

A karotinoidok geometriai izomériájának kutatása Pécsett az elmúlt 40 évben

MOLNÁR Péter*

Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar; Gyógyszerésztudományi Szak,
Farmakognóziái Tanszék, Rókus u. 2. 7624 Pécs, Magyarország

1. Bevezetés

A Pécsi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Kar Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetének karotinoid-munkacsoportja (a szerző korábbi munkahelye) a világon egyedülállóként immár 90 éve megszakítás nélkül működik. Ez a kutatási folytonosság és az ötödik generációs intézet- és munkacsoport-vezetői tapasztalat (Zechmeister László, Cholnoky László, Szabolcs József, Tóth Gyula, Deli József professzorok) biztosította a megfelelő személyi és infrastruktúrális hátteret az alábbiakban ismertetendő kutatási eredmények megvalósulásához. A csoportot Zechmeister László, a karotinoidok *transz-cisz* (*E/Z*)-izomerizációjának „atyja” alapította meg. Kutatómunkájának eredményeit az 1962-ben megjelent könyvében foglalta össze.¹ Az alábbi közlemény jelentős része Zechmeister professzor tudományos munkájának örökségén alapul. A dolgozat szerzője a karotinoidok (*E/Z*)-izomerizációjával kapcsolatban az utóbbi 40 évben végzett kutatásainak eredményeit foglalja össze.

2. Anyagok és módszerek

A karotinoidokat és a karotinoid-izomerek egy részét természetes forrásból, az ismert izolálási módszerekkel a megfelelő növényekből, növényi részekből izoláltuk tiszta, kristályos állapotban.^{2,3} Számos (*Z*)-izomert a megfelelő *össz-transz* [(*all-E*)]-karotinoidból kiindulva termikus izomerizációval, vagy jóddal katalizált fotoizomerizációval mesterségesen állítottunk elő.^{1,4,5} Az egyes komponenseket klasszikus oszlopkromatográfiával és nagynyomású folyadék-kromatográfiával (HPLC) választottuk szét.^{6,7} Az anyagok szerkezetét spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, FT-IR, ¹H- and ¹³C-NMR, MS, CD) igazoltuk.⁸

3. Eredmények és diszkusszió

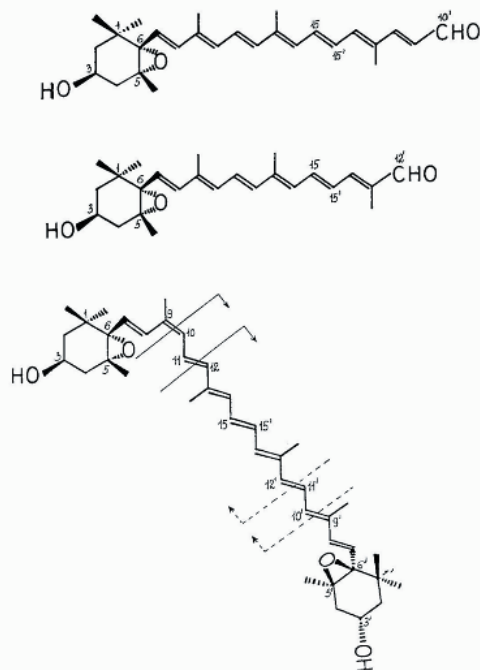
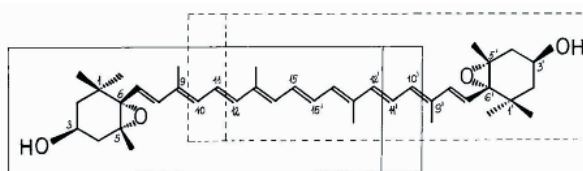
3.1. Sztérikusán nem gátolt geometriai izomerek szerkezetének meghatározása klasszikus kémiai és NMR-spektroszkópiai módszerekkel

Vizsgálatainkat 1971-ben kezdtük el. Az alkalikus kálium-permanganáttal történő oxidatív lebontás Karrer által bevezetett klasszikus módszerét alkalmazva⁹ kidolgoztuk a karotinoid-5,6-epoxidok óvatos, lépcsőzetes lebontását, amelynek során az 5,6-epoxi-végcsoport nem bomlott. A ¹H- és ¹³C-NMR-spektroszkópia korai szakaszában korszerűtlennek tűnt ezen módszer alkalmazása, amelynek az volt az előnye, hogy 4-5 mg anyagból kiindulva is lehetőségünk nyílt a poliénlánc *cisz*-kettőskötése helyének

* Tel.: 36-72-503-650/28825, 28826; fax: 36-72-503-650/28826; e-mail: peter.molnar@aok.pte.hu

meghatározására. Az 1970-es évek elején ugyanis egy jó minőségű NMR-spektrum felvételéhez ~80-100 mg (!) kristályos karotinoidra volt szükség.

A violaxantin oxidatív lebontása két főtermék, az (*all-E*)-apo-10'-violaxantal és 12'-analógja az (*all-E*)-apo-12'-violaxantal képződéséhez vezetett. A violeoxantin [(9*Z*)-violaxantin] lebontásakor viszont nemcsak *transz* C₂₇- és C₂₅-epoxi-apo-karotinalok képződtek, hanem azok megfelelő mono-*cisz*-párjai is (1. ábra).

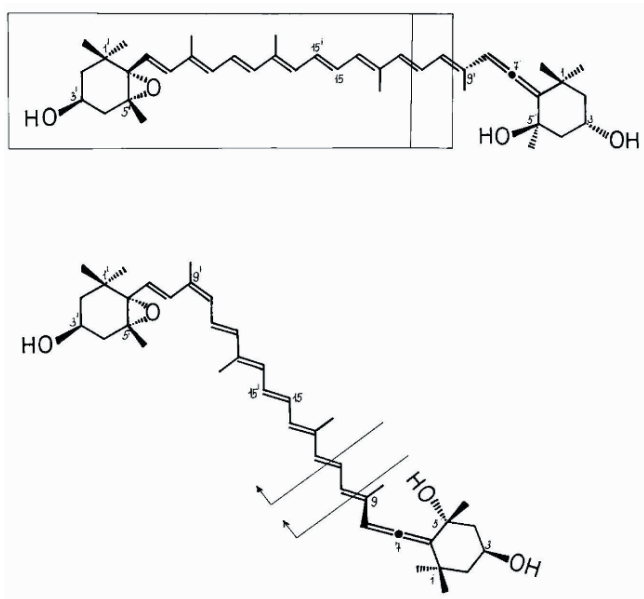


1. Ábra. Az (*all-E*)-violaxantin és a (9*Z*)-violaxantin (violeoxantin) oxidatív hasadása.

