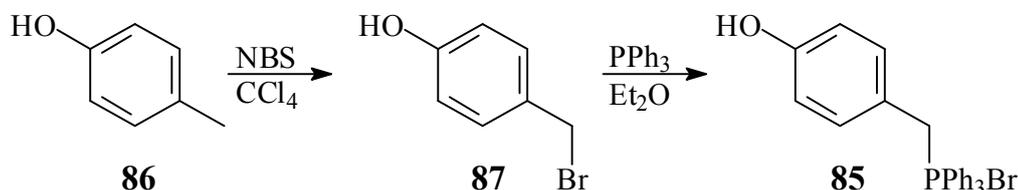


Abb. 41: Synthesesequenz zur Darstellung von Verbindung **85** nach „Standardmethoden“.

Eine einfache „Eintopfreaktion“ bietet jedoch die Möglichkeit der direkten Synthese des (4-Hydroxyphenyl)methyltriphenylphosphonium-bromid (**85**) durch die *in situ* Bromierung von *p*-Hydroxybenzylalkohol (**84**) durch Triphenylphosphin und Tetrabromkohlenstoff.^[114-117]

Dazu werden hier äquimolare Mengen des Triphenylphosphins und Tetrabromkohlenstoffs im 10%igen Überschuss mit Alkoholen zur Reaktion gebracht. Ausgehend von 4-Hydroxybenzylalkohol (**84**) kann durch diese Reaktion unter Rühren bei Raumtemperatur das entsprechende Benzylbromid dargestellt werden. Der Verlauf der Reaktion wird dabei dünnschichtchromatographisch an Kieselgel 60 verfolgt. [Eluent: Hexan/Essigester (3:1), R_f-Wert, **84**: 0.80]

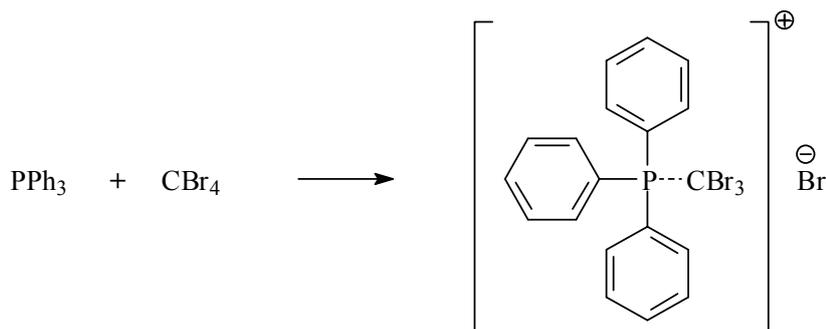
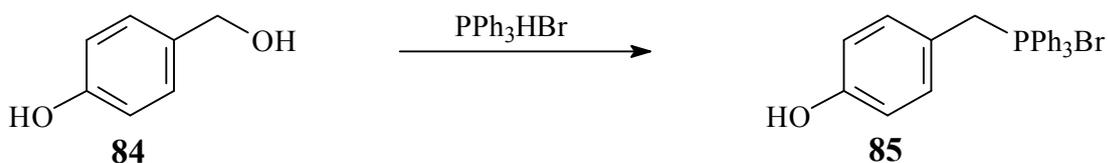


Abb. 42: Bildung der reaktiven Spezies bei der Bromierung durch Triphenylphosphin und Tetrabromkohlenstoff.^[115]

Nachdem der gesamte Alkohol verbraucht ist, kann nach erfolgter Substitution durch die erneute Zugabe von Triphenylphosphin ohne vorhergehende Aufarbeitung das phenolische Phosphoniumsalz **85** erhalten werden. Anschließend erfolgt die Kristallisation aus Diethylether, auf diese Weise erhält man das Phosphonium-bromid **85** in einer Ausbeute von 80 %.



Eine weitere elegante Methode zur Darstellung von Phosphoniumsalzen stellt die Verwendung von Triphenylphosphin-hydrobromid dar.^[118] Der entsprechende Alkohol **84** ist lediglich in Lösung mit dem Hydrobromid zu rühren. Pfänder und Lachenmeier verwenden diese Methode erfolgreich zur Synthese von C₁₅-Phosphoniumsalzen.^[119]

V24A

Hier wird 4-Hydroxybenzylalkohol (**84**) mit dem Hydrobromid in Dichlormethan gelöst. Nach kurzem Schütteln lässt man die Lösung stehen. Nach einem Tag entfernt man das Lösungsmittel. Aus Diethylether/Aceton kristallisiert, kann das Phosphoniumsalz **85** in einer Ausbeute von 90 % gewonnen werden. Auf diese Weise wurde auch das (3-Hydroxyphenyl)methylphosphonium-bromid (**78**) dargestellt (siehe Kapitel 3.3.10), das von Kock zur Verfügung gestellt wird.^[120]

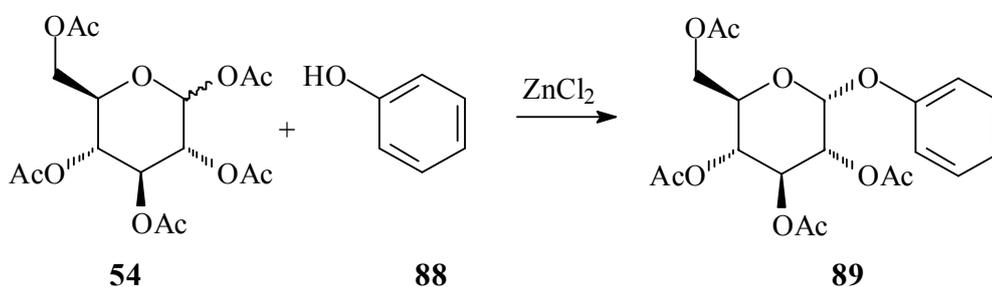
3.4 Glykosylierungsversuche

In der Syntheseplanung (siehe Kap. 3.1) sind die gebräuchlichsten Verfahren zur Glykosylierung bereits angesprochen worden. In diesem Kapitel soll nun die Anwendung dieser und weiterer Methoden anhand der folgenden Glykosylierungsversuche diskutiert werden.

3.4.1 Glykosylierungsversuche mittels Säure-Katalyse

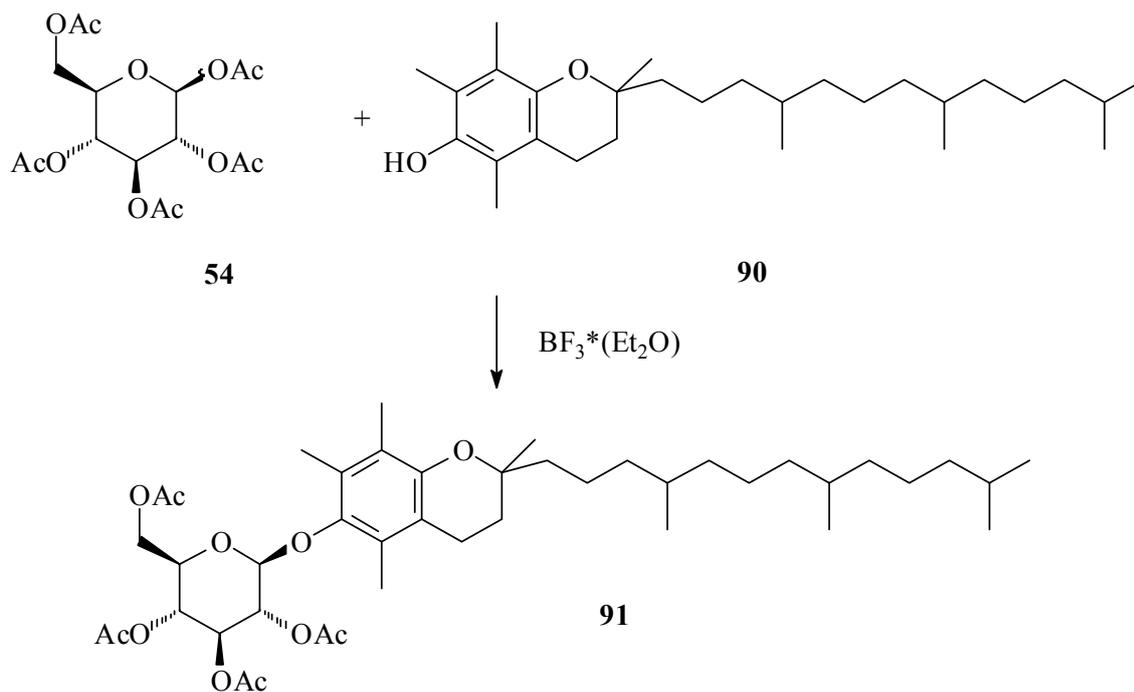
Literaturbekannt ist die Verwendung von Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) als aktivierte Form der Glucose (**23**) schon seit dem frühen 20. Jahrhundert. Helferich und Winkler berichten bereits 1933 von der Synthese eines phenolischen Glykosides.

Zur Darstellung des Glykosides **89** wird Phenol (**88**) mit Penta-*O*-acetyl-D-glucopyranose (**54**) glykosyliert. Die Reaktion findet bei hohen Temperaturen, durch Zinkchlorid katalysiert, statt. Die Edukte werden dabei geschmolzen, zusätzliches Anlegen von vermindertem Druck beeinflusst die Gleichgewichtslage, durch das Entfernen von Essigsäure.^[121]

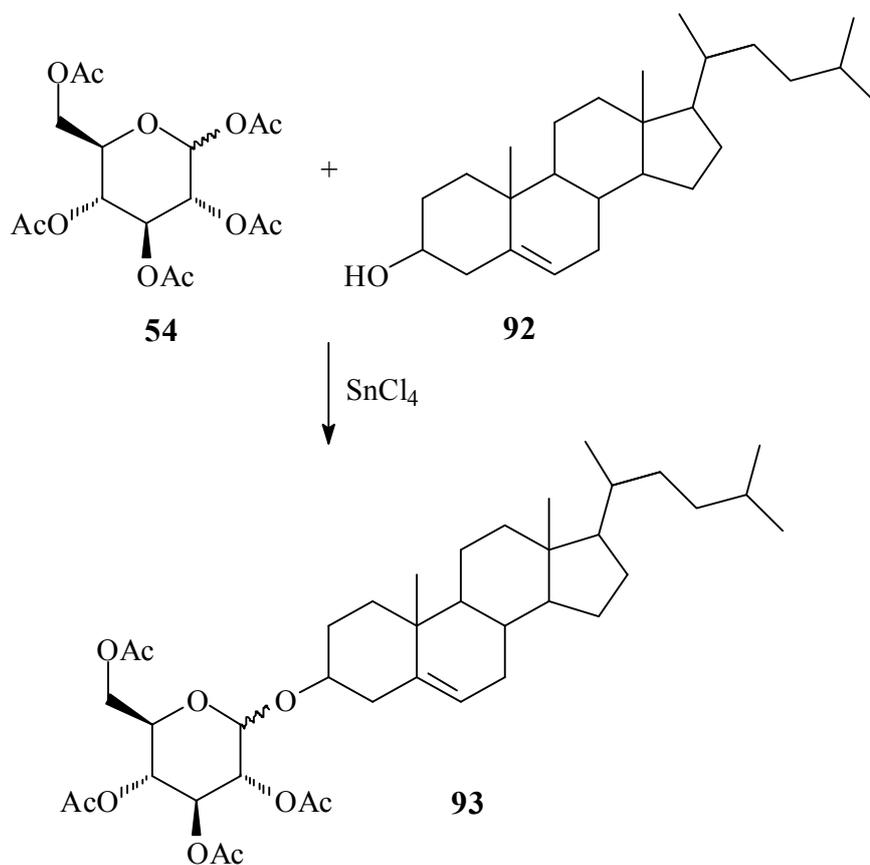


Lahmann und Thiem berichten 1997 von der Darstellung von all-*rac*- α -Tocopheryl- β -D-2,3,4,6-tetra-*O*-acetylglucopyranose (**91**) in einer Ausbeute von 51 %. Die Synthese beinhaltet die Glykosylierung von synthetisch hergestelltem α -Tocopherol¹⁾[123] (**90**) mit Penta-*O*-acetyl-D-glucopyranose (**54**), durch katalytische Mengen Bortrifluoridetherat.^[122]

¹⁾ Synthetisches Vitamin E (*all-rac*- α -Tocopherol, oder d,l- α -Tocopherol) besteht aus einer Mischung von acht Stereoisomeren in gleichen Anteilen (*RRR*, *RRS*, *RSR*, *RSS*, *SRR*, *SRS*, *SSR* und *SSS*). Da nur eines dieser acht mit dem natürlich vorkommenden Stereoisomer *RRR* identisch ist, ist die Bioverfügbarkeit für den Körper geringer.



Murui und Wanaka gelingt die Synthese von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl-cholesterol (**93**) im Jahr 1993. Hierzu wird Cholesterin (**92**) mit der peracetylierten Glucose **54** unter Lewis-Säure-Katalyse mittels Zinn(IV)chlorid glykosyliert.^[123]

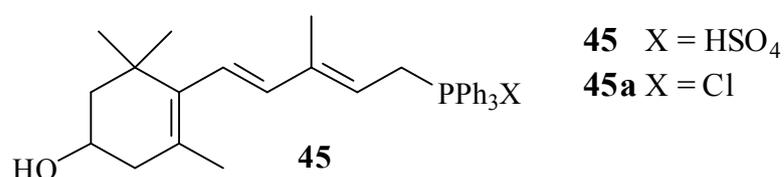


In dieser Arbeit werden für die Glykosylierung sowohl Lewis- als auch schwache Brønsted-Säuren zur Katalyse verwendet. In Abhängigkeit der verwendeten Katalysatoren und Aglykone ergeben sich differierende Vorgehensweisen.

3.4.1.1 Glykosylierungsversuche mit β -D-Penta-O-acetylglucopyranose (54)

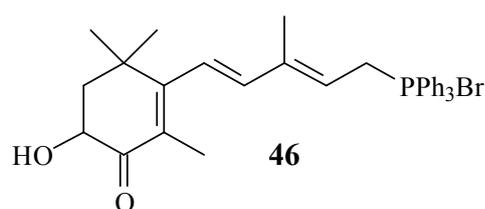
Die im Folgenden aufgeführten Aglykone **A-E** sind mit β -D-Penta-O-acetylglucopyranose (**54**) auf ihre Glykosylierbarkeit hin untersucht worden.

A [(3-Hydroxy- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-hydrogensulfat (45)



Das Phosphoniumsalz **45** entspricht in der Carotinoidsynthese, in der das Polyensystem durch Wittig-Reaktion gebildet wird (siehe Kap. 3.4), einem C₁₅-Baustein. Es besitzt in 3-Position eine zur Glykosylierung geeignete Hydroxygruppe und stellt im Aufbau der Xanthophylle eine cyclische Endgruppe dar, die beispielsweise in Zeaxanthin (**18**) und Cryptoxanthin (**68**) zu finden ist.

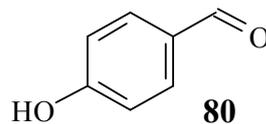
B [(3-Hydroxy-4-oxo- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (46)



Das Phosphonium-bromid **46** stellt in der hier verwendeten Carotinoidsynthese, durch Wittig-Reaktion (siehe Kap. 3.3), eine cyclische Endgruppe dar. Es entspricht wie das Hydrogensulfat **45** einem C₁₅-Baustein. Im Vergleich zum Aglykon **A** findet sich zusätzlich zur Hydroxygruppe in 3-Position die Carbonylfunktion an C4 des Ionylidenringes. In den Xanthophyllen findet sich dieses Strukturelement unter anderem in Astaxanthin (**9**).

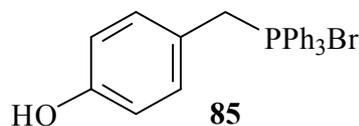
C 4-Hydroxybenzaldehyd (80)

Angeregt durch die Glykosylierung des synthetischen α -Tocopherols (**90**), durch Lahmann und Thiem, erscheint eine phenolische Endgruppe als Aglykon eine Möglichkeit darzustellen, die den Aufbau glykosidischer, phenolischer Xanthophylle erlaubt.^[122]



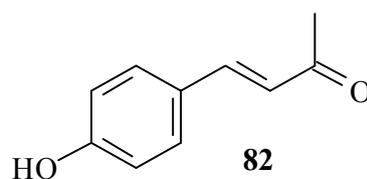
4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) kann als phenolisches Analogon zu einem C₁₀-Baustein in der hier angewendeten Carotinoidsynthese, mittels Wittig-Reaktion, aufgefasst werden. Der Aldehyd **80** kann durch geeignete Verlängerung der Polyenkette oder Funktionalisierung der Carbonylfunktion zum Aufbau von phenolischen Carotinoiden genutzt werden.

D 4-Hydroxybenzyltriphenylphosphonium-bromid (85)



Das phenolische Phosphoniumsalz **85** kann, unter anderem durch Reduktion und daran anschließender Reaktion mit Triphenylphosphonium-hydrobromid, aus 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) erhalten werden (siehe Kapitel 3.11.2). Es ist ebenfalls als C₁₀ analoger Baustein zu verstehen, es erlaubt mit geeigneten Dialdehyden die Umsetzung zum Carotinoid.

E 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-1-en-3-on (82)



Das Butenon **82** stellt eine Ausgangsverbindung für einen C₁₅-Baustein dar. Man kann es durch die Kettenverlängerung des Polyensystems, ausgehend von 4-Hydroxybenzaldehyd

(**80**) in einer Aldolkondensation mittels Aceton (**81**) im basischen Milieu, wie oben beschrieben, erhalten.

Methoden:

1. Die Aglykone **A** und **B** werden mit zweimolarer Menge peracetylierter Glucose **54**, in trockenem Methylenchlorid gelöst und vorgelegt. In die entsprechenden Lösungen wird, unter Rühren bei Raumtemperatur der Katalysator portionenweise zugegeben. Als Katalysator dient jeweils Bortrifluoridetherat, Kupfer(II)-sulfat (*wasserfrei*), *p*-Toluolsulfonsäure^[124] und Trimethylsilyltrifluormethansulfonat.

Die Reaktionskontrolle erfolgt dünnschichtchromatographisch und zeigt auch nach einer Reaktionsdauer von acht Tagen keinen Umsatz.

2. Nach Helferich werden die Aglykone **A,C-D** und **E**, in zehnmolarer Menge, mit Penta-*O*-acetyl- β -*D*-glucopyranose (**54**) in Substanz, in einem Einhalskolben vorgelegt.^[121] Als Katalysator wird in hierbei ausschließlich Zinkchlorid benutzt, welches in fester Form zugegeben wird. Im Fall des 4-Hydroxybenzaldehyds **80**, Aglykon **C** gelingt es, die Feststoffe zum Schmelzen zu bringen. Man rührt diese Schmelze bei einer Temperatur von 120 °C unter Anlegen von vermindertem Druck, um die als Nebenprodukt entstehende Essigsäure aus dem Reaktionsgemisch zu entfernen und damit das Gleichgewicht zu Gunsten des Produktes zu verschieben. Es bildet sich schnell eine hochviskose schwarze Masse, die durch Abkühlen eine glasartige Konsistenz annimmt und in dieser Form nicht weiter aufgereinigt werden kann. Es empfiehlt sich, die Schmelze, während des Abkühlens, mit Essigsäureethylester zu versetzen. So kann man daraus einen hochviskosen tiefschwarzen Sirup isolieren, dessen weitere Aufarbeitung jedoch nicht gelingt. Massenspektrometrisch kann durch FAB das gewünschte Produkt neben einer Reihe oligomerer Produkte und der pentaacetylierten Glucose (**54**) detektiert werden.¹⁾

Bei den Substanzen **A**, **D** und **E** versagt diese Arbeitsweise vollkommen, denn zum einen liegen die Schmelzpunkte der Verbindungen so hoch, dass die Substanzen Anzeichen von Zersetzung zeigen und keine Schmelze entsteht. Zum anderen scheint das Glucosederivat **54** eher unspezifisch zu polymerisieren. Da auch bei der Reaktion mit **C** kein Produkt isoliert werden kann, zeigt diese Methode hier keinen Erfolg.

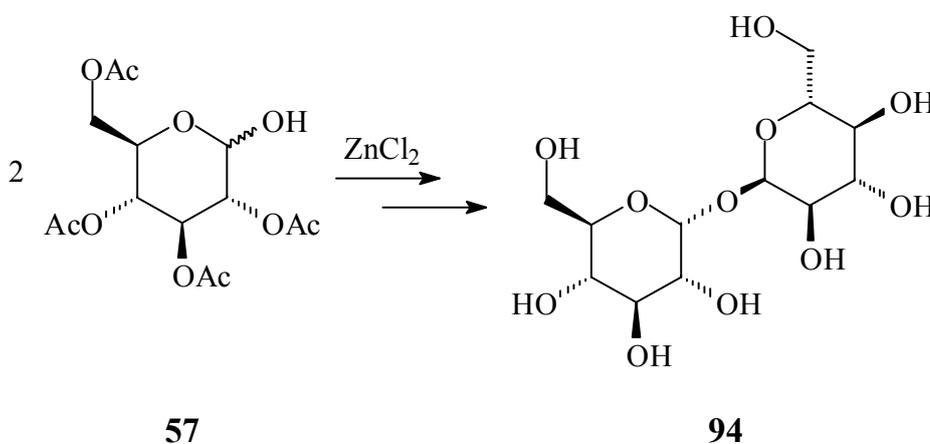
¹⁾ FAB+NBA, m/z (%): 475 (8) [M+Na]⁺, 413 (8), 371 (3), 353 (40), 329 (24), 289 (6).

3.4.1.2 Glykosylierungsversuche mit Penta-*O*-acetyl- β -D-galactopyranose (**56**)

Mit den als Aglykon **A** und Aglykon **B** bezeichneten Phosphoniumsalzen **45**, **46** werden in Analogie zu der bereits beschriebenen Methode mit peracetylierter Galactose **56** in trockenem Methylenchlorid gelöst vorgelegt. Es werden ebenfalls Bortrifluoridetherat, *p*-Toluolsulfonsäure, Trimethylsilyltrifluormethansulfonat und Kupfer(II)-sulfat (*wasserfrei*) als Katalysator verwendet. Wie bereits im Falle der Glucopyranose **54** zeigt auch hier die Reaktionskontrolle mittels DC keinen Umsatz und die Reaktion wird aus diesem Grund bereits nach drei Tagen abgebrochen.

3.4.1.3 Glykosylierungsversuche mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**)

Vogel und Debowska-Kurnicka gelingt 1928 durch die Reaktion von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**) in Gegenwart von Zinkchlorid die Darstellung der Trehalose (**94**).^[125] In Anlehnung an dieses Verfahren wird hier die Glykosylierungsfähigkeit des Glucopyranosederivates **57** untersucht.



Die beiden Phosphoniumsalze **45**, **46** (**A**, **B**) werden dazu als Aglykon verwendet. In separaten Reaktionen werden sie mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose (**57**) in trockenem Methylenchlorid gelöst und bei Raumtemperatur mit Bortrifluoridetherat, *p*-Toluolsulfonsäure und Zinkchlorid als Katalysator umgesetzt. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch an Kieselgel 60 verfolgt. (Hexan/Essigester, 1:1) Dabei kann weder die Entstehung eines Glykosides noch der Trehalose (**94**) beobachtet werden. Nach achttägiger Reaktionszeit werden diese Glykosylierungsversuche eingestellt.

3.4.2 Die Trichloracetimidat-Methode

Die von Schmidt vorangetriebene Glykosylierungsmethode mittels gut lagerbarer und stereoselektiver Glykosyltrichloracetimidaten findet heutzutage großen Zuspruch bei der Synthese von Kohlenhydraten.^[54]

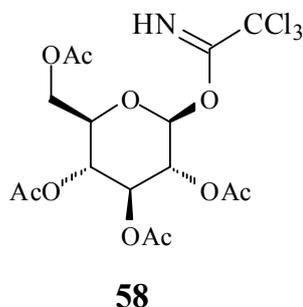


Abb. 43: Keilstrichformel von (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (58).

Sie eignet sich für verschiedenste Darstellungen, seien es Glykoside, Disaccharide, Oligo- oder auch komplexe Polysaccharide. In dieser Arbeit soll das Imidat **58** der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**) zur Glykosylierung verwendet werden.

3.4.2.1 Glykosylierungsversuche mit

(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranosyl)trichloracetimidat (58)

Die Aglykone die hierbei Verwendung finden, sind neben den bereits in vorherigen Versuchen benutzten Phosphoniumsalzen **45**, **46** (A, B) zwei Xanthophylle. Es handelt sich dabei um das Cryptoxanthin (**68**) und das Astaxanthin (**9**).

Man löst das Aglykon gemeinsam mit dem (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-trichloracetimidat (**58**) in trockenem Dichlormethan. Das Reaktionsgemisch wird bei Raumtemperatur ausgiebig mit Schutzgas gespült, bevor man langsam über ein Septum katalytische Mengen Lewis-Säure einspritzt. Bei den verwendeten Katalysatoren handelt es sich typischerweise um Bortrifluoridetherat oder Trimethylsilyltrifluormethansulfonat. Die katalytische Wirkung durch die Lewis-Säure beruht auf der Aktivierung des Trichloracetimidates (siehe Abb.: 44). Durch den nukleophilen Angriff des Imidates **58** am Trimethylsilyltrifluormethansulfonat wird dieses am Stickstoffatom silyliert, wodurch eine gute Abgangsgruppe entsteht. Durch Dissoziation wird ein Oxocarbeniumion gebildet, das nun durch ein geeignetes Nukleophil, z. B. einen Alkohol angegriffen werden kann. Das abgespaltene silylierte Amid kann nun als Base fungieren und die nach einem S_N1-

Mechanismus verlaufende Glykosylierung begünstigen. Das resultierende protonierte Amid stellt nun eine dem ursprünglich eingesetzten Trimethylsilyltrifluormethansulfonat verwandte und reaktive Spezies dar, welche nun ihrerseits als Aktivator dienen kann.

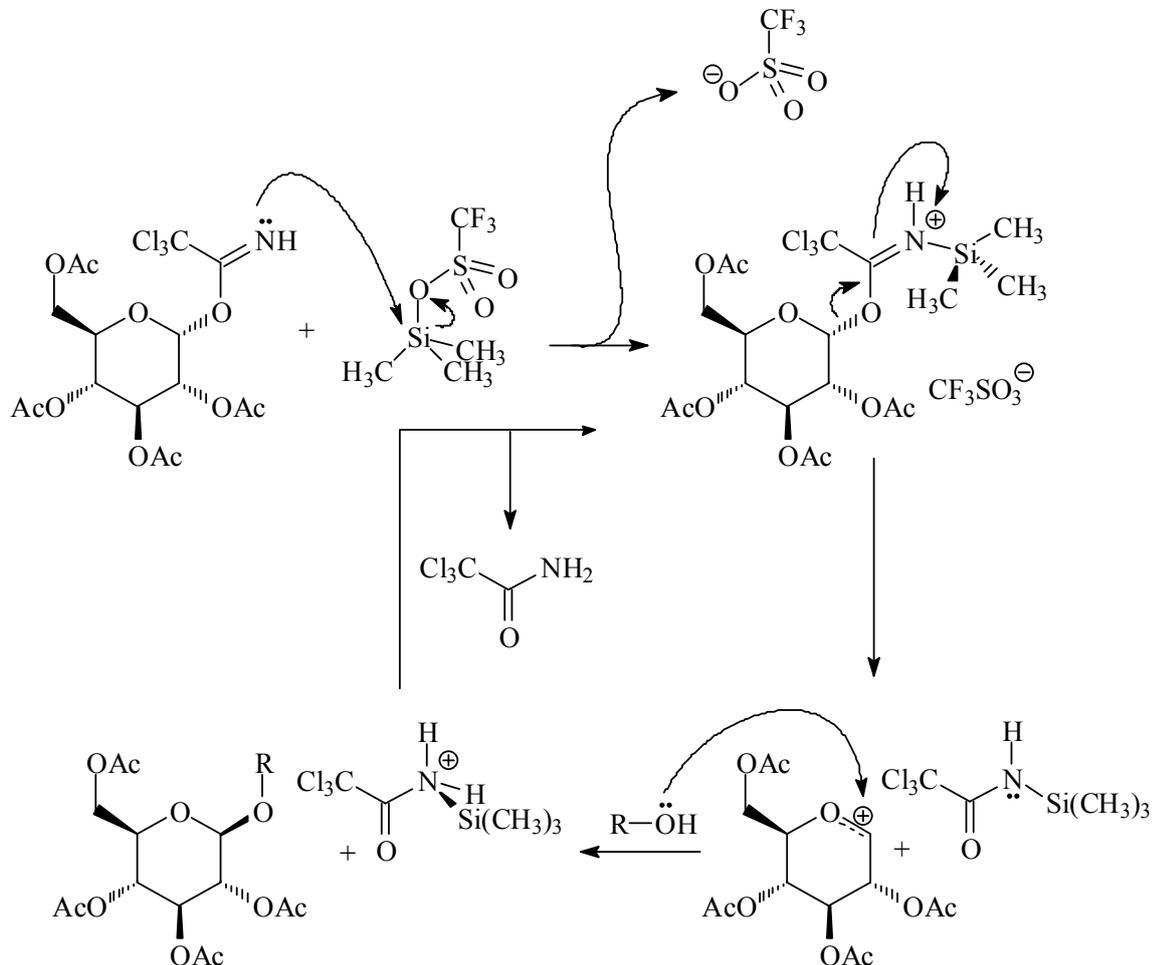
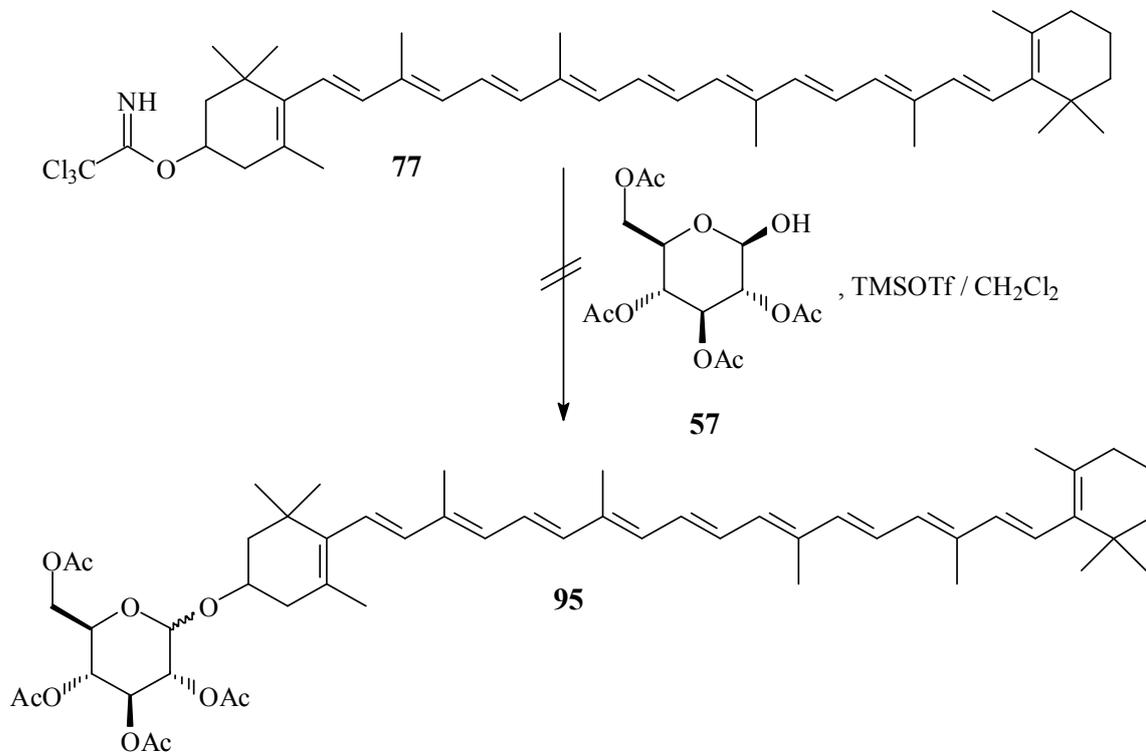


Abb. 44: Vermuteter Verlauf der lewissäurekatalysierten Glykosylierung durch TMSOTf.

Die jeweilige Reaktion wird mit Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60-Aluminiumplatten verfolgt und zeigt auch nach zwölf-tägiger Reaktionszeit mit keinem der Aglykone und verwendeten Katalysatoren die Entstehung eines Glykosides. Im Falle des Cryptoxanthins (**68**) sind allerdings Oxidationsprodukte zu finden, daher werden die Glykosylierungsversuche zu diesem Zeitpunkt abgebrochen.

Wie zuvor berichtet, kann die *E/Z*-Isomerisierung von Carotinoiden unter anderem durch den Einsatz von Lewis-Säuren wie Bortrifluoridetherat erfolgen (siehe Kapitel 3.3.2), so dass die Isomerisierung mit der Glykosylierung in Konkurrenz steht. Es ist durchaus möglich, dass hier die Bildung von Addukten den Katalysator in einer Nebenreaktion bindet, so dass er für die gewünschte Reaktion nicht mehr zur Verfügung steht.

Dies bedeutete dann, dass das Vorhandensein der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen in den Phosphoniumsalzen **45** und **46** (A, B), sowie im Cryptoxanthin (**68**) und Astaxanthin (**9**) die Glykosylierung unter den genannten Bedingungen verhindert.



Da die Glykosylierung der oben genannten Xanthophylle auf diese Weise ebenfalls nicht gelang, wird hier auch versucht, das Carotinoid selbst zu aktivieren. Zu diesem Zweck soll das Imidat **77** des Cryptoxanthins (**68**) hergestellt werden. (siehe Kapitel 3.3.9) Das Imidat **77** wird als Rohprodukt mit der fünfmolaren Menge an 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranose (**57**) in trockenem Dichlormethan gelöst. Die Lösung wird eine Stunde mit Stickstoff gespült, bevor durch ein Septum Trimethylsilyltrifluormethansulfonat in Dichlormethan gelöst zugegeben wird. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch DC an Kieselgel 60. Als Laufmittel dient Hexan/Essigester (3:1) (*R_f*-Wert: 0.86). Auch nach mehreren Tagen kann man dünnschichtchromatographisch kein neues Produkt feststellen. Selbst die Zugabe einer größeren Menge des Katalysators hat keinen Erfolg, so dass hier tatsächlich die *E/Z*-Isomerisierung die bevorzugte Reaktionsweise zu sein scheint. Nach zwei Wochen kann nur die Zersetzung des Imidates **77** und vermutliche Oxidation seines Xanthophyll-Teils beobachtet werden, daher wird der Versuch ohne Erfolg eingestellt. (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-β-D-glucopyranosyl)cryptoxanthin (**95**) konnte auf diese Weise nicht dargestellt werden.

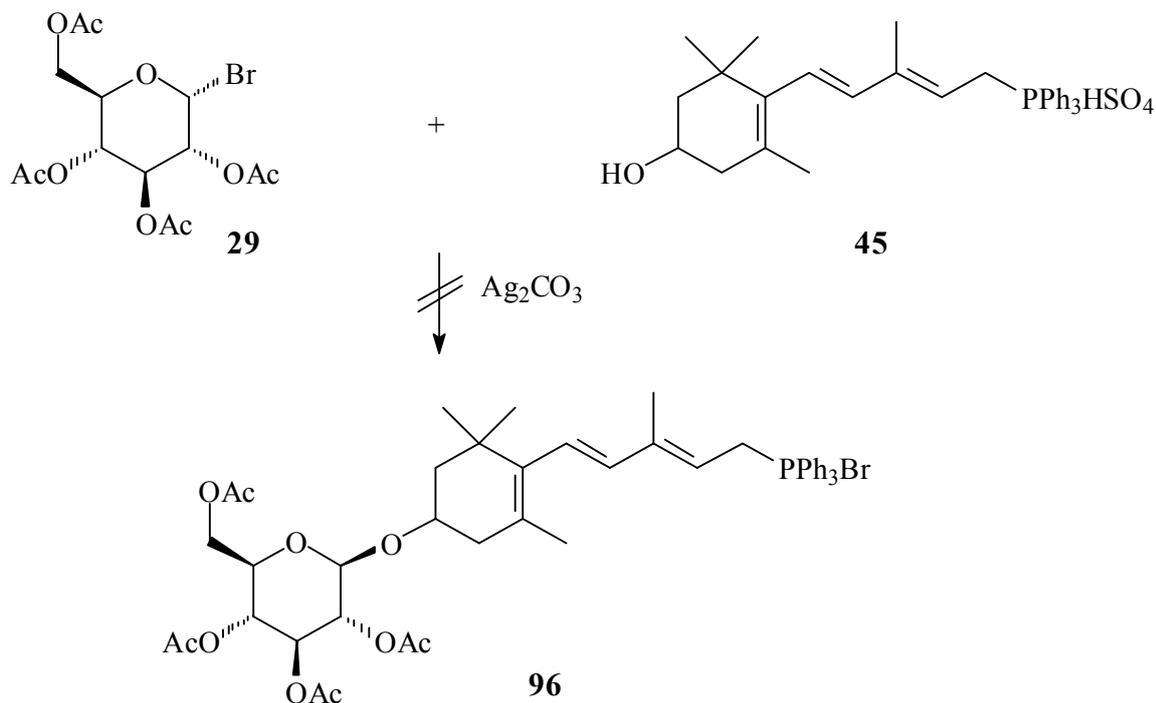
3.4.3 Die Koenigs-Knorr-Methode

α -D-Acetobromglucose (**29**) soll nach der Koenigs-Knorr-Methode mit einer Alkoholkomponente glykosidisch verbunden werden. Das Aglykon entspricht in diesem Fall einer zur Carotinoid-Synthese geeigneten Endgruppe, Verwendung finden [(3-Hydroxy- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-hydrogensulfat (**45, A**) und [(3-Hydroxy-4-oxo- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**46, B**).

Üblicherweise dient ein Alkohol bei der Glykosylierung nach Koenigs-Knorr gleichzeitig als Lösungsmittel und Reaktant für die α -D-Acetobromglucose (**29**) oder wird nach Möglichkeit in mehrfachem Überschuss als Reagenz zur Verfügung gestellt.

Hier kann dies nur schwerlich geschehen, zum einen handelt es sich Phosphoniumsalze die in kristalliner Form vorliegen, zum anderen stellt sich eine Kostenfrage, die zwingend dafür sorgt, dass man das Glykosylierungsreagenz (aktiviertes Kohlenhydrat) äquimolar oder im Überschuss einsetzt.

3.4.3.1 Versuch der Glykosylierung von Phosphoniumsalz 45



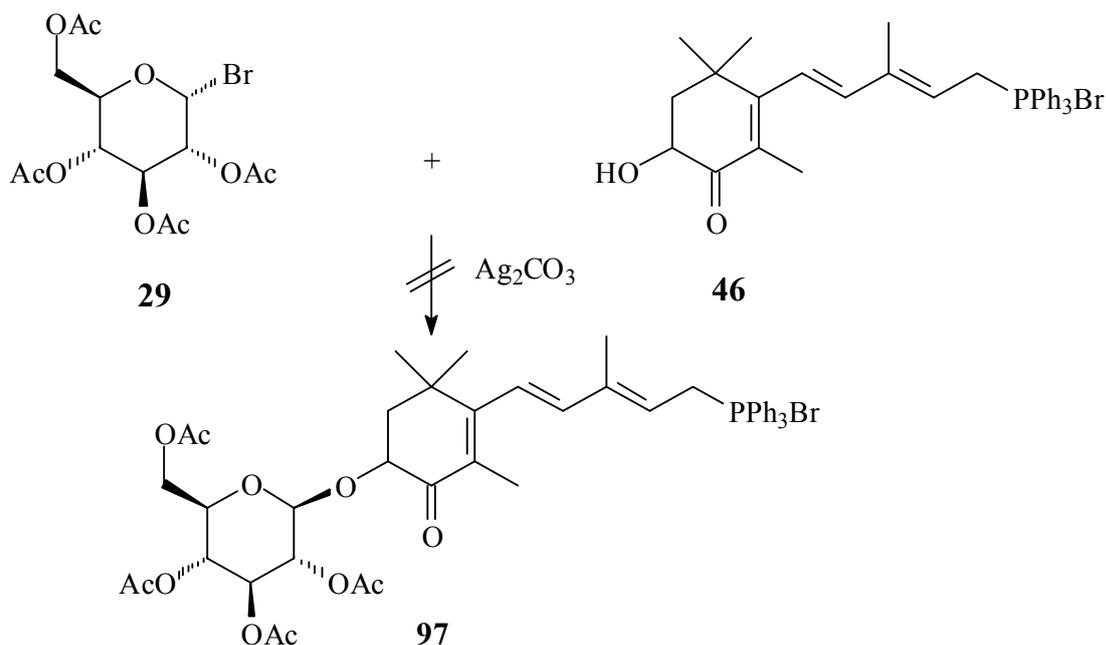
Das Phosphoniumsalz **45** und die dreimolare Menge des Glykosylierungsreagenz **29** werden in trockenem Methylenchlorid gelöst vorgelegt. Nach der Zugabe von äquimolarer Menge Silbercarbonat zur α -D-Acetobromglucose (**29**) lässt man bei Raumtemperatur unter Argonatmosphäre und Lichtausschluss rühren. Die Reaktionskontrolle

erfolgt mittels Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60, als Laufmittel dient Hexan/Essigester (1:1). Nach kurzer Zeit verfärbt sich die Lösung gelblich. Da die Glucopyranose **29** im Überschuss vorliegt kann durch DC keine merkliche Abnahme festgestellt werden. Im Bereich des Phosphoniumsalzes **45** jedoch zeichnet sich eine neue Substanz ab, die wie die verwendeten Phosphoniumsalze einen sehr kleinen Retentionsfaktor besitzt. Es liegt also die Vermutung nahe, dass es sich um das Glykosid **96** des Phosphoniumsalzes **45** handelt. Die Farbe der Lösung intensiviert sich und nachdem durch Dünnschichtchromatographie keine Veränderung mehr festgestellt werden kann, wird die Reaktion nach sieben Tagen abgebrochen.

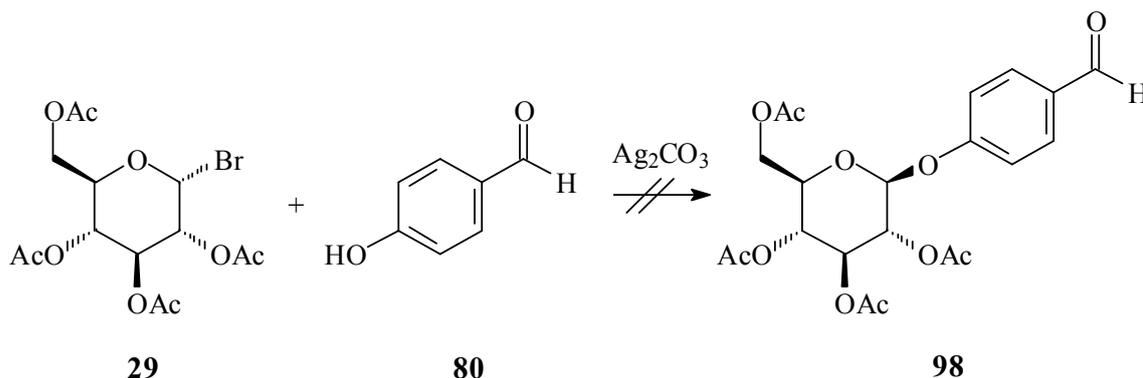
Hierzu wird das Reaktionsgemisch an Kieselgel 60 filtriert, dabei verbleiben Phosphoniumsalze im Kieselgel. Das Salz wird mit Methanol vom Kieselgel gewaschen und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Zur Reinigung kristallisiert man aus Diethylether. Saugt man vom Produkt ab, so stellt man fest, dass dieses sehr hygroskopisch ist. Man erhält einen gelben feinpulverigen Feststoff, der sehr schnell zu einem braunen hochviskosen Öl wird. Nach anschließender spektroskopischer und spektrometrischer Charakterisierung muss man erkennen, dass es sich bei der hygroskopischen Verbindung um das Bromid des Phosphoniumsalzes **45 (A)** handelt.

Dieses entsteht durch den Austausch des Gegenions im Reaktionsverlauf, das ursprüngliche Hydrogensulfat wird dabei in das Bromid überführt. Dieses Öl wird in Methylenchlorid gelöst und diese Lösung wird mit festem Natriumchlorid versetzt. Nach zweistündigem Rühren wird filtriert und die Lösung in ein großes Volumen Diethylether getropft, woraus ein ockerfarbener Feststoff kristallisiert. Durch das erneute Austauschen des Gegenions erhält man ein stabiles Phosphonium-chlorid. Das Chlorid des Phosphoniumsalzes **45 (A)** ist im Gegensatz zum Bromid nicht hygroskopisch, lässt sich gut Trocknen und wesentlich angenehmer in der Handhabung.^[126] Man kann das Phosphoniumsalz **45 (A)** nach dieser Prozedur in etwa 70%iger Ausbeute zurück gewinnen.