A neoxantin X [(*all-E*)-neoxantin] lebontásakor kizárólag *össz-transz* C₂₇- és C₂₅-epoxi-apo-aldehidek képződtek, igazolva ezen karotinoid poliénláncának *össz-transz* térszerkezetét. Ugyanakkor a neoxantin [(9'*Z*)-neoxantin =

foliaxantin] lebontása kizárólag *cisz* C₂₇- and C₂₅-epoxi-apo-aldehideket eredményezett (2. ábra).

A lebontási termékek száma és térszerkezete egyértelműen meghatározza a *cisz*-kettőskötés helyzetét. Megállapítható tehát, hogy a violeoxantin és neoxantin molekulájában a poliénlánc 9-mono-*cisz*-, a violaxantin és a neoxantin X molekulájában viszont *össz-transz* térszerkezetű.¹⁰⁻¹⁵ 1971-től 1990-ig mintegy 40 sztérikusan nem gátolt mono- és di-*cisz* karotinoid poliénláncának geometriai konfigurációját határoztuk meg klasszikus kémiai, valamint ¹H- és ¹³C-NMR-spektroszkópiai módszerekkel (1. táblázat).¹⁶



2. Ábra. Az (all-*E*)-neoxantin (neoxantin X) és a (9'*Z*)-neoxantin (neoxantin) oxidatív hasadása.

1. Táblázat. Sztérikusan nem gátolt geometriai izomerek szerkezet-meghatározása (1971-1990).

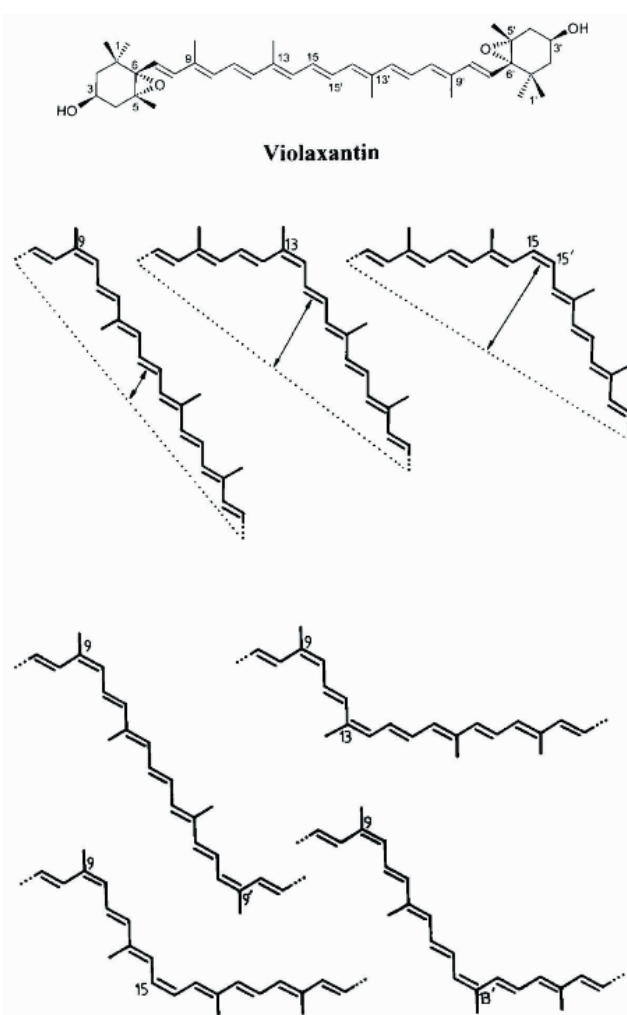
(all- <i>E</i>)-karotinoidok	(Z)-izomerek száma*	
	mono-(Z)	di-(Z)
Szimmetrikus karotinoidok		
Zeaxantin	2 (3)	
Kapszorubin	2 (3)	
Violaxantin (<i>anti-anti</i>)	3 (3)	4 (6)
Violaxantin (<i>szűn-szűn</i>)	3 (3)	
Aszimmetrikus karotinoidok		
Kapszantin	4 (5)	
Lutein	4 (5)	
Anteraxantin (<i>anti</i>)	4 (5)	
Lutein-5,6-epoxid (<i>anti</i>)	4 (5)	
Violaxantin (<i>szűn-anti</i>)	4 (5)	
Neoxantin (= (9' <i>Z</i>)-neoxantin)	1 (5)	

* Zárójelben az adott vegyület elméletileg lehetséges sztérikusan nem gátolt (Z)-izomerjeinek száma szerepel.

A fenti eredmények közül ki kell emelnünk a természetes violaxantin (szimmetrikus karotinoid) (3. ábra) három mono-*cisz*- és négy di-*cisz*-izomerjének, valamint a természetes anteraxantin (aszimmetrikus karotinoid) (4. ábra) négy mono-*cisz*-izomerjének izolálását, preparálását és szerkezetük igazolását.

A violaxantin izomerjeit sárga árvácska (*Viola tricolor* L.) szirmleveleiből és 'Valencia narancs' héjából tiszta kristályos állapotban izoláltuk, továbbá természetes *össz-transz*-violaxantinból termikus izomerizációval és jóddal katalizált fotoizomerizációval is előállítottuk.¹⁷⁻²⁰

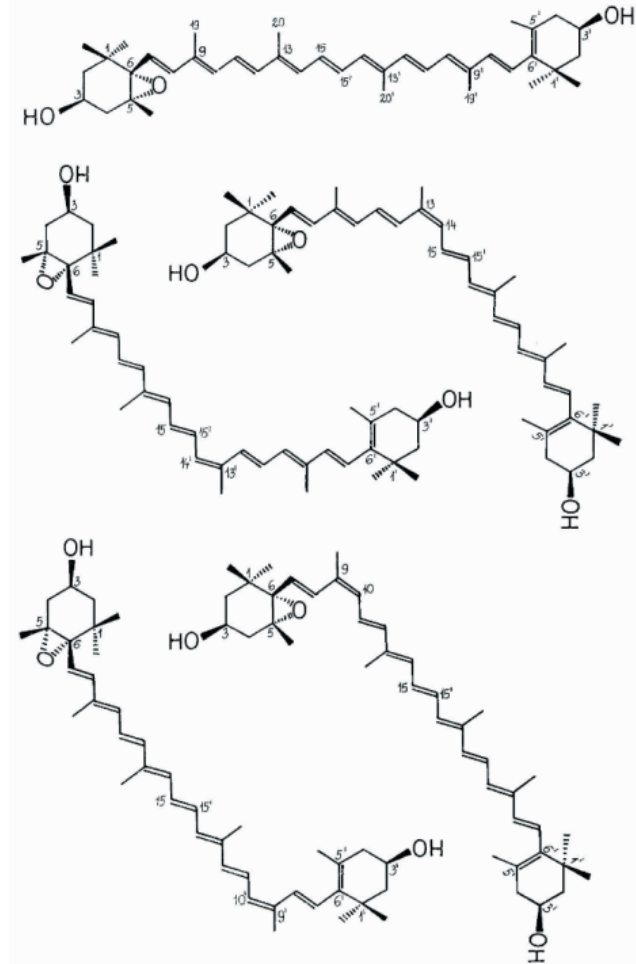
Az anteraxantin mono-*cisz*-izomerjeit – a (9'*Z*)-anteraxantin kivételével – *Lilium candidum* L. porzóiból izoláltuk.²¹ A vegyület négy fő mono-*cisz*-izomerjét az *össz-transz*-anteraxantinból termikus izomerizációval, valamint jóddal katalizált fotoizomerizációval is előállítottuk.^{1,4,5,22}



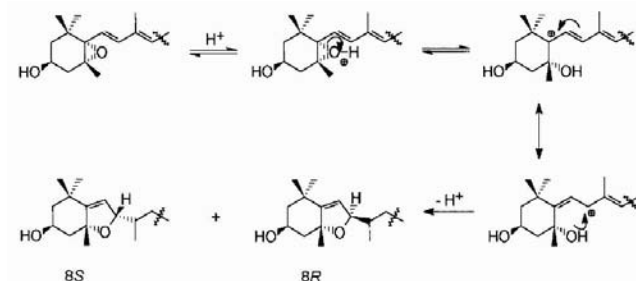
3. Ábra. A természetes (all-*E*)-violaxantin, valamint sztérikusan nem gátolt mono- és (di-*Z*)-izomerjeinek szerkezete.

Rendkívül fontos annak a hangsúlyozása, hogy a szimmetrikus és aszimmetrikus karotinoid-5,6-epoxidok (9*Z*)-izomerjei a természetben nagy mennyiségben fordulnak elő. A sárga árvácska szirmának és a 'Valencia narancs' héjának fő karotinoidja a (9*Z*)-violaxantin (= violeoxantin; ~60%) a *Lilium candidum* L. virágorának fő komponense pedig a (9*Z*)-antheraxanthin.^{21,22} Miután laboratóriumunkban

számos növényi anyagot megvizsgáltunk, megállapítottuk, hogy az aszimmetrikus szerkezetű karotinoid-5,6-epoxidoknak csak a (9Z)-izomerjei fordulnak elő a (13Z)- és (13'Z)-izomerpárral együtt, ugyanakkor a megfelelő (9'Z)-izomerek jeletét nem sikerült detektálnunk. További példa a (9Z)-lutein-5,6-epoxid kizárólagos előfordulása a napraforgó (*Helianthus annuus* L.) szíromleveleiben²³ és más *Helianthus*-fajokban [*H. rigidus* (Cass.) Desf.; *H. tuberosus* L.]^{63,64}



4. **Ábra.** A természetes (all-*E*)-anteraxantin, valamint sztérikusan nem gátolt (mono-*Z*)-izomerjeinek szerkezete.



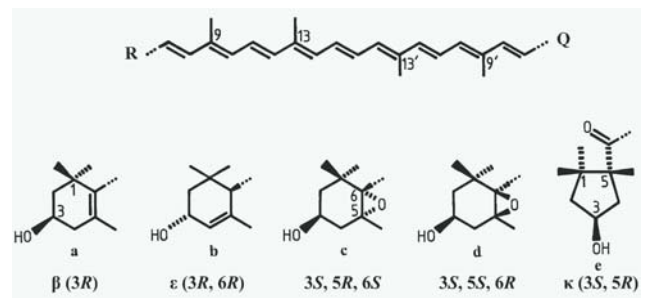
5. **Ábra.** Az 5,6-epoxi → 5,8-epoxi átrendeződés (furanoid-oxid reakció) mechanizmusa.



6. **Ábra.** Az abszcisszinsav (ABA) képződése xantoxalból (xantoxinból; XAN).

Az aszimmetrikus szerkezetű karotinoid-5,6-epoxidok (9Z)- és (9'Z)-izomerjei rendkívül egyszerűen megkülönböztethetők egymástól a jól ismert 5,6-epoxid → 5,8-epoxid átrendeződés (furanoid-oxid reakció) alkalmazásával (5. ábra).²⁴ A (9Z)-karotinoid-5,6-epoxidok furanoid-oxid reakciója során a megfelelő (all-*E*)-5,8-epoxid-epimerek képződnek, de a (9'Z)-karotinoid-5,6-epoxidok furanoid-oxid reakciója a megfelelő (9'Z)-5,8-epoxid-epimerek képződését eredményezi.

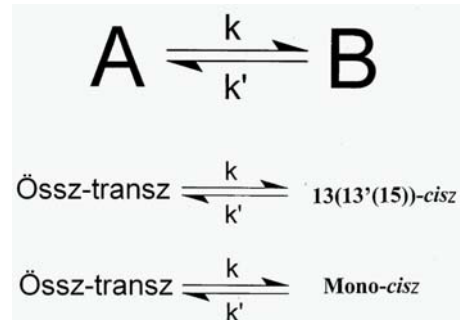
A szimmetrikus és aszimmetrikus karotinoid-5,6-epoxidok (9Z)-izomerjei különösen fontos vegyületek, mert ezen karotinoidoknak az 5,6-epoxi-végcsoport közelében történő oxidatív hasadása xantoxal (xantoxin; XAN) képződéséhez vezet, amelyből a jól ismert növényi hormon, az abszcisszinsav (ABA) jöhet létre (hidrolitikus gyűrűfelnyílás; víz-elimináció; oxidáció) (6. ábra).^{25,26}



7. **Ábra.** Különböző végcsoportokat tartalmazó karotinoidok.