3.4.3.2 Versuch der Glykosylierung von Phosphoniumsalz **46**



Zur Glykosylierung werden das Phosphoniumsalz **46 (B)** und die fünfmolare Menge des Glykosylierungsreagenz **29** in trockenem Methylenchlorid gelöst. Nach der Zugabe einer äquimolaren Menge Silbercarbonat bezüglich α -D-Acetobromglucose (**29**) spült man bei Raumtemperatur ausgiebig mit Argon und rührt unter Lichtausschluss. Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels Dünnschichtchromatographie an Kieselgelfolie, als Laufmittel dient Hexan/Essigester (1:1). Die Farbe der gelblichen Lösung intensiviert sich. Bei der DC zeichnet sich im Bereich des Phosphoniumsalzes **46 (B)** wie zuvor beobachtet eine neue Substanz ab (siehe Kapitel 3.4.3.1). Nachdem keine Veränderung im Edukt/Produkt-Verhältnis mehr festgestellt werden kann, wird die Reaktion nach sieben Tagen abgebrochen. Hierzu wird an Kieselgel filtriert. Die Phosphoniumsalze werden mit Methanol ausgewaschen und die Lösung wird am Rotationsverdampfer eingeeengt. Durch auftropfen auf Diethylether fällt ein gelblicher Niederschlag an, von dem man absaugt. Nach Trocknen und Charakterisierung der Substanz muss man erkennen, dass auch hier nur ein Teil des Phosphoniumsalzes **46 (B)** zurückgewonnen werden kann.

3.4.3.3 Versuch der Glykosylierung von 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**)

Carter gelingt 1930 durch die Reaktion von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) und Phenol (**88**), katalysiert durch Silbercarbonat die Darstellung von Phenyl-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose) (**98**).^[127]

In Analogie zu dieser Methode wird das Bromid **29** mit dem dreimolaren Überschuss an 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) in Methylenchlorid suspendiert und vorgelegt. Unter Rühren erfolgt die portionenweise Zugabe äquimolarer Menge Silbercarbonat, bezogen auf das Glykosylhalogenid **29**. Anfangs rührt man bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss. Der Verlauf der Reaktion wird durch DC verfolgt. Da nach zweitägiger Reaktionsdauer kein Umsatz zu erkennen ist, wird bis zum Rückfluss erhitzt. Nach drei weiteren Tagen Reaktionszeit kann man lediglich die Entstehung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose (**57**) feststellen. Es liegt die Vermutung nahe, dass Feuchtigkeit zugegen ist, daher wird zu diesem Zeitpunkt die Reaktion abgebrochen.

Wiederholungen des Versuchs unter Feuchtigkeitsausschluss führten jedoch auch nicht zum Erfolg. Eine mögliche Erklärung für das Versagen der Methode ist die elektronische Struktur des 4-Hydroxybenzaldehyds (**80**). Wenn es durch Carbonat deprotoniert vorliegt, so nimmt durch Delokalisierung der Elektronen die Reaktivität bezüglich eines nukleophilen Angriffs verglichen mit dem Phenolat ab.

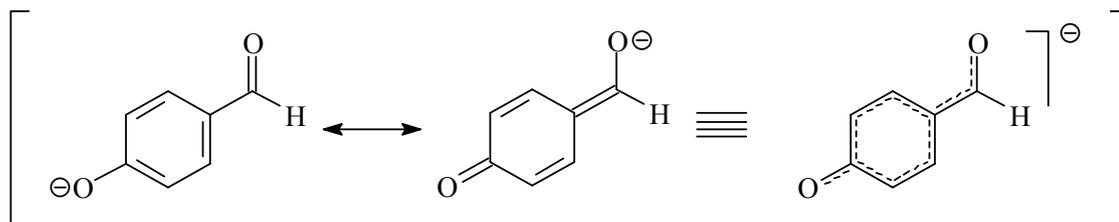
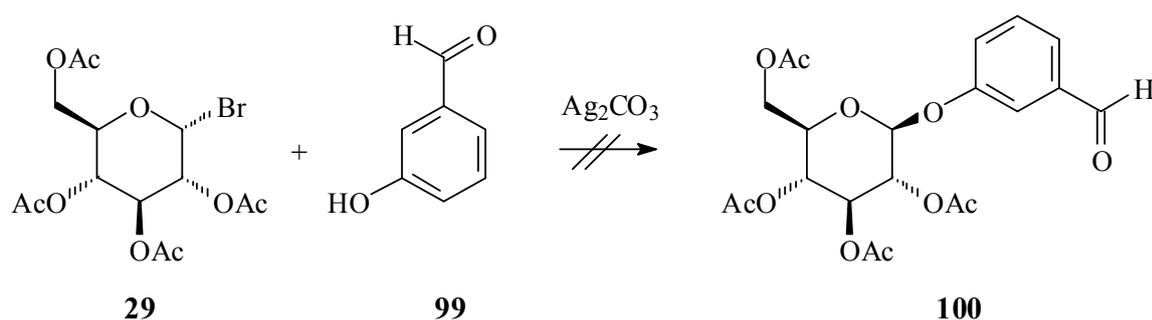


Abb. 45: Resonanzhybrid des 4-Hydroxybenzaldehydes.

Die Schutzgruppen für die Carbonylfunktion entstehen aus deren Umwandlung in andere funktionelle Gruppen, z. B. Acetale oder Thioketale. Hier ist davon abgesehen worden das 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) derart zu schützen, um dadurch die Ausbildung des Resonanzhybrides zu unterbinden und so eventuell die Bildung des Glykosides zu erreichen. Die Spaltung der Acetale in der Schutzfunktion würde ebenso ein Glykosid (Vollacetal) spalten.

3.4.3.4 Versuch der Glykosylierung von 3-Hydroxybenzaldehyd (**99**)

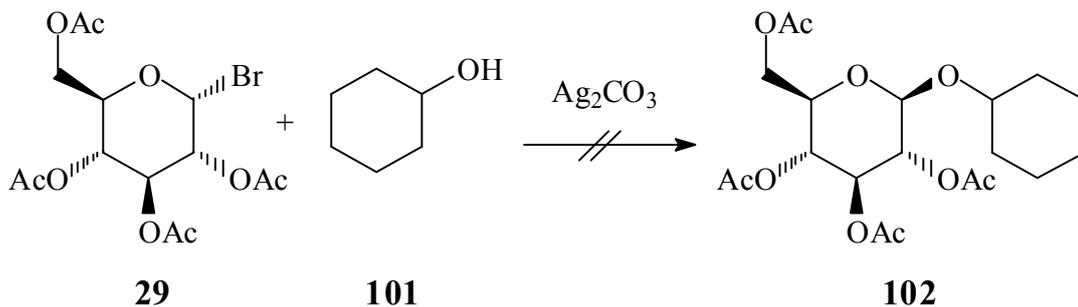


Die Ausbildung eines Resonanzhybrides sollte bei 3-Hydroxybenzaldehyd (**99**) im Gegensatz zu 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) keine Rolle spielen, da hier kein *p*-chinoides π -Elektronensystem ausgebildet werden kann. Somit erscheint diese phenolische Hydroxygruppe besser zur Reaktion geeignet.

2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) wird mit drei Äquivalenten 3-Hydroxybenzaldehyd (**99**) in Methylenchlorid suspendiert vorgelegt. Nach portionenweiser Zugabe äquimolarer Menge Silbercarbonat, bezüglich des Bromides **29**, rührt man bei Raumtemperatur, unter Ausschluss von Licht. Der Reaktionsverlauf wird dünn-schichtchromatographisch an Kieselgelfolie (Kieselgel 60) verfolgt.

Da nach drei Tagen Reaktionsdauer immer noch kein Umsatz festgestellt werden kann, wird das Reaktionsgemisch zur Beschleunigung der Reaktion zum Rückfluss erhitzt. Man erhitzt weitere vier Tage zum Rückfluss, um dann die Reaktion ohne jeglichen Umsatz zu beenden. Die Oxidation des Aldehydes **99** durch Silbercarbonat konnte unter den gegebenen Bedingungen nicht beobachtet werden. Die Qualität des Silbercarbonats ist für die Koenigs-Knorr-Methode von Bedeutung und mag hier nicht ausreichend gewesen sein.

3.4.3.5A Versuch der Glykosylierung von Cyclohexanol (101)

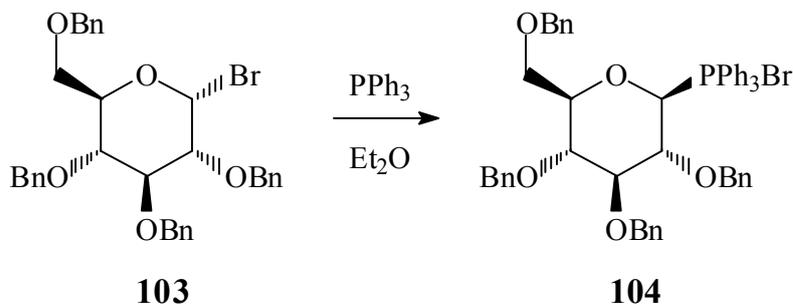


Bock und Adelhorst berichten 1992 von der Darstellung des 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-galactopyranosylcyclohexan. Die Synthese gelingt durch die Glykosylierung von Cyclohexanol (**101**) mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-galactopyranosylbromid in Dichlormethan. Als Katalysator verwenden sie Silbercarbonat und erhalten das Produkt in einer Ausbeute von 97 %.^[128]

Hier wird α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) als Glykosylierungsreagenz in frisch destilliertem Cyclohexanol (**101**) gelöst. Nach portionsweiser Zugabe von zwei Äquivalenten Silbercarbonat wird bei Raumtemperatur gerührt. Die Reaktion erfolgt unter Lichtausschluss. Der Verlauf der Reaktion wird durch DC an Kieselgel 60 verfolgt. (Laufmittel: Hexan/Essigester, 1:1)

Nach einer Woche ohne ein erkenntliches Produkt, wird das Reaktionsgemisch zum Rückfluss erhitzt. Der Versuch wird acht Tage später abgebrochen, da kein Umsatz zu erkennen ist. Da es möglich sein kann, dass die Qualität des Silbercarbonates zu gering ist, wird der Versuch mit frischem Carbonat wiederholt. Das gewünschte Produkt kann jedoch erneut nicht dargestellt werden.

3.4.3.5B Versuch der Glykosylierung von Cyclohexanol (101)



West und Schuerch finden 1973 eine Methode um Glykosylhalogenide mit Nucleophilen zu aktivieren. Dazu setzen sie diese mit Triethylamin, Dimethylsulfid sowie Triphenyl-

phosphin zu Oniumsalzen um. Durch die Reaktion von 2,3,4,6-Tetra-*O*-benzyl- α -D-glucopyranosylbromid (**103**) mit Triphenylphosphin entsteht in einer nukleophilen Substitution 2. Ordnung ein α -anomerer Phosphonium-bromid **104**, das von ihnen erfolgreich zur Glykosylierung verwendet wird.^[129]

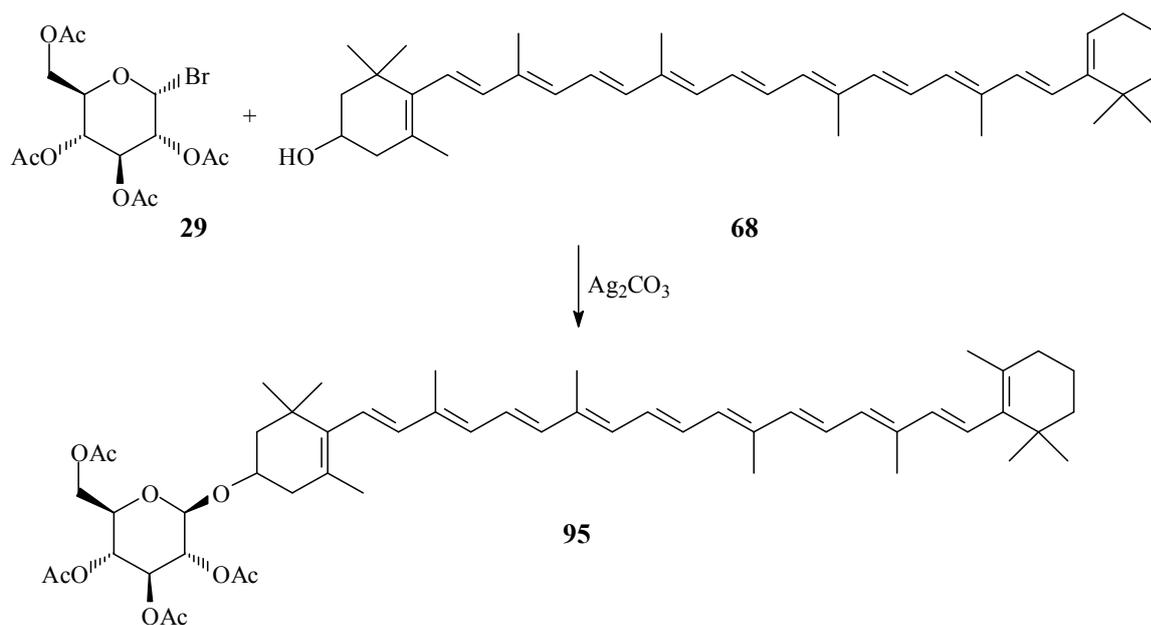
Abweichend wird hier die Umsetzung von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) mit Triphenylphosphin durchgeführt. West und Schuerch erhalten ihr Phosphoniumsalz **104** bei Raumtemperatur durch Fällung aus Diethylether in kristalliner Form. Hier kann dies nicht beobachtet werden. Das Abkühlen der Reaktionslösung, Impfen der Lösung mit Kristallisationskeimen (diverse Fremdsalze) oder auch das Überschichten mit Lösungsmitteln verschiedener Polaritäten, führt nicht zur Kristallisation eines Produktes.

Nach der Zugabe von frisch destilliertem Cyclohexanol (**103**) und rühren bei Raumtemperatur konnte durch DC kein Produkt festgestellt werden. Entfernen des Diethylethers und Erhitzen unter Rückfluss führte ebenso wenig zu einer Reaktion.

Man muss feststellen, dass die Methode nach West und Schuerch auf die acetylierten Kohlenhydrate übertragen hier nicht zur Glykosylierung führt.

3.4.3.6 Glykosylierung von Cryptoxanthin (**68**)

Da die Glykosylierung der Carotinoid-Endgruppen nicht gelingt, werden Carotinoide mit Hydroxygruppen in ihren cyclischen Endgruppen in die Untersuchungen mit einbezogen.



Pfander und Hodler setzen Zeaxanthin (**18**) mit α -D-Acetobromglucose (**29**) in Gegenwart von Silbercarbonat um und erhalten nach einer Reaktionszeit von 20 Tagen die peracetylierten β -anomeren Mono- und die Diglykoside. Die Ausbeute beträgt jeweils 10 %.^[45] Dies zeigt, dass die Glykosylierung des Xanthophylls (**18**) nicht sehr gut zu bewerkstelligen ist. Daher erscheint es sinnvoll die Zahl der möglichen Produkte zu minimieren.

Aus diesem Grund wird hier Cryptoxanthin (**68**), das als ein asymmetrisches Carotinoid nur eine Hydroxygruppe trägt mit α -D-Acetobromglucose (**29**) in Gegenwart von Silbercarbonat umgesetzt. Als Lösungsmittel dient hier über Calciumhydrid getrocknetes Dichlormethan. Die Reaktion erfolgt unter Lichtausschluss und unter Schutzgasatmosphäre. Der Reaktionsverlauf wird dünnschichtchromatographisch an Kieselgelplatten (Kieselgel 60) verfolgt. Als Eluent dient ein Gemisch aus Hexan/Essigester (1:1). Nach zweitägiger Reaktionszeit kann neben Cryptoxanthin (**68**) (R_f -Wert: 0.8) ein neuer Substanzpunkt identifiziert werden, wobei anzumerken ist, dass die Retentionsfaktoren nicht stark differieren. Im Verlauf der Reaktionsdauer nähern sich die beiden Zonen auf der DC-Folie immer mehr, so dass sie ineinander verlaufen und man schließlich keinen Unterschied mehr feststellen kann. Es kann hier kein Lösungsmittelgemisch gefunden werden, das es ermöglicht eine bessere Trennung zu erreichen.

V17

Nach achttägiger Reaktionsdauer wird die Reaktion abgebrochen, da durch DC kein Unterschied zwischen Edukt und Produkt mehr zu erkennen ist. Durch Massenspektrometrie kann das peracetylierte glykosidische Carotinoid **95** neben dem Edukt identifiziert werden.

Im Infrarotspektrum kann man bei 3500 Wellenzahlen die OH-Valenz aus dem Cryptoxanthin erkennen, genauso wie die für Ester charakteristische Schwingung bei 1760 Wellenzahlen aus dem peracetylierten Glykosylierungsreagenz. Dies zeigt nochmals, dass es sich um ein Produktgemisch handelt. Die Menge des Glykosides **95** und der Unterschied in den Eigenschaften, bezüglich seiner Polarität, zum Cryptoxanthin ist so gering, dass eine Trennung durch Säulenchromatographie weder an Kieselgel 60, alkyliertem Kieselgel (*RP-18*) noch an Aluminiumoxid gelingt.

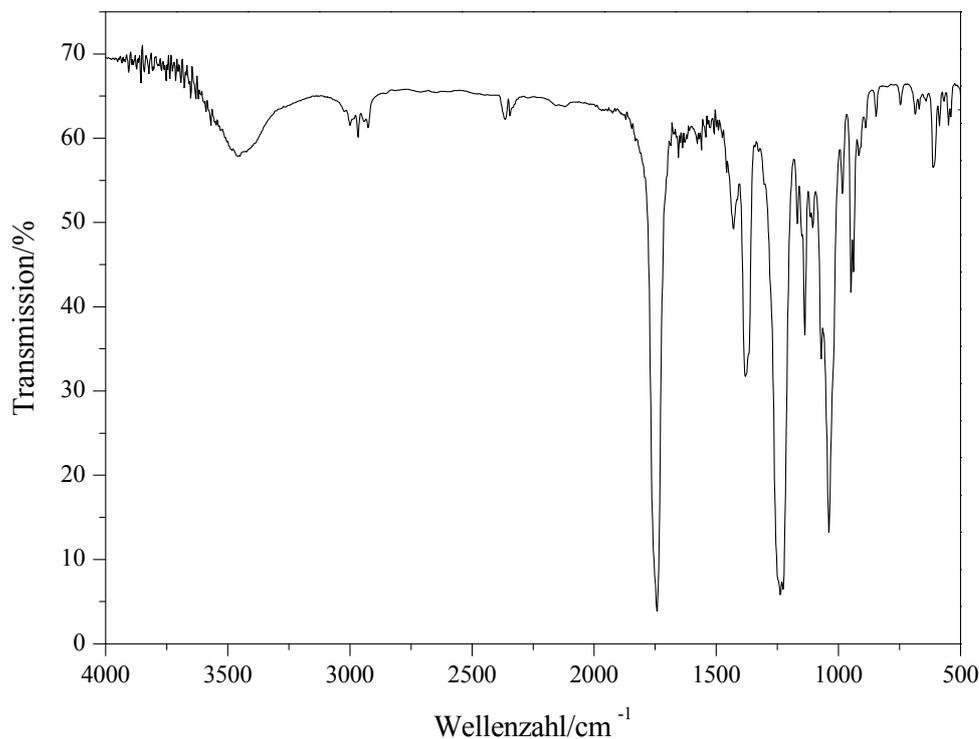


Abb. 46: IR-Spektrum des Produktgemisches des Glykosylierungsversuches mit Cryptoxanthin (**68**), (Pressling, KBr).

Die Koenigs-Knorr-Methode kann auch durch organische Basen katalysiert durchgeführt werden. Zu diesem Zweck wird zu einer Lösung aus Cryptoxanthin (**68**) und dem fünffachen Überschuss von 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) in trockenem Methylenchlorid die 0.25 M Menge DBU bezogen auf das Xanthophyll **68** zugegeben. Sehr schnell findet sich durch DC an Kieselgel 60 eine neue Substanz und nach kurzer Zeit ist der Umsatz vollständig. Bei dem Produkt handelt es sich jedoch um das Cryptoxanthinacetat [R_f -Wert: 0.89; Hexan/Essigester (1:1)].

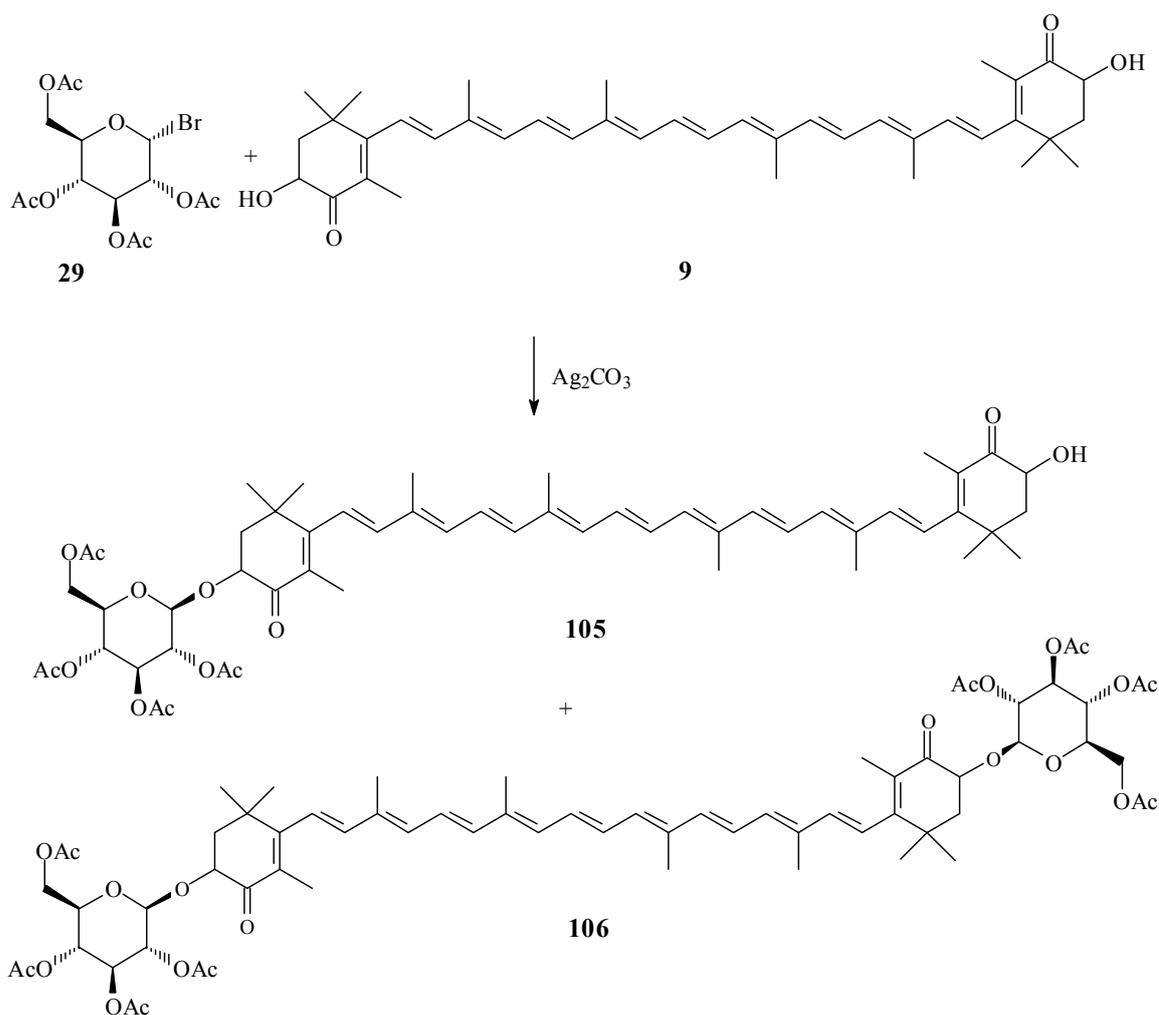
Wulff und Röhle zeigen, dass in der Koenigs-Knorr-Reaktion die Katalyse S_N2 -artig an der Oberfläche kristalliner Silbersalze erfolgt.^[53] Aufgrund der langen Reaktionszeiten erscheint es sinnvoll die effektive Oberfläche zu erhöhen um die Reaktion zu beschleunigen.

Balogh, Fetizon und Golfier zeigen 1968, dass es möglich ist Silbercarbonat auf Celithe zu adsorbieren und damit Oxidationsreaktionen zu beschleunigen.^[130]

Hier wird durch das Verreiben von Natriumsulfat mit Silbercarbonat die zur Reaktion notwendige Oberfläche erhöht. Die Verwendung des Sulfates hat zudem den Vorteil, dass das Gleichgewicht der Reaktion zugunsten der Produkte beeinflusst wird, wenn entstehendes Wasser als Kristallwasser gebunden wird.

Gibt man nun das Silbercarbonat auf Natriumsulfat adsorbiert hinzu, so kann man nach einem Tag durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 einen neuen Substanzpunkt feststellen. Nach zwei weiteren Tagen kann man eine Reihe von Substanzpunkten auf der Kieselgelplatte detektieren. Da das Cryptoxanthin (**68**) leicht oxidiert werden kann, wird die Oxidation als Nebenreaktion nicht ausgeschlossen, so dass die Glykosylierung zu diesem Zeitpunkt abgebrochen wird. Es gelang im Rahmen dieser Arbeit nicht, die Glykosylierung mit dem Erfolg durchzuführen, dass das Glykosid **95** isoliert und vollständig charakterisiert werden kann.

3.4.3.7 Glykosylierung von Astaxanthin (**9**)



Die bei der Glykosylierung des Cryptoxanthins (**68**) durch lange Reaktionszeiten entstehenden Oxidationsprodukte, führen zu einer Suche nach einem oxidationsstabileren Xanthophyll. Hier bietet sich die Verwendung von Astaxanthin (**9**) an. Das Oxidationspotential von Astaxanthin (**9**) ist mit 0.76 V sehr groß und mit einer Stabilität gegenüber Oxidation durch Sauerstoff verbunden.^[131]

V18

Astaxanthin (**9**) wird mit zehn Äquivalenten 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) in trockenem Methylenchlorid gelöst vorgelegt. Unter Schutzgas erfolgt die portionsweise Zugabe eines Gemisches von Natriumsulfat mit Silbercarbonat. Die Menge an Silbersalz entspricht der zweier Äquivalente, bezogen auf die Stoffmenge des Xanthophylls **9**. Der Verlauf der Reaktion wird dünnschichtchromatographisch an Kieselgelplatten verfolgt. Als Laufmittel dient eine Lösemittelgemisch aus Hexan und Essigester (1:1), neben Astaxanthin (**9**, R_f -Wert: 0.63) können nach einem Tag weitere Substanzen detektiert werden. Die neuen Verbindungen zeigen dabei viel kleinere Retentionsfaktoren. Nach zwei Wochen Reaktionsdauer gelingt es durch semipräparative DC das acetylierte Bisglykosid **106** des Astaxanthin (R_f -Wert: 0.30 und 0.25) neben nur schwach gefärbten Zonen von (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranosyl)astaxanthin (**105**, R_f -Wert: 0.15 und 0.12) zu isolieren. Bereits zu diesem Zeitpunkt kann kein Astaxanthin mehr durch DC identifiziert werden. Um die Ausbeute an bisglykosidischem Produkt zu erhöhen, erfolgt die Zugabe von weiterem Glucopyranosylbromid **29** und Silbercarbonat. Nach einer weiteren Woche kann keine Veränderung mehr durch Dünnschichtchromatographie festgestellt werden und die Reaktion wird abgebrochen.

Zur Reinigung der Produkte wird zunächst von den Salzen befreit. Dazu wird an wasserfreiem Natriumsulfat filtriert. Das Lösungsmittel wird im Anschluss am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt.

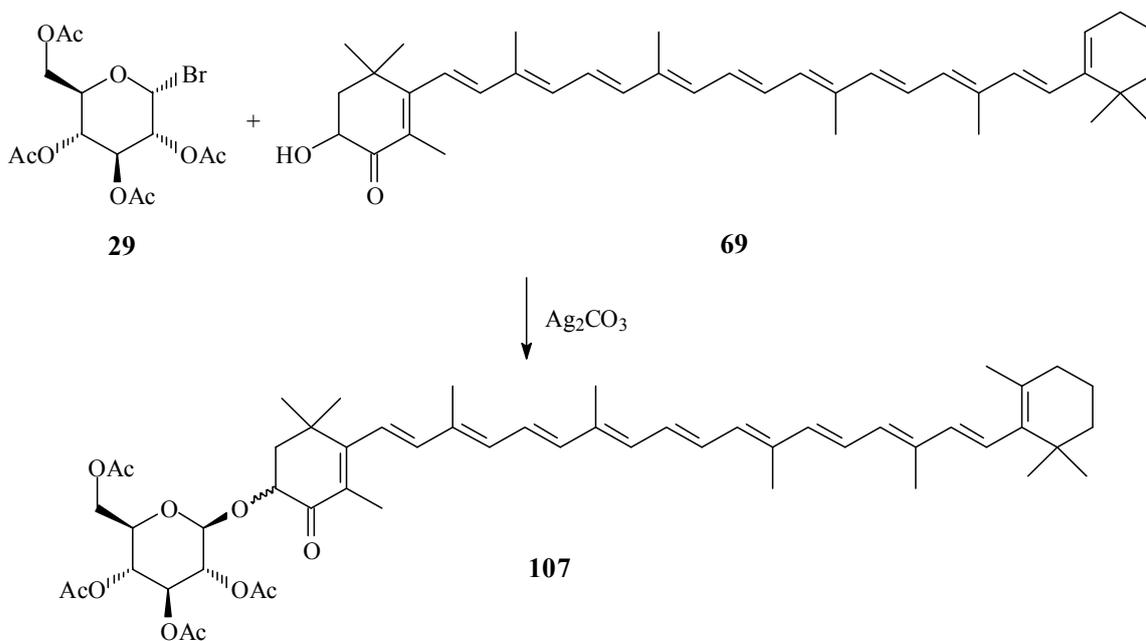
Im nächsten Schritt wird das überschüssige Glucopyranosylbromid **29** abgetrennt. Dies gelingt durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60, als Laufmittel wird ein Gemisch aus gleichen Teilen Dichlormethan und Aceton (**29**, R_f -Wert: 0.60) verwendet.

Die beiden Produkte Mono- (**105**) und Bis-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl)astaxanthin (**106**) werden durch erneute Säulenchromatographie an Kieselgel 60 getrennt. Dazu ist eine 80 cm lange Chromatographiersäule notwendig. Als Laufmittel dient hier ebenfalls das Gemisch aus Methylenchlorid und Aceton [R_f -Wert: **106** (0.80); **105** (0.73)]. Die Ausbeute an Bisglykosid **106** beträgt 35 %. Das Monoglykosid **105** wird nur mit 15 % gebildet.

Es wurde nicht geklärt, ob sich das Mono-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl)astaxanthin (**105**) in einer separaten Reaktion mit 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) zum Bisglykosid **106** umsetzen lässt.

Da die Glykosylierung bei Raumtemperatur nur sehr langsam läuft, sollten die Reaktionsbedingungen hinsichtlich einer erhöhten Ausbeute und kürzeren Reaktionszeit geändert werden. Mayer und Santer wählen für die Koenigs-Knorr-Reaktion zur Darstellung von Picrocrocin (**32**) Benzol als Lösungsmittel. Die Reaktionstemperatur beträgt dort 85 °C. Führt man die Glykosylierung von Astaxanthin (**9**) mit α -Acetobromglucose (**29**) unter den genannten Bedingungen durch, so erhält man nach sehr kurzer Zeit lediglich Astaxanthindiacetat (**76**) als Produkt.

3.4.3.8 Glykosylierung von 3-Hydroxyechinenon (**69**)



3-Hydroxyechinenon (**69**) wird mit fünf Äquivalenten 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) in trockenem Methylenchlorid gelöst vorgelegt. Die tiefrote Lösung wird unter Rühren mit Stickstoff gespült.

Zwei Äquivalente Silbercarbonat zum Xanthophyll **69** werden im Mörser mit Natriumsulfat verrieben. Das Gemisch wird im Stickstoffgegenstrom portionsweise zugegeben. Der Verlauf der Reaktion wird durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgelplatten verfolgt, als Laufmittel dient hierbei Essigester [R_f -Wert: **69** (0.81); **107** (0.90)]. Unter Ausschluss von Licht rührt man bis durch DC keine merkliche Veränderung des Produkt/Edukt-Verhältnisses mehr feststellen kann. Nach vier Tagen

wird eine nur noch leicht orange gefärbte Lösung an wasserfreiem Natriumsulfat mit Hilfe einer Membranpumpe filtriert. Man erhält nach dem Filtrieren wieder eine tiefrot gefärbte Lösung. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält einen roten Lack, der bei geringem Druck (< 80 mbar) stark aufschäumt. Das Aufschäumen kann bei der Verarbeitung von Kohlenhydratderivaten häufig beobachtet werden. Zunächst wird nicht umgesetztes Glucopyranosylbromid **29** durch Säulenchromatographie abgetrennt. Als Laufmittel wird ein Gemisch aus Hexan/Essigester (1:3) verwendet. Im Anschluss werden durch erneute Säulenchromatographie die beiden Xanthophylle **69** und **107** getrennt.

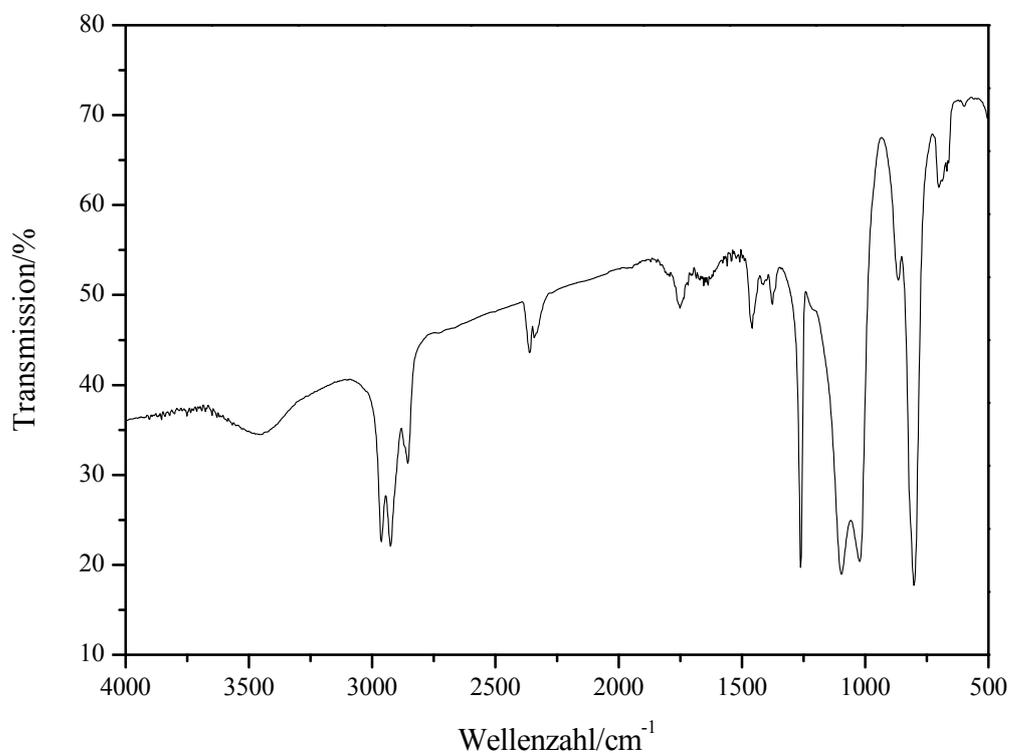
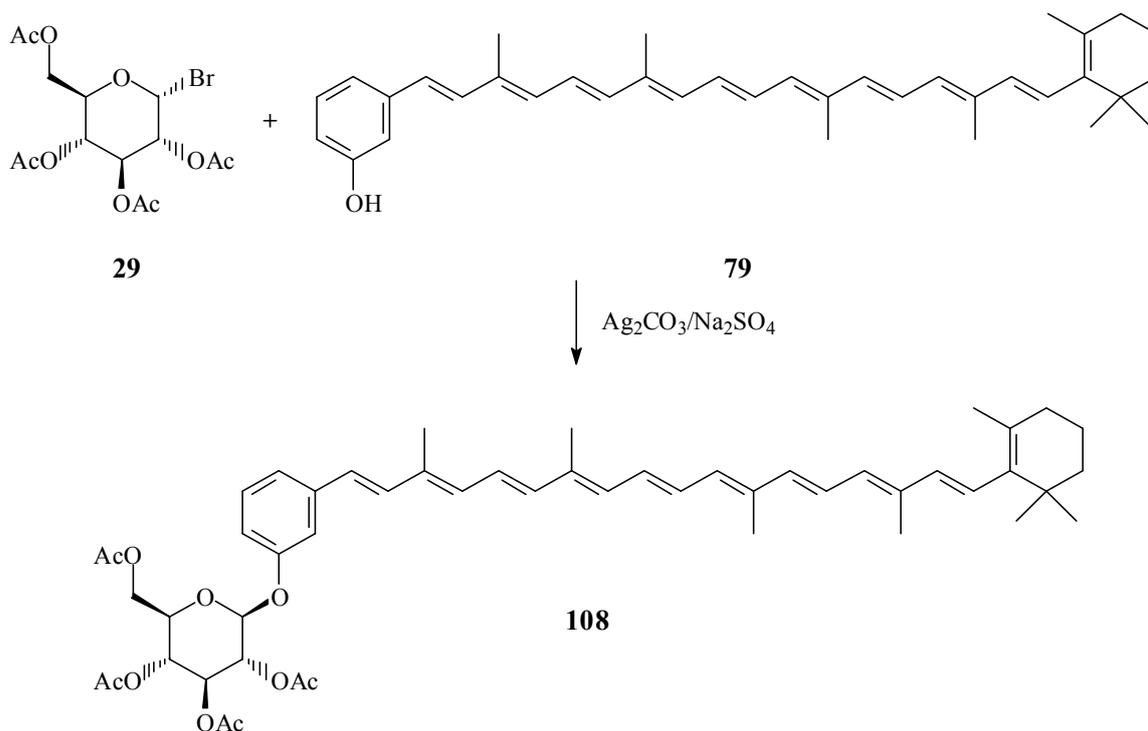


Abb. 47: IR-Spektrum von 2,3,4,6-Tetra-O-acetyl- β -D-glucopyranosyl-3-hydroxyechinenon (**107**), (Pressling, KBr)

Die Ausbeute des carotinoidischen Glykosides **107** beträgt 30 %, es wird ohne weitere Charakterisierung den nächsten Arbeitsschritten zugeführt.

Die Entfernung der Acetylschutzgruppe ist in Kapitel 3.4.4 beschrieben.

3.4.3.9 Glykosylierung von 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β , Φ -carotin (**79**)



Die guten antioxidativen Eigenschaften der Carotinoide sind, bezüglich anderer Reaktionen natürlich von Nachteil. Die Glykosylierung gelingt hier beispielsweise nur an Carotinoiden, die eine gewisse Stabilität gegenüber der Oxidation durch Sauerstoff besitzen. Die nicht aromatischen Xanthophylle, die eine Hydroxygruppe tragen, können zudem in zwei enantiomeren Formen auftreten, wodurch die Zahl möglicher Produkte steigt. Aus diesen Gründen wird hier das phenolische Carotinoid **79** zur Glykosylierung eingesetzt. Durch die phenolische Hydroxygruppe in 2-Position¹⁾ kann kein chinoides π -Elektronensystem entstehen, denn dies würde zu *m*-chinoiden Systemen führen, die sich nicht in einer klassischen Grenzstruktur darstellen lassen.

Unter Ausschluss von Licht wird das Norcarotinoid **79** mit drei Äquivalenten 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glucopyranosylbromid (**29**) in trockenem Dichlormethan gelöst. Anschließend erfolgt die Zugabe von Natriumsulfat (*wasserfrei*), auf das, durch Verreiben im Mörser, Silbercarbonat adsorbiert wurde. Die Reaktionslösung wird 45 Minuten durch gelinden Schutzgasstrom gespült. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch DC an Kieselgel 60, Laufmittel ist ein Gemisch aus Essigsäureethylester und Hexan im Verhältnis (1:1). Das Produkt besitzt unter diesen Bedingungen einen Retentionsfaktor von 0.84. Nach zwei Tagen ist mittels DC kein 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β , Φ -

V20

¹⁾ Die Nummerierung erfolgt hier nach der für Carotinoide üblichen Nomenklatur.

carotin (**79**) mehr zu erkennen. Zur Beendigung der Reaktion wird die Lösung dekantiert, wodurch man sie bereits vom Großteil der Silbersalze befreit. Anschließend wird an Natriumsulfat filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter Normaldruck entfernt. Das peracetylierte Glykosid **108** kann durch Säulenchromatographie gereinigt werden, als Laufmittel dient ein Gemisch aus Dichlormethan und Aceton (1:1). Unter den erwähnten Bedingungen besitzt das Glykosid **108** einen Retentionsfaktor von 0.87. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Glykosid **108** im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet. Die Ausbeute beträgt nach dieser Prozedur 80 %.

3.4.4 Entfernen der Acetylschutzgruppe

Zum Entfernen der Acetylschutzgruppe bieten sich sowohl schwach saure als auch basische Reaktionsbedingungen an. Allerdings sind die meisten Glykoside nur in einem begrenzten pH-Bereich stabil, meist erstreckt sich dieser von pH = 4 bis pH = 9. Außerhalb dieses Bereiches erfolgt die hydrolytische Spaltung der glykosidischen Bindung.^[33]

Häufig findet die Umesterung mittels Natriummethanolat in Methanol Verwendung. Diese Methode ist hier ebenfalls angewendet worden.

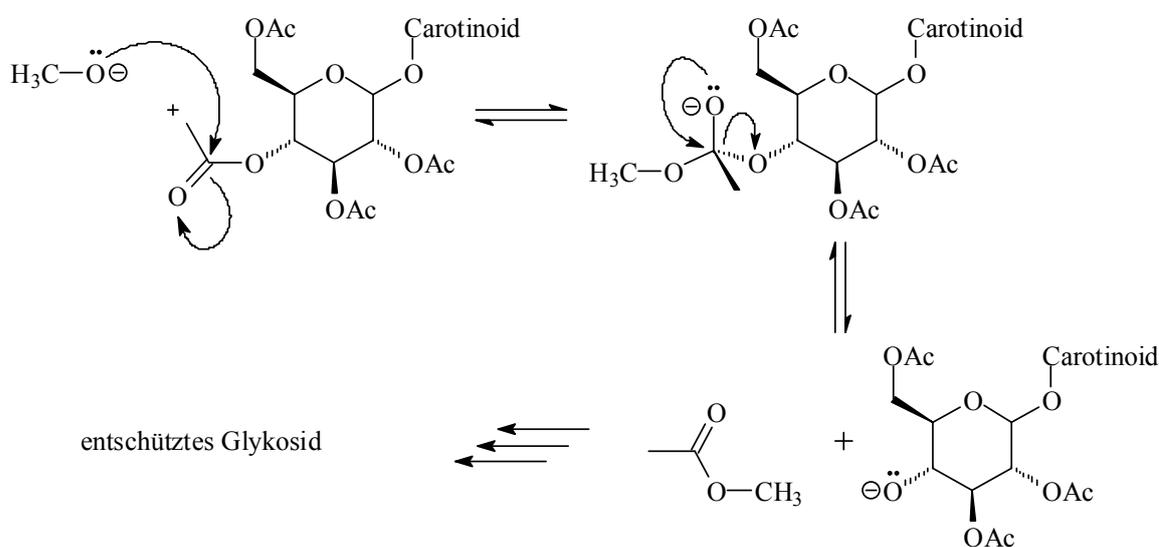
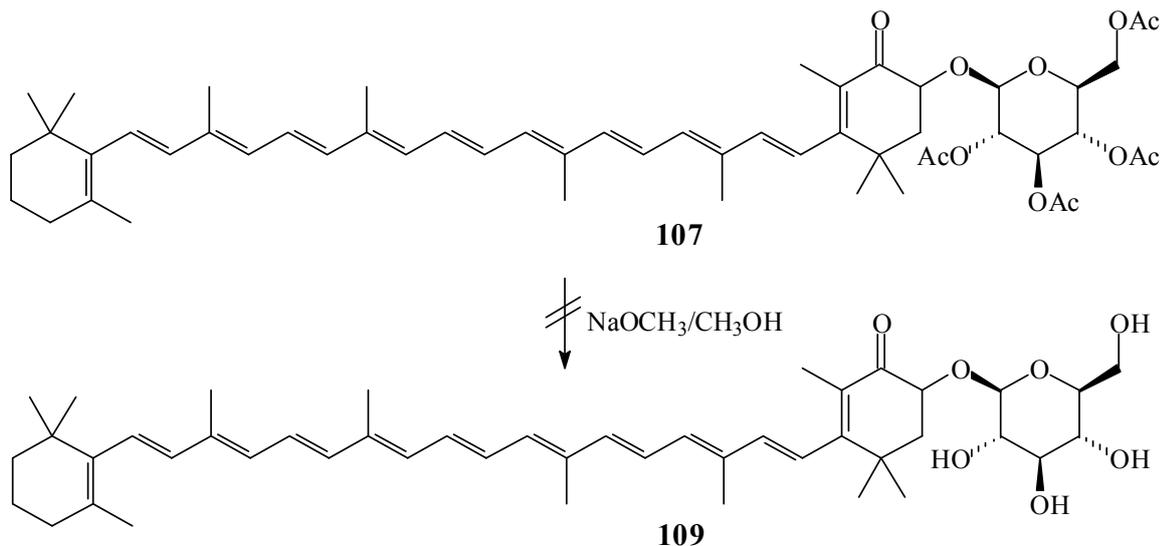


Abb. 48: Mechanismus der Umesterungsreaktion zur Entfernung der Acetylschutzgruppen.