3.2. A transz-cisz (E/Z)-izomerizáció kinetikai vizsgálata

További vizsgálatunk során különböző reakciókinetikai modelleket (Modell I - Modell IV) alkalmazva meghatároztuk néhány szimmetrikus és aszimmetrikus (all-*E*)-, (13Z/13'Z)- és (15Z)-karotinoid termikus izomerizációjának kinetikai, egyensúlyi és termodinamikai paramétereit (k , K , A , E_A , ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger , ΔS^\ddagger) (7. ábra).^{4,10,14,15}



8. **Ábra.** Az I. reakciókinetikai modell a különböző végcsoportokat tartalmazó karotinoidok reverzibilis termikus izomerizációjának vizsgálatára.

A Modell I (8. ábra) alkalmazásakor a képződő, illetve átalakuló (13Z)-, (13'Z)- és (15Z)-izomerek össz-mennyiségét egyetlen mono-*cisz*-izomer mennyiségének tekintettük, az egyensúlyi elegyben jelenlévő (9Z/9'Z)- és (di-*Z*)-izomerek csekély mennyiségétől (~5%) eletekintettünk. Mivel a (13Z)-, (13'Z)- és (15Z)-izomerek *cisz*-csúcának intenzitása nagy, az egyensúlyra vezető elsődrendű reakciót UV/VIS-spektroszkópiával, a *cisz*-csúc intenzitása változásának mérésével követtük nyomon.^{10,14}

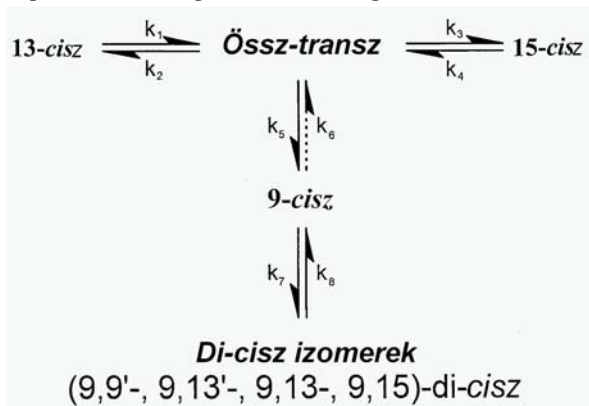
Kiszámítottuk a különböző hőmérsékleteken elvégzett reakciók sebességi állandóit, majd az Arrhenius-egyenlet alapján grafikus módszerrel meghatároztuk a reverzibilis izomerizáció aktiválási energiáját.^{10,14}

A két, egyidejűleg lejátszódó, párhuzamos reverzibilis reakciót tartalmazó Modell II-t (ld. az alábbi rendszer vízszintes reakcióútját) elsősorban szimmetrikus karotinoidok reverzibilis izomerizációjára alkalmaztuk (9. ábra). Aszimmetrikus karotinoidok izomerizációjakor a megfelelő (13'Z)-izomer képződését vizsgáltuk a (15Z)-izomer helyett [a (9Z)- és (di-Z)-izomerek csekély mennyiségétől eltekintettünk]. Az egyensúlyra vezető reakciókat HPLC-vel követtük.

A Modell III-at a még összetettebb, az (all-E)-, (13Z/13'Z)-, (15Z)-, (9Z/9'Z)- és (di-Z)-izomerek jelenlétét egyaránt figyelembe vevő rendszerre alkalmaztuk, de a reakciósebességi állandók kiszámításakor a képződő és átalakuló (9Z/9'Z)- és (di-Z)-izomereket együtt, egyetlen izomernek tekintettük (9. ábra).

A Modell IV-et alkalmazva a termikus izomerizációs egyensúlyi elegyekben jelenlévő (9Z/9'Z)- és (di-Z)-izomereket is külön izomereknek tekintettük (9. ábra).

A tárgyalt reakciókinetikai modelleket (Modell I – Modell IV) alkalmazva, az egyes modellek reakciósebességi állandóinak meghatározására „ZITA” elnevezésű számítógépes programcsomagot használtunk.²⁷ A kinetikai modellek közönséges differenciál-egyenleteinek (ordinary differential equations; ODE) megoldása az úgynevezett GEAR-módszerrel történt.²⁸ A függvényillesztéseket a Marquard-Levenberg-módszerrel végeztük.²⁹



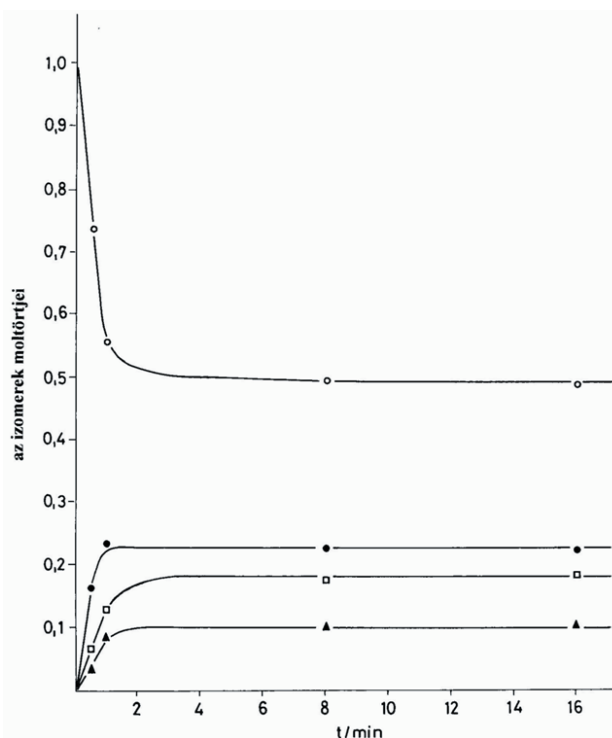
9. Ábra. A II., III., és IV. reakciókinetikai modell a különböző végcsoportokat tartalmazó karotinoidok reverzibilis termikus izomerizációjának vizsgálatára.

Az Arrhenius-paramétereket a reakciósebességi állandókat tartalmazó statisztikai súlyozásra vonatkozó $w_i = 1/k_i^2$ egyenlet felhasználásával, nem-lineáris paraméter-beccsléssel számítottuk ki. Az E_a^\ddagger -, ΔH^\ddagger -, ΔG^\ddagger -, ΔS^\ddagger - és A -értékeket az I – IV Modellek alapján meghatározott reakciósebességi állandókból számítottuk. Az aktiválási paraméterek értékei 100-110 kJ/mol tartományba esnek és nem függnek szignifikánsan a poliénlánchoz kapcsolódó végcsoportok szerkezetétől.^{4,15}

Összehasonlítottuk az (all-E)-, (9Z)- és (13Z)-zeaxantin jóddal katalizált fotoizomerizációjának sebességét (10. – 12. ábra) 2% jódd jelenlétében diffúz laboratóriumi fényben.^{1,5} Az eredményeket összehasonlítva az alábbi következtetéseket vontuk le:

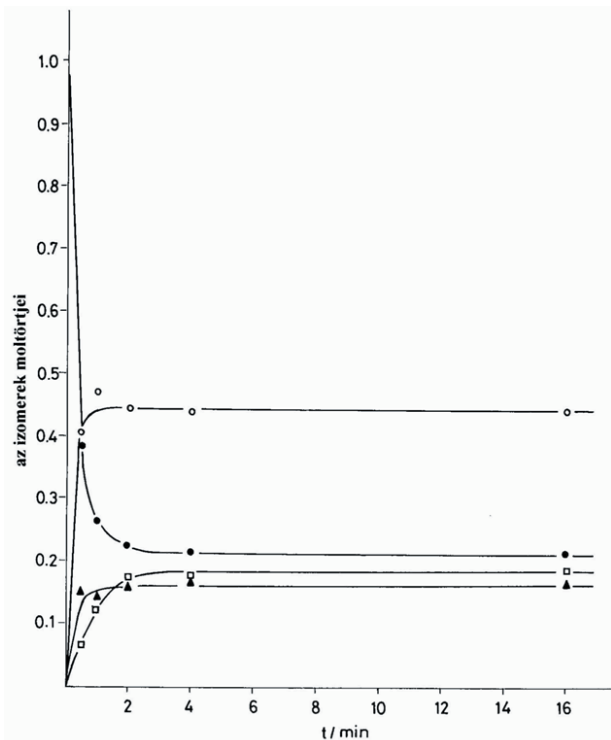
- A vizsgált geometriai izomerek átalakulásának sebessége függ az izomerek geometriai konfigurációjától: (9Z) > [(13(15Z)) ~ (all-E)];
- Bármely geometriai izomer képződésének sebessége függ a kiindulási izomer konfigurációjától;
- Egy adott mono-*cisz*-izomer nagyobb sebességgel képződik az össz-*transz*-izomerekből, mint a megfelelő többi mono-*cisz*-izomerekből.

Vizsgáltuk néhány (13Z)-karotinoid jóddal katalizált fotoizomerizációjának 'fajlagos sebességét' [adott hullámhosszon bevitt egységnyi energiára eső reakciósebesség; $10^4(\tau K)^{-1}$; önkényes egységekben], valamint tanulmányoztuk a 'fajlagos sebesség'-értékeknek a besugárzó fény hullámhosszától való függését (13. ábra).^{5,16} Megállapítható, hogy a 'fajlagos sebességi' görbék legnagyobb hullámhossz-értékeihez tartozó maximumok helye az izomerizált (13Z)-karotinoid legnagyobb hullámhosszú maximuma és a megfelelő töltésátviteli komplex legnagyobb hullámhosszú maximuma közötti tartományba esik.^{5,16,30-34}

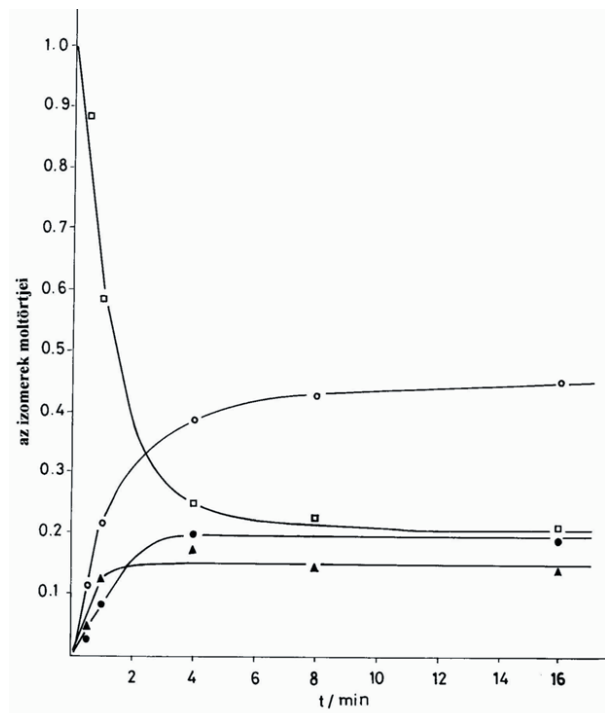


10. Ábra. Az (all-E)-zeaxantin jóddal katalizált fotoizomerizációjára (benzol, 24°C, 2% I₂) diffúz laboratóriumi fényben [○—○ (all-E), ●—● (9Z), □—□ (13(15)Z), ▲—▲ (di-Z)-izomerek keveréke].