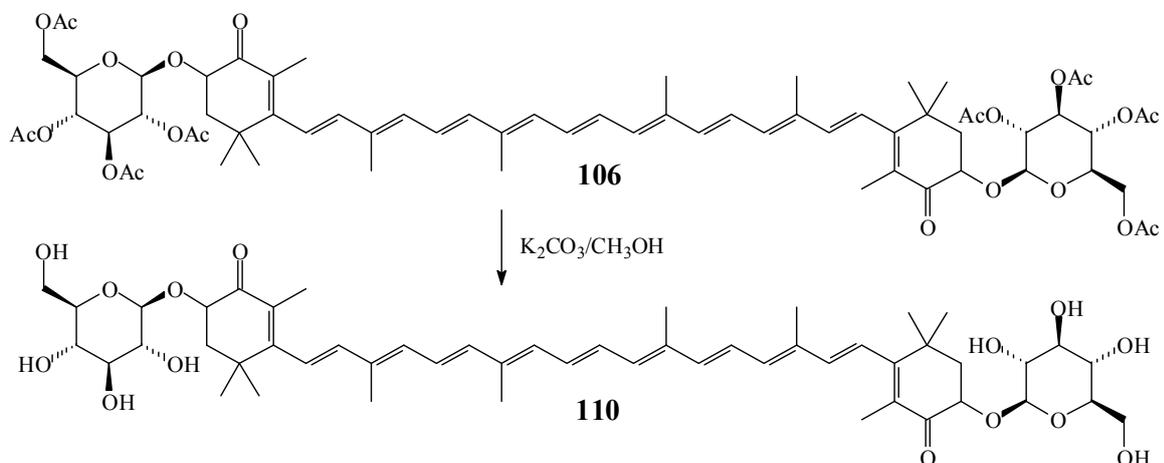
Das Glykosid **107** wurde in trockenem Tetrahydrofuran gelöst. Unter Eiskühlung erfolgt die Zugabe von fünf Äquivalenten Natriummethanolat. Die Reaktionskontrolle erfolgt mittels Dünnschichtchromatographie an Kieselgelfolie mit Hexan/Essigester als Laufmittel. Da nach geraumer Zeit kein Produkt zu detektieren ist, wird das Reaktionsgemisch bei Raumtemperatur gerührt. Nach weiteren dreißig Minuten kann nur noch 3-Hydroxyechinenon (**69**) detektiert werden.

In einem weiteren Versuch wird analog verfahren, lediglich die Menge an Natriummethanolat wird auf ein Äquivalent reduziert. Auch in diesem Fall kann in der Kälte keine Reaktion und in der Wärme nur die Zersetzung des Glykosides **107** beobachtet werden. Mit dieser Methode kann das Glucopyranosyl-3-hydroxyechinenon (**109**) nicht erhalten werden.



Da die Umesterung mittels Natriummethanolat sich als nicht praktikabel erweist wird nach einer alternativen und milderen Methode gesucht.

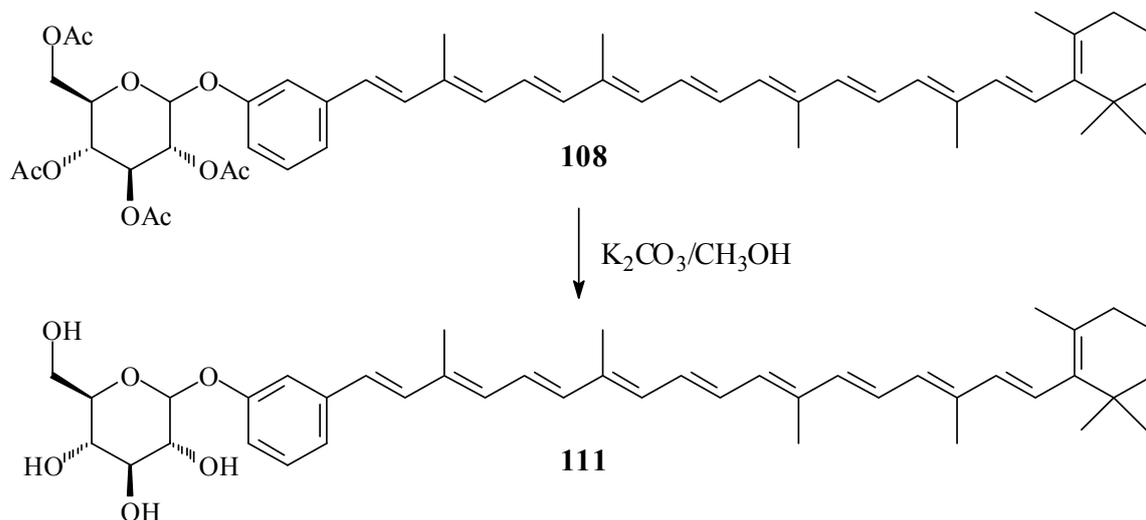
Die Entfernung der Acetylschutzgruppen unter Zemplén-Bedingungen gelingt hier mit einer $3 \cdot 10^{-3}$ molaren methanolischen Kaliumcarbonatlösung bei den Glykosiden **106** und **108**.



V22

Hierzu wird zunächst das vollständig *O*-acetylgeschützte Glykosid **106** in trockenem Dichlormethan gelöst. Bei Raumtemperatur wird unter Rühren methanolische Carbonatlösung zugetropft. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch DC an Kieselgel 60, unter Verwendung von Essigester als Laufmittel. Das Produkt kann als Punkt auf der Grundlinie detektiert werden. Findet man durch Dünnschichtchromatographie kein Edukt mehr, so rührt man die Lösung zur Vervollständigung der Reaktion für dreißig Minuten. Dies ist notwendig, da auch einfach oder evtl. zweifach *O*-acetylgeschützte Glykoside so stark an Kieselgel adsorbieren, dass sie nicht mehr mit dem Laufmittel wandern. Das

Dichlormethan wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bei Raumtemperatur entfernt. Das Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) kann man durch Filtration der methanolischen Reaktionslösung an *reverse phase* Kieselgel (RP 18) und abschließendem Entfernen des Lösemittels am Rotationsverdampfer erhalten. Die Ausbeute beträgt auf diese Weise 75 %.



Analog erfolgt auch die Entfernung der Acetylschutzgruppen am 2'-[(2,3,4,6)-Tetra-O-acetylglucopyranosyl]-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (**108**). Das Glykosid **108** wird in trockenem Methylenechlorid gelöst. Sobald der Feststoff gelöst ist beginnt man mit der Zugabe der methanolischen Carbonatlösung. Die Reaktionskontrolle erfolgt über DC. Essigester dient auch hier als Laufmittel. Nach der oben beschriebenen Aufarbeitung erhält man das Produkt **111** als tiefbraunen, gelb schimmernden Lack in einer Ausbeute von 94 %.

V21

3.4.5 Probleme und Ergebnisse der Glykosylierungsversuche

Im Folgenden findet sich eine tabellarische Übersicht über die hier durchgeführten Glykosylierungsversuche.

Reagenz	Aglykon			Katalysator		
54	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
54	C	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	D	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	E	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
56	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
56	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
57	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
57	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
58	A	BF ₃ ·Et ₂ O		<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-		-	-	
58	B	BF ₃ ·Et ₂ O		<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-		-	-	
58	9	BF ₃ ·Et ₂ O			TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-			-	
58	68	BF ₃ ·Et ₂ O			TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-			-	
57	77	BF ₃ ·Et ₂ O				
isoliertes	Produkt	-				

S
ä
u
r
e
k
a
t
a
l
y
s
e

Tabelle 1: Auflistung der säurekatalysierten Reaktionen von Glykosylierungsmittel und Aglykon, mit dem jeweils verwendeten Katalysator.

Die unter Säurekatalyse verwendeten Aglykone sind **A** Phosphonium-hydrogensulfat **45**, **B** Phosphonium-bromid **46**, **C** Benzaldehyd **80**, **D** Phosphonium-bromid **85**, **E** Butenon **62** sowie die Carotinoide Astaxanthin (**9**), Cryptoxanthin (**68**), 3-Hydroxyechinenon (**69**) und das phenolische Carotinoid (**79**). Zusätzlich wurde die Glykosylierung des Cryptoxanthinimidates **77** durch 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**57**) untersucht.¹⁾

Die Katalysatoren der säurekatalysierten Reaktionen sind Bortrifluoridetherat (BF₃·Et₂O), Kupfer(II)-sulfat *wasserfrei* (CuSO₄), *p*-Toluolsulfonsäure (TosOH), Trimethylsilyltrifluormethansulfonat (TMSOTf) und Zinkchlorid (ZnCl₂).

Für die Koenigs-Knorr-Methode sind die folgenden Hilfsreagenzien verwendet worden, 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU), Silbercarbonat (Ag₂CO₃) und Silbercarbonat adsorbiert auf Natriumsulfat (Ag₂CO₃/Na₂SO₄).

Reagenz	Aglykon	Hilfsreagenz <i>Koenigs-Knorr</i>		
29	68	DBU	Ag ₂ CO ₃	Ag ₂ CO ₃ /Na ₂ SO ₄
isoliertes	Produkt	Acetat von 68	-	-
29	69		Ag ₂ CO ₃	Ag ₂ CO ₃ /Na ₂ SO ₄
isoliertes	Produkt	-	-	Glykosid 107
29	9		Ag ₂ CO ₃	Ag ₂ CO ₃ /Na ₂ SO ₄
isoliertes	Produkt		Acetat 76	Glykoside 105, 106
29	79		Ag ₂ CO ₃	Ag ₂ CO ₃ /Na ₂ SO ₄
isoliertes	Produkt	-	-	Glykosid 108

Tabelle 2: Auflistung der Aglykone und Hilfsreagenzien für die Reaktion mit α -D-Acetobromglucose (**29**), sowie der isolierten Produkte.

Abschließend zeigt sich, dass die lewissäurekatalysierten Reaktionen hier weder mit der peracetylierten Glucose **54**, Galactose **56**, der tetraacetylierten Glucose **57** noch dem Imidat **58** zur Darstellung der gewünschten Glykoside genutzt werden können. Als Ergebnis bleibt festzustellen, dass die Glykosylierung mittels der peracetylierten Glucopyranose **54** und Galactopyranose **56** unter Säurekatalyse, für die hier verwendeten

¹⁾ Die Abbildungen der verwendeten Moleküle können dem Anhang entnommen werden.

Alkoholkomponenten nicht geeignet ist. Die Eigenschaften der Esterfunktion als Abgangsgruppe sind offensichtlich zu schlecht, so dass daraus keine Aktivierung der zu koppelnden Hydroxygruppe resultiert.

Die Phosphoniumsalze **45**, **46** scheinen für weitere Reaktionen als die Wittig-Reaktion nicht genügend geeignet zu sein. Bei der Helferich-Methode liegen ihre Schmelzpunkte so hoch, dass die Zersetzung der Kohlenhydrate unter diesen Bedingungen schneller eintritt, als eine Glykosylierungsreaktion. Ein möglicher Grund, warum die Glykosylierung an den phenolischen Aldehyden und Phosphoniumsalzen nicht statt fand, mag deren saurer Charakter sein. Es stehen Protonen zur Verfügung, die entstandene Glykoside hydrolysieren können. Andererseits sinkt beim phenolischen Aldehyd **80** die Reaktivität, durch die Bildung eines stabilen Resonanzhybrids.

Im Fall der 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranose (**57**) kann die Helferich-Methode nicht umgesetzt werden, da das Glykosylierungsreagenz selbst eine Alkoholfunktion trägt und zudem im Überschuss vorliegt.

Das Imidat **58** kann hier ebenso wenig erfolgreich als Glykosylierungsreagenz verwendet werden. Der Nachteil der Methode, bei den säurekatalysierten Verfahren, ist die Anwesenheit von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen im Aglykon. Die in katalytischen Mengen verwendeten Lewis-Säuren scheinen eher Addukte an das π -Elektronensystem zu bilden und Isomerisierungsreaktionen zu ermöglichen als die Glykosylierung zu beschleunigen. Beim Glykosylierungsversuch mit dem Imidat **77** und der tetraacetylierten Glucose **57** ist die Spaltung der Imidatgruppe zu beobachten, denn es entsteht wieder Cryptoxanthin. Auch in diesem Fall wird kein Glykosid gebildet, die Glucose **57** kann zurückgewonnen werden.

Da die säurekatalysierte Glykosylierung hier nicht erfolgreich ist, werden die Maltose-derivate **60**, **61** nicht auf diese Fähigkeit hin untersucht.

Die Glykosylierung nach Koenigs-Knorr ist hier das einzige Verfahren das erfolgreich ist. Es versagt zwar wie die übrigen Methoden bei der Glykosylierung der Phosphoniumsalze **45** und **46**, aber die Reaktion mit den Xanthophyllen gelingt. Nachteil ist hierbei die Oxidationsempfindlichkeit einiger Carotinoide, wie es beim Cryptoxanthin (**68**) zu beobachten ist. Diese Tatsache veranlasste Yamano und Mitarbeiter zur Entwicklung von Glykosylierungsreaktionen die ohne Silbersalze realisiert werden können^[132]. Finden sich aber gegenüber der Oxidation stabilere Carotinoide wie Astaxanthin (**9**), 3-Hydroxyechinenon (**69**) oder das phenolische Carotinoid (**79**) so kann, wenn auch mit teils langer Reaktionsdauer die Bildung von *O*-acetylgeschützten Glykosiden beobachtet werden. Das

von Pfander angesprochene Problem, die Güte der Silbersalze,^[133] spielt durch Adsorption an die Oberfläche von Natriumsulfat keine bedeutende Rolle mehr.

3.5 Untersuchungen an ausgewählten Carotinoiden

3.5.1 UV/VIS-Spektroskopie der glykosidischen Carotinoide 110 und 111

3.5.1.1 Aggregationseigenschaften des Carotinoids 110

Bei der UV/VIS-spektroskopischen Untersuchung von (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetylglucopyranosyl)astaxanthin (**105**), Bis-(2,3,4,6-tetra-*O*-acetylglucopyranosyl)astaxanthin (**106**), und Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) zeigt sich, dass sie in verschiedenen Lösemitteln nicht die für Carotinoide charakteristische monomere Bandenform aufweisen. Zur Veranschaulichung findet sich in der folgenden Abbildung das UV/VIS-Spektrum des Bisglykosides **106**.

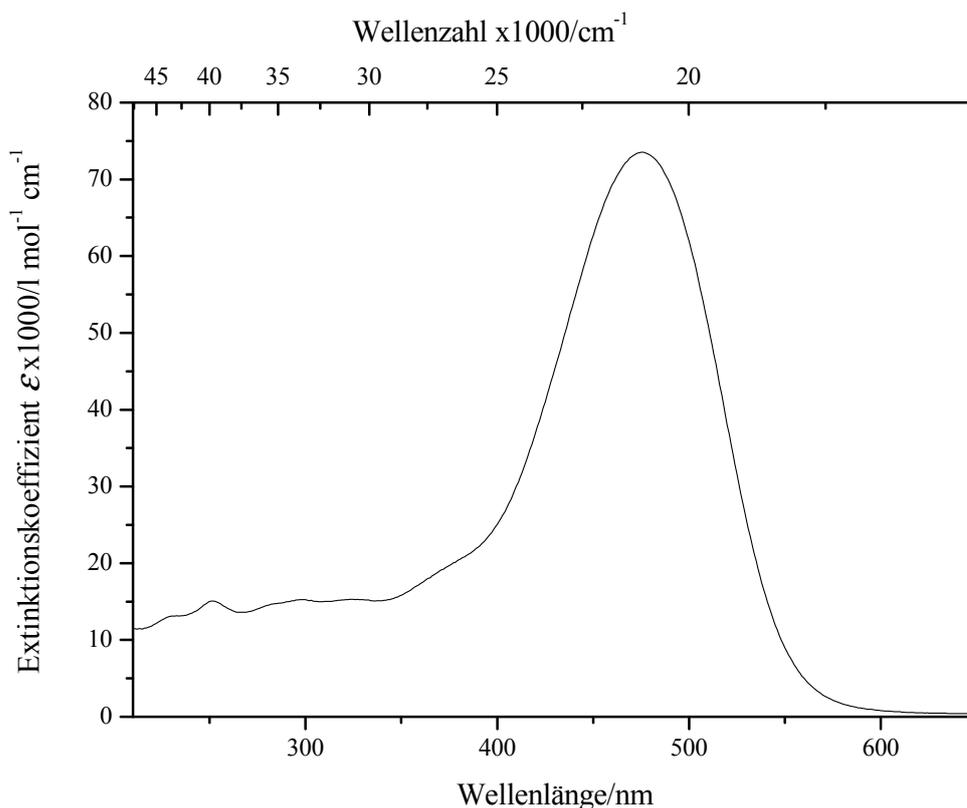


Abb. 49: UV/VIS-Spektrum des Bisglykosides **106** in Ethanol ($\lambda_{\text{max}} = 475 \text{ nm}$,
 $\log(\epsilon) = 4.87$)

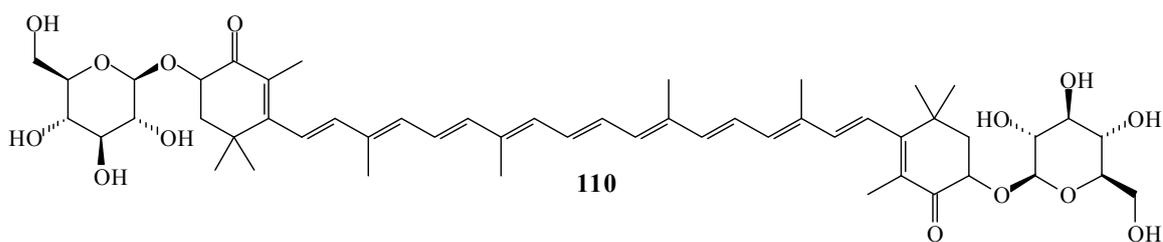
Dies deutet darauf hin, dass sie in aggregierter Form vorliegen. Angesichts der Tatsache das Carotinoide in der Natur oft in wässriger Umgebung in Aggregaten auftreten, ist es aufschlussreich ihr Verhalten in dieser Hinsicht zu untersuchen.

Das in Lösung rotorange Astaxanthin (**9**) ($\lambda_{\max} = 474 \text{ nm}$, Hexan) zeigt im Hummer gelbe bzw. blaue Färbung. Dieses Phänomen der geänderten optischen Eigenschaften konnte von Buchwald und Jencks der Aggregation des Xanthophylls **9** zugesprochen werden. Dies gelingt Ihnen durch die Aufzeichnung diverser UV/VIS-Spektren, unter der Verwendung unterschiedlicher Ethanol/Wasser-Gemische und der Zugabe verschiedener Salze in variierenden Konzentrationen. Auf diese Weise konnten Sie bathochrom und hypsochrom zur Monomerenbande verschobene Absorptionsbanden mit geänderter Form ausfindig machen, unter anderem gelingt es Ihnen ein H-Aggregat zu identifizieren.^[134]

Durch die Beobachtung von H-Aggregationsbanden mit einem Absorptionsmaximum um 370 nm schließt Hager, dass besonders Hydroxycarotinoide in wässrigen Medien als biologische Photorezeptoren in Frage kommen können.^[106]

Ruban und Mitarbeiter verfolgten UV/VIS-spektroskopisch die H-Aggregation von sechs in Pflanzen häufig vorkommenden Xanthophyllen wie z. B. Zeaxanthin (**18**), Lutein (**19**) und Violaxanthin (**55**) in Ethanol/Wasser-Gemischen steigenden Wassergehaltes. Sie stellten dabei eine lineare Beziehung zwischen der mit abnehmender Polarität der Carotinoide steigenden Aggregationstendenz und der Lage der kleineren bei den Aggregaten über 500 nm auftretende Absorptionsbande fest.^[135]

Das Astaxanthinbisglykosid **110** ist hier ebenfalls hinsichtlich seiner Fähigkeit, Aggregate auszubilden untersucht worden. Abweichend von anderen Arbeiten wird das Verhalten in Bezug auf Aggregation nicht in einem Lösemittelgemisch aus Wasser in Ethanol gemessen.



Korger^[136] kann mit dem System Aceton/Wasser eine Großzahl von Carotinoiden untersuchen, unter anderem auch solche, die in Ethanol eine geringe oder gar keine Löslichkeit zeigen. Ausgehend von 100 % organischem Lösungsmittel wird der Anteil an Wasser um jeweils 10 % erhöht, bis dieser 90 % beträgt.

Diese Vorgehensweise ist hier ebenfalls zur Anwendung gekommen. Korger hat zudem den Einfluss der Konzentration auf das Aggregationsverhalten untersucht, so dass hier in Anlehnung an diese Vorgehensweise ca. $4 \cdot 10^{-6}$ molare Lösungen vermessen werden.

Die Lösungen des Bisglykosides **110** sind ab einem Acetonanteil von 40 % nur noch leicht rosé gefärbt. Das UV/VIS-Spektrum bei einem Wasseranteil von 60 % zeigt eine stark verminderte Absorption. Dies kann man parallel zu der Abnahme der Absorbanz beobachten. Die Absorption nimmt im Verlauf der Messungen mit steigendem Wasseranteil noch weiter ab.

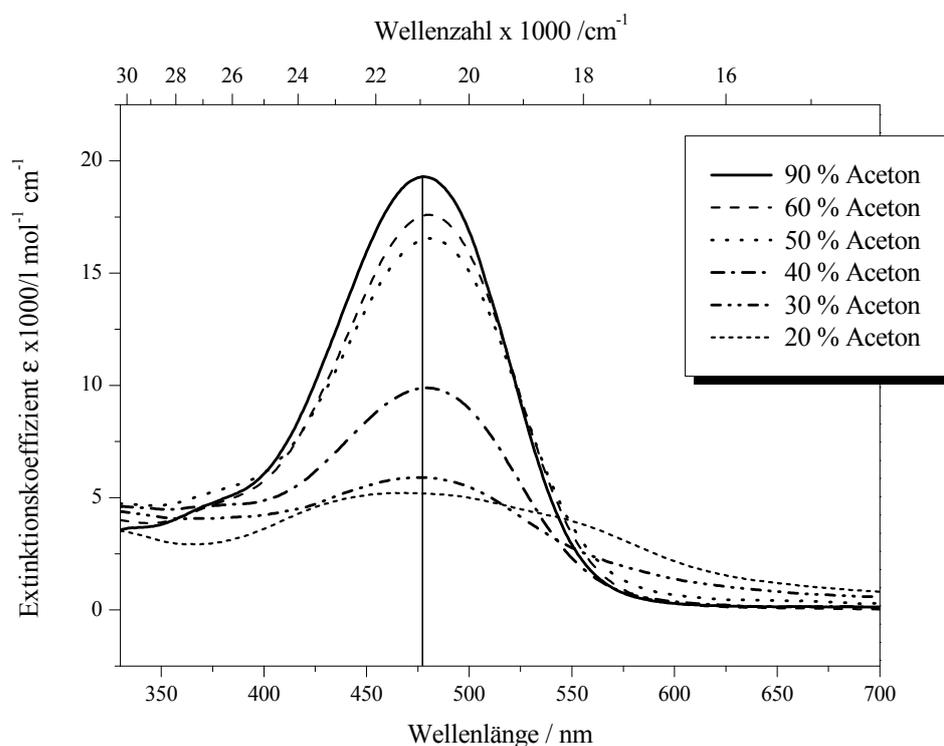


Abb. 50: Einige ausgewählte UV/VIS-Spektren von Glykosid **110** in verschiedenen Aceton/Wasser-Gemischen.

Mit steigendem Wasseranteil kann in den UV/VIS-Spektren eine Schulter um 560 nm detektiert werden. Dies deutet darauf hin, dass das Glykosid **110** unter diesen Bedingungen Aggregate bildet, die nicht stark strukturiert sind. Die Schulter mag auf eine Orientierung hindeuten, die man J-Aggregaten zuordnet.¹⁾

Das Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) kann sogar mit Hilfe eines Ultraschallbades auf direktem Wege in Wasser gelöst werden. Die nachfolgende Abbildung zeigt das UV/VIS-Spektrum einer $6,4 \cdot 10^{-5}$ molaren Lösung des Glykosides **110**. Man findet die Wellenlänge

¹⁾ Da die Aggregatebande um 560 nm so schwach ausgeprägt ist, wurde das Experiment mit den Systemen Ethanol/Wasser und 2-Propanol/Wasser wiederholt, dabei zeigt sich ebenfalls der gering ausgeprägte Effekt.

maximaler Absorption im Vergleich zu Aceton 30 nm hypsochrom verschoben bei 447 nm (Aceton: $\lambda_{\max} = 477$ nm, $\log(\epsilon) = 4,23$).

Im Wellenlängenbereich von 500-600 nm zeichnet sich eine Schulter ab. Dieser sehr schwache Effekt kann einer J-Aggregatebande zugeordnet werden. Festzustellen bleibt, dass das Glykosid **110** in aggregierter Form vorliegt, wenn auch mitunter nicht einheitlich strukturiert.

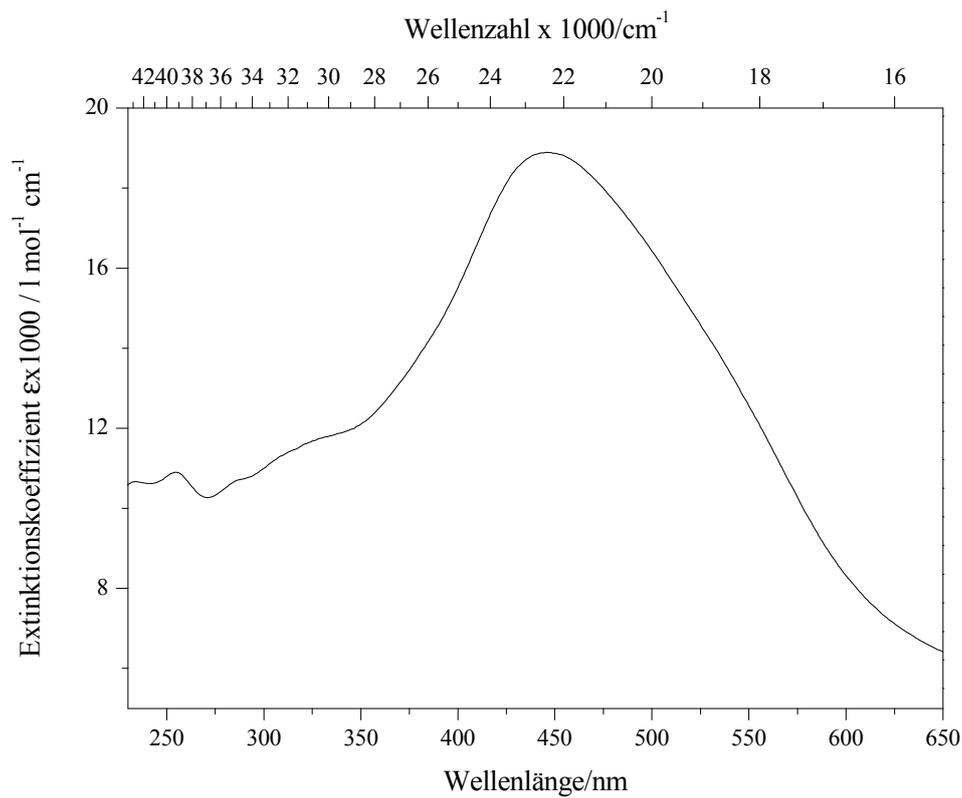
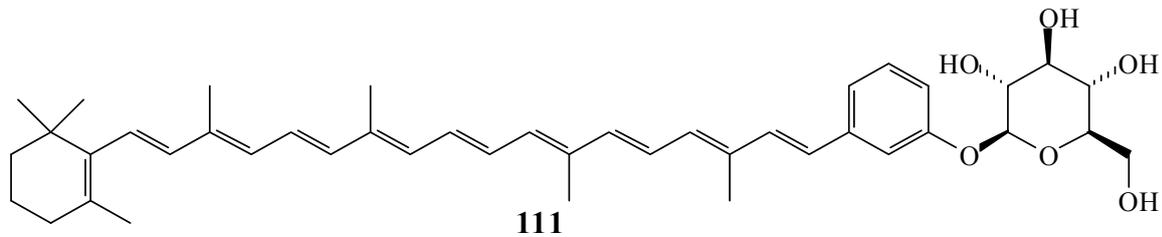


Abb. 51: UV/VIS-Spektrum des Bisglykosides **110** in Wasser ($\lambda_{\max} = 447$ nm, $\log(\epsilon) = 4.12$).

3.5.1.2 Aggregationseigenschaften des glykosidischen Xanthophylls 111

Wie im Falle des Bisglucopyranosylastaxanthins (**110**) wird das Aggregationsverhalten des glykosidischen Xanthophylls **111** durch die Aufzeichnung der UV/VIS-Spektren im Lösemittelgemisch Aceton/Wasser untersucht.



Das UV/VIS-Spektrum des unsymmetrischen Glucopyranosyl-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (**111**) weist gelöst in Aceton die für Carotinoide charakteristische Bandenstruktur auf, wie sie für Monomere typisch ist.

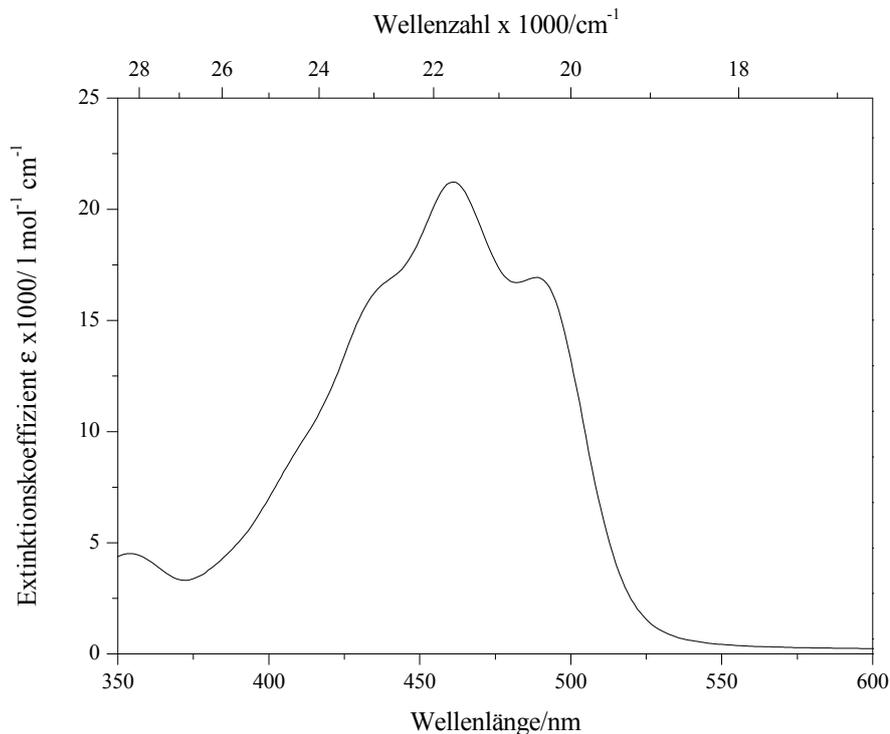


Abb. 52: UV/VIS-Spektrum von Glykosid **111** in Aceton ($\lambda_{max} = 461 \text{ nm}$, $\log(\epsilon) = 4,33$).

Im Verlauf der Messung kann mit zunehmendem Wasseranteil eine Abnahme der Absorbanz beobachtet werden. Ab einem Wasseranteil von 50% erscheint die vormals

zitronengelbe Lösung fast farblos. Bei einem Wasseranteil von 60 % findet man im UV/VIS-Spektrum ein nur gering strukturiertes Bandenmuster, begleitet von geringer Absorbanz. Die Ausbildung von Aggregaten soll mitunter recht lange dauern, aber auch nach einigen Tagen ändert sich das Aussehen des Spektrums mit 60 % Wasseranteil nicht. Oberhalb 60 % Wasser nimmt mit steigendem Wasseranteil auch die Absorbanz wieder zu. Die UV/VIS-Spektren des Glykosides **111** zeigen die Ausbildung einer Bande, die der Ausformung eines strukturierten Aggregates zuzusprechen ist. Mit einem Wasseranteil von 90 % zeigt sich eine H-Aggregatebande bei 386 nm. Im Gegensatz zum Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) gelingt es nicht, das Glykosid **111** in Wasser zu lösen, aufgrund seines amphiphilen Charakters bildet es Mizellen aus.

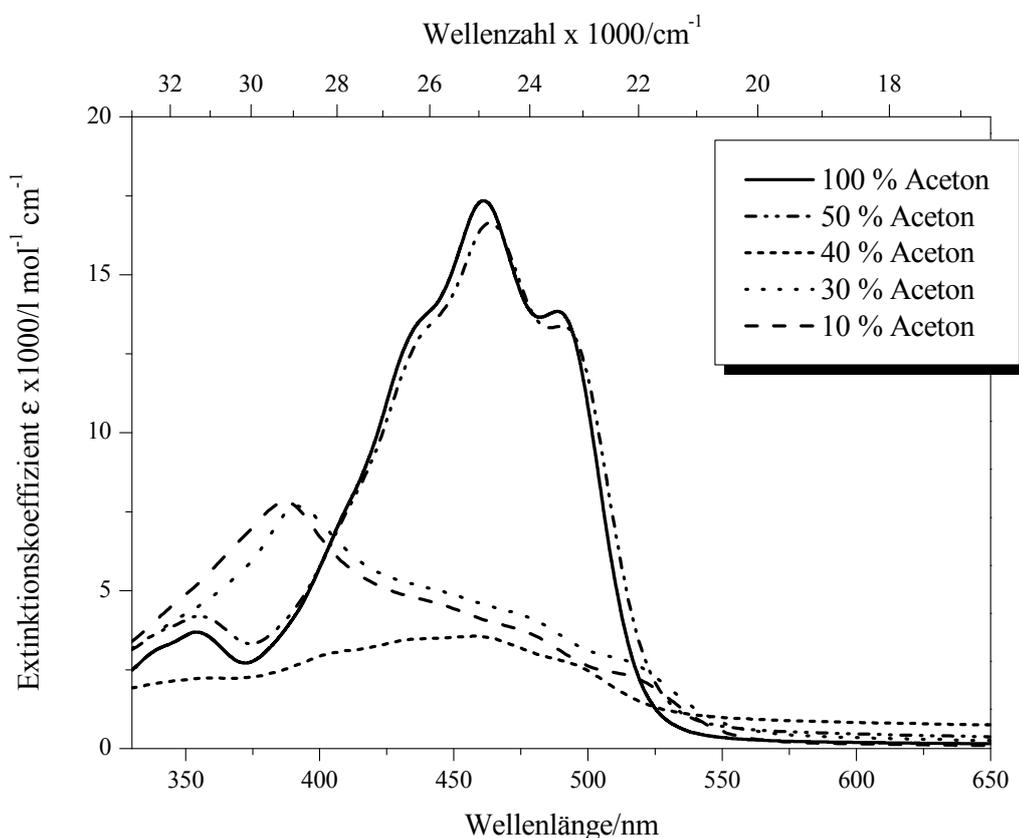


Abb. 53: Einige ausgewählte UV/VIS-Spektren von Glykosid **111** in verschiedenen Aceton/Wasser-Gemischen.

3.5.2 Cyclovoltammometrie

Die Xanthophylle Astaxanthin (**9**) und Trinorcarotinoid **79** können unter den oxidativen Bedingungen der Koenigs-Knorr-Methode glykosyliert werden. Carotinoide zeichnen sich im Allgemeinen durch ihre Fähigkeit aus, antioxidativ zu wirken. Ein Vorgang, bei dem sie anstelle einer zu schützenden Spezies in einer Oxidationsreaktion verbraucht werden. Die Xanthophylle **9** und **79** zeichnen sich durch eine gewisse Stabilität gegenüber oxidativen Einflüssen aus, daher stellt sich die Frage nach ihrem Redoxpotential. Eine Methode zur Bestimmung von Redoxpotentialen ist die Cyclovoltammometrie.

Bei dieser Messmethode werden in einer Dreielektrodenanordnung spannungsabhängige Ströme gemessen. In einen ruhenden Elektrolyten tauchen eine Arbeitselektrode (1), eine Referenzelektrode (2) und die Gegenelektrode (3) (siehe Abb. 54).

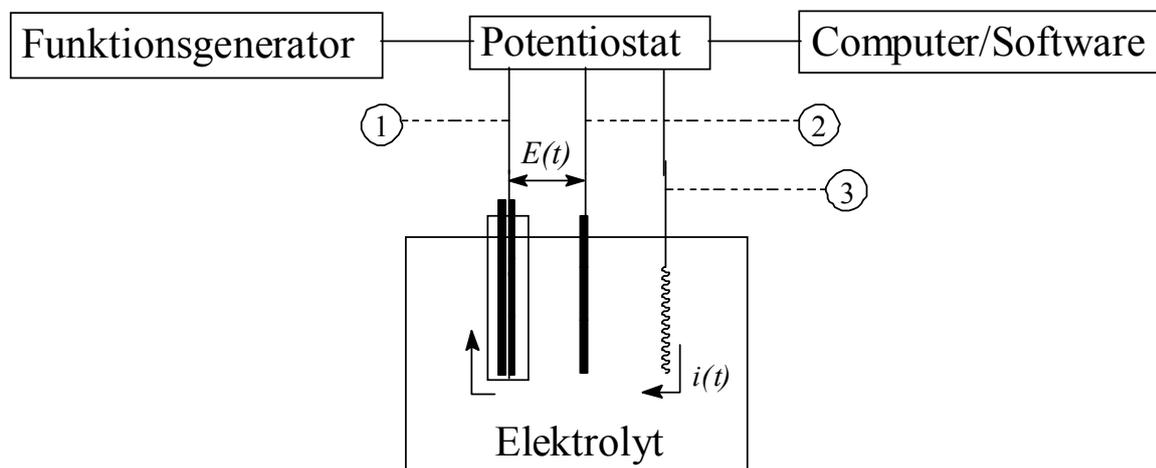


Abb. 54: Schematischer Aufbau einer elektrochemischen Messanordnung, 1-Arbeitselektrode, 2-Referenzelektrode, 3-Gegenelektrode.

Zwischen der stromlosen Referenzelektrode und der Arbeitselektrode wird eine Spannung angelegt, welche variiert wird. Dies erfolgt linear mit einer Vorschubgeschwindigkeit $v = dE/dt$ (typischerweise im Bereich von 100 bis 1000 mV/s). Erreicht man ein vorgewähltes Umkehrpotential E_i , so kehrt man zum Ausgangswert zurück. Bei diesem Vorgang wird zwischen der Arbeits- und Gegenelektrode ein Strom i gemessen.

Man erhält so eine Strom-Spannungs-Kurve, aus der sowohl quantitative und qualitative als auch kinetische und thermodynamische Informationen über das elektrochemische System erhalten werden können. Hier ist das Halbstufenpotential $E_{1/2}$ von Interesse, es ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der Spitzenpotentiale für die anodischen und kathodischen Teilprozesse.

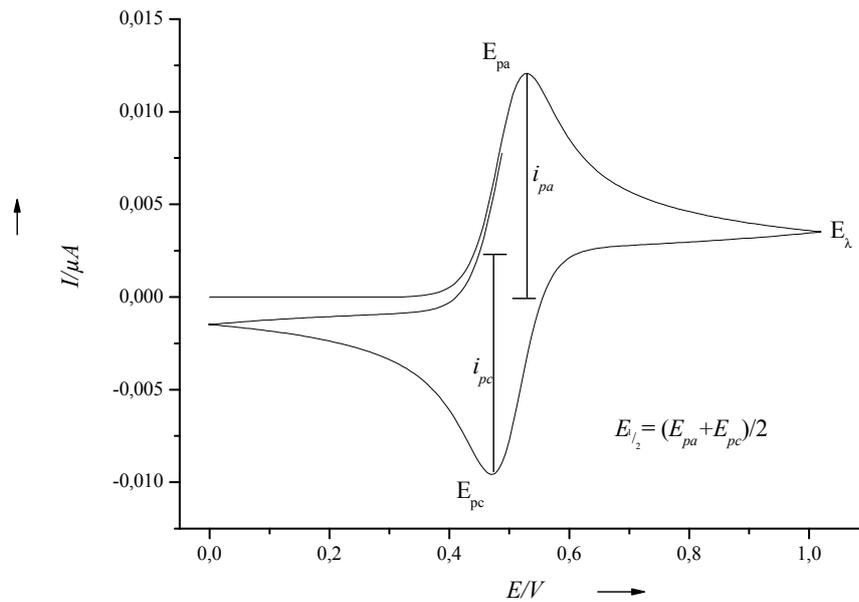


Abb. 55: Simuliertes Cyclovoltammogramm für einen reversiblen Ladungstransfer. E_{pc} : kathodisches Spitzenpotential, E_{pa} : anodisches Spitzenpotential, E_{λ} : Umkehrpotential, i_{pc} : kathodischer Spitzenstrom, i_{pa} : anodischer Spitzenstrom.

Das Halbstufenpotential $E_{1/2}$ ist für eine bestimmte elektrochemische Reaktion in einem bestimmten Lösemittel an einer bestimmten Elektrode gemessen gegen eine bestimmte Referenzelektrode charakteristisch. Das Halbstufenpotential $E_{1/2}$ kann dem thermodynamischen Redoxpotential E^0 gleichgesetzt werden.

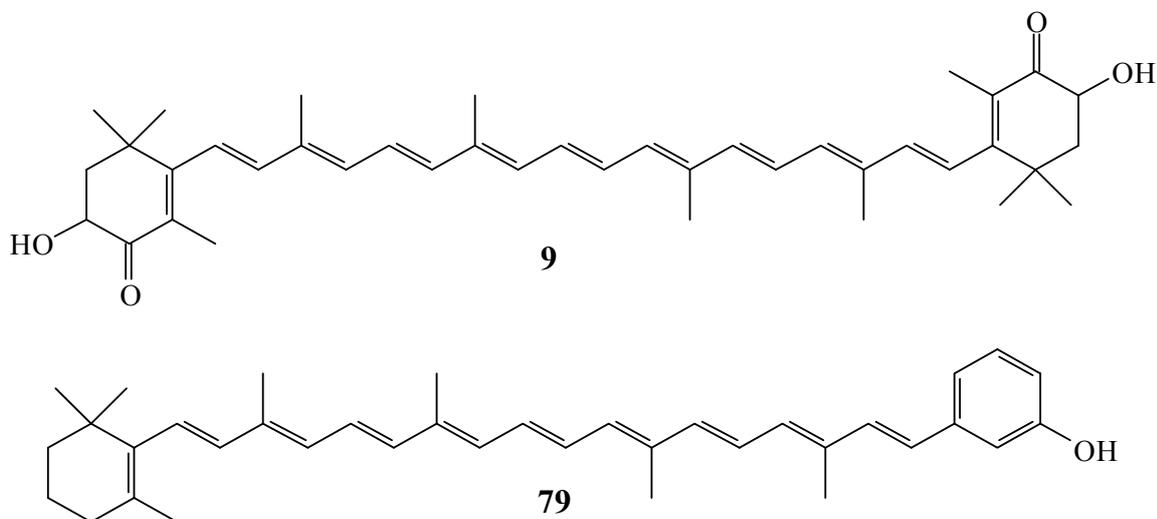
Carotinoide sind bekannt für ihre photoprotektiven und antioxidativen Eigenschaften. Darüber hinaus spielen sie eine wichtige Rolle bei der Photosynthese als lichtsammelnde Antennenmoleküle (siehe Kap. 1.2) und sind fähig zu Elektronentransferreaktionen.

Aus diesem Grund haben bereits Kispert, Jeevarajan und Deng mit Mitarbeitern Untersuchungen über die elektrochemischen Eigenschaften von natürlichen Carotinoiden (Cantaxanthin, β -Carotin), Apocarotinoiden (z.B. 8'-Apo- β -carotin-8'-al) sowie verschiedenst modifizierter Derivate von Apocarotinoiden (z.B. 8'-Apo- β -carotin-8'-nitril) durchgeführt. Dazu nutzten sie unter anderem die Cyclovoltammometrie.^[137, 138]

Hier hat Gräf mittels Cyclovoltammometrie elektrochemische Untersuchungen an diversen Carotinoiden mit unterschiedlicher Kettenlänge und variierender Zahl an konjugierten Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen vorgenommen.^[139] Die Zahl der Doppelbindungen liegt zwischen 5 und 23, wobei die Carotinoide die β - oder ε -Carotin-Endgruppe tragen. Zusätzlich wurden auch Fragmente der Polyenkette als offenkettige

Carotinoide untersucht. Von Gräf sind die anodische Oxidation jeweils in Schwefeldioxid und Methylenechlorid bei einer Temperatur von $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ gemessen worden. Die kathodische Reduktion wurde jeweils in Dimethylamin und Methylenechlorid bei einer Temperatur von $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ vermessen. Es konnte unter anderem die Abhängigkeit der Halbstufenpotentiale von der Zahl der Kohlenstoff-Kohlenstoff-Doppelbindungen gezeigt werden. Das Halbstufenpotential sinkt proportional der reziproken Doppelbindungsanzahl.