Eredményeink megerősítették, hogy a termikus izomerizáció köztermékei karotinoid-gyökök (Car^\bullet),^{35,36} a jóddal katalizált fotoizomerizáció esetében pedig karotinoid-jód charge-transzfer komplexek, valamint karotinoid gyök-kationok ($Car^{+\bullet}$; Car^{2+}).³¹⁻³⁴



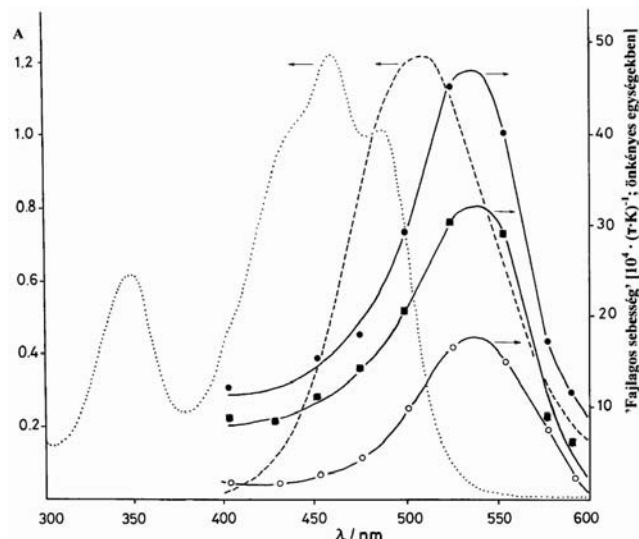
11. Ábra. A (9Z)-zeaxantin jóddal katalizált fotoizomerizációja (benzol, 24°C, 2% I₂) diffúz laboratóriumi fényben [○—○ (all-E), ●—● (9Z), □—□ (13(15)Z), ▲—▲ (di-Z)-izomerek keveréke].



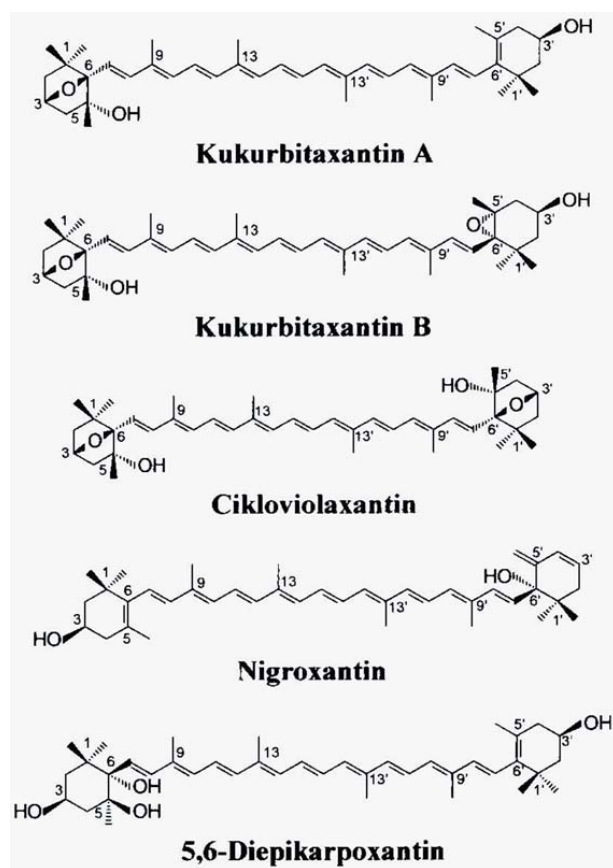
12. Ábra. A (13(15)Z)-zeaxantin jóddal katalizált fotoizomerizációja (benzol, 24°C, 2% I₂) diffúz laboratóriumi fényben [○—○ (all-E), ●—● (9Z), □—□ (13(15)Z), ▲—▲ (di-Z)-izomerek keveréke].

3.3. Új paprika-karotinoidok, szemisztetikus diasztereoizomer violaxantinok, 3'-epilutein, anhidrolutein I [de(z)oxilutein II] és (Z)-izomerjeik izolálása, preparálása, szerkezetigazolás

A paprika-karotinoidok bioszintézis-sémájának hiányzó lánczemeiként új végcsoportokat (3,6-epoxi-β-, 3,5,6-



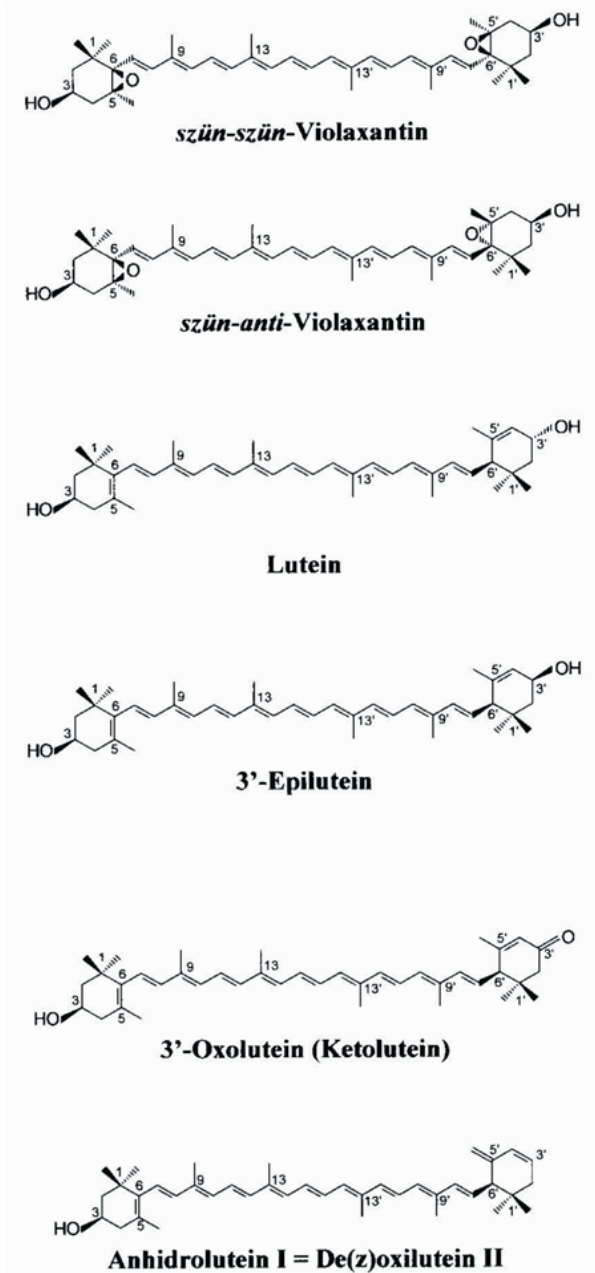
13. Ábra. A (13Z)-zeaxantin jóddal katalizált fotoizomerizációjának 'fajlagos sebessége' [(τK)⁻¹] (benzol, 24°C) a besugárzás hullámhosszának (λ) függvényében [(13Z)-zeaxantin / I₂ molarány = 26.6; ○—○; 13.3 ■—■; 6.65 ●—●]; a (13Z)-zeaxantin (·····) és a jód (- - - -) UV/VIS-spektruma benzolban.



14. Ábra. A kukurbitaxantin A, a kukurbitaxantin B, a cikloviolaxantin, a nigroxantin és az 5,6-diepikarboxantin szerkezete.

trihidroxi-β-, 6-hidroxi-γ; 14. ábra) tartalmazó karotinoidokat izoláltunk piros paprikából az 1980-as évek második felében és az 1990-es években.³⁷⁻⁴³ Az említett új karotinoidok, továbbá a félsztetikus diasztereoizomer (szün-szün és szün-anti) violaxantinok, a 3'-epilutein és az anhidrolutein I [de(z)oxilutein II] (15. ábra) mono- és di-cisz-izomerjeit termikus izomerizációval, valamint jóddal katalizált

fotoizomerizációval állítottuk elő. Az új izomerek szerkezetét spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS; ^1H - and ^{13}C -NMR, CD, MS) igazoltuk.⁴⁴⁻⁴⁸ Az anhidrolutein I [de(z)oxilutein II] (Z)-izomerjeinek elválasztására és azonosítására on-line kapilláris ^1H -NMR- és MS- módszereket alkalmaztunk.⁴⁹



15. Ábra. A szűn-szűn violaxantin, a szűn-anti violaxantin, a lutein, a 3'-epilutein, a 3'-oxolutein (ketolutein) és az anhidrolutein I [de(z)oxilutein II] szerkezete.

3.4. A karotinoidok és a karotinoid-izomerek növénybiokémiai szerepének kutatása

A fenti témakör keretében vizsgáltuk:

- a violaxantin deepoxidáz enzim szubsztrát-specifitását,⁵⁰
- a (13Z)-violaxantin fény által indukált képződését árpa (*Hordeum vulgare* L.) zöld levelében,⁵¹
- a különböző xantofillok kapcsolódását magasabbrendű növények II. fotorendszerének (photosystem II = PS

- II) nagy térkitöltésű fénygyűjtő komplexéhez (light harvesting complex = LHC);⁵²
- a szín biokémiai alapját, mint a narancs (*Citrus sinensis* L. Osbeck) esztétikai minőségének fokmérőjét;
- a (9Z)-epoxi-karotenoid-dioxigenáz (NCED) enzim aktivitását;²⁶
- néhány (9Z)-, (9'Z)-, (9Z,9'Z)-, (9Z,13Z)-, (9'Z,13'Z)-karotinoid, -karotinoid-5,6-epoxid és egy új, a *Rosa damascena*-ból izolált, a karotinoidokat excentrikusan hasító oxigenáz enzim (RdCCD1) kölcsönhatását;⁶⁶
- a (9'Z)-neoxantinból képződő karotinoid-gyökök, gyök-kationok szerkezetét, tulajdonságait, továbbá ezen részecskék jelenlétét az LHC II fénygyűjtő komplexben.⁶⁷

A fent említett témák közül a harmadikat emeljük ki; az ide vonatkozó legfontosabb eredményeket az alábbiakban összegezzük:

A korábbi vizsgálatok eredményeivel összhangban a magasabbrendű növények fénygyűjtő (antenna)-komplexeinek színezék-összetétele közel állandó. A nagy térkitöltésű LHC IIb-komplexben a növényi fehérjéhez klorofill A- és klorofill B-molekulákkal kombinálva három xantofill-molekula kapcsolódik.

Mintegy 28 össz-transz- és 7 mono-cisz-xantofillnak az LHC IIb-hez történő kötődésének szerkezeti követelményeit vizsgálva megállapítottuk, hogy az eredményes komplexképződés alapvető feltétele a 3-hidroxi- β -végcsoport jelenléte.

Egyéb szubsztituensek jelenléte (pl. a 4-es C-atomon) nem gátolta a komplexképződést.

A zeaxantin, a violaxantin és a lutein (Z)-izomerjei nem, ugyanakkor ezen vegyületek össz-transz-megfelelői, az össz-transz és (9'Z)-neoxantin, továbbá a lutein és a zeaxantin különböző kiralitású formái beépülnek a komplexbe.

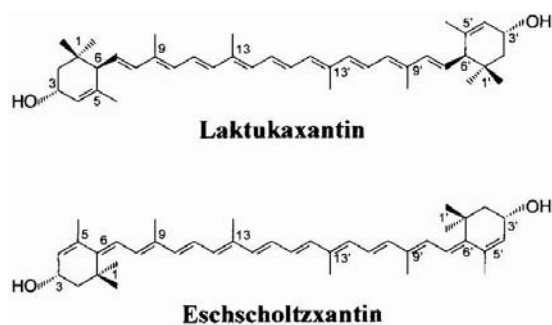
Különösen érdekes a magasabbrendű növények fotoszintetizáló szöveteiből izolálható (9'Z)-neoxantin viselkedése. A vegyületnek cisz-térszerkezetű poliénilánc ellenére ~40%-a beépül a komplexbe. A növények nem fotoszintetizáló szöveteiből izolálható össz-transz neoxantin hasonló hatásokkal vesz részt a komplex felépítésében, mint a megfelelő (9'Z)-izomerje, bár eddig még nem tisztázott, hogy az izomerek vajon ugyanazon kötőhelyhez kapcsolódnak-e. A laktukaxantin (ϵ,ϵ -karotin-3,3'-diol) és az eschscholtzxantin (retro-karotinoid) (16. ábra) önmagukban nem képeznek komplexet, de lutein jelenlétében nagy affinitást mutatnak a xantofill N1-kötőhelyhez.