Hier werden Astaxanthin (**9**) und das *m*-phenolische Carotinoid **79** jeweils in Dichlormethan vermessen, denn in diesem Lösungsmittel findet auch die modifizierte Koenigs-Knorr-Methode Anwendung (siehe Kap. 3.4.3).



Als Leitsalz wird Tetrabutylammoniumhexafluorophosphat (TBAPF₆) in einer Konzentration von 0,1 M verwendet. Die Messung findet in ruhender Lösung bei $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ statt, denn dies ist die gleiche Temperatur bei der auch die Glykosylierungsreaktion stattfindet. Untersucht wurde hier nur die anodische Oxidation im Bereich von 0 bis 2,0 V.

Man beobachtet für die beiden Carotinoide zwei Elektronentransferstufen, die sich überlagern. Sowohl Kispert als auch Gräf finden diese teils stark separierten Elektronentransferstufen, einzig bei α - und β -Carotin finden Kispert und Mitarbeiter eine vollständige Überlagerung der Peaks.^[140] Kispert und Gräf ordnen diese quasireversiblen Elektronenübertragungen der Oxidation des π -Elektronensystems in der Polyenkette der Carotinoide zu. Ein Beispiel für ein Monoradikalkation und ein Dikation ist in Abbildung 56 für das β -Carotin gezeigt.

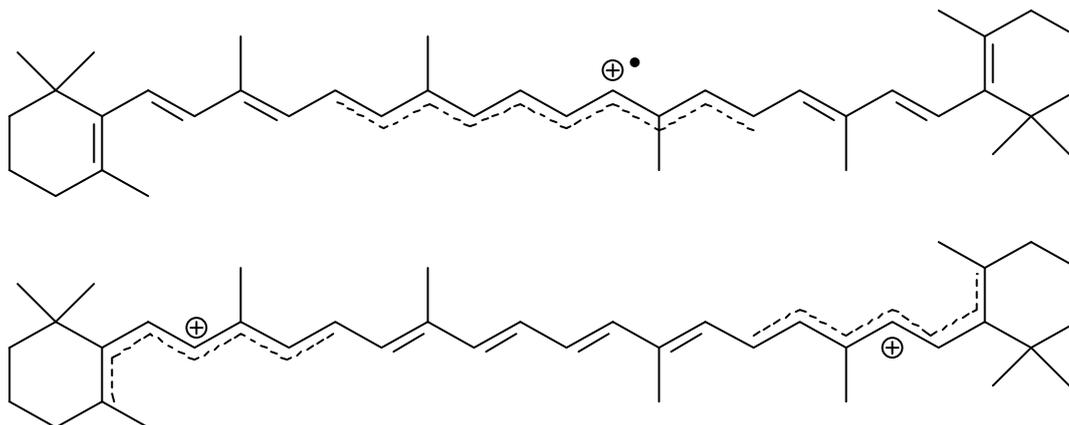


Abb. 56: Vermutete Ladungsverteilung für ein Mono- bzw. Dikation des β -Carotin. ^[139]

Astaxanthin (**9**) zeigt in Dichlormethan bei 20 °C etliche Oxidationsereignisse zwischen 0.6 und 0.85 V (gegen Ag/AgCl). Dieser Bereich enthält auch den publizierte Wert 0.76 V ^[131] gegen Ag/AgCl. Kispert findet für Cantaxanthin mit 0.79 V ein unwesentlich verschiedenes Redoxpotential. ^[140]

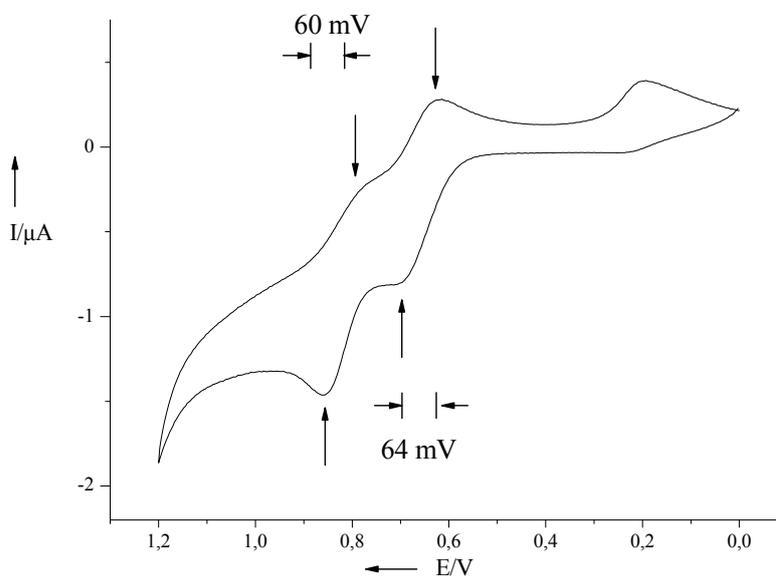


Abb. 57: Cyclovoltammogramm des Astaxanthins (**9**) in einer 0.1 M Lösung von NBu_4PF_6 in CH_2Cl_2 als Elektrolyt, Pt-Arbeits- und Pt-Gegenelektrode, vs. Ag/AgCl, bei $v = 100 \text{ mV/s}$, 20 °C.

16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β , ϕ -carotin (**79**) weist Oxidationsereignisse auf zwischen ca. 0,4 V und 1,0 V (gegen Ag/AgCl). Damit ist gezeigt, dass **79** oxidationsempfindlicher ist als Xanthophyll **9**.

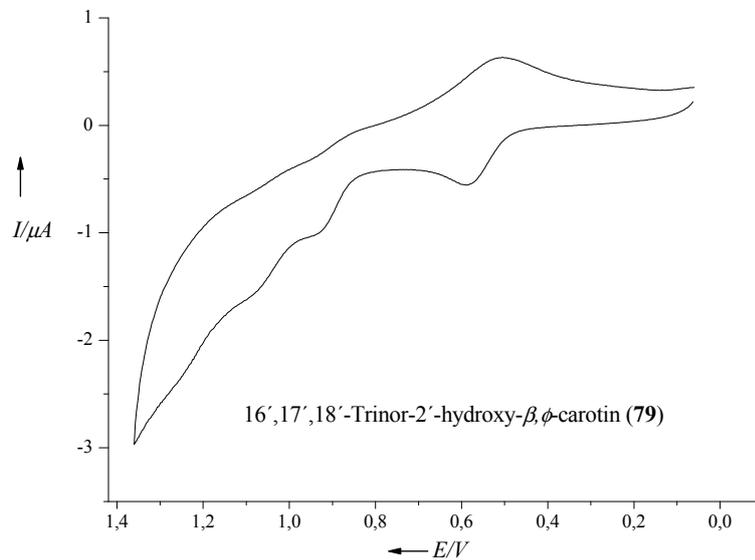


Abb. 58: Cyclovoltammogramm des Carotinoide (**79**) in einer 0,1 M Lösung von NBu_4PF_6 in CH_2Cl_2 als Elektrolyt, Pt-Arbeits- und Pt-Gegenelektrode, vs. Ag/AgCl, bei $v = 100 \text{ mV/s}$, $20 \text{ }^\circ\text{C}$.

Inwieweit die phenolische Gruppe neben der Polyenkette in diesen Redoxprozessen involviert ist (Phenol/Phenolat zu Phenoxy) (siehe Abb. 58), und welche Peaks zu welchem Prozess gehören, müssen künftige Untersuchungen zeigen.

3.6 Zusammenfassung

Glykosidische Carotinoide sind in der Natur hauptsächlich in (meist Photosynthese betreibenden) Bakterien oder Algen zu finden. Aus höheren Pflanzen stammend ist lediglich das Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) bekannt, welches aus dem Adonisröschen isoliert werden kann. Im Eubakterium *Thermus thermophilus* finden sich wie bereits erwähnt sieben verschiedene Thermozeaxanthine (siehe Kap. 2, Abb. 15), welche augenscheinlich für die Stabilisierung verantwortlich sind.

Diese Hypothese konnte Hara durch fluoreszenzspektroskopische Untersuchungen an einer Reihe von Lipidmonoschichten bestätigen. Thermozeaxanthine die durch Extraktion aus dem rekombinanten Eubakterium *T. thermophilus* Cop101(pCOP1) erhalten wurden fanden dabei Verwendung. Die Messungen finden bei Temperaturen von 20-80 °C, somit auch in einem Bereich der über der Phasenübergangstemperatur von DPPC¹⁾-Vesikeln (41,3 °C)^[141] liegt.^[44]

Glykosidische Carotinoide stellen eine interessante Klasse von Amphiphilen dar, deren Potential bisher noch nicht erschlossen ist. Meist werden die glykosidischen Carotinoide aus transformierten Bakterien wie z. B. *Escherichia coli* gewonnen. Totalsynthesen für glykosidische Carotinoide sind bekannt, die erzielbaren Ausbeuten scheinen den Aufwand aber nicht zu rechtfertigen.^[48]

Aus diesem Grund ist es erstrebenswerter die Glykosylierung von Xanthophyllen zu untersuchen, wodurch die Zahl der notwendigen Synthesestufen drastisch reduziert wird. Die Partialsynthese des Zeaxanthinmono- und Zeaxanthinbisglucopyranosides durch Pfander ist bekannt, jedoch war diese (unter den gegebenen Reaktionsbedingungen) stets mit sehr geringen Ausbeuten verbunden.^[45]

Im Rahmen dieser Arbeit sind daher systematisch moderne (z. B. Trichloracetimidat-Methode nach Schmidt) und altbewährte Glykosylierungsmethoden (z. B. Helferich-Methode) zur Darstellung glykosidischer Carotinoide untersucht worden.

Die Ergebnisse dieser säurekatalysierten Methoden finden sich in Tabelle 1 (siehe auch Kapitel 3.4.5). Die Glykosylierung von Endgruppen **45 (A)**, **46 (B)**, **80 (C)**, **85 (D)**, **82 (E)**, welche als Synthone für eine anschließende Wittig-Reaktion dienen können, ist hier mittels saurer Katalyse ebenso wenig gelungen wie die Glykosylierung der Xanthophylle **9** und **68**.

¹⁾ DPPC = Dipalmitoylphosphatidylcholin.

Reagenz	Aglykon			Katalysator		
54	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
54	C	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	D	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
54	E	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	ZnCl ₂
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	-
56	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
56	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
57	A	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
57	B	BF ₃ ·Et ₂ O	CuSO ₄	<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-	-	-	-	
58	A	BF ₃ ·Et ₂ O		<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-		-	-	
58	B	BF ₃ ·Et ₂ O		<i>p</i> -TosOH	TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-		-	-	
58	9	BF ₃ ·Et ₂ O			TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-			-	
58	68	BF ₃ ·Et ₂ O			TMSOTf	
isoliertes	Produkt	-			-	
57	77	BF ₃ ·Et ₂ O				
isoliertes	Produkt	-				

S
ä
u
r
e
k
a
t
a
l
y
s
e

Tabelle 1: Auflistung der säurekatalysierten Reaktionen von Glykosylierungsmittel und Aglykon, mit dem jeweils verwendeten Katalysator.

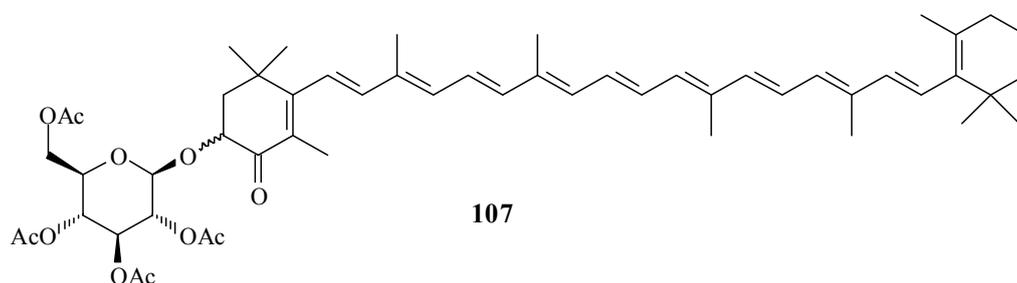
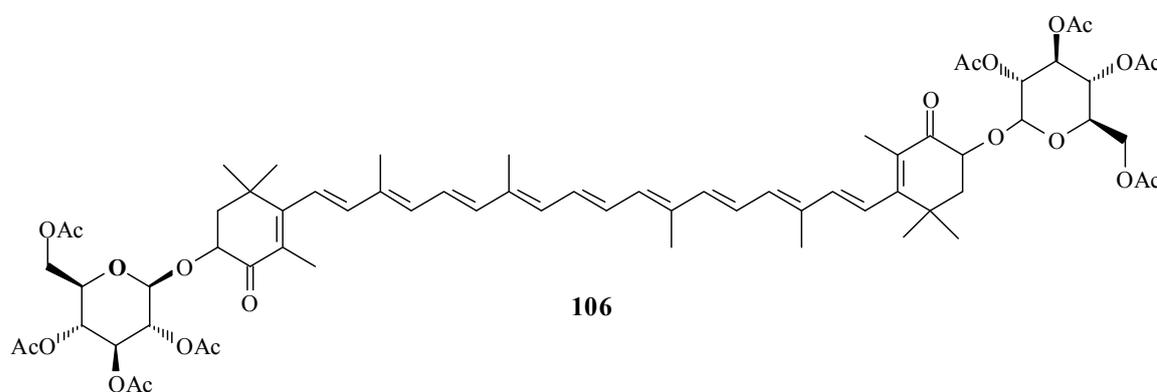
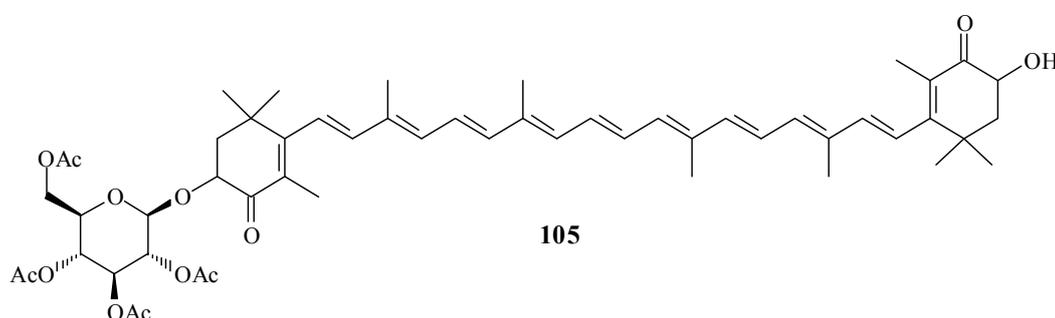
Die Koenigs-Knorr-Methode ist bereits von Mayer und Santer zur Synthese von Picrocrocin (**32**)^[48], wie auch von Pfander und Hodler zur Synthese von Mono- und Bisglucopyranosylzeaxanthin verwendet worden^[45]. Die Ausbeuten waren jedoch sehr gering. Die Untersuchungen dieser Methode zeigten hier, dass zum einen die Stabilität der verwendeten Carotinoide gegenüber oxidativen Bedingungen von Bedeutung ist.

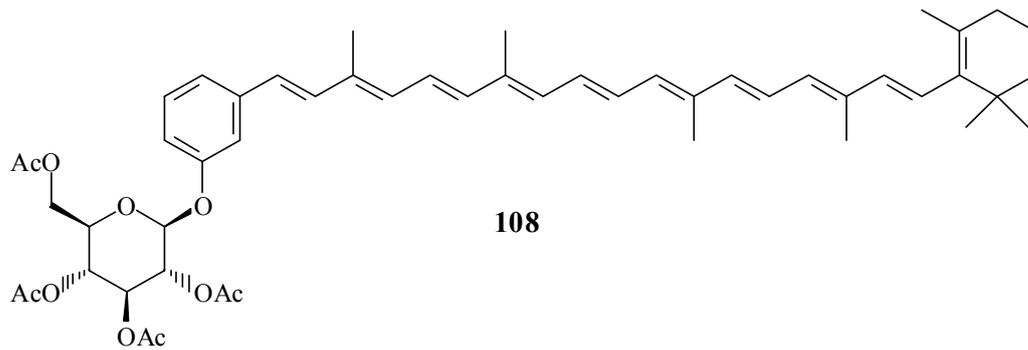
Zudem ist die Vergrößerung der Oberfläche des Hilfsreagenzes der offensichtlich entscheidende Faktor, der die Glykosylierung ermöglicht.

Als Ergebnis ist durch die Modifikation der Koenigs-Knorr-Methode die Glykosylierung von unterschiedlichsten Hydroxycarotinoiden gelungen.

Glykosylierungsversuche nach Koenigs-Knorr waren zunächst nicht erfolgreich. Eine Aktivierung des Hilfsreagenz Silbercarbonat durch Adsorption an Natriumsulfat (Vergrößerung der aktiven Oberfläche) führte zum Gelingen der Synthese.

Auf diese Weise können ausgehend von 3-Hydroxyechinenon (**69**), 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (**79**) und Astaxanthin (**9**) die peracetylierten Glykoside **105**, **106**, **107**, **108** dargestellt werden.

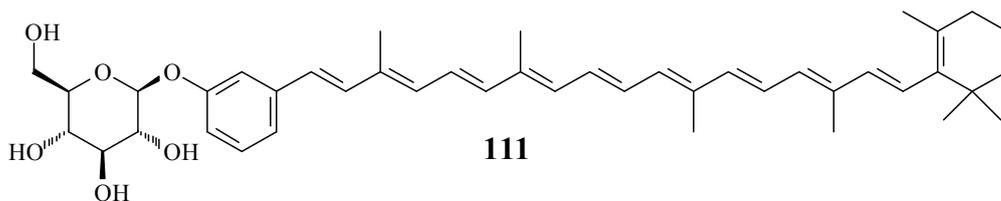
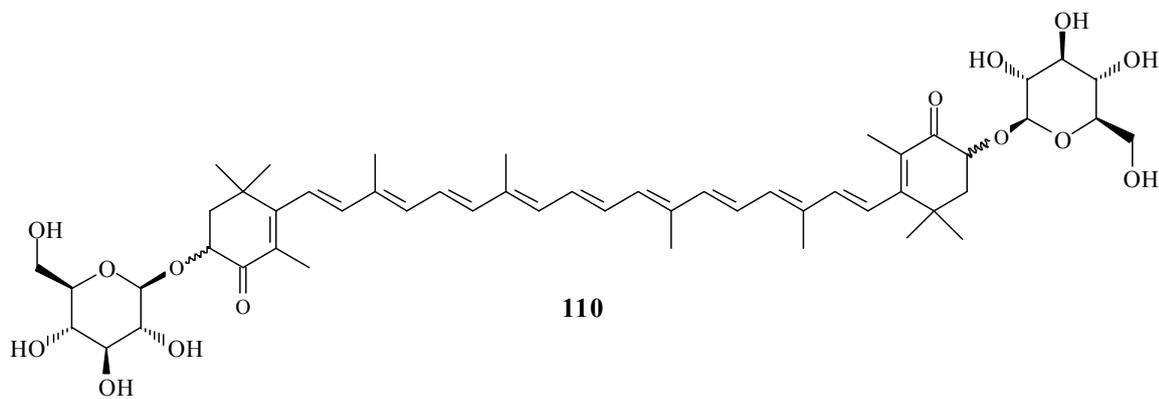




Zur Entfernung der Acetylschutzgruppe steht eine Reihe von Reaktionen zur Verfügung, seien es Hydrolyse- oder Hydrierungsreaktionen. Die Schwierigkeit ist der Erhalt der Glykosidischen Bindung, die nur über einen kleinen pH-Bereich stabil ist. Die bekannten Thermozeaxanthine beispielsweise sind nur im Bereich von pH = 5-9 stabil.^[44]

Versuche durch Umesterung die Abspaltung der Acetylschutzgruppe zu erreichen schlugen fehl. Durch die Verwendung von Natriummethylat in Methanol konnten in einer Konzentrationsreihe (auch bei sehr kleinen Konzentrationen an Methanolat) nur die Xanthophylle erhalten werden.

Durch die Verwendung von methanolischer Kaliumcarbonatlösung konnte eine geeignete milde Methode gefunden werden, die es erlaubt, die ungeschützten Glykoside zu erhalten. Auf diese Weise konnten die Glykoside **110** und **111** dargestellt werden.



Die amphiphilen Carotinoide **110** und **111** wurden auf ihr Aggregationsverhalten in Lösungsmittelgemischen aus Aceton/Wasser untersucht. Dabei zeigte sich, dass das Glykosid **110** wasserlöslich ist. Im Gegensatz zu anderen Arbeiten kann dieses Carotinoid

ohne den Umweg über ein Lösemittelgemisch (z. B. Aceton/Wasser) direkt in Wasser gelöst werden.

Das Bisglucopyranosylastaxanthin (**110**) zeigt hier die schwache Ausbildung von J-Aggregaten.

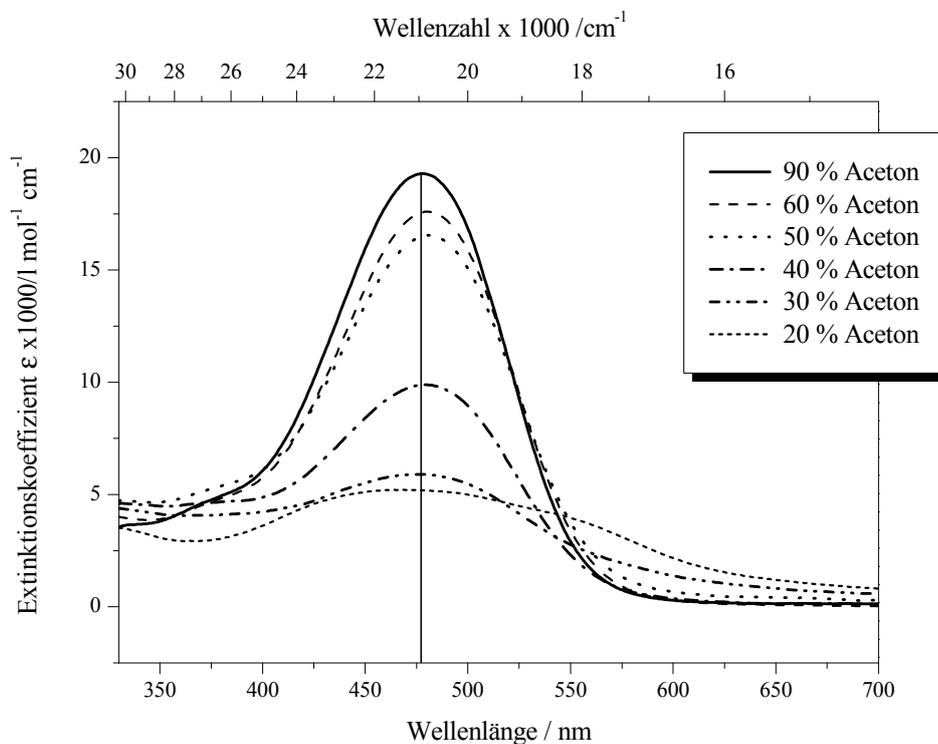


Abb. 50: Einige ausgewählte UV/VIS-Spektren von Glykosid **110** in verschiedenen Aceton/Wasser-Gemischen.

Das asymmetrisch aufgebaute glykosidische Carotinoid **111** zeigt ein abweichendes Verhalten. Es besitzt auf Grund seiner unterschiedlichen Endgruppen und nur eines Glykanteiles einen stärker amphiphilen Charakter als das Bisglykosid des Astaxanthins **110**. Es zeigt sich, dass in Aceton gelöst noch das Monomerspektrum des Glykosides **111** vorliegt (siehe Abb. 51). Erst ab einem Wasseranteil von 60 % zeigt sich im UV/VIS-Spektrum ein abweichendes Verhalten. Die beobachtete Absorbanz sinkt drastisch, um mit steigendem Wasseranteil wieder anzusteigen. Dieser Anstieg der Absorbanz geht einher mit der Beobachtung einer Aggregatebande. Es bildet sich ein H-Aggregat mit einem Maximum der Absorption bei der Wellenlänge (λ_{\max}) 386 nm.

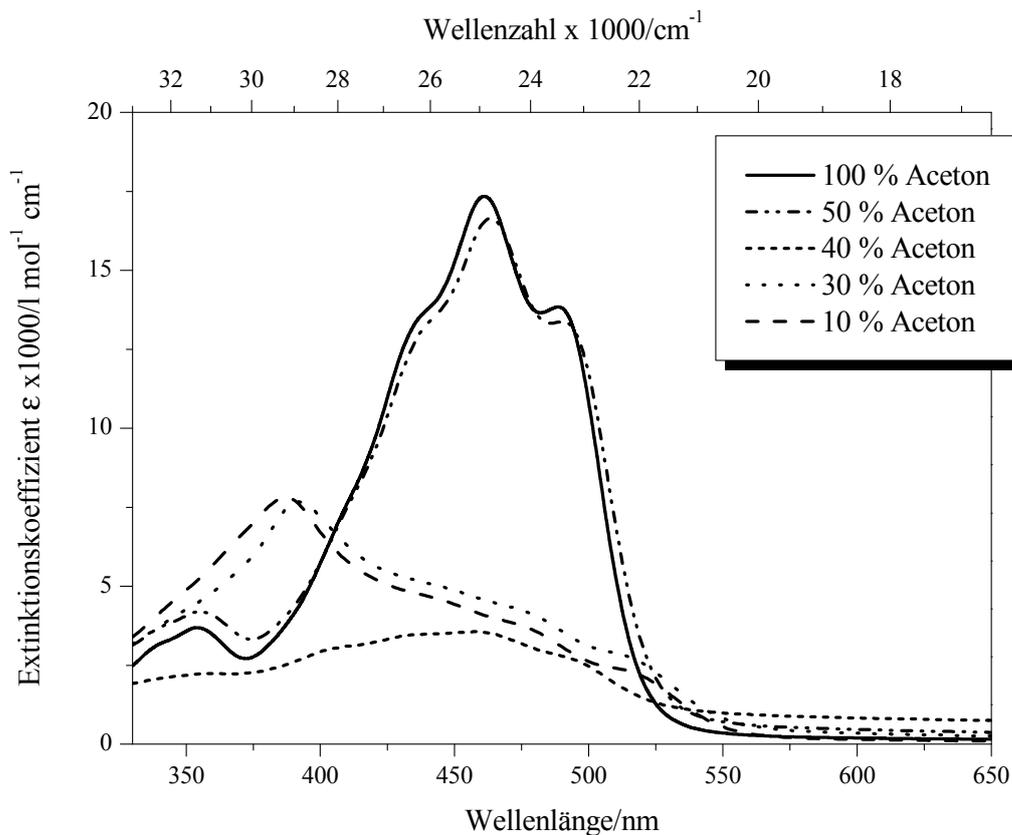
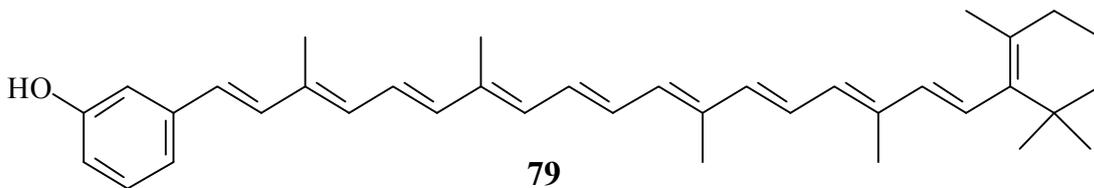


Abb. 53: Einige ausgewählte UV/VIS-Spektren von Glykosid **111** in verschiedenen Aceton/Wasser-Gemischen

Im Gegensatz zu Verbindung **110** ist glykosidisches Norcarotinoid **111** nicht mehr wasserlöslich. Lösungsversuche zeigen eine ganz schwach gelbfarbene, wässrige Lösung, aus welcher sich orangefarbene, galertartige Tröpfchen bilden.

Phenolische Carotinoide haben sich als äußerst effektive Antioxidantien erwiesen.^[142] Da die Koenigs-Knorr-Reaktion unter oxidativen Bedingungen abläuft, wurde ein Xanthophyll synthetisiert, welches eine meta-phenolische Endgruppe trägt. Das Carotinoid sollte nur eine Hydroxygruppe besitzen, was Zahl möglicher Produkte verringert.



Das bezüglich seiner Endgruppen asymmetrische 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β - Φ -carotin (**79**) besitzt mit 1.02 V ein um 0.28 V größeres Redoxpotential (in Dichlormethan)

als Astaxanthin. Als Ergebnis bildet sich in kürzerer Zeit das peracetylierte Glykosid **108** mit größerer Ausbeute.

4. Experimentaltteil

4.1 Allgemeines

FT-IR-Spektroskopie: Bruker Vektor 22

UV/VIS-Spektroskopie Perkin Elmer Lambda 19

NMR-Spektroskopie

¹H-NMR-Spektroskopie: 200 MHz: Bruker Avance DRX 200
300 MHz: Varian VXR 300
500 MHz: Bruker Avance DRX 500

¹³C-NMR-Spektroskopie: 75 MHz: Varian VXR 300
125 MHz: Bruker Avance DRX 500

¹H,¹H-COSY

und ¹H,¹³C-COSY Varian VXR 300
Bruker Avance DRX 500

Die Zuordnung der Signale erfolgte unter zu Hilfenahme entsprechender COSY-Spektren bzw. durch Vergleich der Signale mit ähnlichen Verbindungen (Tabellen u. Inkremente).

Massenspektrometrie:

Varian MAT 311A, 70eV, 100 µA, bis 300 °C Quelltemperatur
Finnigan MAT 8200, FAB (Matrix: NBA, Argon als Stoßgas)
Bruker Ultraflex TOF, MALDI (Matrix: NBA oder Dithranol)
Bruker APEX III, FTICR-MS (Massenfeinbestimmung)

Für die Massenfeinbestimmung möchte ich unserem Kooperationspartner Herrn Dr. W. Schrader und seinen Mitarbeitern am Max Planck Institut (Mülheim a. d. Ruhr) an dieser Stelle recht herzlich danken.

Danksagungen:

An dieser Stelle möchte ich mich für die stete Unterstützung bei folgenden Damen und Herren bedanken:

Frau I. Menzel, Frau H. Webers und Frau D. Koschel für die Aufnahmen einiger UV/VIS-Spektren und die unzähligen Infrarot-Spektren.

Herrn Dr. P. Tommes und Herrn R. Bürgel für die Aufnahme diverser Massenspektren.

Frau M. Beuer, Herrn P. Behm und dem restlichen Serviceteam vom „500er“ für die Aufnahme der NMR-Spektren.

Herrn Dr. H. Ernst (BASF AG, Ludwigshafen) für die Bereitstellung von Chemikalien, insbesondere C₃₀-, C₂₅- und C₁₀-Aldehyd und Astaxanthin.

Herrn PD Dr. K. Schaper und Frau Dr. S. Köhn danke ich für die kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Herrn Dr. B. Mayer für wissenschaftliche und kulinarische *Schmankerln* und seine stete Diskussionsbereitschaft.

Herrn Dr. M. Korgner für stete Diskussionsbereitschaft insbesondere im Bereich der *Thermocarotinoide*.

Herrn Dipl. Chem. S. Kock und Herrn Dr. R. Scherrers für den regen Erfahrungsaustausch, insbesondere über die Synthese von Carotinoiden.

Frau I. Reinhartz, Frau I. Menzel, Frau H. Webers und Frau D. Koschel für viele nette Gespräche und motivierende Worte.

Herrn Dipl. Chem. P. Noack für die gute Zusammenarbeit als Laborkollege, insbesondere für seine Gelassenheit und Zuversicht.

Herrn Dr. C. Meyer für seine Diskussionsbereitschaft, seinen Weingeschmack und seine Freundschaft (inkl. seiner Familie).

Herrn Dipl. Chem. P. Taureg und Herrn Dipl. Chem. H. Tüllmann für die hervorragenden Shuttle-Dienste und den trockenen Humor.

Herrn PD Dr. K. Schaper, Frau Dr. S. Köhn und Herrn Dipl. Chem. S. Kock für die vielen gelaufenen Kilometer.

Herrn E. Schönstein für die Bereitstellung diverser Glasgeräte und den guten Kaffee.

Herrn Prof. Dr. T. J. J. Müller und seinen Mitarbeitern für ihre freundliche Hilfsbereitschaft.

All den vielen lieben Kollegen mit denen man einen Teil seines Lebens verbrachte für die Freundschaft, Hilfsbereitschaft und netten Stunden.

4.2 Chemikalien

α -D-Acetobromglucopyranose (29)	Merck
Ammoniumchlorid Baker grade	J. T. Baker
<i>Astacin-P-Salz</i> 64	BASF
Astaxanthin (9)	BASF
<i>Astaxanthin-P-Salz</i> 46	BASF
Bortrifluoridetherat	Merck
C ₁₀ -Aldehyd 65	BASF
C ₂₅ -Aldehyd 66	BASF
C ₃₀ -Aldehyd 67	BASF
1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en	(50 ml) Fluka, (25 ml) Merck
D-(+)-Galactose 99+% (55)	Acros Organics
Glucosemonohydrat (23)	Caelo
Essigsäure 99.8 % (p. a.)	Roth
Essigsäureanhydrid (p. a.)	Riedel-de-Haën
Heptan (p. a.)	Merck
D-(+)-Maltosemonohydrat 90 % (59)	Acros Organics
Natriummethanolat	Aldrich
Natriumdihydrogenphosphat	J.T.Baker
Natriumhydrogenphosphat	Riedel-de-Haën
Puffer pH 7 (mit Fungizidzusatz)	Riedel-de-Haën
Trichloracetonitril 98 %	Acros Organics
Trimethylsilyltrifluormethansulfonat	Fluka
Tetrahydrofuran	Riedel-de-Haën
<i>Zeaxanthin-P-Salz</i> (45)	BASF

Generelle Prozeduren:

Methanolische Kaliumcarbonatlösung:

Zur Verseifung der acetylgeschützten Glykoside **105**, **106** wird eine methanolische Kaliumcarbonatlösung verwendet. Man gibt 200 mg (1.45 mmol) Kaliumcarbonat in 500 ml trockenes Methanol und rührt bis das Carbonat vollständig gelöst ist.

Trocknung von Lösungsmitteln:

Diethylether

1 l Diethylether wird mit 10 g Kaliumhydroxid versetzt und 1 h gerührt. Man filtriert vom Hydroxid ab. In die Etherlösung wird so lange Natriumdraht eingepresst, bis der Draht blank bleibt. Die Lösung wird mit einer Spatelspitze Benzophenon versetzt. Es wird zum Rückfluss erhitzt und nach Blaufärbung der Lösung wird destilliert. Man lagert über Kaliumhydroxid und unter Lichtausschluss.

Dichlormethan

500 ml Dichlormethan werden portionsweise mit 4 g Calciumhydrid versetzt. Man erhitzt 2–3 h zum Rückfluss, anschließend wird destilliert. Das so erhaltene Dichlormethan lagert man über Molekularsieb 4 Å.

Methanol

Man versetzt 1 l Methanol portionsweise mit 5 g Magnesiumspänen, nach Abklingen der exothermen Reaktion erhitzt man 3 h zum Rückfluss. Man destilliert und lagert das Methanol über Molekularsieb 3 Å.

Tetrahydrofuran

1 l Tetrahydrofuran wird mit 20 g Natriumsulfat versetzt und 15 Minuten gerührt. Man filtriert vom Sulfat ab und presst Natriumdraht in die Lösung ein bis dieser blank bleibt. Nach der Zugabe einer Spatelspitze Benzophenon erhitzt man zum Rückfluss bis sich die Lösung blau verfärbt. Man destilliert und lagert über Molekularsieb 3 Å.

Entfernen von Lösungsmitteln:

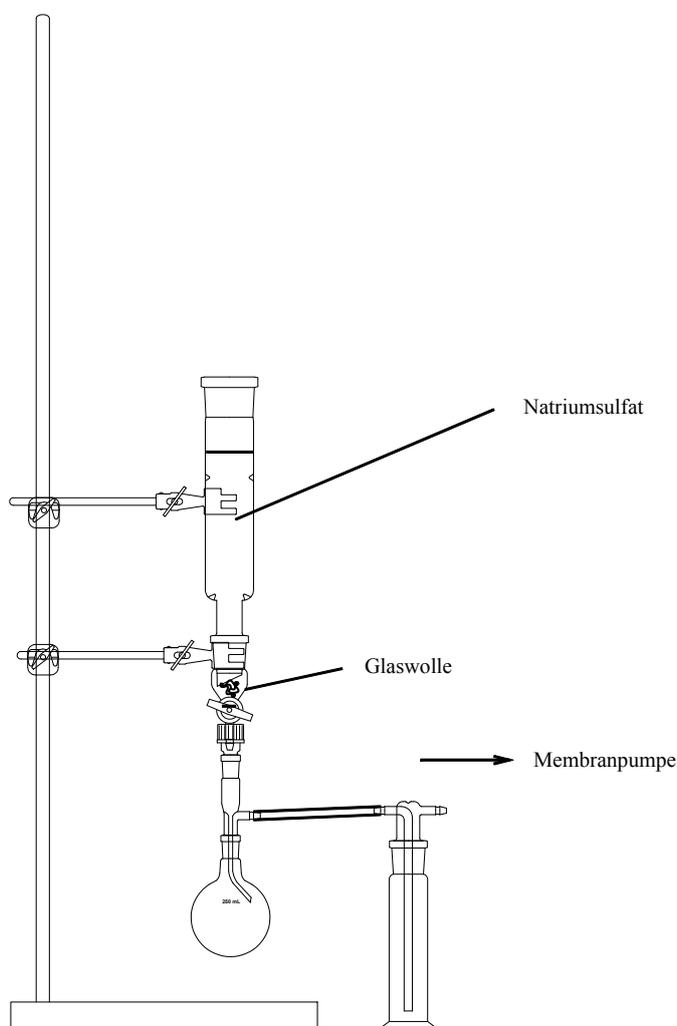
Bei der Verwendung des Rotationsverdampfers beträgt die Badtemperatur für kohlenhydratfreie Lösungen 60 °C. Lösungsmittel die Galacto-, Glucopyranoside oder Disaccharide enthalten werden, bei einer Badtemperatur von max. **40 °C** entfernt.

Bei der Trocknung der Kohlenhydrate empfiehlt es sich generell, ab **80 mbar** den Druck in möglichst kleinen Schritten zu mindern, bevor es zu aufwendig zu reinigenden Siedeverzügen kommt.

4.3 Chromatographische Methoden

4.3.1 Filtersäulen

Die in Abbildung 59 gezeigte Apparatur erlaubt durch Anlegen von Vakuum (500-600



mbar) die schnelle Trennung von Reaktionslösungen und Feststoffen. Die im Verlauf der Koenigs-Knorr-Reaktion anfallenden Silbersalze sind nach mehrtägigem Rühren so fein, dass sie durch Filtration an Papierfiltern nicht entfernt werden können. Das gleiche gilt für die Säulenchromatographie an Kieselgel 60.

Das Glasrohr wird mit Natriumsulfat gefüllt, Glaswolle verschließt den Ablauf, so dass kein Natriumsalz heraus rieselt. Vor der Filtration wird das Natriumsulfat mit Dichlormethan aufgeschlemmt. Ein Filterpapier auf dem Sorptionsmittel verhindert das Aufwirbeln und Vermischen mit den abzutrennenden Salzen.

Abb. 59: Filtrationsapparatur zur Abtrennung von feinpulverigen Silber-salzen.

4.3.2 Dünnschichtchromatographie

Zur schnellen Charakterisierung und der Kontrolle von Reaktionsverläufen wird hier die Dünnschichtchromatographie (DC) angewandt. In einer mit Laufmittel gesättigten Kammer werden DC-Platten entwickelt. Die Detektion der Zonen wird (wenn notwendig) mit UV-Licht der Wellenlängen 254 nm und 366 nm vorgenommen.

Die Kohlenhydrate und ihre Derivate werden durch Sprühreagenzien detektiert. Zur Verfügung stehen eine 10%ige ethanolische Schwefelsäure (S1) oder eine 2%ige schwe-

felsaure, ethanolische Anisaldehyd-Lösung (S2). Nach Auftragen der Sprühreagenzien wird mit Hilfe eines Heißluftgebläses die Farbentwicklung vervollständigt.

Im Falle, dass S1 verwendet wird, führt diese Prozedur zur Verkohlung und die betroffene Zone verfärbt sich braun bis schwarz.

Unter dem Einfluss von Schwefelsäure und Hitze wird aus Ketoheptosen und Aldoheptosen 5-Hydroxymethylfurfural (**112**, HMF) gebildet. Bei der Ketoseprobe nach Seliwanow entsteht aus HMF **112** und Resorcin (**113**) ein roter Farbstoff **114** (siehe Abb. 60), dessen Struktur noch nicht vollständig geklärt ist.^[143]

Vermutlich kondensiert Anisaldehyd auf ähnliche Weise mit HMF **112** zu einem roten Farbstoff.

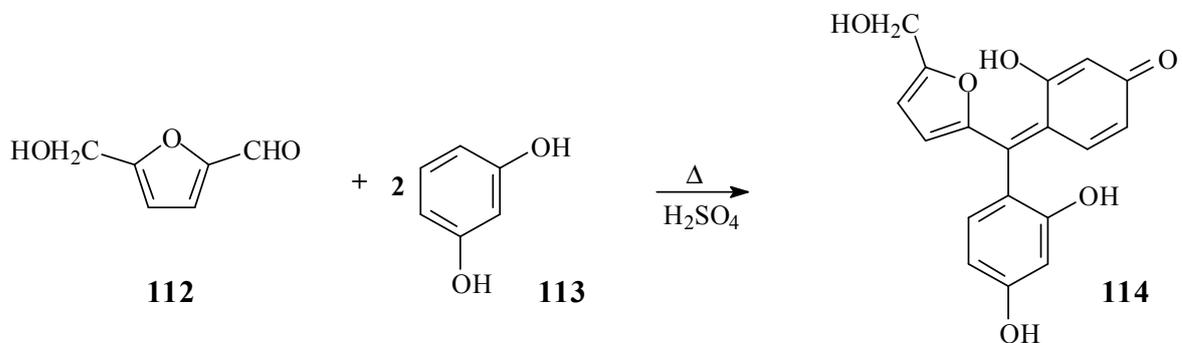


Abb. 60: Vermuteter Farbstoff **114** der Ketoseprobe nach Seliwanow.^[144]

DC-Alufolien:

- Kieselgel 60, F₂₅₄, 20 x 20 cm (Fa. Merck)
- Alugram® RP-18W/UV₂₅₄, 40 x 80 mm (Fa. Macherey-Nagel)

Für die semipräparative DC werden Glasplatten mit Kieselgel 60 F₂₅₄ 20x20 cm (Fa. Merck) benutzt. Die Laufmittel werden den individuellen Anforderungen angepasst. Verwendung finden, wenn nicht ausdrücklich erwähnt, technische Lösemittel bzw. Lösemittelgemische.

4.3.3 Säulenchromatographie

4.3.3.1 Säulenchromatographie unter Normaldruck

Zur Reinigung von Reaktionsprodukten wird, wenn möglich Säulenchromatographie angewendet. Es wurden folgende Säulengrößen benutzt:

Für die Chromatographie von Substanzmengen bis 1.0 g wird auf drei typische Säulen zurückgegriffen.

- Säule A: Länge 800 mm, Ø 35 mm¹⁾, Fritte-P 2²⁾
- Säule B: Länge 800 mm, Ø 30 mm, Fritte-P 4
- Säule C: Länge 600 mm, Ø 40 mm, Fritte-P 3

Für die Chromatographie von Substanzmengen bis 5.0 g werden folgende Säulen verwendet.

- Säule D: Länge 380 mm, Ø 85 mm, Fritte-P 3
- Säule E: Länge 300 mm, Ø 80 mm, Fritte-P 3

Zur Füllung der Säulen stehen verschiedene Sorptionsmittel zur Verfügung:

- Kieselgel 60 (0.063-0.100 mm), Fa. *Merck*,
- Kieselgel 60 (0.04-0.063 mm), Fa. *Fluka*,
- Silica 32-63, 60 Å, Fa. *ICN*
- Kieselgel 60, silanisiert (0.063-0.200 mm) Fa. *Merck*

Das Kieselgel der Fa. *ICN* genügt nur geringen Anforderungen. Für die Trennung hydrolyseempfindlicher Verbindungen, wie beispielsweise der Glykoside **105-108**, war es durch seinen hohen Restwassergehalt nicht geeignet. Durch die Verwendung des Kieselgels wurden die Glykoside während der Trennung hydrolysiert (pH<2). Nur nach mehrtägiger Trocknung besagten Kieselgeles im Vakuum bei 120 °C und 14 mbar war der Restwassergehalt so gering, das daran zersetzungsfrei getrennt werden konnte.

Das *reverse phase* Kieselgel wird mehrfach verwendet. Nach Gebrauch wird es durch mehrmaliges Spülen mit Methanol und Wasser regeneriert.

¹⁾ Anm.: Aufgeführt sind hier die Außendurchmesser der Säulen.

²⁾ Säule A wird vor dem Füllen mit Kieselgel 60 mit Glaswolle und Seesand versehen, damit kein Säulenmaterial ausgespült wird.

4.3.3.2 Automatisierte Niederdruckchromatographie (*Flash-Chromatographie*)

Die Trennung der glykosidischen Carotinoide gelingt hier erstmalig durch die Anwendung der *Flash-Chromatographie*.

Zur Verfügung stehen folgende Chromatographie-Säulen:

- Länge 450 mm, Ø 35 mm
- Länge 400 mm, Ø 25 mm
- Länge 300 mm, Ø 25 mm

Für eine längere Lebensdauer des Sorptionsmittels wird diese Chromatographie ausschließlich unter Verwendung einer vorangestellten „Filtersäule“ (Länge 50 mm, Ø 25 mm) betrieben.

Als stationäre Phase dient sphärisches Kieselgel der Fa. *YMC* (Silicagel 6 nm S-50 µm). Die Elution der Glykoside **105**, **106** erfolgt durch Essigsäureethylester (Pumpendurchfluß 10-45 ml/min).

Die Chromatographie wird mit

- einer ventillosen Kolbenrotationspumpe (VP 120, Fa. *Kronlab*),
- einem Detektor (Fa. *Kronlab* UV/VIS 2.5)
- und einem Fraktionensammler (Foxy Jr., Fa. *Kronlab*)

betrieben.

4.3.2.3 Hochdrucksäulenchromatographie (HPLC)

Die Komponenten der *HPLC*-Anlage sind die Folgenden:

- eine isokratische Pumpe (Fa. *Agilent*, G1310A)
- Diodenfeld-Detektor (Fa. *Agilent*, G1315B)
- Automatisierter Fraktionensammler (Fa. *Agilent*, G1364C)

Als Laufmittel dient Acetonitril oder Gemische von Acetonitril mit verschiedenen Anteilen Wasser (20%, 15% oder 5%). Die Carotinoide werden an nachfolgender Säule getrennt:

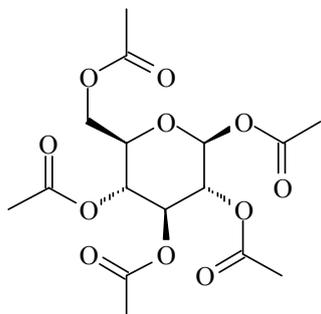
YMC-Pack Pro C18 R&D (150 x 10 mm I.D.; S-5 µm, 12 nm), Fa. *YMC*

Zur Gewährleistung einer längeren Lebensdauer der Säule wird diese stets mit einer Vorsäule betrieben.

YMC Pro C18 VS (12 nm, S-5 μm ; 10 x 8.0 mm I.D.).

4.4 Versuchsdurchführungen

4.4.1 Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**)



V1

In einem 1000-ml-Einhalskolben werden 50.0 g (0.276 mol) Glucose **23** mit 25.0 g (0.304 mol) Natriumacetat (*wasserfrei*) in 250 g (2.45 mol) Essigsäureanhydrid suspendiert. Unter mechanischem Rühren wird die Suspension bis zum Rückfluss erhitzt. In einer exothermen Reaktion lösen sich Feststoffe ab 80 °C. Man erhitzt weiter, unter Rückfluss. Nach 2 h gießt man die heiße Lösung zur Hydrolyse, rasch in einem dünnen Strahl, auf 3 l Eiswasser. Nach kurzer Zeit bildet sich ein gelblich gefärbter Niederschlag, dieser wird zerkleinert. Um überschüssiges Essigsäureanhydrid zu zerstören wird so lange mit Wasser verrieben bis kein Essigsäuregeruch mehr wahrgenommen wird. Der Rückstand wird nochmals mit Wasser aufgeschlemmt, abschließend lässt man die Suspension über Nacht stehen um die Hydrolyse zu vervollständigen. Das Produkt wird abgenutscht und zur Reinigung aus Ethanol (96%ig) kristallisiert. Die farblose, peracetylierte Glucose **54** wird nach Filtration im Vakuum bei 12-14 mbar und 60 °C getrocknet.

$C_{16}H_{22}O_{11}$ (M = 390.34 g/mol)

Ausbeute: 52.4 g (134 mmol) **54**, 48 %,

Lit.^[145]: 61 %

Schmelzpunkt: 127 °C

Lit.^[146]: 132 °C

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 2960, 2920, 2870 (CH₃-, CH₂-, CH-Valenz), 1760 (C=O-Valenz), 1450, 1380, 1360 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1260, 1220 (C-O-Valenz), 1090, 1030 (C-O-Deform.) cm⁻¹.

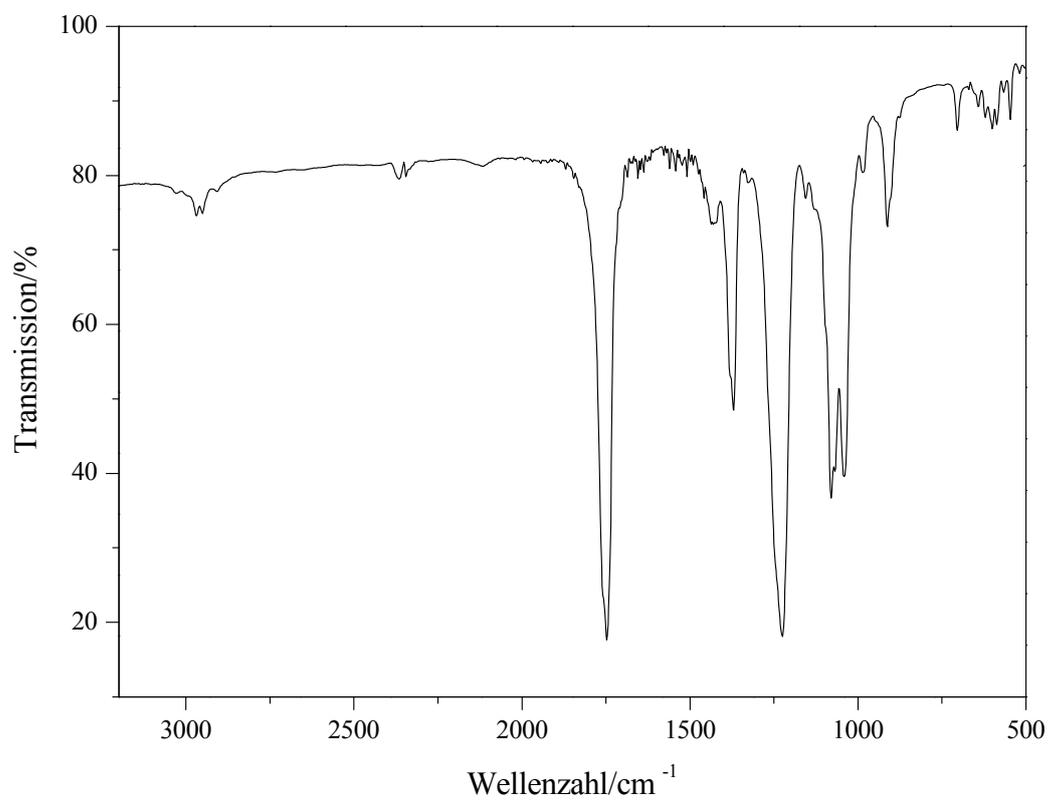
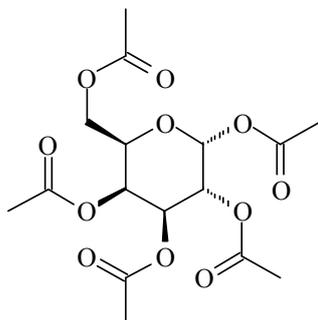


Abb. 61: Infrarotspektrum von Verbindung **54**, (Pressling, KBr).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur ^[145] überein.

4.4.2 Penta-*O*-acetyl- β -D-galactopyranose (**56**)



50.7 g (0.280 mol) D-(+)-Galactose (**55**) werden in einem 500-ml-Zweihalskolben mit 27.0 g (0.329 mol) Natriumacetat (*wasserfrei*) in 252 g (2.45 mol) Essigsäureanhydrid suspendiert. Unter stetem Rühren wird die Suspension bis zum Rückfluss erhitzt. In einer stark exothermen Reaktion lösen sich Feststoffe ab 80 °C. Nach 2 h gießt man die heiße Lösung zur Hydrolyse, in einem dünnen Strahl, auf 3 l

V2

Eiswasser. Nach kurzer Zeit bildet sich ein hochviskoser, elfenbeinfarbener Niederschlag. Um überschüssiges Essigsäureanhydrid zu zerstören wird abfiltriert und so lange mit Wasser verrieben bis kein Essigsäuregeruch mehr wahrgenommen wird. Man lässt die Suspension über Nacht stehen um die Hydrolyse zu vervollständigen. Das Produkt wird am Büchner-Trichter abgesaugt und zur Reinigung aus Ethanol (96%ig) kristallisiert. Die peracetylierte Galactopyranose **56** wird nach Filtration im Vakuum bei 14 mbar und 60 °C getrocknet.

$C_{16}H_{22}O_{11}$ (M = 390.34 g/mol)

Ausbeute: 42.0 g (0.11 mol) **56**, 65 % Lit.^[147]: 58 %

Schmelzpunkt: 115 °C Lit.^[147]: 111 °C

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 2960, 2920, 2870 (CH₃-, CH₂-, CH-Valenz), 1730 (C=O-Valenz), 1450, 1380, 1360 (CH₃, CH₂, CH-Deform.), 1260, 1220 (C-O-Valenz), 1090, 1030 (C-O-Deform.) cm⁻¹.

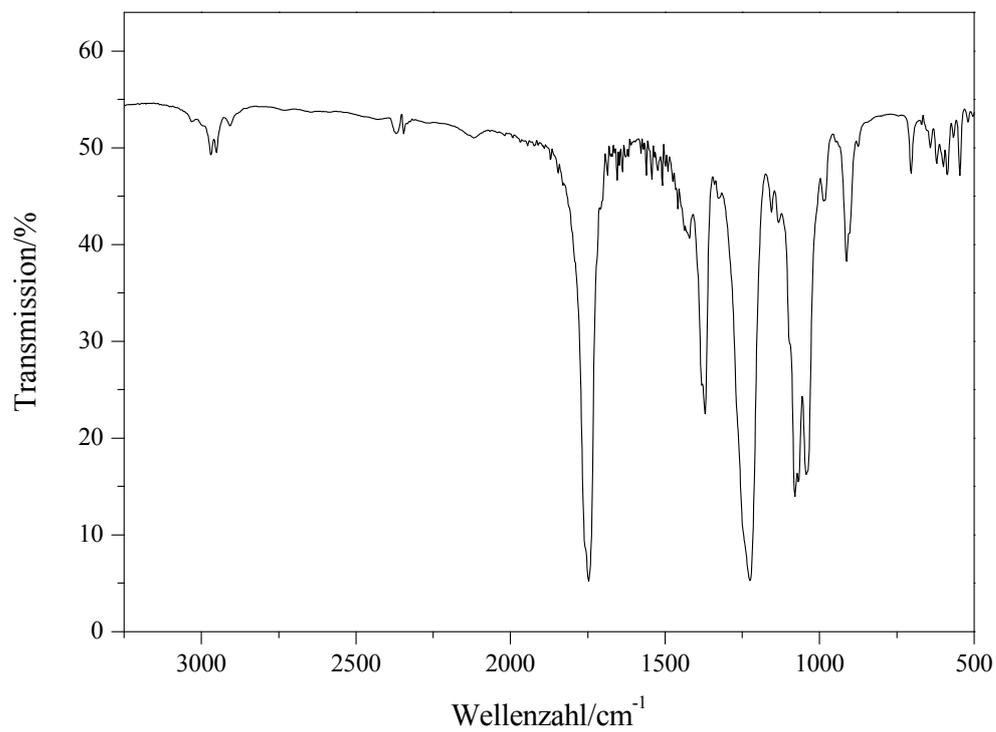
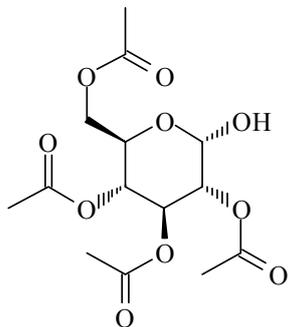


Abb. 62: Infrarotspektrum von (56), (Pressling, KBr).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[128] überein.

4.4.3 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose (57)



V3

5.0 g (13 mmol) peracetylierte Glucose **54** werden in 50 ml trockenem Tetrahydrofuran gelöst und auf einem Eis-Kochsalz-Bad auf $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Unter stetem Rühren fügt man portionsweise 2.5 g (46 mmol) festes Natriummethanolat hinzu, so dass die Temperatur -14 bis $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ beträgt. Man verfolgt die Reaktion über DC an Kieselgel 60. Als Laufmittel dient ein Gemisch aus Hexan/Essigester (1:2). Durch das Sprühreagenz

S1 kann man die Glucopyranose **57** mit einem Retentionsfaktor von 0.55 detektieren. Nach 30 min ist die Penta-*O*-acetyl- β -D-glucopyranose (**54**) vollständig aufgebraucht. Die Reaktion wird durch die Zugabe von 3 ml Eisessig beendet. Nach kurzer Zeit kristallisiert in der Kälte Natriumacetat wachstartig aus der Lösung. Durch Filtration befreit man vom Acetat. Im Anschluss wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck am Rotationsverdampfer entfernt. (Wasserbad: $\leq 40\text{ }^{\circ}\text{C}$!) Der Rückstand wird im Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet und nach 3 Tagen aus trockenem Diethylether kristallisiert. Das Produkt **57** wird bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet.

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ ($M = 348.31\text{ g/mol}$)

Ausbeute: 2.5 g (7.3 mmol), **57** 56 % Lit.^[77]: 82 %

Schmelzpunkt: $140\text{ }^{\circ}\text{C}$, Lit.^[148]: $138\text{-}140\text{ }^{\circ}\text{C}$

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3450 (O-H-Valenz), 2970 (CH_3 -, CH_2 -, CH-Valenz), 1740 (C=O-Valenz), 1430, 1380 (CH_3 -Deform.), 1240, 1140, 1040 (C-O-Valenz) cm^{-1} .

Massenspektrum (FAB+NBA+NaI):

m/z (%): 347 (2) $[\text{M}-1\text{H}]^+$, 331 (100) $[\text{M}-\text{H}_2\text{O}+\text{H}]^+$

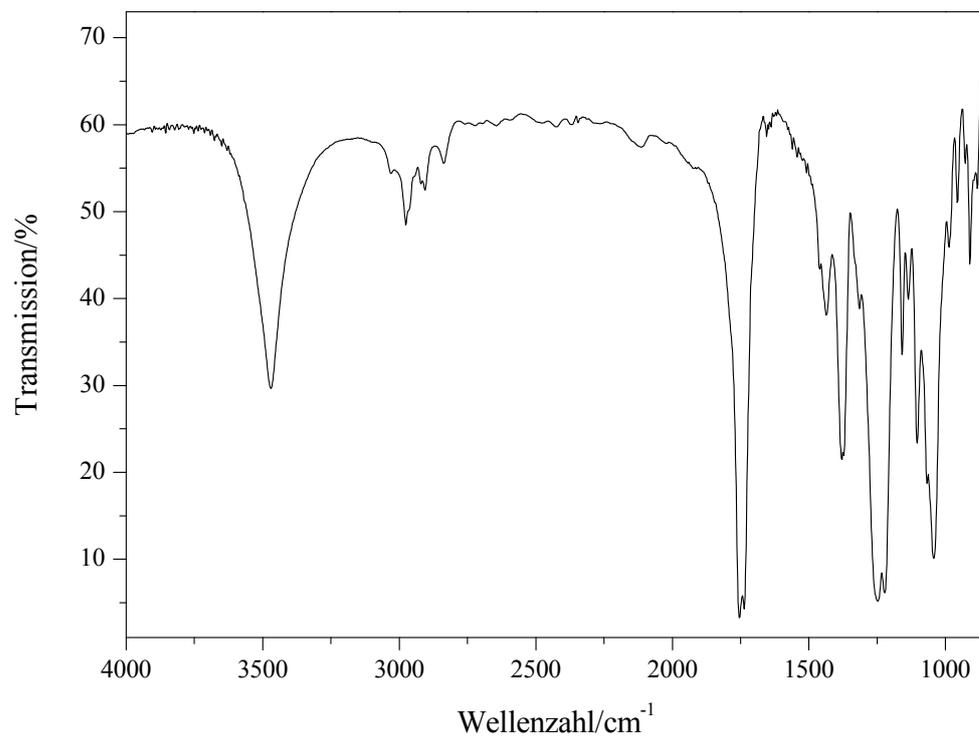
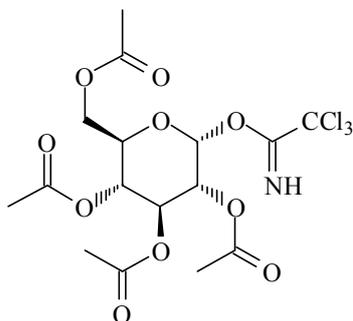


Abb. 63: Infrarotspektrum von Verbindung 57, (Pressling, KBr).

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[77] überein.

4.4.4 (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranosyl)trichloracetimidat (**58**)



1.2 g (3.4 mmol) 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl-D-glucopyranose (**57**) werden in 35 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Es erfolgt die Zugabe von 0.14 g (3.4 mmol) Natriumhydrid (60%ig in Mineralöl). Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung fügt man 0.51 g (3.6 mmol) Trichloracetoneitril, in 15 ml trockenem Dichlormethan gelöst, hinzu und rührt 20 min bei Raumtemperatur. Zur Beendigung der

V4

Reaktion filtriert man an Kieselgel 60. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter Normaldruck entfernt. Der beigefarbene, ölige Rückstand wird in Diethylether aufgenommen und unter Rückfluss erhitzt. Dieser Vorgang wird wiederholt bis sich in kalter Lösung farblose Kristalle zeigen. Man lässt die Lösung vollständig abkühlen und vervollständigt die Kristallisation über Nacht bei Raumtemperatur. Das Imidat **58** wird nach Filtration im Exsikkator über Calciumchlorid getrocknet.

$C_{16}H_{20}Cl_3NO_{10}$ (M = 492.69 g/mol)

Ausbeute: 0.68 g (1.4 mmol) **58**, 40 %

Lit.^[54]: 85 %

Schmelzpunkt: 151 °C,

Lit.^[149]: 154-155 °C

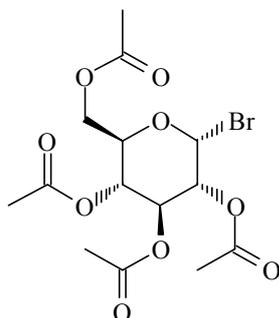
Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3375, 3250 (N-H-Valenz), 2980, 2800, 2700 (C-H-Valenz, CH₃, CH₂), 1745, 1695 (C=O-Valenz), 1610 (N-H-Deform.), 1385 (CH₃-Deform.), 1240 (C-N-H-Valenz), 1110, 1040 (C-O-C-Valenz), 840 (C-O-C-Deform.), 750, 620 (C-Cl-Valenz) cm⁻¹.

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur ^[54] überein.

4.4.5 α -D-Acetobromglucopyranose (**29**)

V5



In einem 50 ml-Einhalsskolben werden 23.5 g (60.2 mmol) peracetylierte Glucose **54** unter Eiskühlung und Lichtausschluss durch starkes Rühren in 47.4 g (58.6 mmol) auf 0 °C gekühlte Eisessig-Bromwasserstoff-Lösung (33 %) gelöst. Nach 2 h färbt sich die Lösung elfenbeinfarben. Man rührt weitere 2 h bei Raumtemperatur. Die Lösung wird auf 850 ml Eiswasser gegossen, nach 20 min kann man von der milchig trüben Lösung das Produkt absaugen. Es wird rasch mit kleinen Mengen Eiswasser gewaschen. Der Niederschlag wird mit 200 ml kaltem Diethylether aufgenommen und am Scheidetrichter schnell vom Wasser befreit. Die organische Phase wird über Natriumsulfat getrocknet und am Rotationsverdampfer bei Raumtemperatur auf ein Drittel ihres Volumens reduziert. Die Kristallisation des Produktes **29** erfolgt innerhalb von 3 Tagen bei -18 °C. Man saugt am Büchner-Trichter ab und spült mit wenig kaltem Diethylether nach. Man trocknet das peracetylierte Glucopyranosylbromid **29** kurz (15-20 min) im Vakuum bei Raumtemperatur. Gelagert wird α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) bei 4-8 °C.

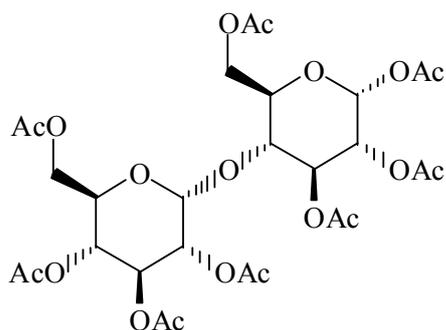
$C_{14}H_{19}BrO_9$ (M = 411.21 g/mol)

Ausbeute: 10.8 g (26.3 mmol) **29**, 44 %, (Lit.^[150]: 80 %)

Schmelzpunkt: 89 °C, (Lit.^[151]: 85-88 °C)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[150] überein.

4.4.6 Octa-*O*-acetylmaltose (**60**)



12.6 g (34.9 mmol) D-(+)-Maltosemonohydrat **59** werden mit 47.4 g (58.6 mmol) Natriumacetat (*wasserfrei*) in der 130 g (1.27 mol) Essigsäureanhydrid suspendiert. Man erhitzt unter Rühren langsam auf 80°C, ab dieser Temperatur löst sich der Bodensatz in einer exothermen Reaktion. Man rührt dann noch 1 h bei dieser Temperatur, um dann

V6

die Reaktion durch Hydrolyse zu beenden. Zur Hydrolyse gießt man, unter Rühren in einem dünnen Strahl auf 850 ml Eiswasser. Nach 20-30 min bildet sich ein hochviskoser, gelblicher Niederschlag. Im Anschluss an die Filtration am Büchner-Trichter zerstört man überschüssiges Essigsäureanhydrid durch mehrfaches verreiben mit Wasser. Wenn man keinen Essigsäuregeruch mehr wahrnehmen kann lässt man das Produkt **60**, in Wasser aufgeschlemmt, über Nacht stehen um die Hydrolyse zu vervollständigen. Man saugt am Büchner-Trichter ab und kristallisiert die Maltose **60** aus Ethanol (96%ig). Das Produkt wird anschließend filtriert und im Vakuum bei 55 °C und 12 mbar getrocknet.

$C_{28}H_{38}O_{19}$ (M = 678.60 g/mol)

Ausbeute: 16.3 g (24.0 mmol) **60**, 41 %, (Lit.^[80]: 35 %)

Schmelzpunkt: 158 °C, (Lit.^[152]: 159-160 °C)

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 2960 (CH₃-, CH₂-, CH-Valenz), 1755 (C=O-Valenz), 1440, 1370 (CH₃-, CH₂-, CH-Deform.), 1230 (C-O-Valenz), 1040, 940, 895 (C-O-C-Deform.) cm⁻¹.

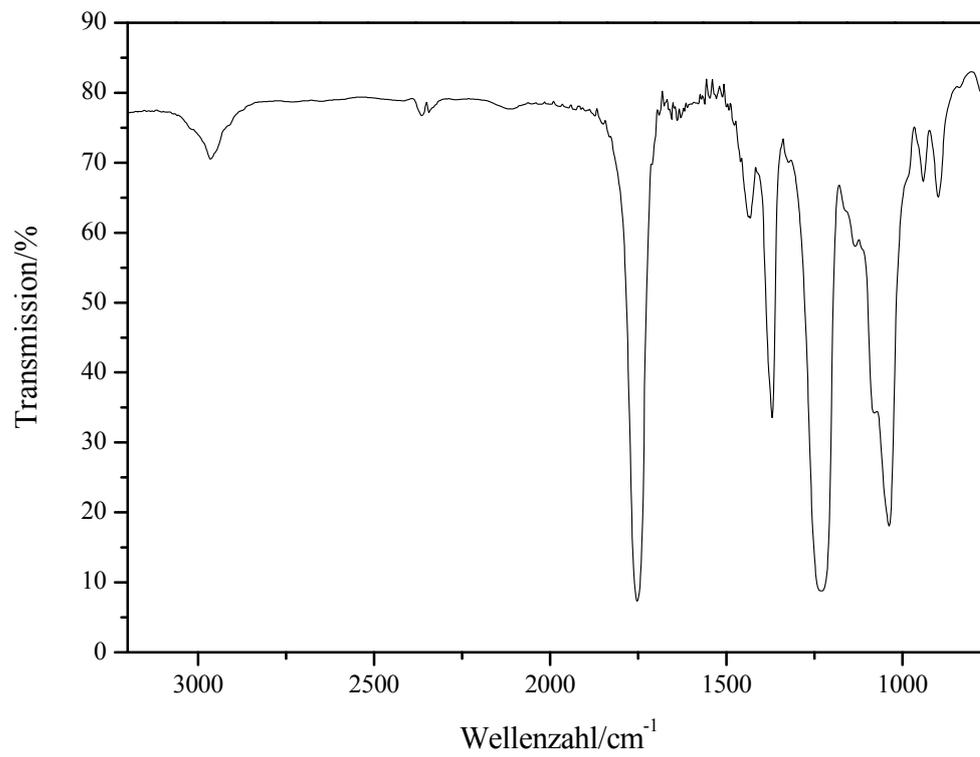
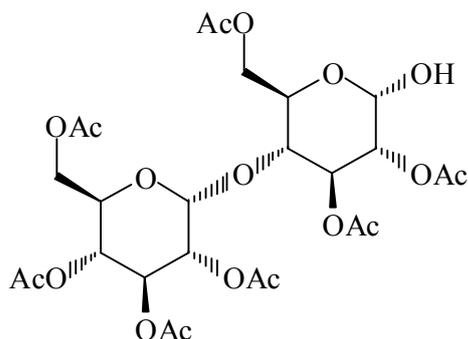


Abb. 64: Infrarotspektrum von Verbindung **60**, (Pressling, KBr).

4.4.7 Hepta-*O*-acetylmaltose (**61**)



V7

5.4 g (7.9 mmol) peracetylierte Maltose **60** werden in trockenem Tetrahydrofuran gelöst und vorgelegt. Man kühlt mit einer Eis/Kochsalzmischung auf -18 °C. Portionsweise gibt man unter rühren 1.3 g (24 mmol) Natriummethanolat hinzu. Der Fortschritt der Reaktion wird durch DC an Kieselgel 60-Folie kontrolliert. Als Laufmittel dient ein Gemisch aus

Hexan/Essigester (1:3), mit dem das Produkt bei einem Retentionsfaktor von 0.86 durch das Sprühreagenz **S1** (siehe Kapitel 4.3.2) detektiert werden kann. Bereits nach 45 min ist der Umsatz vollständig. Zum Abbruch der Reaktion deaktiviert man das Methanolat durch Zugabe von 3 ml Eisessig. Natriumacetat kristallisiert wachstartig aus Tetrahydrofuran, es wird am Büchner-Trichter abgesaugt. Der Feststoff wird mit wenig kaltem THF gespült. Das Volumen der Lösung wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck auf ein Drittel reduziert und im Anschluss mit Chloroform versetzt. Die organische Phase wird mit Wasser pH-neutral gewaschen und anschließend über Natriumsulfat getrocknet. Das Chloroform wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mehrfach aus Ethanol kristallisiert. Man filtriert und trocknet den Feststoff **61** im Vakuum bei 60 °C und 15 mbar.

$\text{C}_{26}\text{H}_{36}\text{O}_{18}$ (M = 636.56 g/mol)

Ausbeute: 3.8 g (6.0 mmol) **61**, 76 %, (Lit.^[153]: 81 %)

Schmelzpunkt: 189 °C, (Lit.^[153]: 188 °C)

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3290 (OH-Valenz), 3090, 3060, 3030, 2930, 2860 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1640, 1560 (C=O-Valenz), 1490, 1450 (C-H-Deform.), 1370, 1290 (O-H-Deform.), 1230, 1080, 1030 (C-O-C-Valenz), 750 (C-O-C-Deform.) cm⁻¹.

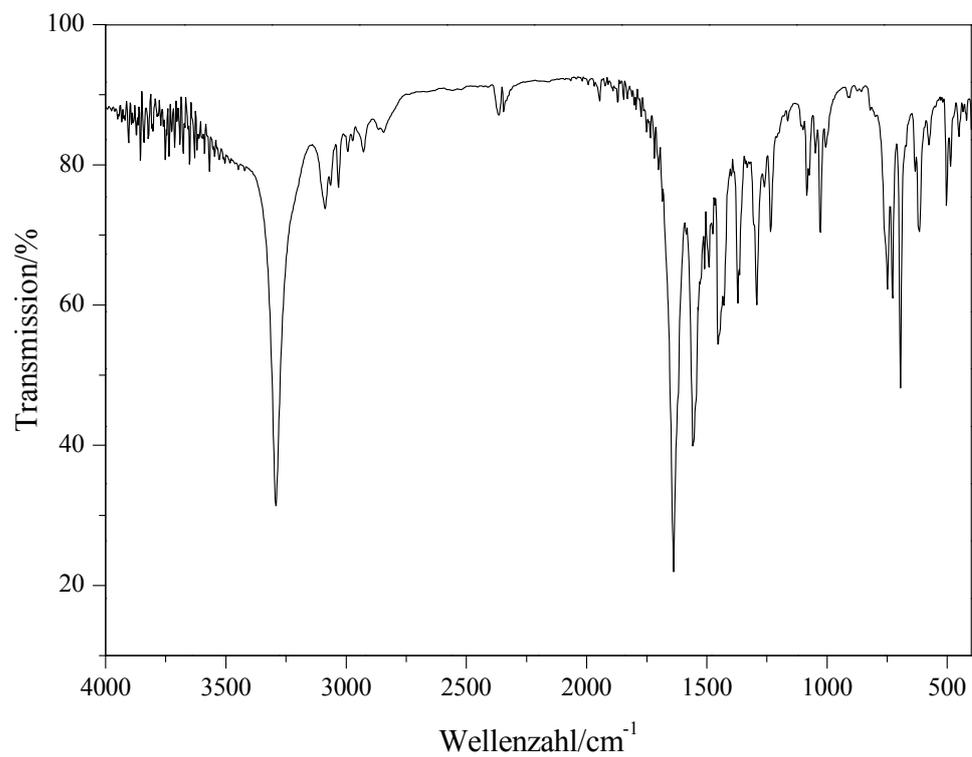
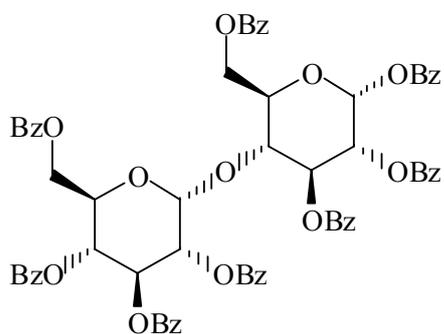


Abb. 65: Infrarotspektrum von Verbindung **61**, (Pressling, KBr).

4.4.8 Octa-*O*-benzoylmaltose (**62**)



10.0 g (29.2 mmol) Maltose (**59**) werden in 40 ml V8 Pyridin gelöst. Unter Eiskühlung und Rühren erfolgt sehr langsam die Zugabe von 4.9 g (35 mmol) Benzoylchlorid durch einen Tropftrichter, so dass die Lösung dabei keine Verfärbung zeigt. Nach vollständiger Zugabe des Chlorids wird die Lösung für weitere 4 h gerührt. Die Reaktionslösung wird zur

Beendigung der Synthese in einem dünnen Strahl auf 2 l Eiswasser gegossen, welches indes heftig gerührt wird. Die benzoylierte Maltose **62** kristallisiert hierbei sehr schnell aus. Zur weiteren Reinigung wird der Feststoff 5 h in einem Gemisch von **41** Methanol/Aceton (1:1) ausgekocht. Durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel mit einem Gemisch aus Hexan/Essigester (3:1) als Laufmittel erfolgt die Reinheitskontrolle. Octa-*O*-benzoylmaltose (**62**) kann mit einem Retentionsfaktor von 0.79 durch das Sprühreagenz **S1** (siehe Kapitel 4.3.1) detektiert werden. Nach Filtration am Büchner-Trichter wird das Produkt im Vakuum bei 50 °C und 14 mbar getrocknet.

$C_{68}H_{54}O_{19}$ (M = 1175.17 g/mol)

Ausbeute: 24.4 g (20.7 mmol) **62**, 71 %, (Lit.^[154]: 94 % / Rohprodukt)

Schmelzpunkt: 189 °C, (Lit.^[154]: 190-192 °C)

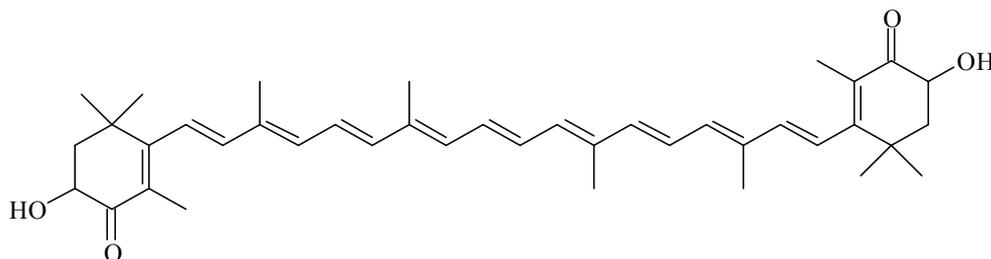
Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3130, 3020, 2955, 2900, 2820, 2760 (CH-Valenz), 1670 (C=O-Valenz), 1630, 1600, 1580, 1515 (CH-Valenz), 1450, 1385 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1260 (C-O-Valenz), 1210, 1170, 1110 (C-O-C-Valenz), 1010 (C-C-Deform.), 975, 825, 790 (C-H-Deform.) cm⁻¹.

Massenspektrum (FAB+NBA+NaI):

m/z (%): 1197 (42) [M-1+23]⁺, 1093 (33) [M-102+23]⁺, 971 (17) [M-227+23]⁺, 579 (6), 490 (9), 329 (100)

4.4.9 Astaxanthin (9)



V9

1.2 g (7.3 mmol) C₁₀-Dialdehyd (**65**) werden mit 9.2 g (16 mmol) [(3-Hydroxy-4-oxo-β-ionylyden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**46**) in trockenem Methanol vorgelegt. Portionsweise werden unter Rühren 1.0 g (18 mmol) Natriummethanolat (95%) zugegeben. Im Anschluss wird die Lösung bis zum Rückfluss erhitzt. Man rührt weitere 4 h bei dieser Temperatur. Durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 wird der Fortschritt der Reaktion verfolgt. Als Laufmittel dient ein Lösungsmittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:2). Das Astaxanthin (**9**) findet sich unter diesen Bedingungen mit einem Retentionsfaktor von 0.82. Wenn durch DC der vollständige Umsatz des Dialdehydes **65** (R_f-Wert: 0.51) angezeigt ist, lässt man die Lösung abkühlen und vervollständigt die Kristallisation des Produktes in der Kälte. Man filtriert an einer Nutsche (*Pore 4*). Der Feststoff wird in Heptan suspendiert und anschließend für 4 h zum Rückfluss erhitzt. Zur Entfernung der Oxidationsprodukte erfolgt Säulenchromatographie [Säule E, Kieselgel 60 *Fa. ICN*, Hexan/Essigester (1:2)]. Das Astaxanthin (**9**) wird abschließend unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet.

C₄₀H₅₂O₄ (M = 596.85 g/mol)

Ausbeute: 2.6 g (4.4 mmol) **9**, 60 %, (Lit.^[151]: 53 %)

Schmelzpunkt: 212 °C, (Lit.^[155, 156]: 212-213 °C)

UV/VIS:

Acetonitril: λ (log ε) = 474 (4.84), (Lit.^[156]: 472 nm)

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3490, 3380, 3250, 3170 (OH-Valenz), 3040 (=C-H-Valenz), 2960, 2930, 2870 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1730, 1690 (C=O-Valenz), 1650, 1545 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1465, 1445

1360 (CH₃-Deform), 1260 (C-O-Valenz), 1100, 1070, 1030 (C-O-Deform) 975, 800 (=C-H-Deform.) cm⁻¹.

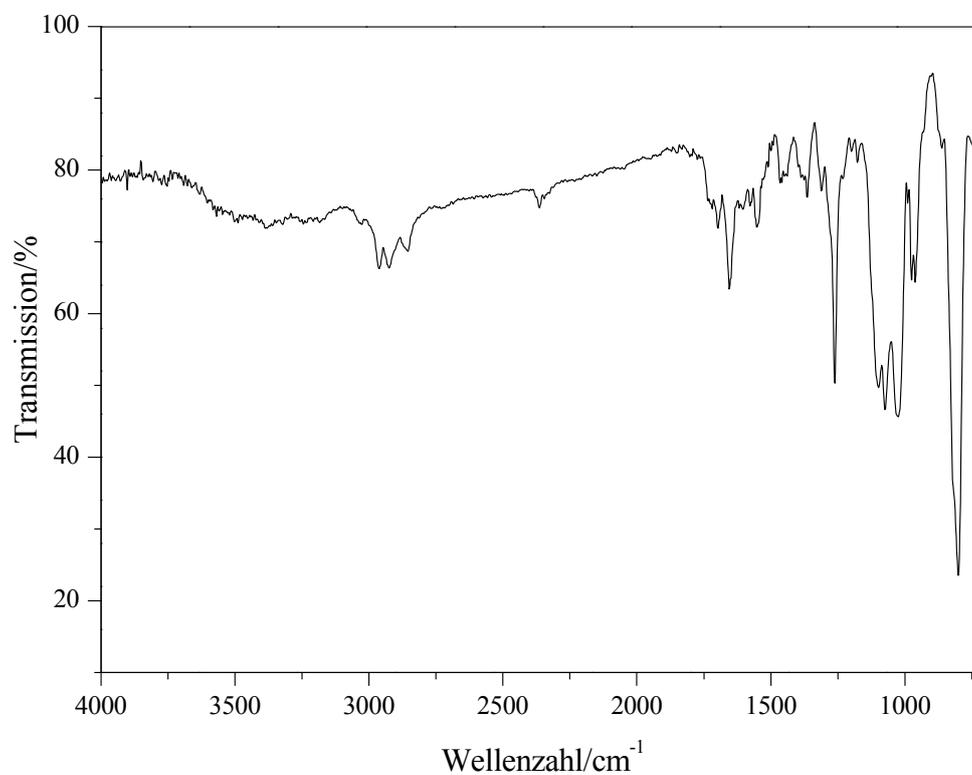
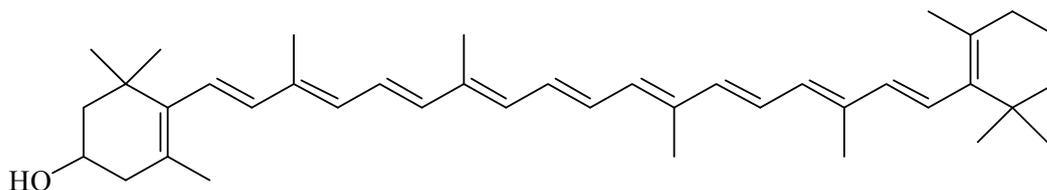


Abb. 66: Infrarotspektrum von Verbindung **9**, (Pressling, KBr)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[91] überein.

4.4.10 Cryptoxanthin (68)



V10

In einem 100-ml-Zweihalskolben werden 1.3 g (3.7 mmol) C₂₅-Aldehyd **66** und 2.7 g (4.7 mmol) [(3-Hydroxy-β-ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-hydrogensulfat (**45**) in 40 ml trockenem Methanol gelöst und vorgelegt. Portionenweise fügt man bei Raumtemperatur 0.28 g (5.0 mmol) Natriummethanolat (95 %) hinzu, anschließend wird die Versuchsanordnung 1 h mit Schutzgas gespült. Die Lösung wird für 6 h zum Rückfluss erhitzt. Das Volumen der Lösung wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck auf ein Drittel reduziert. Diese Lösung wird mit 50 ml Dichlormethan versetzt. Die organische Phase wird mit 0.5-molarer Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Pufferlösung (pH = 7) und anschließend mit entmineralisiertem Wasser salzfrei gewaschen. Die Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet. Am Rotationsverdampfer wird danach das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. In Methanol wird das Xanthophyll **68** erneut bis zum Rückfluss erhitzt. Man lässt auf Raumtemperatur abkühlen und filtriert an einer Nutsche (*Pore 4*). Im Anschluss wird das Carotinoid **68** unter Lichtausschluss im Vakuum bei Raumtemperatur getrocknet.

C₄₀H₅₆O (M = 552.88 g/mol)

Ausbeute: 1.18 g (2.13 mmol) **68**, 58 %, (Lit.^[151]: 55 %)

Schmelzpunkt: 89 °C, (Lit.^[155]: 85-88 °C)

UV/VIS:

Chloroform: λ (log ε) = 436 (4.59), 460 (4.68), 484 (4.60) nm.

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3420 (-O-H-Valenz); 3030 (=C-H-Valenz); 2960, 2920, 2860 (C-H-Valenz); 1450 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1390, 1360 (CH₃-Deform.); 1040 (C-O-Valenz, in Alkoholen), 990 (=C-H-Deform.) cm⁻¹.

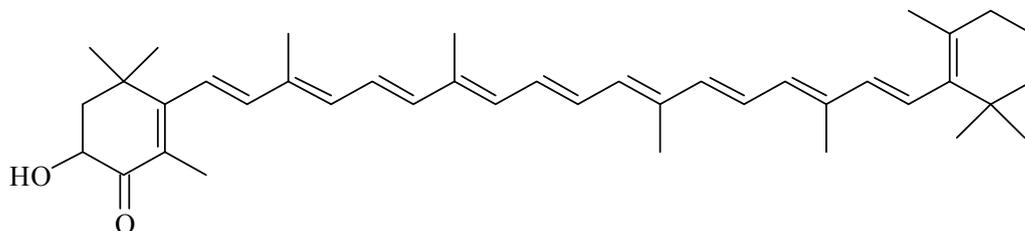
¹H-NMR-Daten: (300 MHz/CDCl₃/TMS)

δ = 1.03 (s, 6H, C16', C17'), 1.07 (s, 6H, C16, C17), ~ 1.46 (m, 2H, C2'), ~1.48 (s, 1H, C2_β), ~1.62 (m, 2H, C3'), 1.72 (s, 3H, C18'), 1.74 (s, 3H, C18), 1.78 (s, 1H, C2_α), 1.97 (s, 12H, C19, C20, C19', C20'), 2.02 (s, 2H, C4'), 2.04 (m, 1H, C4_β), 2.40 (dd, 1H, C4_α), 4.0 (m, 1H, C3), 6.1-6.7 (m, 14H, C7-C15, C7'-C15') ppm.

Massenspektrum (FAB+NBA):

m/z (%): 554 (22) [M+H]⁺, 553 (8) [M]⁺

4.4.11 3-Hydroxyechinenon (**69**)



V11

In einem 100-ml-Einhalskolben werden 3.0 g (5.2 mmol) [(3-Hydroxy-4-oxo- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**46**) und 1.5 g (4.3 mmol) C₂₅-Aldehyd **66** in 50 ml Methanol (technisch) gelöst. Nach portionsweiser Zugabe von 0.31 g (5.4 mmol) Natriummethanolat wird zum Rückfluss erhitzt. Man rührt weitere 4 h bei dieser Temperatur. Die Reaktionskontrolle erfolgt mit Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60. Mit Essigester als Laufmittel kann 3-Hydroxyechinenon (**69**) mit einem Retentionsfaktor von 0.86 detektiert werden. Nach vollständigem Umsatz des Aldehydes **66** wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird in Dichlormethan aufgenommen und die Lösung mit 0.5 M Dihydrogenphosphat-Hydrogenphosphat-Puffer neutralisiert. Man trennt von der wässrigen Phase, um die organische Phase dann mit entmineralisiertem Wasser salzfrei zu waschen. Die Lösung wird über Natriumsulfat getrocknet. Am Rotationsverdampfer wird das Lösungsmittel bis zur Trockene entfernt. Der so erhaltene Rückstand wird aus Methanol kristallisiert. Anschließend wird das Carotinoid **69** in Heptan suspendiert und zum Rückfluss erhitzt. Man filtriert nach abkühlen der Suspension an einer Nutsche (*Pore 3*). Die Trocknung des Produktes **69** erfolgt im Vakuum bei 12 mbar und Raumtemperatur unter Lichtausschluss.

C₄₀H₅₄O₂ (M = 566.87 g/mol)

Ausbeute: 1.36 g (2.40 mmol) **69**, 56 %, (Lit.^[98]: 53 %)

Schmelzpunkt: 180 °C, (Lit.^[98]: 181-183 °C)

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3450 (O-H-Valenz), 3035, 2960, 2925, 2865 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1660, 1625 (C=O-Valenz), 1450 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1380, 1360 (CH₃-Deform.), 1260 (O-H-Valenz), 1075, 1035 (C-O-Deform.), 965, 800 (=C-H-Deform.) cm⁻¹.

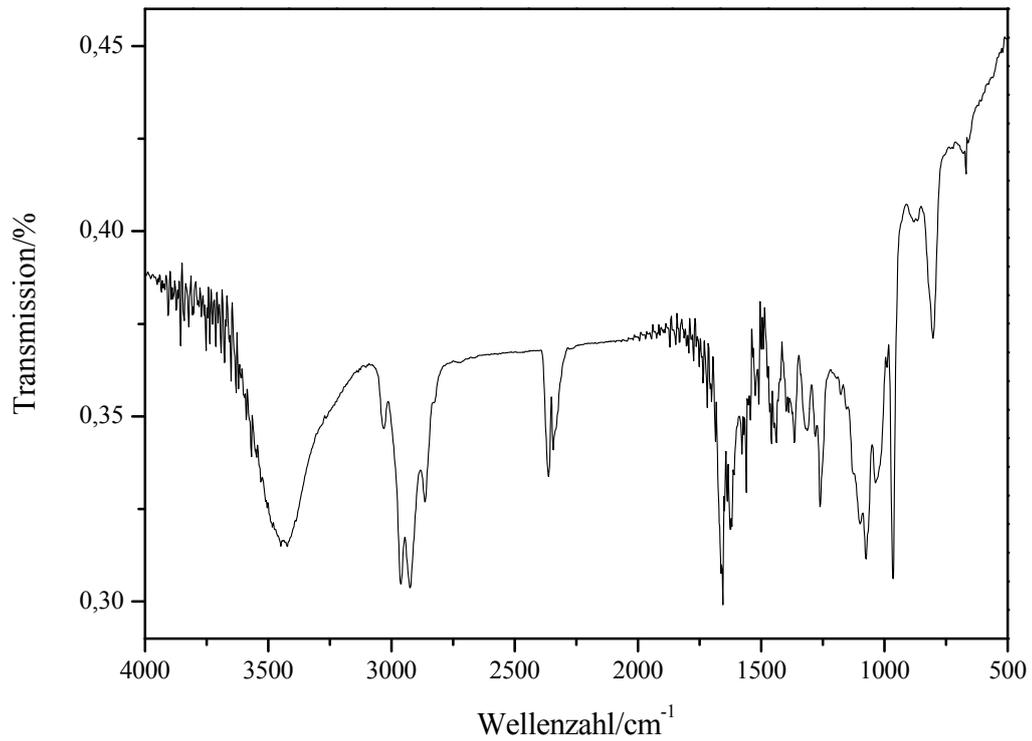


Abb. 67: Infrarotspektrum von 3-Hydroxyechinenon (**69**), (Pressling, KBr).

Massenspektrum (MALDI/TOF), (DIT:Chloroform, 1:5)

m/z (%): 568 (20) $[M+1]^+$, 567 (66) $[M]^+$, 566 (100) $[M-1]^+$, 453 (10), 451 (44), 278 (9), 274 (6)

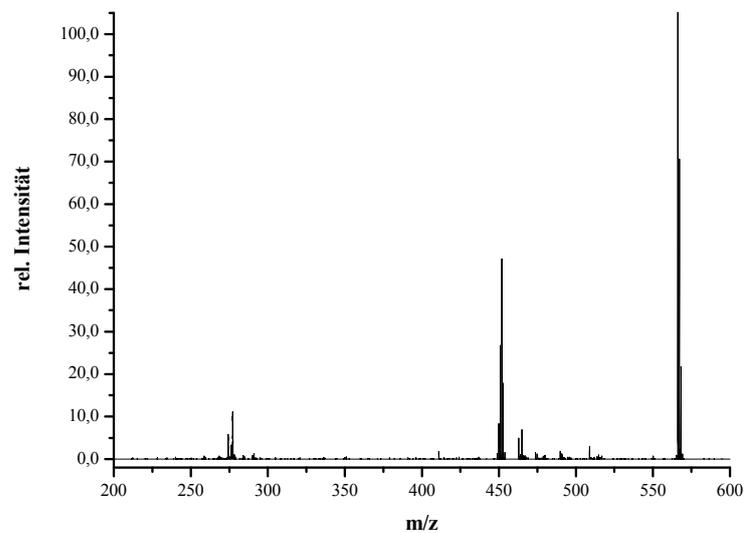


Abb. 68: Massenspektrum von Verbindung **69**, (MALDI/TOF; DIT:Chloroform, 1:5)

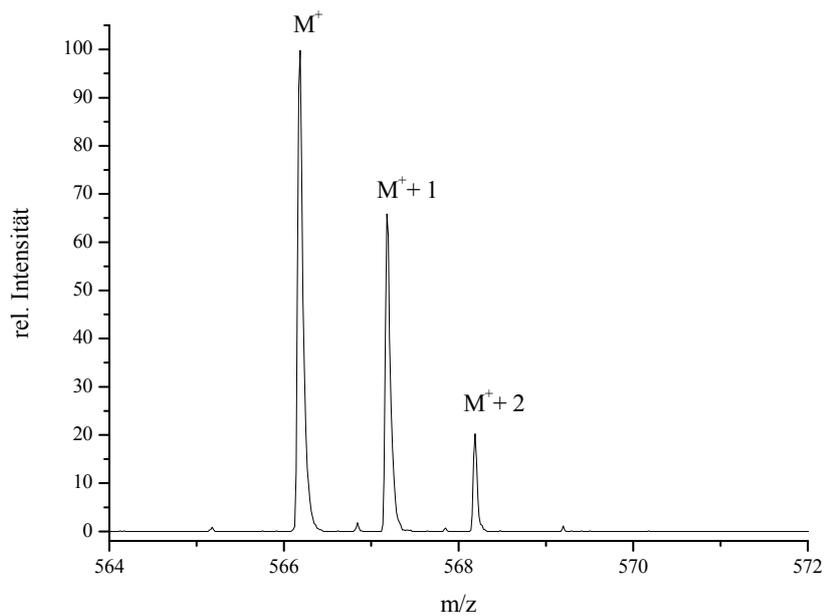


Abb. 69: Ausschnitt aus Massenspektrum (Abb. 68) von Verbindung **69**, „Molekülpeak“.

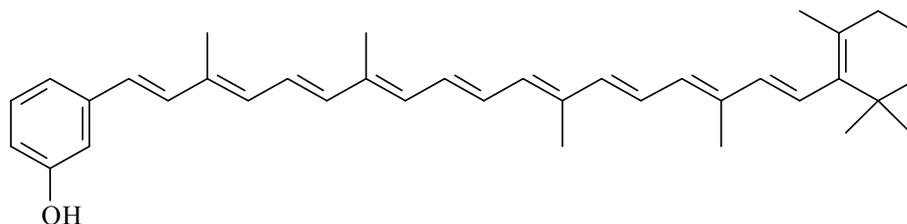
UV/VIS:

Chloroform: λ ($\log \epsilon$) = 481 nm (4.11)

Lit.^[98]: 305 nm (*cis*), 482 nm

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[97] überein.

4.4.12 16',17',18'-Trinor-2'-hydroxy- β , Φ -carotin (79)



1.60 g (3.56 mmol) (3-Hydroxyphenyl)methyltriphenylphosphonium-bromid (**78**) werden in 25 ml trockenem THF gelöst. Die Lösung wird 1 h in gelindem Gasstrom mit Argon gespült. Nach Abkühlung der Lösung auf $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, durch eine Eis/Kochsalzmischung erfolgt die Zugabe von 256 mg (3.99 mmol) Butyllithium (gelöst in THF). Die farblose Lösung verfärbt sich dabei schnell dunkelorange. Man tropft bei Raumtemperatur innerhalb 30 min 240 mg (0.576 mmol) C_{30} -Aldehyd **67**¹⁾ in Dichlormethan gelöst langsam hinzu. Der Verlauf der Reaktion wird nach der Zugabe des Aldehydes **67** dünn-schichtchromatographisch an Kieselgel 60 verfolgt, als Laufmittel dient dabei ein Gemisch aus Toluol und Ethylacetat (9:1). Das Norcarotinoid **79** kann mit einem Retentionsfaktor von 0.62 als orangefarbener Punkt unterhalb des violettfarbenen Aldehydes **67** (R_f -Wert: 0.65) detektiert werden. Nachdem man durch DC keine Veränderung mehr im Edukt/Produkt-Verhältnis zu erkennen kann, wird die Reaktion durch die Zugabe von verdünnter Schwefelsäure (5%ig) beendet. Man trennt am Scheidetrichter die organische Phase von der wässrigen Phase. Die wässrige Phase wird nochmals mit Chloroform gewaschen. Die organischen Phasen werden vereinigt und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösemittelgemisch wird unter vermindertem Druck, am Rotationsverdampfer entfernt. Die Reinigung des Produktes erfolgt durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60. Im Vorhinein wird die größte Menge des Aldehydes **67** an einer kurzen Filtersäule abgetrennt (Säule E, Kap. 4.3.3.1). Dazu wird ein Lösemittelgemisch von Hexan/Essigester/Triethylamin (4:4:1) an Kieselgel 60 als Laufmittel verwendet. Die endgültige Reinigung erfolgt an einer langen Chromatographiesäule (Säule B, Kap. 4.3.3.1) mit dem gleichen Laufmittel. (R_f -Wert **67** = 0.82; **79** = 0.64.) Wenn der C_{30} -Aldehyd **67** abgetrennt ist, wechselt man das Laufmittelgemisch graduell zu Hexan/Essigester (1:1). Das Laufmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Das Norcarotinoid **79** anschließend im Vakuum unter

V12

¹⁾ Der Aldehyd muss vor jeder Reaktion nochmals säulenchromatographisch an Kieselgel 60 gereinigt werden. Laufmittel = Dichlormethan/Diethylether (10:1), R_f -Wert = 0.54.

Lichtausschluss bei Raumtemperatur getrocknet. Auf diese Weise erhält man dunkelbraune Kristalle, die metallisch, gelblich bis grün schimmern.

$C_{37}H_{46}O$: ($M = 506.77$ g/mol)

Ausbeute: 230 mg (0.454 mmol) **79**, 30 %

Schmelzpunkt: 133 °C (Heptan)

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3440 (O-H-Valenz), 3070, 3060, 3020, 2990 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1590, 1480, 1440 (Ringschwingung), 1310 (O-H-Deform.), 1190, 1120, 1070, 1030 (C-O-Valenz.), 995, 940, 860 (CH-Deform.), 750, 720, 700 (CH-Deform., Ring) cm⁻¹.

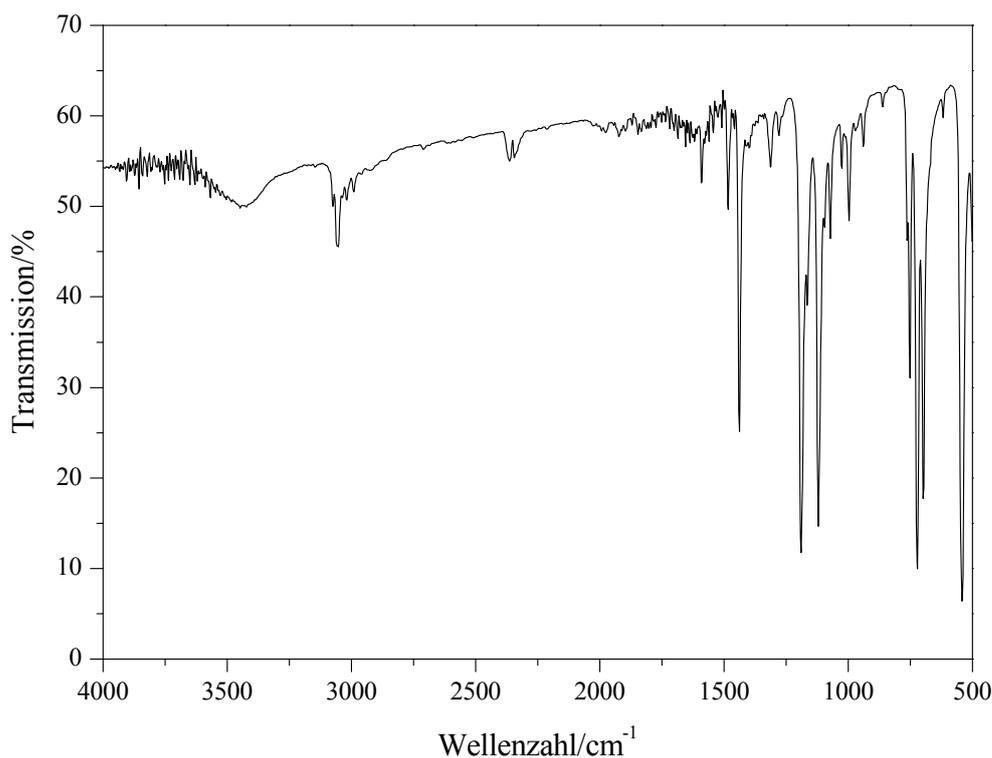


Abb. 70: Infrarotspektrum von Verbindung **79**, (*Pressling, KBr*).

UV/VIS:

Chloroform: λ (log ϵ): 442 (5.16), 473 (5.28), 497 (5.18)

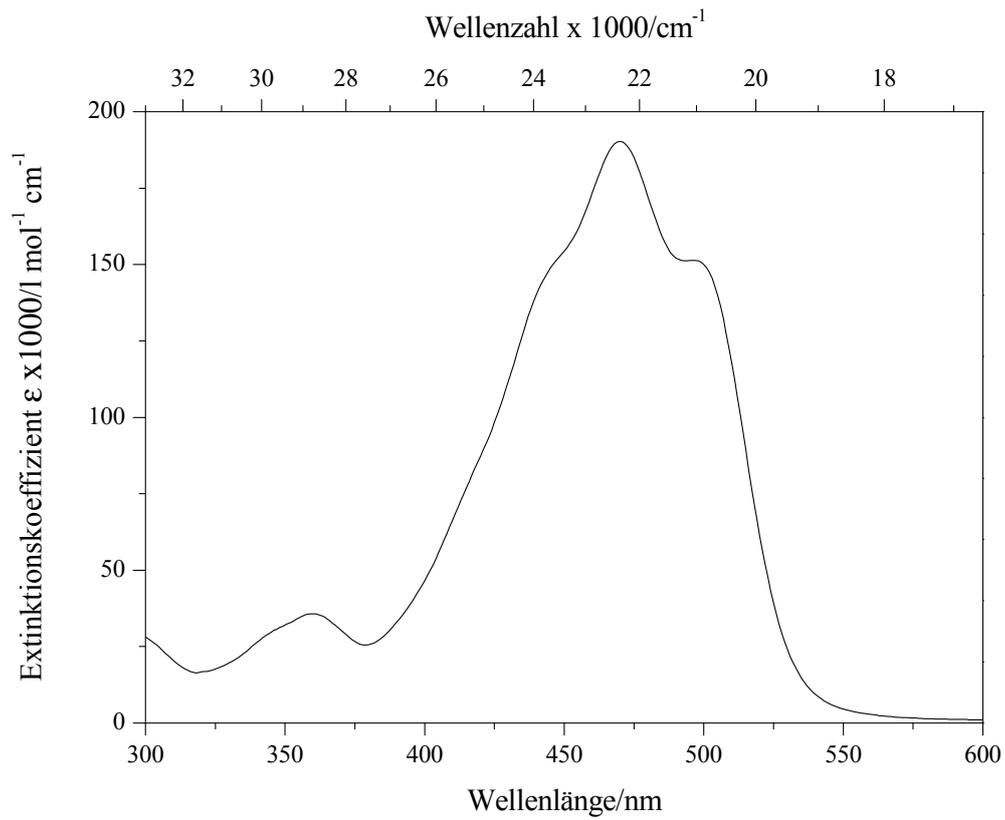


Abb. 71: UV/VIS-Spektrum des Trinorcarotinoides **79** in Chloroform.

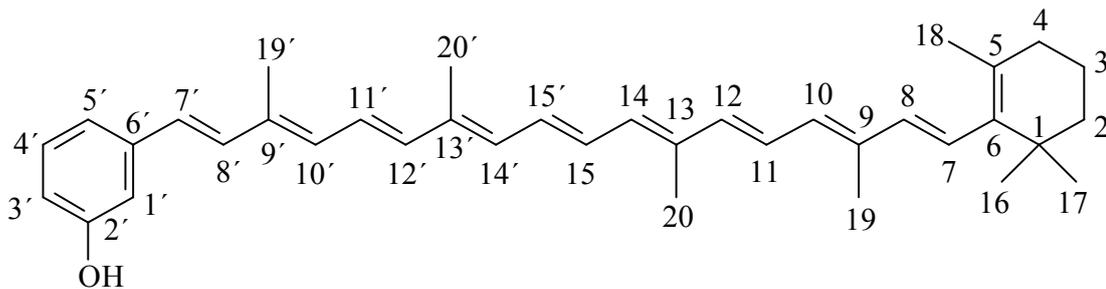
Massenspektrometrie (MALDI/TOF), (DIT:Chloroform; 1:5):

m/z (%): 506 (14) [M-1]⁺, 463 (23), 451 (100), 411(38)

Massenfeinbestimmung (ESIpos):

m/z: 529.343788 ± 0.050 g (gem.),

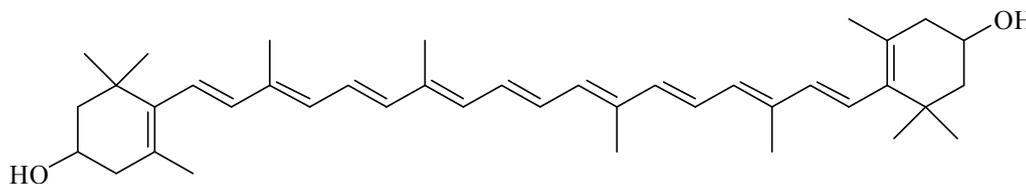
m/z: 529.344086 (theor.), (Natriumaddukt von **79**, C₃₇H₄₆O₁·Na)



¹H-NMR-Daten: (500 MHz/CDCl₃/TMS)

δ = 1.03 (s, 3H, C16), 1.05 (s, 3H, C17), 1.27 (m, 2H, C2), 1.48 (dt, 1H, C3, J=4.2Hz, J=9.0Hz), 1.62 (m, 2H, C4), 1.72 u. 1.74 (s, 6H, C5, C5'), 1.95-2.05 (m, 12H, C19, C20, C19', C20'), 6.16 (d, 1H, C10, J=8.2Hz), 6.29 (m, 5H, C5', C10', C12, C12', C14, C14'), 6.42 (d, 1H, C7, J=14.9Hz), 6.52 (d, 1H, C8, J=16.0Hz), 6.69 (m, 5H, C7', C11, C11', C15, C15'), 6.86 (d, 1H, C8', J=15.9Hz), 6.92 (s, 1H, C4'), 7.00 (d, 1H, C3', J=7.6Hz), 7.18 (t, 1H, C1', J=7.8Hz)

4.4.13 Zeaxanthin (18)



400 mg (2.44 mmol) C₁₀-Dialdehyd (**65**) werden mit 2.80 g (4.83 mmol) [(3-Hydroxy- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-hydrogensulfat (**45**) in Methanol (96 %) gelöst und vorgelegt. Portionsweise werden unter Rühren 274 mg (5.07 mmol) Natrium-methanolat zugegeben. Im Anschluss wird die Lösung bis zum Rückfluss erhitzt. Man rührt 4 h bei dieser Temperatur. Mittels Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 wird der Fortschritt der Reaktion verfolgt. Als Laufmittel dient ein Lösemittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:2). Das Zeaxanthin (**18**) findet sich unter diesen Bedingungen mit einem Retentionsfaktor von 0.68. Nachdem durch Dünnschichtchromatographie der vollständige Umsatz des Dialdehydes **65** festgestellt ist, lässt man die Lösung abkühlen und vervollständigt die Kristallisation des Produktes **18** in der Kälte. Man entfernt das Lösungsmittel an einer Nutsche (*Pore 4*). Der Feststoff wird in Hexan suspendiert und anschließend für 6 h zum Rückfluss erhitzt. Das Zeaxanthin (**18**) wird abschließend unter Lichtausschluss bei Raumtemperatur und 13 mbar im Vakuum getrocknet.

V13

C₄₀H₅₄O₂ (M = 568.89 g/mol)

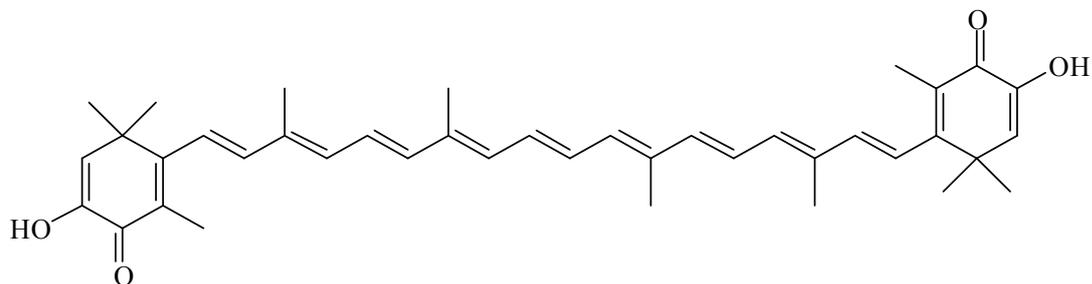
Ausbeute: 503 mg (0.88 mmol) **18**, 36 %,

Massenspektrum (FAB+NBA):

m/z (%): 570 (5) [M+2]⁺, 569 (16) [M+1]⁺, 568 (32) [M]⁺

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur ^[136] überein.

4.4.14 Astacin (75)



V14

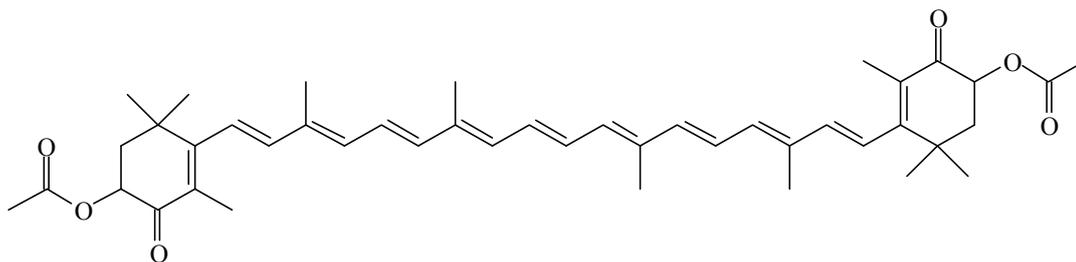
425 mg (2.59 mmol) C₁₀-Dialdehyd (**65**) werden mit 3.50 g (6.10 mmol) [(3,4-Dioxo- β -ionyliden)ethyl]triphenylphosphonium-bromid (**64**) in Methanol (96 %) gelöst und vorgelegt. Portionsweise werden unter Rühren 355 mg (6.24 mmol) Natriummethanolat (95 %ig) zugegeben. Im Anschluss wird die Lösung bis zum Rückfluss erhitzt. Man rührt weitere 4 h bei dieser Temperatur. Durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 wird der Fortschritt der Reaktion verfolgt. Als Laufmittel dient ein Lösemittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:3). Das Astacin findet sich unter diesen Bedingungen mit einem Retentionsfaktor von 0.83. Durch Dünnschichtchromatographie kann der vollständige Umsatz des Dialdehydes **65** festgestellt werden. Man lässt die Lösung abkühlen und vervollständigt die Kristallisation des Produktes **75** in der Kälte. Man entfernt das Lösungsmittel an einer Nutsche (*Pore 4*). Der Feststoff wird in Heptan suspendiert und anschließend für 6 h zum Rückfluss erhitzt. Nach Filtration wird das Astacin (**75**) abschließend bei Raumtemperatur im Vakuum getrocknet.

C₄₀H₄₈O₄ (M = 592.82 g/mol)

Ausbeute: 804 mg (1.42 mmol) **75**, 54 %,

Die Charakterisierung erfolgte lediglich durch den einen Vergleich mittels *HPLC*, mit einer Probe die dankenswerterweise von Scherrers (*Spende, BASF*) zur Verfügung gestellt wurde.^[142]

4.4.15 Astaxanthindiaceat (76)



In einem 100-ml-Einhalskolben werden 500 mg (0.838 mmol) Astaxanthin (9) mit 780 mg (9.51 mmol) Natriumacetat (*wasserfrei*) in 25.0 g (245 mmol) Essigsäureanhydrid suspendiert. Unter Erhitzen lösen sich die Feststoffe bei 80 °C in einer exothermen Reaktion. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60, als Laufmittel findet ein Gemisch aus Hexan/Essigester (1:2) Verwendung. Das Diaceat 76 kann dabei mit einem Retentionsfaktor von 0.93 detektiert werden. Nach 2 h kann mittels DC kein Astaxanthin (9) mehr detektiert werden (R_f -Wert: 0.80). Die Reaktion wird durch Hydrolyse beendet, dazu gießt man die heiße Lösung in einem dünnen Strahl schnell auf 500 ml Eiswasser. Man erhält eine gummiartige, hochviskose, tief violett- bis schwarzfarbene Masse. Man filtriert und löst den Rückstand in Dichlormethan. Mit Wasser wäscht man die organische Phase säurefrei. Nach Trocknen über Natriumsulfat entfernt man das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter Normaldruck. Das Produkt 76 wird zur weiteren Reinigung aus Ethanol (96%ig) kristallisiert. Die Trocknung erfolgt im bei 25 °C im Vakuum bei 14 mbar.

V15

$C_{44}H_{56}O_6$ (M = 680.93 g/mol)

Ausbeute: 485 mg (0.712 mmol) 76, 85 %

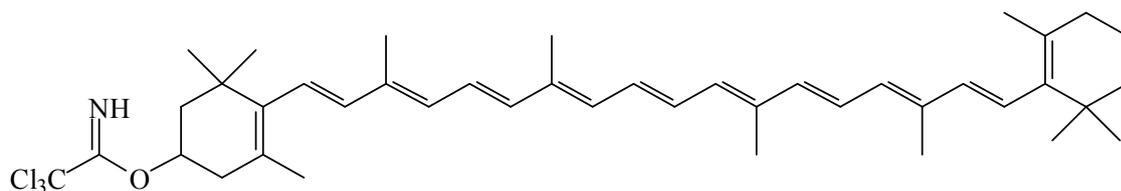
UV/VIS:

Acetonitril: $\lambda = 474$ nm

Schmelzpunkt: 199 °C, Lit. ^[157]: 187-189 °C

Zur weiteren Charakterisierung wurde lediglich durch *HPLC* ein Vergleich mit der von Korger ^[136] bereits charakterisierten Verbindung 76 durchgeführt. Die Retentionszeiten der Verbindungen waren identisch.

4.4.16 Cryptoxanthintrichloracetimidat (77)



V16

0.53 g (0.95 mmol) Cryptoxanthin (**68**) werden in 50 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Bei 0 °C werden unter Schutzgasatmosphäre 2.40 ml einer 0.1 mM Lösung von 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en in trockenem Dichlormethan (0.24 mmol) zugetropft. Nach 20 min erfolgt innerhalb von 30 min die Zugabe einer Lösung aus 0.15 ml (1.50 mmol) Trichloracetnitril in 10 ml trockenem Dichlormethan. Man entfernt die Kühlung und lässt die Lösung unter rühren auf Raumtemperatur erwärmen. Die Reaktionskontrolle erfolgt durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60, mit einem Lösemittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:3) als Laufmittel. Das Cryptoxanthintrichloracetimidat (**77**) kann hier mit einem Retentionsfaktor von 0.86 detektiert werden. Durch zweidimensionale DC kann man nachweisen, dass das Produkt bereits unter den sauren Bedingungen auf der Kieselgelplatte Zersetzung zeigt. Nach 3 h kann die Reaktion durch Waschen mit Wasser beendet werden. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet, um anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer zu entfernen. Das Produkt wird in filzähnlichen Kristallen erhalten und im Vakuum (12 mbar) bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss getrocknet. Charakterisierung durch NMR-Experimente ist nicht durchgeführt worden. Das Imidat **77** wurde unter den sauren Bedingungen in Chloroform protolysiert, was zur Zersetzung führt.

C₄₂H₅₆Cl₃NO (M = 697.27 g/mol)

Ausbeute: 298 mg (0.427 mmol) **77**, 45 %

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3420 (N-H-Valenz) 2960, 2920, 2860 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1720 (C-O-Valenz), 1650, 1640 (C-C-Valenz), 1460, 1450 (CH₃- CH₂-Deform.), 1360, 1260, 1100 (C-N-Valenz), 1040, 1030 (C-O-Valenz), 960, 800 (C-Cl-Valenz) cm⁻¹.

Schmelzpunkt: Zersetzung > 100 °C

Massenspektrum (FAB + NBA):

m/z (%): 698 (8) [M+1]⁺, 697 (5) [M]⁺, 535 (6), 391 (100), 392 (24), 389 (11)

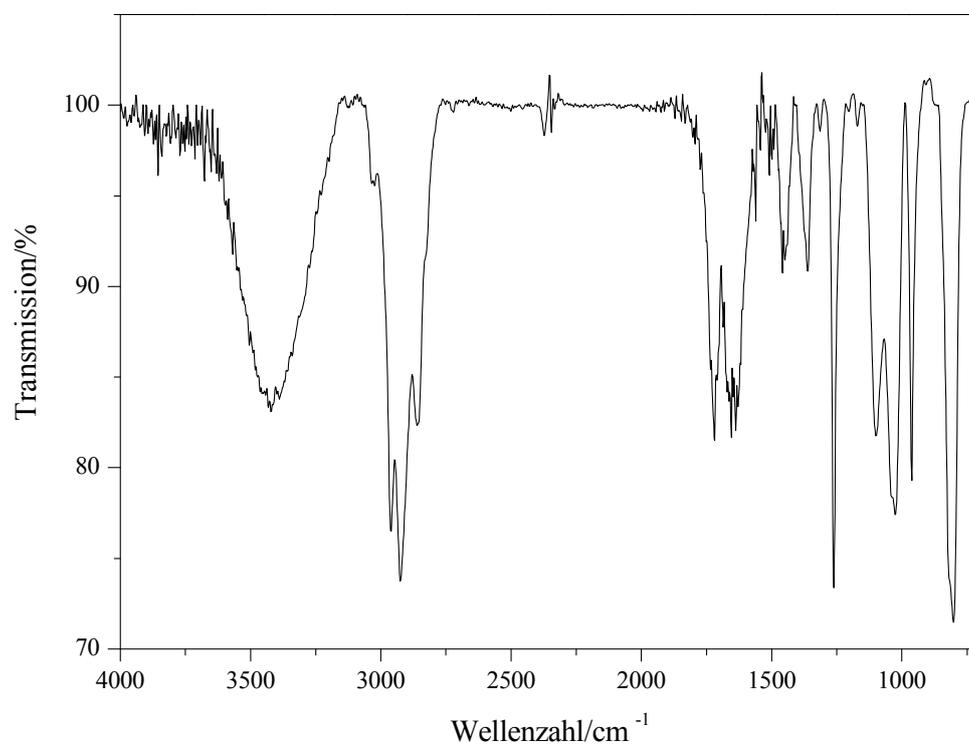


Abb. 72: Infrarotspektrum von Imidat 77, (Pressling, KBr).

UV/VIS:

Ethanol: $\lambda = 422$ (sh), 450, 474 nm

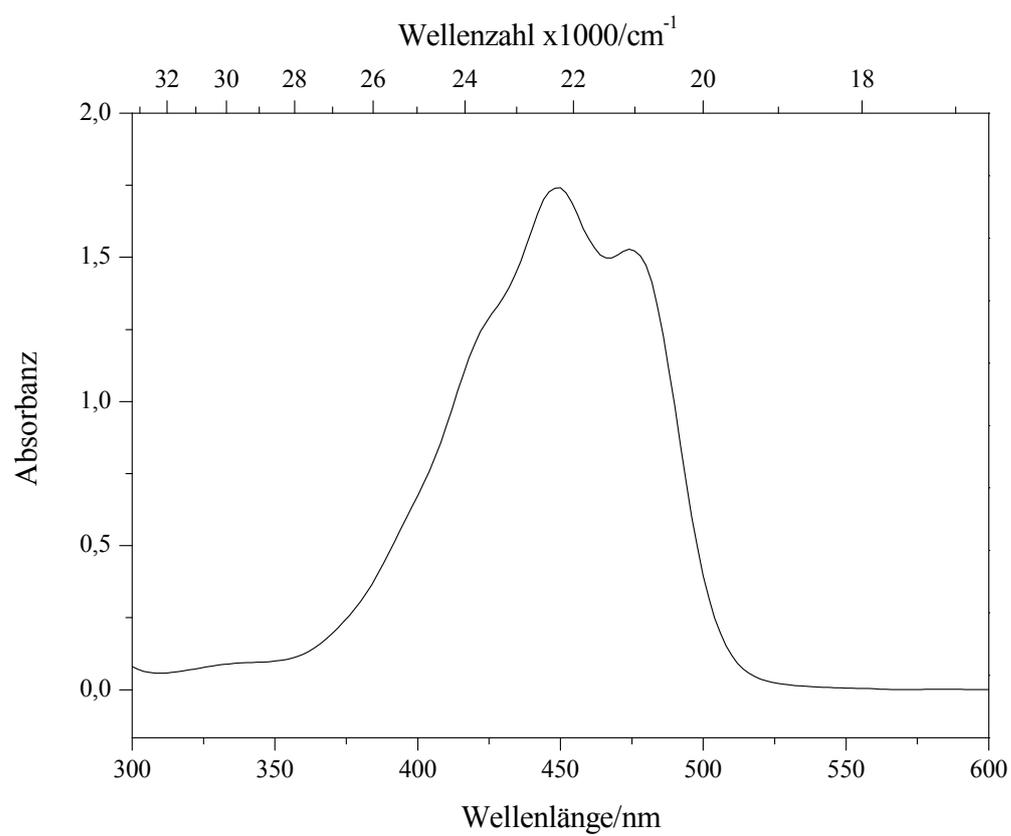
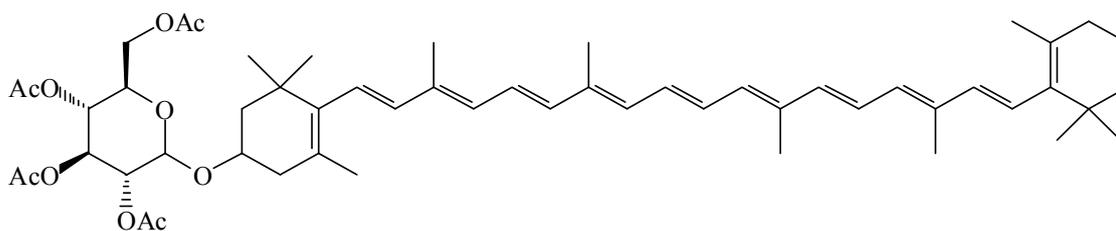


Abb. 73: UV/VIS-Spektrum des Imidates 77 in Ethanol.

4.4.17 (2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)cryptoxanthin (95)

230 mg (0.42 mmol) Cryptoxanthin (**68**) werden mit 1.20 g (2.91 mmol) α -D-Acetobrom-V17glucopyranose (**29**) in 25 ml trockenem Dichlormethan gelöst und vorgelegt. Die Lösung wird für 1 h mit Schutzgas gespült. 565 mg (2.07 mmol) Silbercarbonat werden durch Verreiben auf 5 g Natriumsulfat adsorbiert. Man sorgt für Lichtausschluss und fügt die Mischung im Schutzgasstrom hinzu. Man spült die Apparatur anschließend 20 min mit Schutzgas. Die Reaktionskontrolle erfolgt dünnschichtchromatographisch an Kieselgel. Laufmittel ist hierbei Hexan/Essigester (1:3). Cryptoxanthin (**68**) hat unter diesen Bedingungen einen Retentionsfaktor von 0.85. Das peracetylierte Glykosid des Cryptoxanthins ist dem Cryptoxanthin (**68**) im Laufverhalten so ähnlich, dass sich lediglich eine Verbreiterung des Substanzpunktes zeigt. Es konnte hier kein Lösemittelgemisch gefunden werden, das einen größeren Unterschied im Retentionsfaktor bewirkt. Nach zwei Wochen kann keine Veränderung des Edukt/Produktverhältnisses (bzw. Verbreiterung des Substanzpunktes) mehr festgestellt werden, allerdings zeigen sich Oxidationsprodukte. Zu diesem Zeitpunkt wird der Versuch abgebrochen, dazu filtriert man an Natriumsulfat (siehe Kap. 4.3.1) und spült mit reichlich Dichlormethan nach. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel 60 der *Fa. Merck* säulenchromatographisch von überschüssiger Glucose **29** befreit. Nach entfernen des Laufmittels am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck wird ein Rohprodukt erhalten, das hauptsächlich aus dem Edukt Cryptoxanthin (**68**) besteht. Durch Massenspektrometrie kann man das peracetylierte Glykosid detektieren. Im Infrarotspektrum des Rohproduktes (siehe Kapitel 3.4.3.6) kann man eine Veränderung zum reinen Cryptoxanthin feststellen, welche sich den C-O-Valenzschwingungen der Acetylgruppen zuordnen lassen. Es findet sich hier jedoch keine Möglichkeit das Produkt **86** zu isolieren. Die Trennung mittels *HPLC* sowohl als auch *Flash-Chromatographie* gelang hier ebenso wenig.

$C_{54}H_{74}O_{10}$ (M = 883.18 g/mol)

Ausbeute: 97 mg (*Rohprodukt*), orange- bis braunfarbener Lack.

UV/VIS:

Dichlormethan: $\lambda = 410$ (sh), 443, 461 (sh) nm

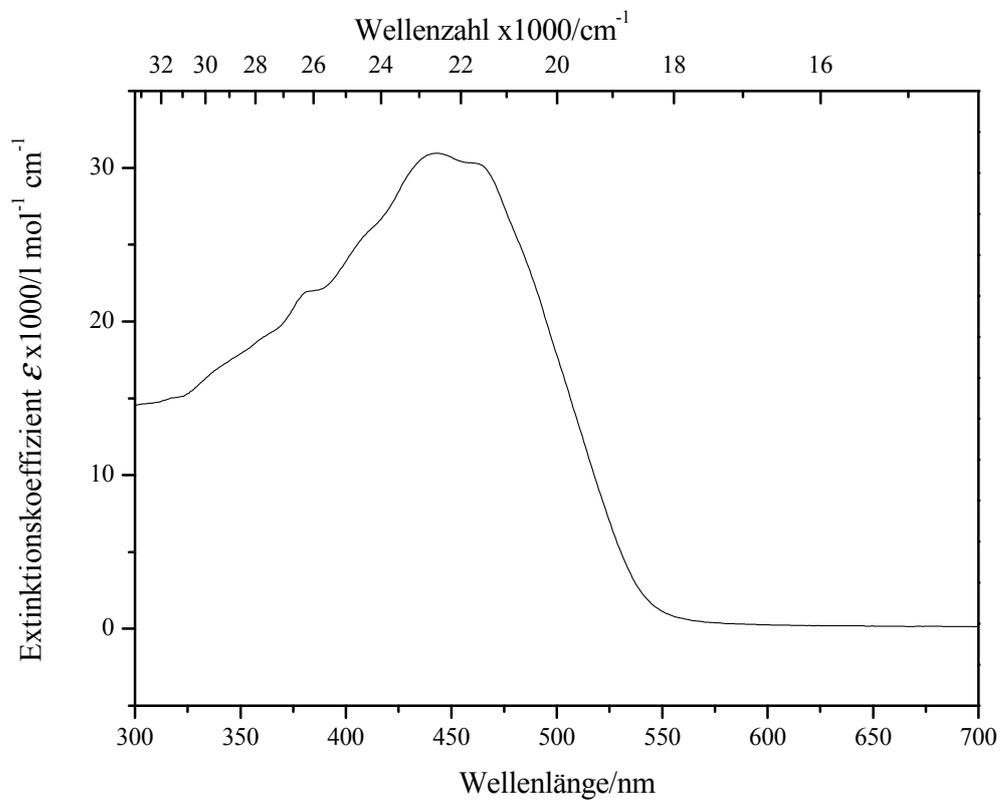
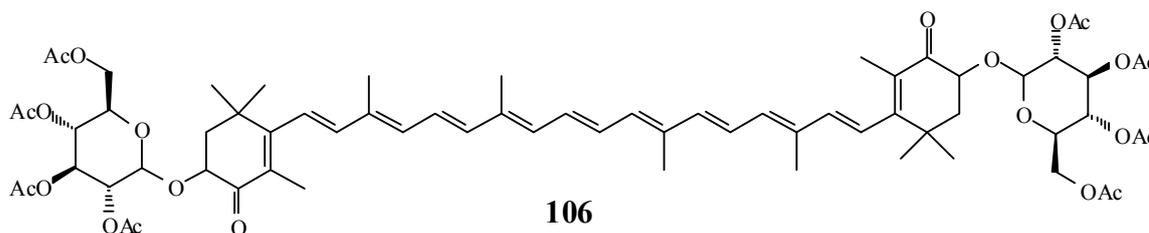


Abb. 74: UV/VIS-Spektrum von Glykosid 95 in Dichlormethan. (Rohprodukt)

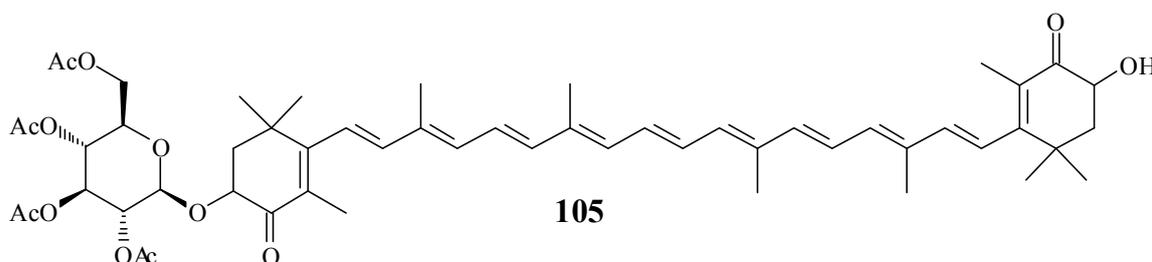
Massenspektrum (FAB+NBA):

m/z (%): 884 (4) $[\text{M}+1]^+$, 883 (7) $[\text{M}]^+$, 676 (2), 552 (100), 553 (55), 554 (13), 536 (6)

4.4.18 Bis(2,3,4,6-tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)astaxanthin (**106**)



620 mg (1.04 mmol) Astaxanthin (**9**) werden in 50 ml trockenem Dichlormethan gelöst und die tief violettfarbene Lösung 30 min mit Stickstoff gespült. 4.50 g (10.9 mmol) α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) werden spatelweise im Stickstoffgegenstrom zugegeben. Die Reaktion erfolgt unter Lichtausschluss. 1.1 g (4.0 mmol) Silbercarbonat, die durch Verreiben im Mörser auf 7.5 g (53 mmol) Natriumsulfat (*wasserfrei*) absorbiert wurden, werden portionenweise rasch zugegeben. Man spült die Apparatur nach vollendeter Zugabe weitere 30 min mit Stickstoff. Der Verlauf der Reaktion wird durch DC an Kieselgel 60 auf Aluminiumfolie kontrolliert. Laufmittel ist ein Lösemittelgemisch aus Hexan/Essigester (1:1). Nach 2 Tagen zeigen sich vier Punkte auf der Kieselgel 60-Folie. Die oberen zwei Punkte besitzen die Retentionsfaktoren 0.30 und 0.25 dabei handelt es sich um das peracetylierte Bisglucopyranosylastaxanthin **106**, die zwei unteren Punkte entsprechen dem Monoglykosid **105** (R_f -Werte: 0.15 und 0.12), welches man als Nebenprodukt erhält. Die Ausbildung von zwei Punkten mit unterschiedlichem Laufverhalten resultiert aus der Verwendung eines Isomerengemisches des Astaxanthin. Die Produkte aus der Reaktion mit (*R,R*)- und (*S,S*)-Astaxanthin sind Enantiomere und verhalten sich gleich, die Produkte aus der Reaktion mit (*R,S*)-Astaxanthin sind Diastereomere zu den zuvor genannten Produkten und besitzen andere physikalische Eigenschaften, daraus resultiert die Aufspaltung der Punkte im DC.



Man rührt solange bis, bei der DC der Punkt des Astaxanthins (**9**) nicht mehr zu sehen ist (ca. 7 Tage). Im nächsten Schritt befreit man von Silbersalzen durch Filtration (siehe Kap.

V18

4.3.1). Die Reinigung der Produkte **105** und **106** erfolgt im Anschluss durch Säulenchromatographie. An Kieselgel 60 (*Fa. Fluka*) wird mit Säule D (siehe Kap. 4.3.2.1) und einem Lösemittelgemisch aus Aceton/Dichlormethan (1:1) zunächst überschüssiges Glucopyranosylbromid **29** entfernt.

Mit Säule A trennt man unter den gleichen Bedingungen (Laufmittelgemisch und Sorptionsmittel) Astaxanthinmono- **105** (R_f -Wert: 0.73) und Astaxanthinbisglucopyranosid **106** (R_f -Wert: 0.80). Das Lösemittelgemisch wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt (hierbei beträgt die Badtemperatur 30 °C!). Die Produkte werden bei Raumtemperatur unter Lichtausschluss und im Vakuum (14 mbar) getrocknet.

$C_{68}H_{88}O_{22}$ (M = 1257.43 g/mol)

Ausbeute: 458 mg (0.36 mmol) **106**, 35%

Schmelzpunkt: Das Produkt besitzt eine lackartige, nicht kristalline Konsistenz.

Infrarotspektrum (*Film, Chloroform*):

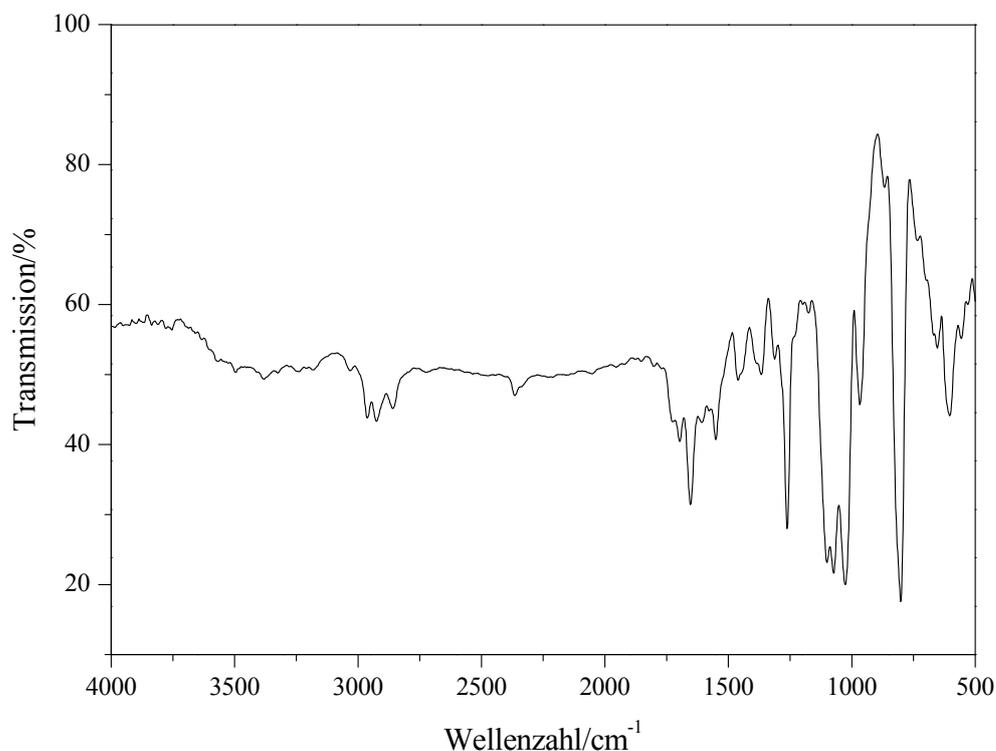


Abb. 75: Infrarotspektrum des peracetylierten Glykosides (**106**), (Film, Chloroform).

UV/VIS:

Ethanol: λ/nm ($\log \epsilon$) = 475 (4.7)

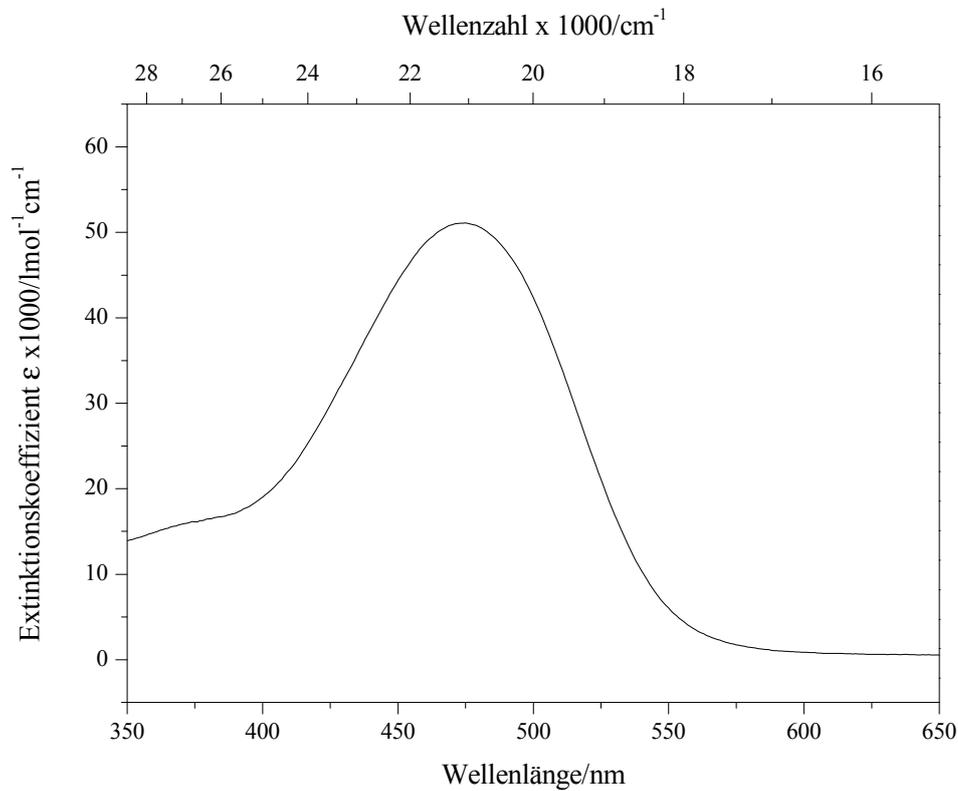


Abb. 76: UV/VIS-Spektrum von Bisglykosid **106** in Ethanol.

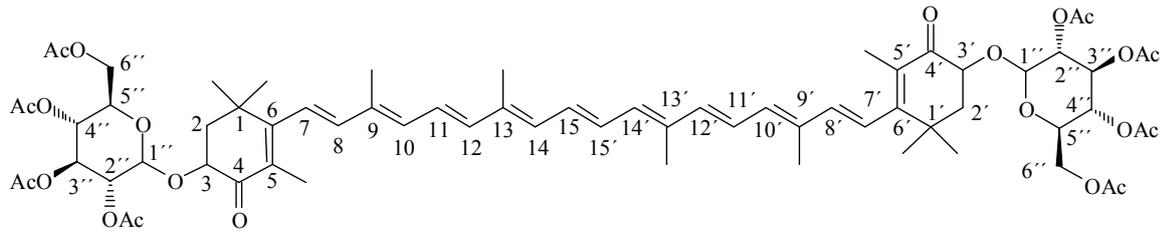
Massenspektrum (MALDI/TOF), (DIT:Chloroform, 1:5):

m/z (%): 1280 (37) $[\text{M}+23]^+$, 1257 (100) $[\text{M}]^+$, 969 (6), 927 (4)

Massenfeinbestimmung (ESIpos, $\text{CH}_2\text{Cl}_2+\text{CH}_3\text{OH}$):

m/z : 1279.566912 \pm 0.020 g (gem.),

m/z : 1279.565951 (theor.), (Natriumaddukt von **106**, $\text{C}_{68}\text{H}_{88}\text{O}_{22}\cdot\text{Na}$)



¹H-NMR-Daten: (500 MHz/CDCl₃)

δ = 1.19 (s, 3H, C17'), 1.22 (s, 6H, C16, C17), 1.28 (s, 3H, C16'), 1.84-2.11 (m, 42H, C18, C18', C19, C19', C20, C20', O-Ac), 3.70 (m, 1H, C5''), 4.19 (m, 1H, C6''), 4.25 (m, 1H, C6''), 4.38 (m, 1H, C1''), 4.74 (m, 1H, C2''), 5.06 (m, 1H, C4''), 5.25 (m, 1H, C3''), 6.19 (m, 2H, C7, C7'), 6.28 (m, 4H, C10, C10', C14, C14'), 6.41 (m, 4H, C8, C8', C12, C12'), 6.65 (m, 4H, C11, C11', C15, C15') ppm.

Nebenprodukt

$C_{54}H_{70}O_{13}$ (M = 927.14 g/mol)

Ausbeute: 145 mg (0.16 mmol) **105**, 15%

Schmelzpunkt: Das Produkt fällt als ein intensiv rotfarbenes, hochviskoses, zähes Öl an.

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3430 (OH-Valenz), 2970, 2930, 2870 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1750 (C=O-Valenz), 1655, 1625 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1460, 1375 (CH-Deform.), 1230 (C-O-Valenz), 1130, 1040 (C-O-Deform.), 980, 820, 610 (CH-Deform.) cm⁻¹.

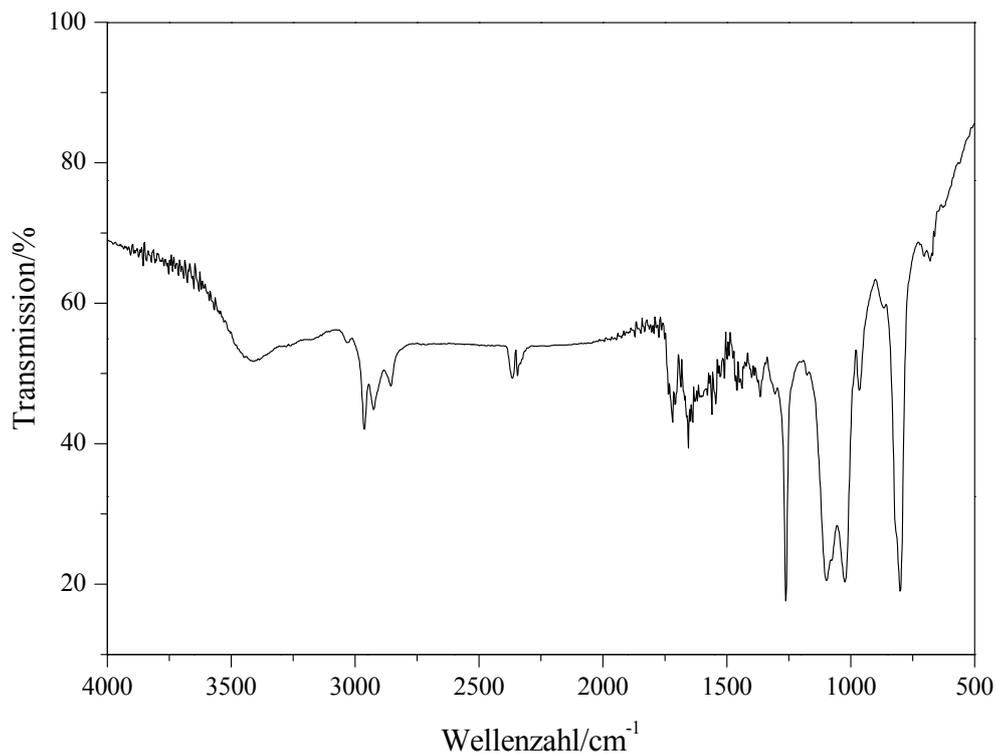


Abb. 77: Infrarotspektrum des peracetylierten Glykosides (**105**), (Film, Chloroform).

UV/VIS:

Ethanol: λ/nm (log ϵ) = 473 (4.3)

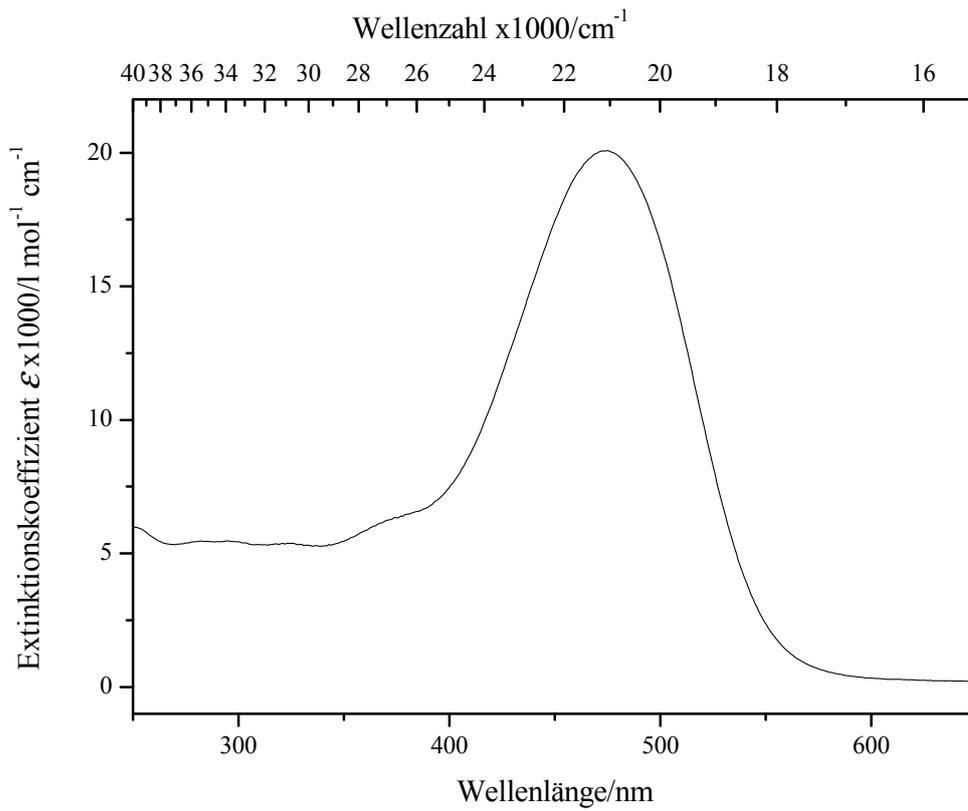


Abb. 78: UV/VIS-Spektrum des Astaxantinmonoglykosides **105** in Ethanol.

Massenspektrum (MALDI/TOF), (DIT:Chloroform, 1:5):

m/z (%): 950 (20) $[M+23]^+$, 949 (29) $[M-1+23]^+$, 929 (39) $[M+2]^+$, 927 (100) $[M]^+$,
926 (97) $[M-1]^+$, 912 (14), 900 (18), 899 (25), 898 (25), 897 (17)

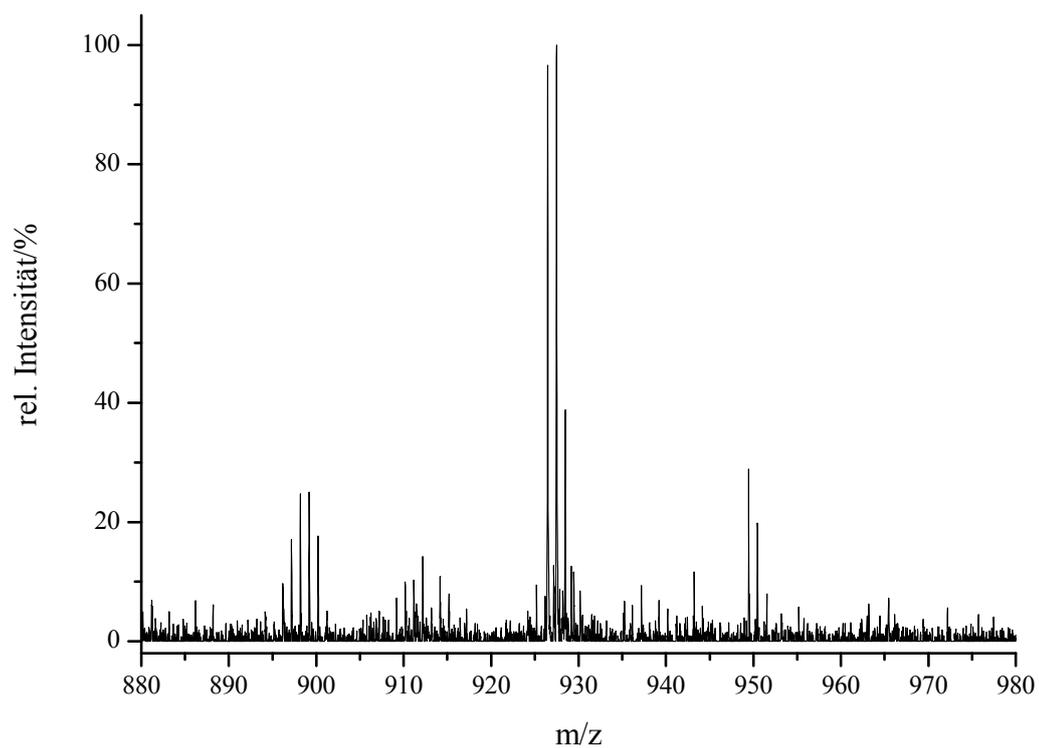


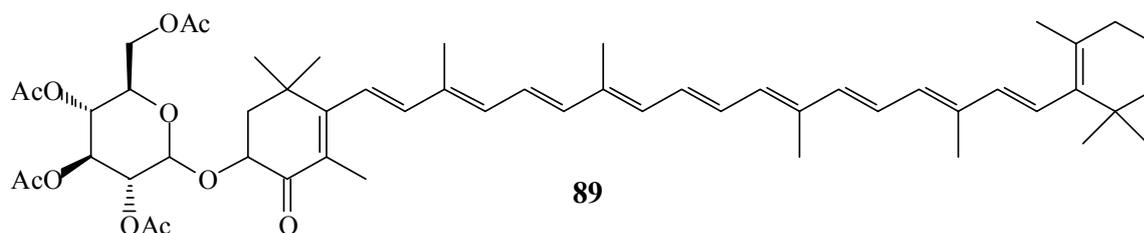
Abb. 79: Massenspektrum von Verbindung **105**, (MALDI/TOF, DIT:Chloroform, 1:5)

Massenfeinbestimmung (ESIpos, CH₂Cl₂+CH₃OH):

m/z: 949.471344 ± 0.020 g (gem.),

m/z: 949.470863 (theor.), (Natriumaddukt von **105**, C₅₄H₇₀O₁₃·Na)

4.4.19 3'-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)hydroxyechinenon (**89**)



V19

In 30 ml trockenem Dichlormethan werden 260 mg (0.458 mmol) 3-Hydroxyechinenon und 1.07 g (2.60 mmol) α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) gelöst. 650 mg (2.38 mmol) Silbercarbonat werden im Mörser mit 5.8 g (41 mmol) Natriumsulfat verrieben. Im gelinden Stickstoffgegenstrom wird das Hilfsreagenz portionsweise zugegeben. Mittels DC an Kieselgel 60 (Laufmittel: Hexan/Essigester) erfolgt die Reaktionskontrolle.¹⁾ Nach 7 Tagen wird der Versuch beendet. Dazu werden die Silbersalze wie in Kap. 4.3.1 beschrieben an einer Filtersäule abgetrennt. Überschüssiges Glucopyranosylbromid **29** wird durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 (Laufmittel: Hexan/Essigester) entfernt. Man suspendiert das Produkt **89** in Heptan und erhitzt 3 h zum Rückfluss. Man filtriert an Kieselgel 60 und spült mit wenig Essigester nach. Das Lösemittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Das Rohprodukt wird unter Lichtausschluss im Vakuum bei 9-12 mbar und bei Raumtemperatur getrocknet. Das Rohprodukt wird ohne vollständige Charakterisierung den nächsten Arbeitsschritten zugeführt.

$C_{54}H_{72}O_{11}$ (M = 897.16 g/mol)

Ausbeute: 124 mg (0.138 mmol) **89**, 30 % (*Rohprodukt*)

Infrarotspektrum (*Film, NaCl*):

$\tilde{\nu}$: 2960, 2930, 2855 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1750, 1650 (C=O-Valenz), 1460, 1410 (CH₃-, CH₂-Deform.), 1375 (CH₃-Deform.), 1260 (C-O-Valenz), 1100, 1020 (C-O-Deform.), 870, 800, 690 (CH-Deform.) cm⁻¹.

¹⁾ Die Entstehung eines Produktes ist nach dieser modifizierten Koenigs-Knorr-Methode meist erst nach zwei Tagen Reaktionszeit zu beobachten.

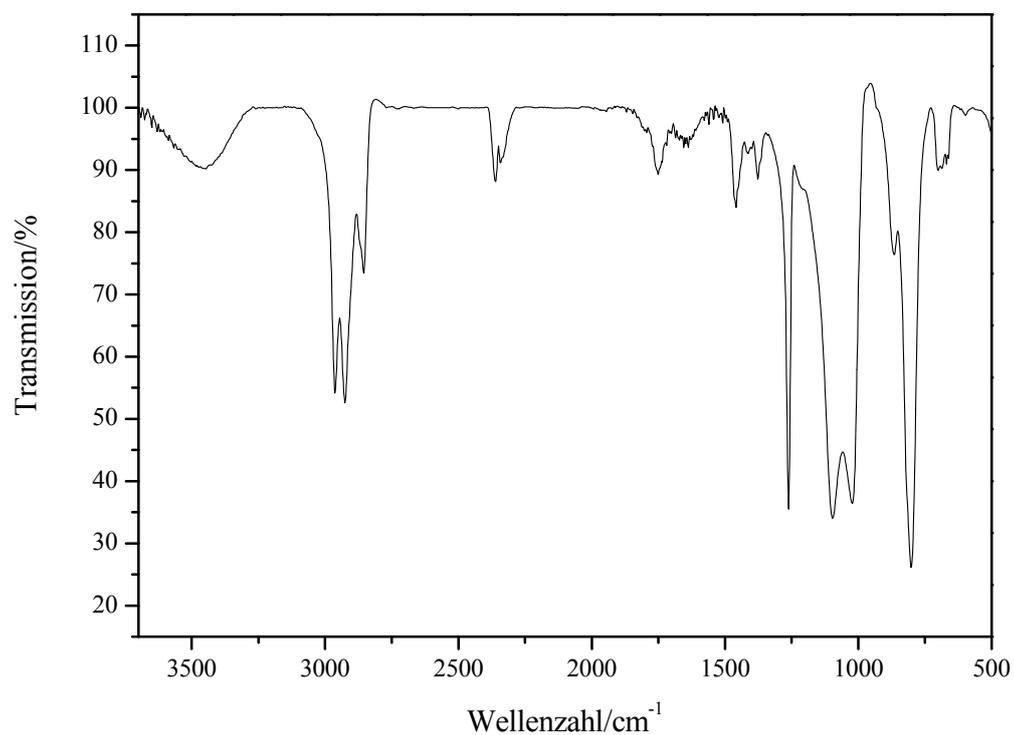


Abb. 80: Infrarotspektrum von 3-Hydroxyechinenonglucoopyranosid **89**, (Rohprodukt, Film, NaCl).

Massenspektrum (MALDI/TOF):

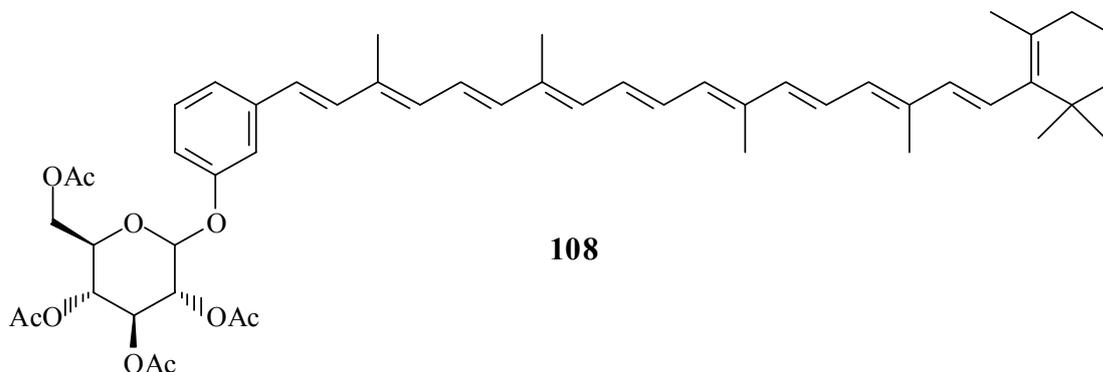
m/z (%): 897 (100), 567 (81), 898 (77), 581 (49), 911(49)

UV/VIS:

Chloroform: λ/nm ($\log \epsilon$) = 464 (4.11)

Ethanol: $\lambda = 454 \text{ nm}$

4.4.20 2'-(2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- β -D-glucopyranosyl)-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (108)



V20

240 mg (0.474 mmol) des phenolischen Carotinoids **79** werden neben 1.20 g (2.92 mmol) α -D-Acetobromglucopyranose (**29**) in 30 ml trockenem Dichlormethan gelöst. 825 mg (2.99 mmol) Silbercarbonat werden mit 5 g Natriumsulfat (*wasserfrei*) verrieben und portionsweise zugegeben. Die Lösung wird 30 min mit einem schwachen Schutzgasstrom gespült und eine Woche, unter Lichtausschluss, gerührt. Die Lösung wird an Natriumsulfat (*wasserfrei*) filtriert, um die Silbersalze zu entfernen (siehe Kap. 4.3.1). Anschließend wird an 100 g Kieselgel 60 (*Fa. Merck*) filtriert, um vom Glucopyranosylbromid **29** zu trennen. Das peracetylierte Glykosid **108** kann durch Säulenchromatographie gereinigt werden, als Laufmittel dient ein Gemisch aus Dichlormethan und Aceton (1:1). Unter den erwähnten Bedingungen besitzt das Glykosid **108** einen Retentionsfaktor von 0.87.

Zur weiteren Reinigung erfolgt die säulenchromatographische Aufarbeitung durch *Flash-Chromatographie* hierbei dient als Laufmittel Essigester. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Das peracetylierte Glykosid **90** wird bei Raumtemperatur im Vakuum (8-12 mbar) unter Lichtausschluss getrocknet. Das Produkt **108** fällt als dunkelorange- bis braunfarbener Lack an.

$C_{51}H_{64}O_{10}$ (M = 837.06 g/mol)

Ausbeute: 317 mg (0.379 mmol) **108**, 80 %

UV/VIS:

Chloroform: λ/nm (log ϵ) = 445 (3.72), 472 (3.85), 500 (3.74)

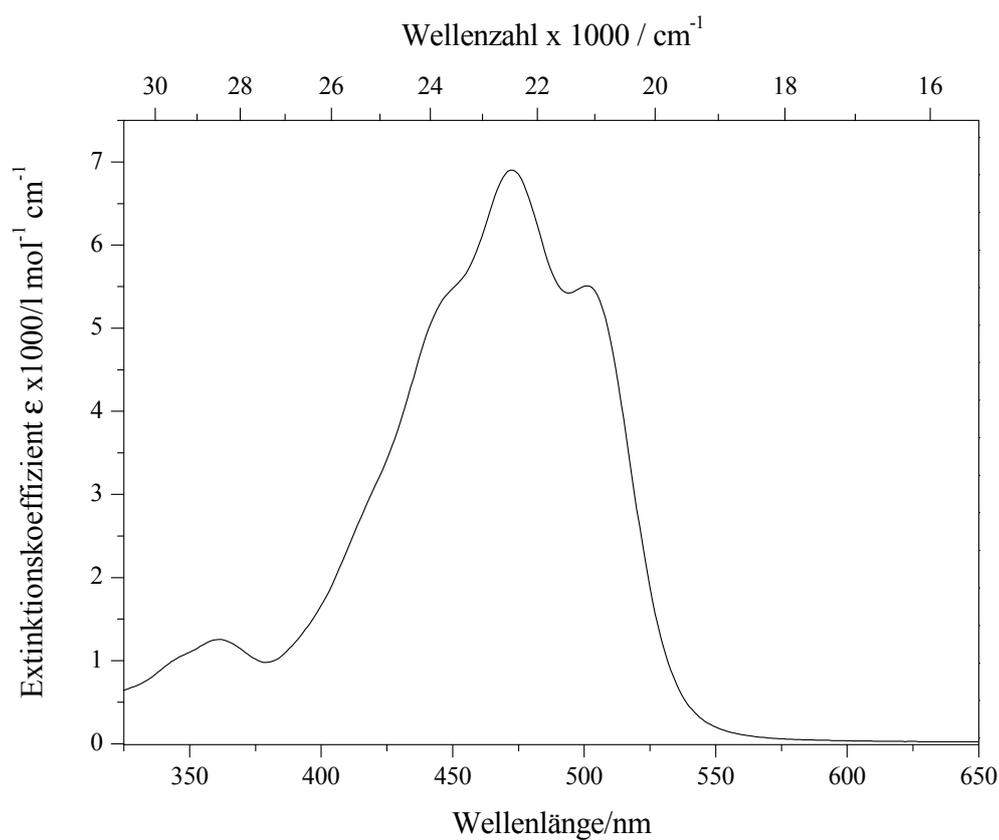
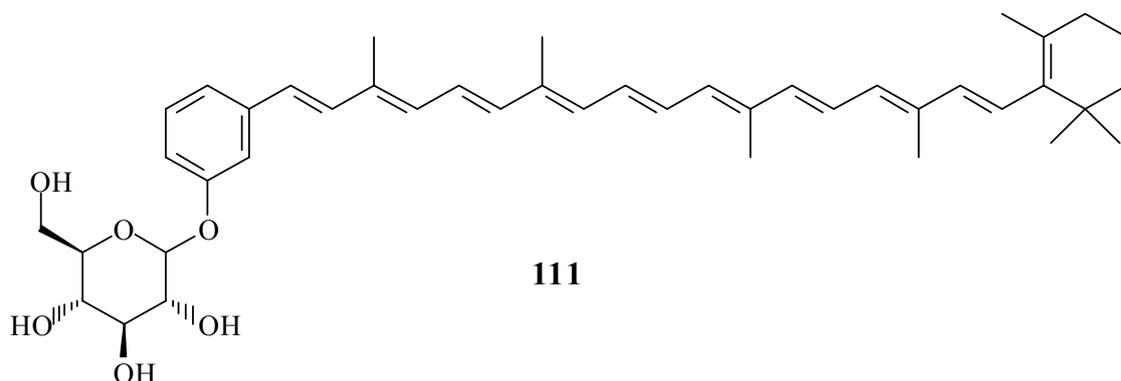


Abb. 81: UV/VIS-Spektrum des peracetylierten Glykosides **108** in Ethanol.

Massenfeinbestimmung (ESIpos, CHCl₃+CH₃OH):

m/z: 859.438313 ± 0.030 g (gem.),

m/z: 859.439167 (theor.), (Natriumaddukt von **108**, C₅₁H₆₄O₁₀·Na)

4.4.21 2'-Glucopyranosyl-16',17',18'-trinor- β , Φ -carotin (111)

V21

63 mg (0.08 mmol) des peracetylierten Glykosides **108** werden in 15 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Die Lösung wird durch ein Eisbad auf 0° C abgekühlt bevor im Stickstoffgegenstrom 4.5 ml methanolischer Kaliumcarbonatlösung ($3 \cdot 10^{-3}$ M) zugetropft werden. Mit DC an Kieselgel 60 mit Essigester als Laufmittel wird der Verlauf der Reaktion verfolgt. Das Glykosid **111** adsorbiert so stark an der stationären Phase, das es nicht mit dem Laufmittel wandert. Findet sich nur noch ein Punkt auf dem DC, so rührt man weitere 30-45 min, um die Reaktion zu vervollständigen. Am Rotationsverdampfer entfernt man das Dichlormethan bei vermindertem Druck (Badtemperatur: 30 °C). Die methanolische Lösung wird an *reverse phase* Kieselgel filtriert. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Das phenolische Glykosid **111** wird bei Raumtemperatur im Vakuum bei 12-16 mbar und unter Lichtausschluss getrocknet. Man erhält das Produkt **111** als intensiv braunfarbenen, spröden Lack. Die Kristallisation aus diversen Lösungsmitteln (bzw. Lösungsmittelgemischen) gelang nicht.

$C_{43}H_{56}O_6$ (M = 668.91 g/mol)

Ausbeute: 47 mg (0,07 mmol) **111**, 94 %

Infrarotspektrum (*Pressling, KBr*):

$\tilde{\nu}$: 3420 (OH-Valenz), 2960, 2920, 2850 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1730, 1630 (CO-Valenz), (CH₃-, CH₂-Deform.), 1470, 1380 (CH₃-Deform.), 1290, 1260 (C-O-Valenz), 1130, 1070, 1030 (C-O-Deform.) 910, 790, 720 (CH-Deform.) cm⁻¹.

UV/VIS:

Aceton, λ/nm (log ϵ): 434 (4.12, *sh*), 461 (4.24), 489 (4.14)

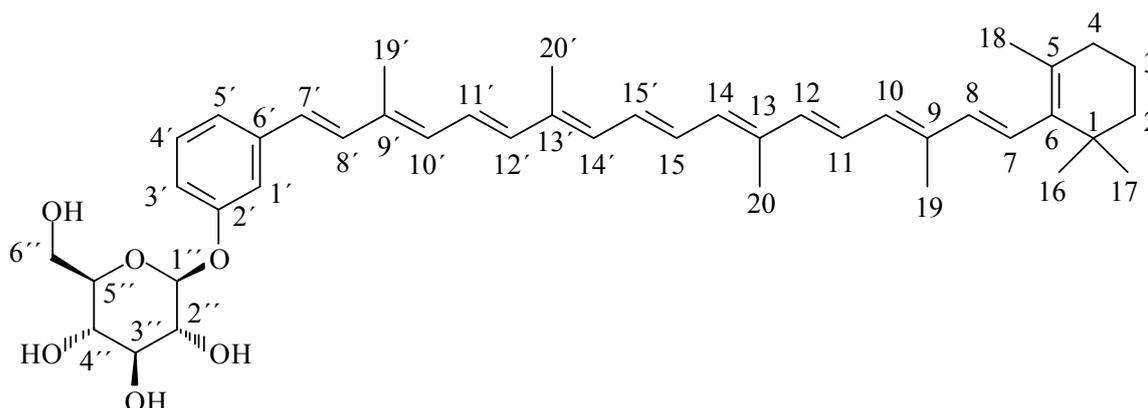
Massenspektrum (MALDI/ TOF); (DIT:Chloroform, 1:2):

m/z (%): 668 (22) $[M+H]^+$, 530 (8); 516 (29), 514 (45), 509 (100), 490 (8), 450 (26), 411 (25), 393(18)

Massenfeinbestimmung (ESI_{neg}, CH₂Cl₂+CH₃OH):

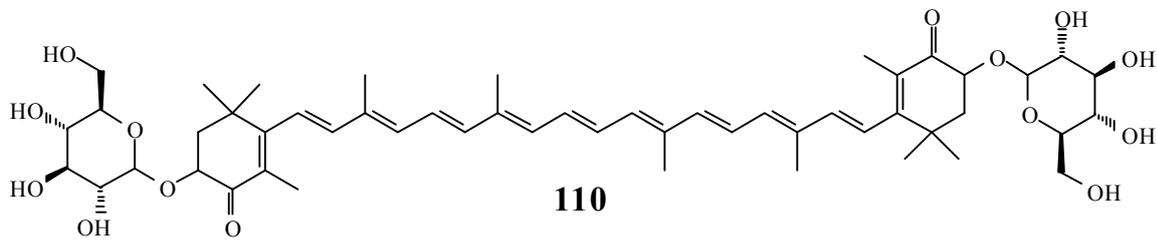
m/z : 667.400721 \pm 0.051 g (gem.),

m/z : 667.400416 (theor.), (C₄₃H₅₅O₆)

¹H-NMR-Daten: (500 MHz/CD₃OD)

δ = 1.02 (s, 3H, C16), 1.04 (s, 3H, C17), 1.28 (m, 2H, C2), 1.49 (m, 2H, C3), 1.61 (m, 2H, C4), 1.72 u. 1.74 (s, 6H, C5, C5'), 1.90-2.02 (m, 12H, C19, C20, C19', C20'), 3.34 (m, 1H, C2''), 3.38 (m, 1H, C3''), 3.45 (m, 1H, C5''), 3.66 (m, 1H, C4''), 3.91 u. 4.14 (m, 1H, C6''), 4.56 (m, 1H, C1''), 6.14 (m, 1H, C10), 6.29 (m, 5H, C5', C10', C12, C12', C14, C14'), 6.46 (d, 1H, C7, J=15.0Hz), 6.58 (d, 1H, C8, J=16.0Hz), 6.70 (m, 5H, C7', C11, C11', C15, C15'), 6.95 (d, 1H, C8', J=15.6Hz), 7.10 (m, 1H, C4'), 7.21 (m, 1H, C1')

4.4.22 Bisglucopyranosylastaxanthin (110)



V22

Unter Schutzgasatmosphäre (Stickstoff) werden 69 mg ($5.5 \cdot 10^{-2}$ mmol) des Bisglykosides **106** in 10 ml trockenem Dichlormethan gelöst. Man tropft unter Rühren 5 ml einer methanolischen Kaliumcarbonat-Lösung ($3 \cdot 10^{-3}$ M, siehe Kap 4.2) dazu. Die Reaktionskontrolle verfolgt man durch DC an Kieselgel 60, als Laufmittel dient Essigester/Hexan (1:1). Das glykosidische Carotinoid **110** wandert unter diesen Bedingungen nicht mit dem Lösungsmittel. Man rührt die Reaktionslösung noch mindestens weitere 30-40 min, nachdem man durch DC kein Edukt mehr nachweisen kann. Am Rotationsverdampfer entfernt man das Dichlormethan. Das Volumen der Lösung wird mit 10 ml Methanol erhöht. Zur Reinigung filtriert man an *reverse phase* Kieselgel (25 g). Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das Produkt wird im Vakuum (9-14 mbar), bei Raumtemperatur und unter Lichtausschluss getrocknet. Das Bisglucopyranosid **110** konnte auch nach mehrfachem Kristallisationsversuchen mit variierenden Lösungsmitteln nicht in kristalliner Form erhalten werden.

$C_{52}H_{72}O_{14}$ (M = 921.14 g/mol)

Ausbeute: 38 mg (0.04 mmol) **110**, 75 %

Infrarotspektrum (Pressling, KBr):

$\tilde{\nu}$: 3400 (OH-Valenz), 3040, 2960, 2920, 2850 (CH₃-, CH₂-Valenz), 1650, 1560 (CO-Valenz), 1460, 1440 (CH-Deform., asymmetrisch), 1370 (CH-Deform.), 1330, 1300 (OH-Deform.), 1240, 1160 (CO-Valenz), 1080, 1040 (C-O-C-Valenz), 970 (=CH-Deform., *trans*) cm⁻¹.

UV/VIS

Ethanol: λ , (log ϵ) = 477 nm, (5.15)

Massenfeinbestimmung (ESIpos, CH₂Cl₂+CH₃OH):

m/z: 943.482537 ± 0.005 g (gem.),

m/z: 943.481431 (theor.), (Natriumaddukt von **110**, C₅₂H₇₂O₁₄·Na)

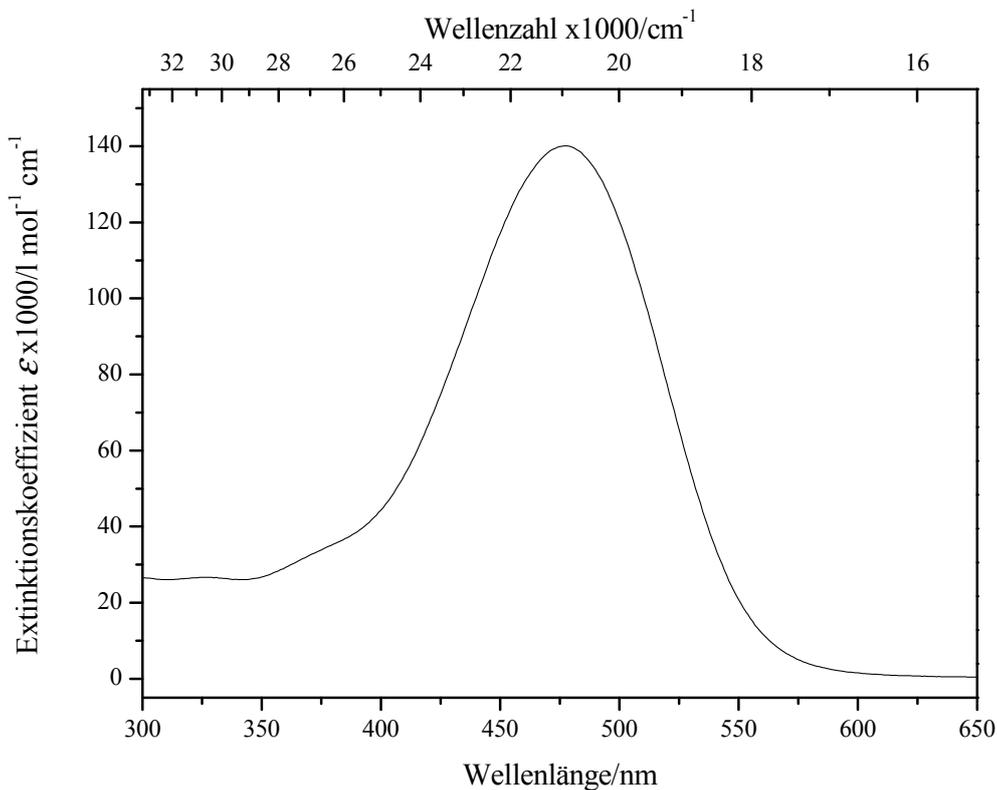
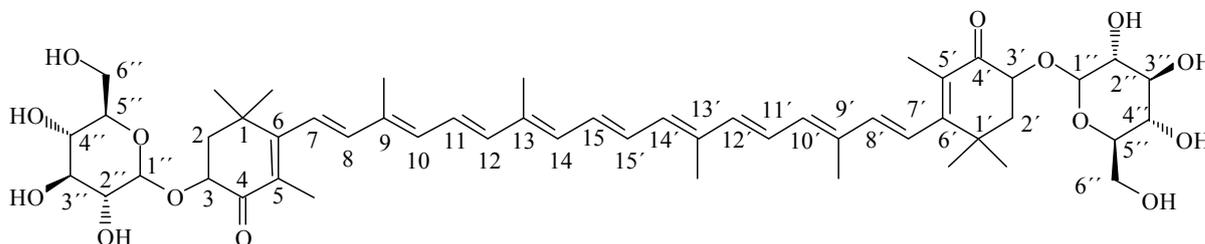


Abb. 82: UV/VIS-Spektrum von Verbindung **110** in Ethanol.



¹H-NMR-Daten: (500 MHz/CD₃OD)

δ = 1.17 (s, 3H, C17), 1.19 (s, 3H, C17'), 1.27 (s, 3H, C16), 1.31 (s, 3H, C16'), 1.82 (m, 1H, C2'), 1.92 (m, 6H, C18, C18'), 1.99-2.04 (s, 12H, C19, C20, C19', C20'), 2.11 (m, 1H, C2), 2.22 (m, 1H, C2), 2.26 (m, 1H, C2'), 3.35 (m, 1H, C2''), 3.38 (m, 1H, C5''),

3.53 (m, 1H, C2''), 3.68 (m, 2H, C3'', C4''), 3.80 (m, 1H, C6''), 3.93 (m, 1H, C6''), 4.36 (m, 2H, C3'), 4.38 (m, 2H, C3), 4.48 (m, 1H, C1''), 6.20-6.73 (m, 14H, C7, C7', C8, C8', C10, C10', C11, C11', C12, C12', C14, C14', C15, C15') ppm.

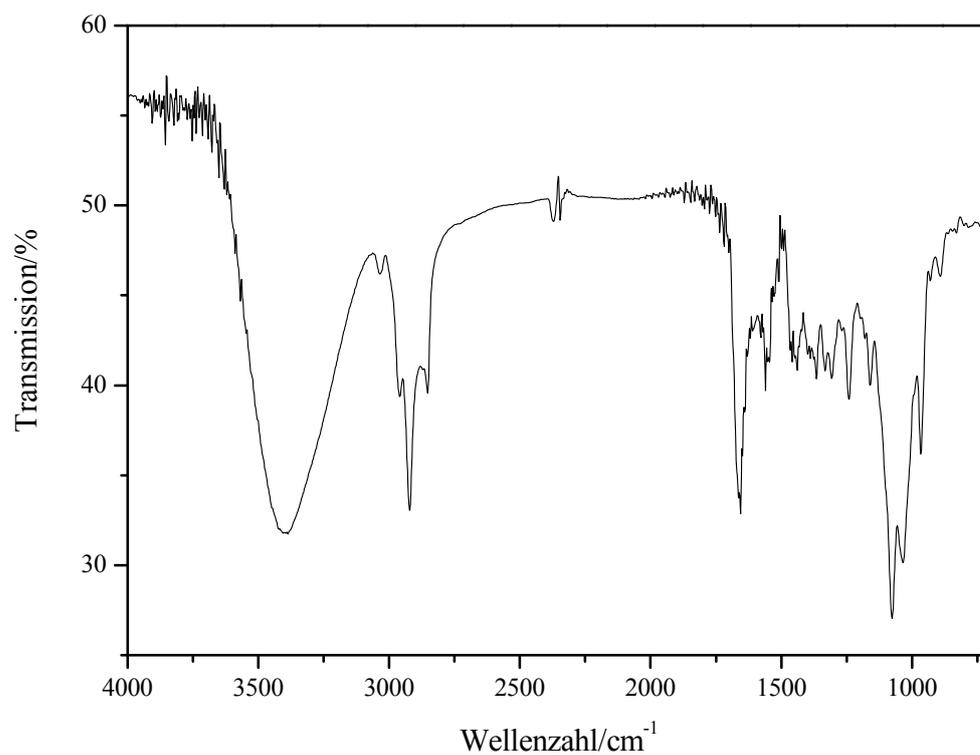
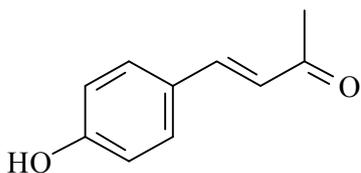


Abb. 83: Infrarotspektrum der Verbindung **110**, (Pressling, KBr).

4.4.23 4'-(4-Hydroxyphenyl)but-3-en-2-on (82)Methode A:

2.50 g (20.5 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) werden in 70 ml (0.95 mol) Aceton (**81**) gelöst. Nach der Zugabe von festem Natriumhydroxid erhitzt man zum Rückfluss. Nach 1 h Reaktionszeit lässt man die Lösung auf Raumtemperatur abkühlen. Man vervollständigt die Kristallisation über Nacht, in der Kälte, danach wird das Produkt abfiltriert. Das Butenon **82** wird nach Kristallisation aus Methanol am Büchner-Trichter abfiltriert und im Vakuum bei 60 °C und 15 mbar getrocknet.

V23

Ausbeute: 2.0 g, (12 mmol) **82**, 60 %.

Methode B:

1.0 g (8.2 mmol) 4-Hydroxybenzaldehyd (**80**) und 3.0 g (9.4 mmol) Acetyliden-triphenylphosphoran (**83**)¹⁾ werden in 100 ml Benzol gelöst. Die Lösung wird zum Rückfluss erhitzt. Wenn durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel 60 [Laufmittel: Hexan/Essigester (3:1)] keine Veränderung des Edukt/Produktverhältnisses mehr zu erkennen ist wird die Reaktion beendet. Nach dem Abkühlen der Lösung wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird an Kieselgel 60 säulenchromatographisch gereinigt. [Säule B, Laufmittel: Hexan/Essigester (2:1)] Abschließend erfolgt die Trocknung des Produktes **82**, im Vakuum bei 60 °C und 15 mbar.

C₁₀H₁₀O₂ (M = 162.19 g/mol)

Ausbeute: 0.8 g (5 mmol) **82**, 72 %

Lit.^[158]: 60 %

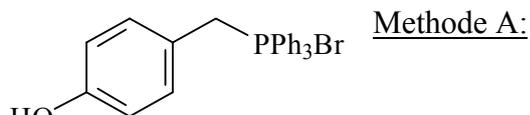
Schmelzpunkt: 110 °C

Lit.^[158]: 112-113 °C (aus Benzol)

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[136] überein.

¹⁾ Acetylidentriphenylphosphoran wurde dankenswerterweise von Korger zur Verfügung gestellt.

4.4.24 (4-Hydroxyphenyl)methylphosphonium-bromid (**85**)



V24

3.0 g (24 mmol) 4-Hydroxybenzylalkohol (**84**) werden in 30 ml Dichlormethan gelöst. 6.9 g (26 mmol) Triphenylphosphin und 9.0 g (27 mmol) Tetrabromkohlenstoff, in 20 ml Dichlormethan gelöst zugetropft. Man rührt die Lösung über Nacht. Nach der Zugabe von 8.2 g (31 mmol) Triphenylphosphin rührt man weitere 3 h bei Raumtemperatur. Im Anschluss engt man das Volumen der Lösung am Rotationsverdampfer auf die Hälfte ein. Diese konzentrierte Lösung tropft man langsam auf 600 ml Diethylether, aus welchem das Phosphonium-bromid **85** dann kristallisiert. Das Produkt **85** wird am Büchner-Trichter abgesaugt und abschließend im Vakuum getrocknet (40 °C, 15 mbar).

Ausbeute: 8.6 g (19 mmol) **85**, 80%

Methode B:

5.0 g (40 mmol) 4-Hydroxybenzylalkohol (**84**) werden in 30 ml Benzol gelöst. Nach der Zugabe von 15 g (44 mmol) Triphenylphosphonium-hydrobromid erhitzt man die Lösung für 5 h auf 70 °C. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bis zur Trockene entfernt. Der Rückstand wird zur Reinigung aus Aceton/Diethylether (1:1) kristallisiert. Das Produkt **85** wird am Büchner-Trichter vom Lösungsmittel befreit und bei 40 °C, 15 mbar im Vakuum getrocknet.

C₂₅H₂₂BrOP (M = 449.33 g/mol)

Ausbeute: 16 g (36 mmol) **85**, 90 %

Schmelzpunkt: Zersetzung > 180 °C

Die spektroskopischen Daten stimmen mit der Literatur^[118] überein.

Literaturverzeichnis

- [1] P. D. Maitland, D. P. Maitland, *Journal of Biological Education* **2002**, 37, 6.
- [2] *Pure and Applied Chemistry* **1974**, 40, 407.
- [3] O. Isler, in *Carotenoids* (Ed.: O. Isler), Birkhäuser Verlag., Basel, Stuttgart, **1971**, pp. 11.
- [4] K. Meyer, *Chemie Unserer Zeit* **2002**, 36, 178.
- [5] G. Britton, *Physiologie Vegetale* **1982**, 20, 735.
- [6] G. Britton, in *Carotenoids, Vol. 3: Biosynthesis and Metabolism* (Eds.: G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander), Birkhäuser, Basel, **1996**, pp. 13.
- [7] R. Willstätter, W. Mieg, *Liebig's Ann. Chem* **1907**, 355, 1.
- [8] H. Wackenroder, *Mag. Pharm.* **1831**, 33, 144.
- [9] P. Karrer, C. H. Eugster, *Helvetica Chimica Acta* **1950**, 33, 1952.
- [10] in *Carotenoids Handbook* (Eds.: G. Britton, S. Liaaen-Jensen, H. Pfander), Birkhäuser, Basel, **2004**.
- [11] F. X. Cunningham, E. Gantt, *Plant Journal* **2005**, 41, 478.
- [12] I. Higuera-Ciapara, L. Felix-Valenzuela, F. M. Goycoolea, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **2006**, 46, 185.
- [13] H. Yokoyama, M. J. White, *Journal of Organic Chemistry* **1965**, 30, 2481.
- [14] Y. Nys, *Archiv Fur Geflugelkunde* **2000**, 64, 45.
- [15] A. B. Fulton, J. Dodge, R. M. Hansen, T. P. Williams, *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **1999**, 40, 1878.
- [16] H. G. O. Becker, *Vol. 3*, Deutscher Verlag der Wissenschaften, Berlin, **1991**, pp. 410.
- [17] C. P. Hsu, P. J. Walla, M. Head-Gordon, G. R. Fleming, *Journal of Physical Chemistry B* **2001**, 105, 11016.
- [18] A. Yokoyama, K. Adachi, Y. Shizuri, *Journal of Natural Products* **1995**, 58, 1929.
- [19] G. Richter, *Stoffwechselfysiologie der Pflanzen*, 6. Auflage ed., Thieme Verlag, **1997**.
- [20] S. Takaichi, T. Maoka, K. Masamoto, *Plant and Cell Physiology* **2001**, 42, 756.
- [21] A. Haberli, C. Bircher, H. Pfander, *Helvetica Chimica Acta* **2000**, 83, 328.
- [22] G. A. Pitt, in *Carotenoids* (Ed.: O. Isler), Birkhäuser Verlag., Basel, Stuttgart, **1971**, pp. 717.
- [23] R. D. Semba, G. Dagnelie, *Medical Hypotheses* **2003**, 61, 465.
- [24] N. I. Krinsky, J. T. Landrum, R. A. Bone, *Annual Review of Nutrition* **2003**, 23, 171.
- [25] R. A. Bone, J. T. Landrum, L. H. Guerra, C. A. Ruiz, *Journal of Nutrition* **2003**, 133, 992.
- [26] J. T. Landrum, R. A. Bone, *Agro Food Industry Hi-Tech* **2004**, 15, 22.
- [27] N. I. Krinsky, *Journal of Nutrition* **2002**, 132, 540S.
- [28] C. Franzke, *Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie.*, 3. ed., B. Behrs Verlag Hamburg, **1996**.
- [29] N. I. Krinsky, in *Carotenoids* (Ed.: O. Isler), Birkhäuser, Basel, **1971**, pp. 679.
- [30] B. Roschek, K. A. Tallman, C. L. Rector, J. G. Gillmore, D. A. Pratt, C. Punta, N. A. Porter, *Journal of Organic Chemistry* **2006**, 71, 3527.
- [31] P. Palozza, N. I. Krinsky, *Methods in Enzymology* **1992**, 213, 403.
- [32] P. Lechtken, *Chemie in unserer Zeit* **1974**, 8, 11.
- [33] J. Lehmann, *Kohlenhydrate*, *Chemie und Biologie*, **1996**.
- [34] Römpf, *Vol. 2*, 9. neubearbeitete und erweiterte Auflage ed. (Eds.: J. Falbe, M. Regitz), Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, **1985**, p. 1620.
- [35] H. J. Schatzmann, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* **1969**, 263, 12.

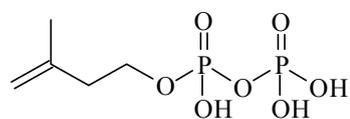
-
- [36] E. R. Tor, M. S. Filigenzi, B. Puschner, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **2005**, *53*, 4322.
- [37] T. Achim, *Biologie in unserer Zeit* **1972**, *2*, 101.
- [38] J. Kurreck, D. Niethammer, H. Kurreck, *Chemie in Unserer Zeit* **1999**, *33*, 72.
- [39] E. Breitmeier, G. Jung, *Organische Chemie II*, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, **1995**.
- [40] I. H. Stevenson, G. J. Dutton, *Biochemical Journal* **1962**, *82*, 330.
- [41] H. Zuber, *Chemie Unserer Zeit* **1979**, *13*, 165.
- [42] A. Yokoyama, Y. Shizuri, T. Hoshino, G. Sandmann, *Archives of Microbiology* **1996**, *165*, 342.
- [43] A. Yokoyama, G. Sandmann, T. Hoshino, K. Adachi, M. Sakai, Y. Shizuri, *Tetrahedron Letters* **1995**, *36*, 4901.
- [44] M. Hara, H. Q. Yuan, Q. Yang, T. Hoshino, A. Yokoyama, J. Miyake, *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* **1999**, *1461*, 147.
- [45] H. Pfander, M. Hodler, *Helvetica Chimica Acta* **1974**, *57*, 1641.
- [46] H. Pfander, F. Wittwer, *Helvetica Chimica Acta* **1979**, *62*, 1944.
- [47] G. Zemplén, A. Gerecs, I. Hadácsy, *Chem. Ber.* **1936**, *69*, 1827.
- [48] H. Mayer, J. M. Santer, *Helvetica Chimica Acta* **1980**, *63*, 1463.
- [49] Y. Yamano, Y. Sakai, S. Yamashita, M. Ito, *Heterocycles* **2000**, *52*, 141.
- [50] E. Fischer, *Chem. Ber.* **1901**, *44*, 673.
- [51] A. Nandi, P. Chattopadhyay, *Tetrahedron Letters* **2002**, *43*, 5977.
- [52] F. Theil, H. Schick, *Synthesis* **1991**, *7*, 533.
- [53] G. Wulff, G. Rohle, *Chemische Berichte-Recueil* **1972**, *105*, 1122.
- [54] R. R. Schmidt, J. Michel, *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1980**, *19*, 731.
- [55] G. Wittig, U. Schollkopf, *Chemische Berichte-Recueil* **1954**, *87*, 1318.
- [56] G. Wittig, W. Haag, *Chemische Berichte-Recueil* **1955**, *88*, 1654.
- [57] W. Wadsworth, W. D. Emmons, *Journal of the American Chemical Society* **1961**, *83*, 1733.
- [58] Wadsworth.Dh, O. E. Schupp, E. J. Seus, J. A. Ford, *Journal of Organic Chemistry* **1965**, *30*, 680.
- [59] J. E. McMurry, T. Lectka, J. G. Rico, *Journal of Organic Chemistry* **1989**, *54*, 3748.
- [60] J. E. McMurry, M. P. Fleming, *Journal of the American Chemical Society* **1974**, *96*, 4708.
- [61] D. A. Shirley, *Organic Reactions* **1954**, *8*, 28.
- [62] J. K. Stille, *Angewandte Chemie-International Edition in English* **1986**, *25*, 508.
- [63] P. Espinet, A. M. Echavarren, *Angewandte Chemie-International Edition* **2004**, *43*, 4704.
- [64] B. Vaz, R. Alvarez, R. Bruckner, A. R. de Lera, *Organic Letters* **2005**, *7*, 545.
- [65] T. Olpp, R. Bruckner, *Angewandte Chemie-International Edition* **2005**, *44*, 1553.
- [66] T. Olpp, R. Bruckner, *Angewandte Chemie-International Edition* **2006**, *45*, 4023.
- [67] S. Braukmüller, R. Brückner, *European Journal of Organic Chemistry* **2006**, 2110.
- [68] T. Kapferer, R. Bruckner, A. Herzig, W. A. König, *Chemistry-a European Journal* **2005**, *11*, 2154.
- [69] R. Bellingham, K. Jarowicki, P. Kocienski, V. Martin, *Synthesis-Stuttgart* **1996**, 285.
- [70] M. Julia, J. M. Paris, *Tetrahedron Letters* **1973**, 4833.
- [71] E. Fischer, E. F. Armstrong, *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 2885.
- [72] G. J. F. Chittenden, *Carbohydrate Research* **1988**, *183*, 140.
- [73] P. Krubasik, S. Takaichi, T. Maoka, M. Kobayashi, K. Masamoto, G. Sandmann, *Archives of Microbiology* **2001**, *176*, 217.
- [74] V. A. Vasin, V. V. Razin, *Synlett* **2001**, 658.
- [75] G. Zemplén, A. Kunz, *Chem. Ber.* **1923**, *56*, 1705.

-
- [76] A. J. Lin, L.-q. Li, S. L. Andersen, D. L. Klayman, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1639.
- [77] T. Itoh, H. Takamura, K. Watanabe, Y. Araki, Y. Ishido, *Carbohydrate Research* **1986**, *156*, 241.
- [78] F. Cramer, K. Pawelzik, H. J. Baldauf, *Chemische Berichte-Recueil* **1958**, *91*, 1049.
- [79] I. A. Ivanova, A. J. Ross, M. A. J. Ferguson, A. V. Nikolaev, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **1999**, 1743.
- [80] S. Matsubara, *Bulletin of the Chemical Society of Japan* **1961**, *34*, 718.
- [81] Excoffie.G, M. Vignon, J. P. Utille, D. Gagnaire, *Tetrahedron Letters* **1972**, 5065.
- [82] Z. H. Jiang, X. B. Han, R. R. Schmidt, *Liebigs Annalen Der Chemie* **1993**, 1179.
- [83] X. B. Han, Z. H. Jiang, R. R. Schmidt, *Liebigs Annalen Der Chemie* **1993**, 853.
- [84] M. Mikamo, *Carbohydrate Research* **1989**, *191*, 150.
- [85] A. G. Barrientos, J. M. de la Fuente, T. C. Rojas, A. Fernandez, S. Penades, *Chemistry-a European Journal* **2003**, *9*, 1909.
- [86] P. Karrer, *Helvetica Chimica Acta* **1923**, *6*, 402.
- [87] H. B. Bürgi, J. D. Dunitz, *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 153.
- [88] H. J. Bestmann, O. Kratzer, *Chemische Berichte-Recueil* **1963**, *96*, 1899.
- [89] Z. He, G. Gao, E. S. Hand, L. D. Kispert, A. Strand, S. Liaaen-Jensen, *Journal of Physical Chemistry A* **2002**, *106*, 2520.
- [90] F. Kienzle, H. Mayer, *Helvetica Chimica Acta* **1978**, *61*, 2609.
- [91] E. Widmer, R. Zell, T. Lukac, M. Casadei, P. Schonholzer, E. A. Broger, *Helvetica Chimica Acta* **1981**, *64*, 2405.
- [92] J. Buddrus, *Chemische Berichte-Recueil* **1974**, *107*, 2050.
- [93] P. Karrer, E. Krausevoith, *Helvetica Chimica Acta* **1948**, *31*, 802.
- [94] J. C. Sadana, *Biochemical Journal* **1949**, *44*, 401.
- [95] R. Entschel, P. Karrer, *Helvetica Chimica Acta* **1958**, *41*, 983.
- [96] O. Isler, H. Lindlar, M. Montavon, R. Ruegg, G. Saucy, P. Zeller, *Helvetica Chimica Acta* **1957**, *40*, 456.
- [97] J. Benade, Dissertation thesis, Heinrich Heine Universität (Düsseldorf), **2001**.
- [98] K. Bernhard, G. Englert, H. Mayer, R. K. Muller, A. Ruttimann, M. Vecchi, E. Widmer, R. Zell, *Helvetica Chimica Acta* **1981**, *64*, 2469.
- [99] R. Ruegg, H. Lindlar, M. Montavon, G. Saucy, S. F. Schaeren, U. Schwieter, O. Isler, *Helvetica Chimica Acta* **1959**, *42*, 847.
- [100] Schwiete.U, H. R. Bolliger, Chopardd.Lh, G. Englert, M. Kofler, A. König, C. Vonplanta, R. Ruegg, W. Vetter, O. Isler, *Chimia* **1965**, *19*, 294.
- [101] H. Wagner, M. Gilbert, R. Goss, C. Wilhelm, *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* **2006**, *83*, 172.
- [102] A. Dreuw, *Journal of Physical Chemistry A* **2006**, *110*, 4592.
- [103] R. Goss, B. Lepetit, C. Wilhelm, *Journal of Plant Physiology* **2006**, *163*, 585.
- [104] K. Büch, H. Stransky, A. Hager, *Febs Letters* **1995**, 376, 45.
- [105] A. Ruttimann, H. Mayer, *Helvetica Chimica Acta* **1980**, *63*, 1456.
- [106] A. Hager, H. Stransky, *Archives of Microbiology* **1970**, *72*, 68.
- [107] K. Bernhard, F. Kienzle, H. Mayer, R. K. Muller, *Helvetica Chimica Acta* **1980**, *63*, 1473.
- [108] J. E. Johansen, W. A. Svec, Liaaenje.S, F. T. Haxo, *Phytochemistry* **1974**, *13*, 2261.
- [109] E. S. Hand, K. A. Belmore, L. D. Kispert, *Helvetica Chimica Acta* **1993**, *76*, 1928.
- [110] M. Momenteau, B. Loock, P. Seta, E. Bienvenue, B. Depenoux, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 4893.
- [111] M. Shoemaker, B. Hamilton, S. H. Dairkee, I. Cohen, M. J. Campbell, *Phytotherapy Research* **2005**, *19*, 649.
- [112] J. Q. Yu, J. C. Lei, H. D. Yu, X. Cai, G. L. Zou, *Phytochemistry* **2004**, *65*, 881.

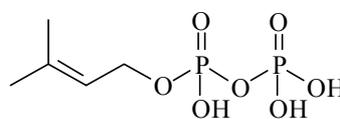
-
- [113] G. L. Kad, V. Singh, A. Khurana, J. Singh, *Journal of Natural Products* **1998**, *61*, 297.
- [114] D. V. S. Jain, R. Chadha, *Indian Journal of Chemistry Section a-Inorganic Bio-Inorganic Physical Theoretical & Analytical Chemistry* **1991**, *30*, 929.
- [115] D. V. S. Jain, R. Chopra, *Indian Journal of Chemistry Section a-Inorganic Bio-Inorganic Physical Theoretical & Analytical Chemistry* **1982**, *21*, 709.
- [116] I. Tömösközi, L. Gruber, L. Radics, *Tetrahedron Letters* **1975**, 2473.
- [117] L. A. Jones, C. E. Sumner, B. Franzus, T. T. S. Huang, E. I. Snyder, *Journal of Organic Chemistry* **1978**, *43*, 2821.
- [118] A. Hercouet, M. Lecorre, *Synthesis-Stuttgart* **1988**, 157.
- [119] H. Pfander, A. Lachenmeier, M. Hadorn, *Helvetica Chimica Acta* **1980**, *63*, 1377.
- [120] S. Kock, *Dissertation in Vorbereitung* **2006**.
- [121] B. Helferich, K. H. Jung, *Annalen Der Chemie-Justus Liebig* **1954**, *589*, 77.
- [122] M. Lahmann, J. Thiem, *Carbohydrate Research* **1997**, *299*, 23.
- [123] T. Murui, K. Wanaka, *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **1993**, *57*, 614.
- [124] J. W. Weaver, C. A. Mackenzie, D. A. Shirley, *Industrial and Engineering Chemistry* **1954**, *46*, 1490.
- [125] H. D.-K. Hans Vogel, *Helvetica Chimica Acta* **1928**, *11*, 910.
- [126] G. Englert, K. Noack, E. A. Broger, E. Glinz, M. Vecchi, R. Zell, *Helvetica Chimica Acta* **1991**, *74*, 969.
- [127] Carter, *Chem. Ber.* **1930**, *63*, 586.
- [128] K. Bock, K. Adelhorst, *Acta Chemica Scandinavica* **1992**, *46*, 186.
- [129] A. C. West, C. Schuerch, *Journal of the American Chemical Society* **1973**, *95*, 1333.
- [130] V. Balogh, M. Fetizon, M. Golfier, *Angewandte Chemie-International Edition* **1969**, *8*, 444.
- [131] H. D. Martin, C. Ruck, M. Schmidt, S. Sell, S. Beutner, B. Mayer, R. Walsh, *Pure and Applied Chemistry* **1999**, *71*, 2253.
- [132] Y. Yamano, Y. Sakai, M. Hara, M. Ito, *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 1* **2002**, 2006.
- [133] H. Pfander, in *persönliche Mitteilung*.
- [134] M. Buchwald, W. P. Jencks, *Biochemistry* **1968**, *7*, 834.
- [135] A. V. Ruban, P. Horton, A. J. Young, *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology* **1993**, *21*, 229.
- [136] M. Korgner, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **2005**.
- [137] Y. Deng, G. Q. Gao, Z. F. He, L. D. Kispert, *Journal of Physical Chemistry B* **2000**, *104*, 5651.
- [138] J. A. Jeevarajan, L. D. Kispert, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **1996**, *411*, 57.
- [139] O. Gräf, Heinrich-Heine-Universität (Düsseldorf), **1994**.
- [140] D. Z. Liu, Y. L. Gao, L. D. Kispert, *Journal of Electroanalytical Chemistry* **2000**, 488, 140.
- [141] M. Liebau, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg (Halle (Saale)), **1998**.
- [142] R. Scherrers, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Düsseldorf), **2006**.
- [143] N. V. Shabrukova, L. M. Shestakova, D. R. Zainetdinova, V. S. Gamayurova, *Butlerov Communications* **2001**, *1*, 57.
- [144] T. Seliwanoff, *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft* **1887**, *20*, 181.
- [145] M. L. Wolfrom, W. Groebke, *Journal of Organic Chemistry* **1963**, *28*, 2986.
- [146] A. Hasegawa, H. G. Fletcher, *Carbohydrate Research* **1973**, *29*, 209.
- [147] F. Micheel, H. Ruhkopf, F. Suckfüll, *Chem. Ber.* **1935**, *68*, 1523.
- [148] B. Capon, P. M. Collins, A. A. Levy, W. G. Overend, *Journal of the Chemical Society* **1964**, 3242.
- [149] R. R. Schmidt, J. Michel, M. Roos, *Liebigs Annalen Der Chemie* **1984**, 1343.

-
- [150] R. N. Desai, L. F. Blackwell, *Synlett* **2003**, 13, 1981.
- [151] W. Koenigs, E. Knorr, *Chem. Ber.* **1901**, 34, 957.
- [152] N. K. Kochetkov, E. M. Klimov, N. N. Malysheva, *Tetrahedron Letters* **1989**, 30, 5459.
- [153] R. M. Rowell, M. S. Feather, *Carbohydrate Research* **1967**, 4, 486.
- [154] I. M. E. Thiel, Deferrar.Jo, R. A. Cadenas, *Journal of Organic Chemistry* **1966**, 31, 3704.
- [155] I. Honda, M. Shibagaki, K. Koseki, H. Kuno, K. Takahashi, H. Matsushita, *Heterocycles* **1993**, 36, 149.
- [156] B. J. Foss, H. R. Sliwka, V. Partali, S. N. Naess, A. Elgsaeter, T. B. Melo, K. R. Naqvi, S. O'Malley, S. F. Lockwood, *Chemistry and Physics of Lipids* **2005**, 135, 157.
- [157] G. Englert, F. Kienzle, K. Noack, *Helvetica Chimica Acta* **1977**, 60, 1209.
- [158] M. Jacobson, I. Keiser, E. J. Harris, D. H. Miyashita, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **1976**, 24, 782.

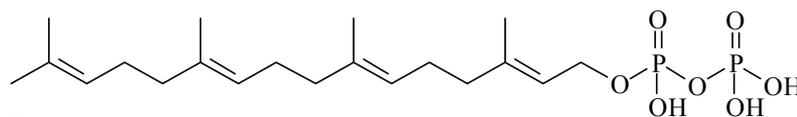
Anhang



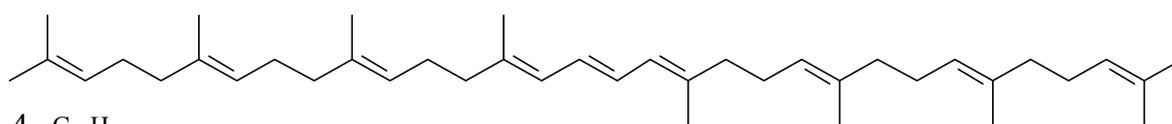
1 $C_5H_{12}O_7P_2$
246.09



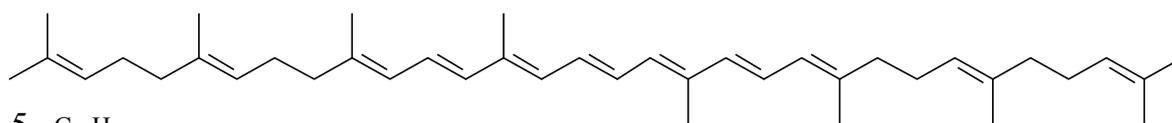
2 $C_5H_{12}O_7P_2$
246.09



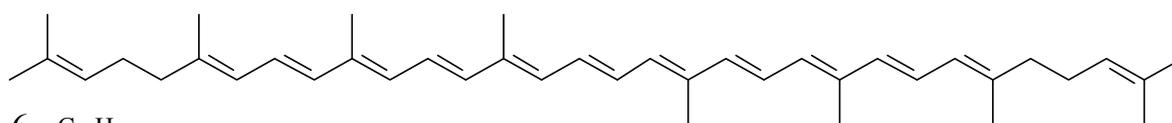
3 $C_{20}H_{36}O_7P_2$
450.45



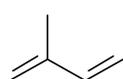
4 $C_{40}H_{64}$
544.95



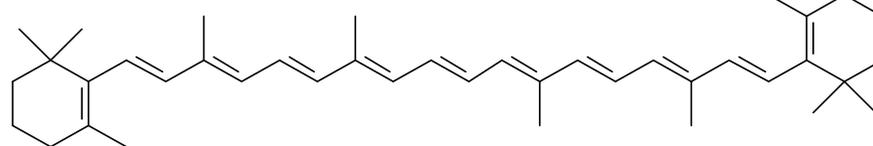
5 $C_{40}H_{60}$
540.92



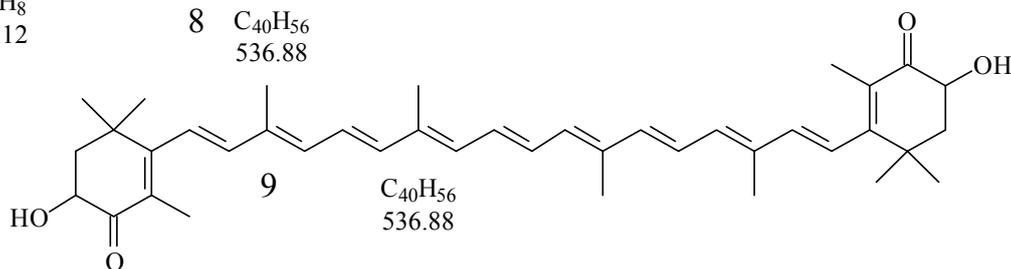
6 $C_{40}H_{56}$
536.88



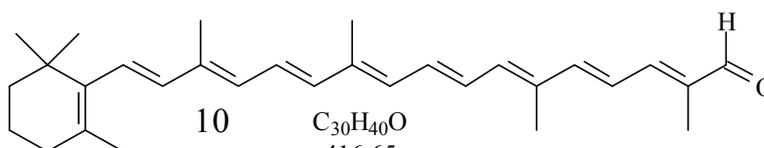
7 C_5H_8
68.12



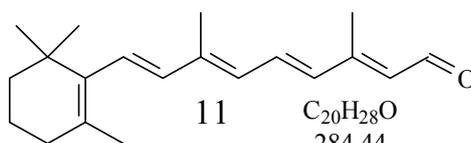
8 $C_{40}H_{56}$
536.88



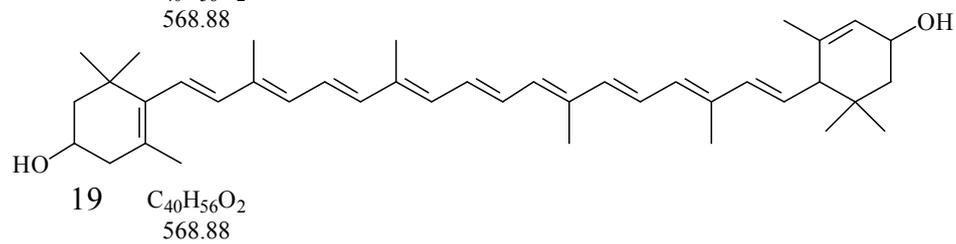
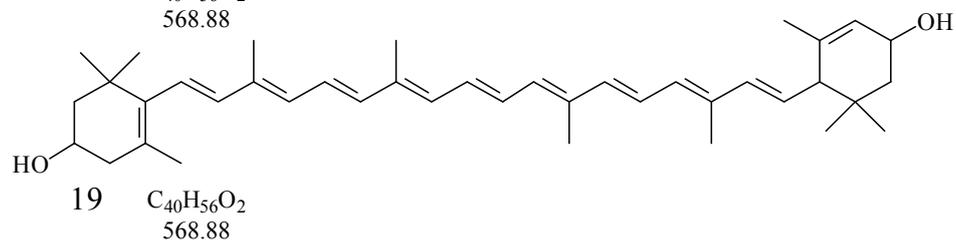
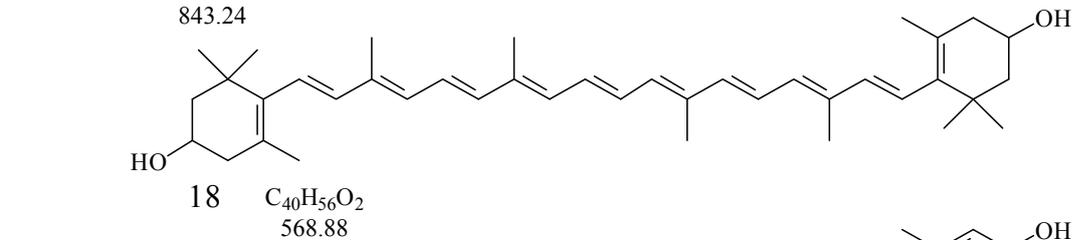
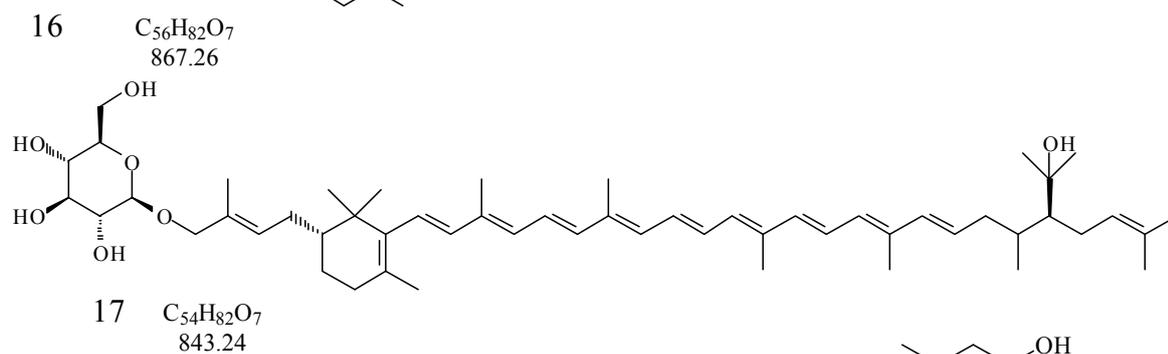
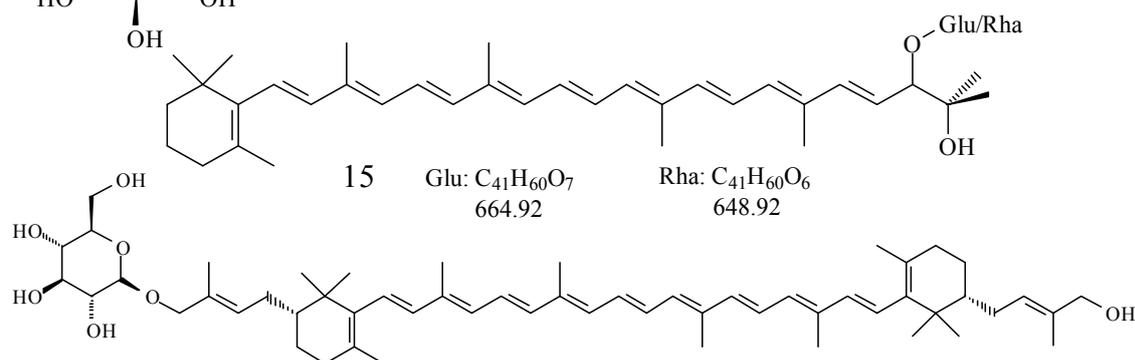
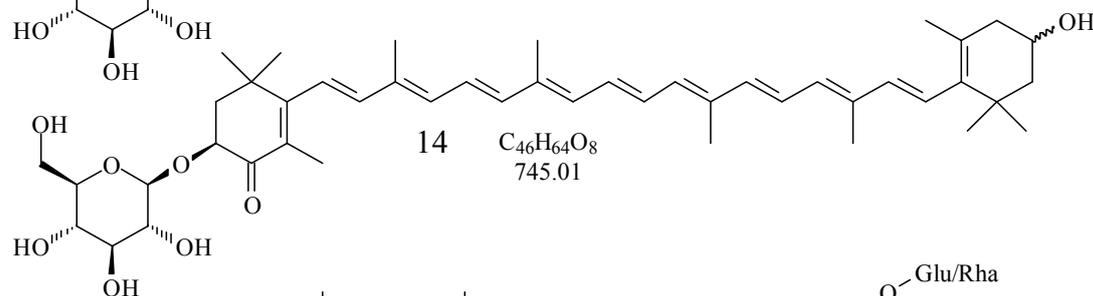
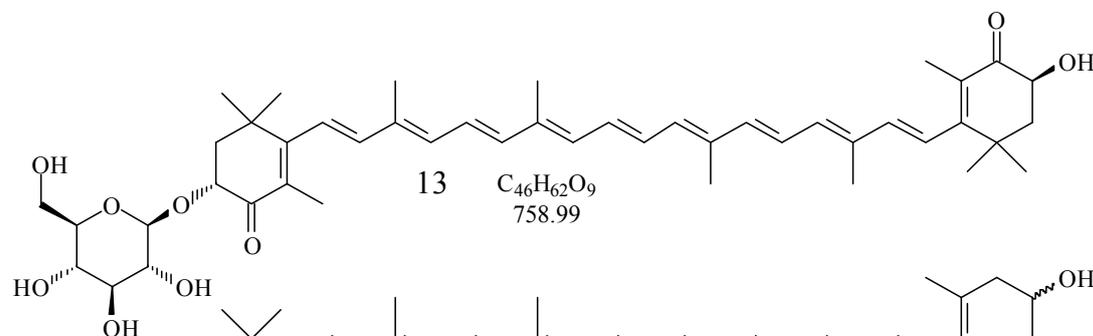
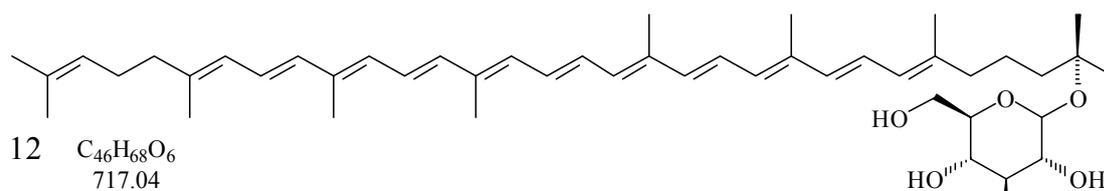
9 $C_{40}H_{56}$
536.88

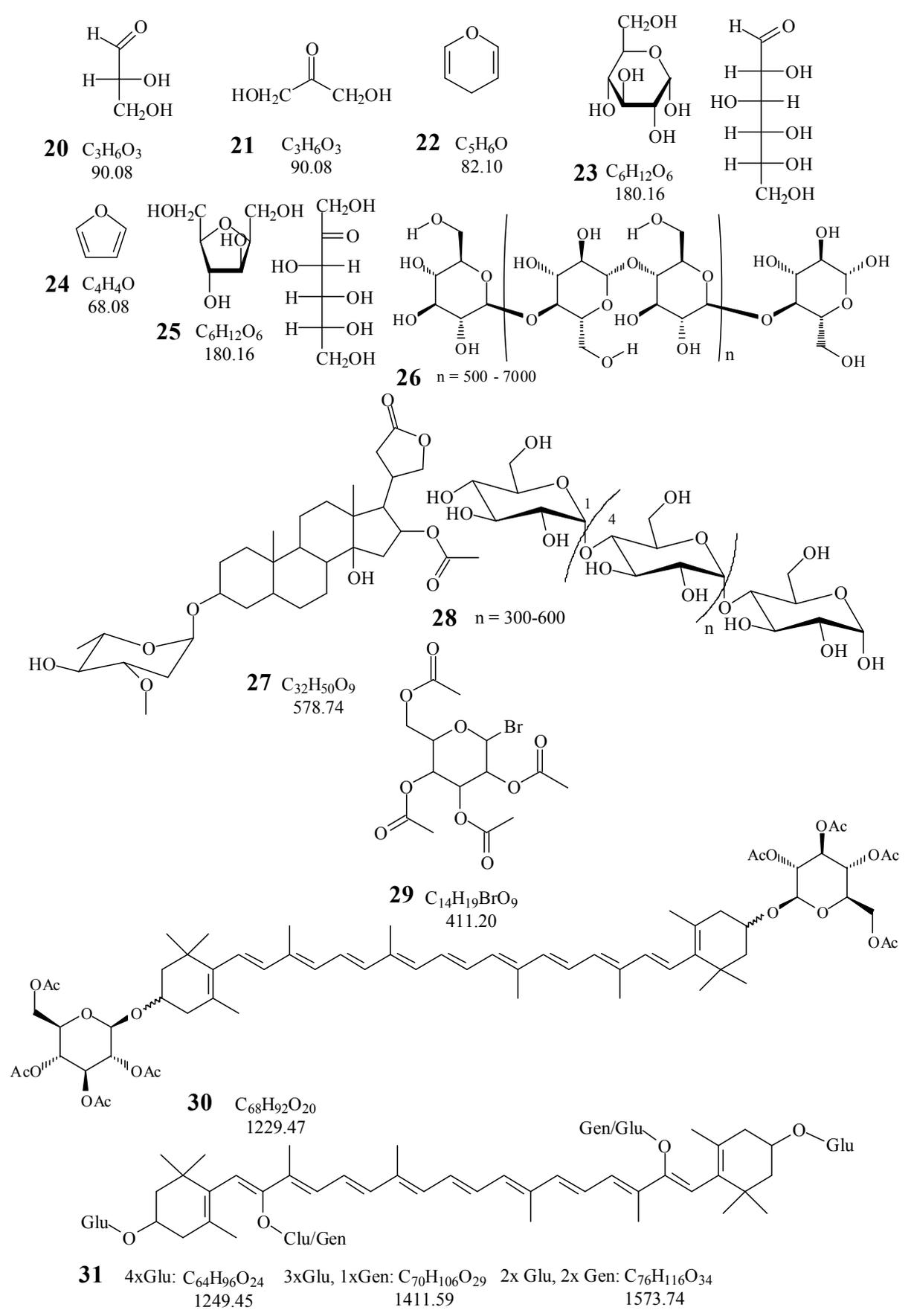


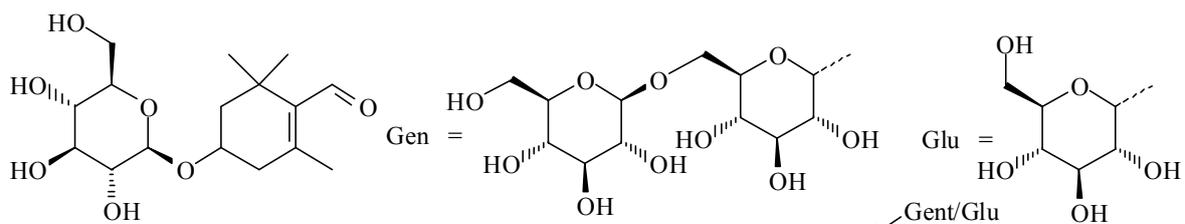
10 $C_{30}H_{40}O$
416.65



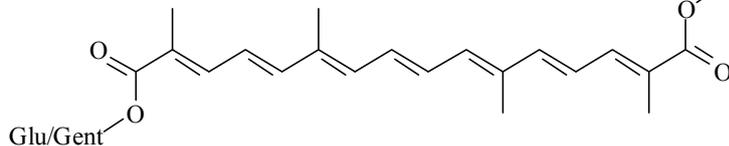
11 $C_{20}H_{28}O$
284.44







32 C₁₆H₂₆O₇
330.38

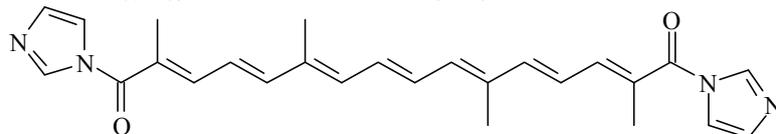


33

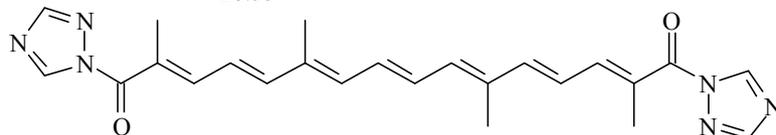
2xGlu: C₃₂H₄₄O₁₄
652.69

Gen/Glu: C₃₈H₅₄O₁₉
814.84

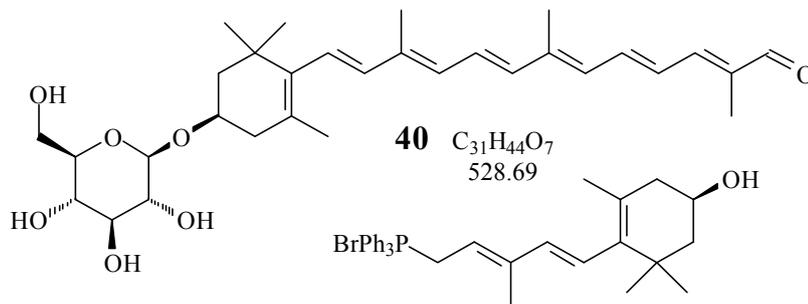
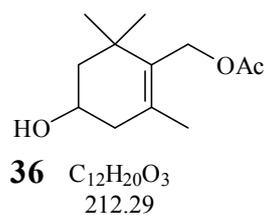
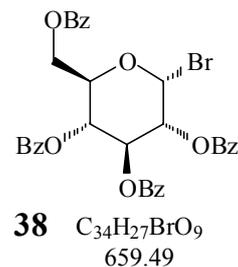
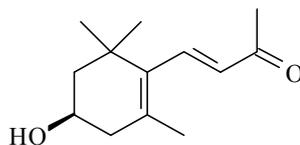
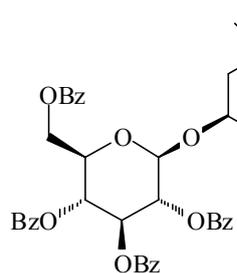
2xGen: C₄₄H₆₄O₂₄
976.98



34 C₂₆H₂₈N₄O₂
428.53



35 C₂₄H₂₆N₆O₂
430.51



41 C₃₃H₃₈BrOP
561.54