A felsorolt eredmények arra utalnak, hogy az LHC IIb-komplexhez történő kötődés és a komplexet felépítő fehérje konformáció-változásának képessége a karotinoid-molekula szerkezeti sajátosságaitól függ.⁵²

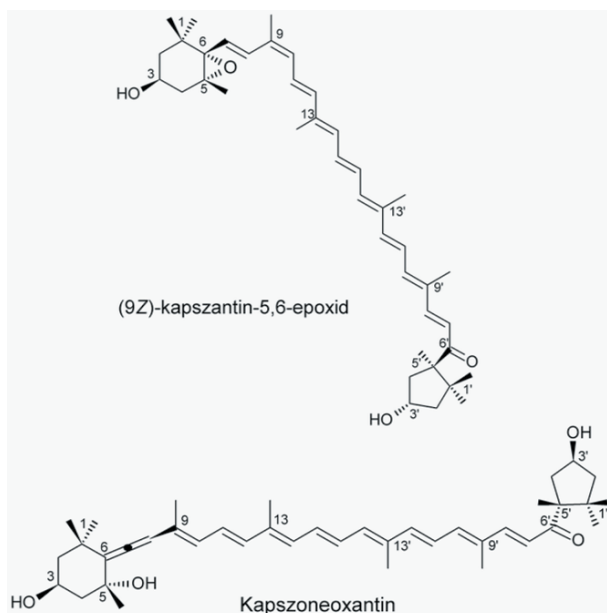
3.5. Új, természetben előforduló karotinoidok, karotinoid-izomerek izolálása

Különféle növényekből, növényi részekből gombákból, algákból új karotinoidokat, karotinoid-izomereket izoláltunk, majd elvégeztük szerkezetazonosításukat. Összesen kilenc témakört vizsgáltunk, amelyek közül az alábbiakat emeljük ki:

- (9Z)-kapszantin-5,6-epoxid és (all-E)-kapszoneoxantin, mint új karotinoidok izolálása *Asparagus falcatus* L. terméséből (17. ábra);⁵⁴
- (all-E)-plektániaxantin, (all-E)-2'-dehidroplektániaxantin és (Z)-izomerjeik izolálása piros csészegombából (*Sarcosypha coccinea*) (18. ábra);⁵⁵
- (all-E)- és (9Z)-loroxantin izolálása egy zöldalga-törzsből.^{15,61}



16. Ábra. A laktukaxantin és az eschsoltzaxantin szerkezete.



17. Ábra. A (9Z)-kapszantin-5,6-epoxid és a kapszoneoxantin szerkezete.

Asparagus falcatus L. terméséből a (9Z)-kapszantin-5,6-epoxidot és az (all-E)-kapszoneoxantint, a természetben kis mennyiségben előforduló új karotinoidokat sikerült izolálnunk tiszta kristályos állapotban.⁵⁵ Az említett termés számos más *cisz*-karotinoidot is tartalmaz (2. táblázat), amelyeket már korábban izoláltunk különböző növényekből, növényi részekből, vagy a megfelelő *össz-transz*-karotinoidokból termikus izomerizációval, illetve jóddal katalizált fotoizomerizációval^{1,4,5} elő is állítottuk. Az izolált új karotinoidok szerkezetét spektroszkópiai módszerekkel határoztuk meg (2. táblázat). A (9Z)-kapszantin-5,6-epoxid esetében a *cisz*-kettőskötés helye – a meggyőző erejű NMR- és CD- spektroszkópiai mérések eredményeitől függetlenül – egyértelműen meghatározható a savnyomok által katalizált 5,6-epoxid → 5,8-epoxid átrendeződés, a furanoid-oxid-reakció segítségével; (5. ábra). Jól ismert ugyanis az a tény, hogy a (9Z)-karotinoid-5,6-epoxidok furanoid-oxid-reakciója (all-E) poliénláncú 5,8-epoxid-epimerek (furanoid-oxid-epimerek; C-8-epimerek) képződéséhez vezet. Ezzel

szemben a megfelelő (9'Z)-karotinoid-5,6-epoxidok furanoid-oxid-reakciójakor a megfelelő (9'Z) geometriai konfigurációjú furanoid-oxid-epimerek képződnek (ld. a jellemző λ_{\max} -értékeket a 3. táblázatban). Már ezek az eredmények is alátámasztják, hogy az izolált vegyület (9Z)-helyzetű kettőskötést tartalmaz.

A (9Z)-kapszantin-5,6-epoxid előfordulása az *Asparagus falcatus* L. termésében újabb bizonyítéka azon korábbi megfigyelésünknek, hogy a magasabbrendű növényekben (*Lilium candidum*, *Lilium tigrinum*, *Helianthus annuus*, *Taraxacum officinale*) az aszimmetrikus szerkezetű karotinoid-5,6-epoxidok (9Z)-izomerjei a (13Z)- és (13'Z)-izomerekkel együtt fordulnak elő; a megfelelő (9'Z)-izomerek azonban hiányoznak. Ez a tény megerősíti az 5,6-epoxi-karotinoidok (9Z)-izomerjeinek különleges stabilitását és arra utal, hogy ezen karotinoidok képződése a természetben sztereospecifikus reakció.

2. Táblázat. Az *Asparagus falcatus* L. terméséből izolált *cisz*-karotinoidok

Frakciók*	Karotinoidok	Spektroszkópiai módszerek
1111	Kapszoneoxantin (Z)-izomerje	UV/VIS; MS; CD
1113	(13Z)- vagy (13'Z)-Kapszantin-5,6-epoxid	UV/VIS; UV/VIS + H ⁺
1122	(13'Z)- vagy (13Z)-Kapszantin-5,6-epoxid	UV/VIS; UV/VIS + H ⁺
1131	(13Z)-Kapszorubin	UV/VIS; NMR; MS; CD
1141	(13Z)-Kapszantin	UV/VIS; MS; CD
122	(13'Z)-Kapszantin	UV/VIS; NMR; MS; CD
131	Kapszoneoxantin	UV/VIS; NMR; MS; CD
1321	(9Z)-Kapszorubin	UV/VIS; MS; CD
1322	(9Z)-Kapszantin-5,6-epoxid	UV/VIS; UV/VIS + H⁺ ¹H-NMR; HREIMS; EIMS; CD
1411	9Z-Violaxantin (= Violeoxantin)	UV/VIS; UV/VIS + H ⁺ ; MS; CD
1421	(13Z)-Zeaxantin	UV/VIS
1422	(9Z)- vagy (9'Z)-Luteoxantin	UV/VIS; UV/VIS + H ⁺
15 + 151	(9Z)-Kapszantin	UV/VIS; NMR; MS; CD
1521 + 16	(9'Z)-Kapszantin	UV/VIS; NMR; MS; CD
1522	(9'Z)- vagy (9Z)-Luteoxantin	UV/VIS; UV/VIS + H ⁺

*A különböző frakciók azoknak a zónáknak felelnek meg (csökkenő adszorpciós affinitásuk sorrendjében), amelyeket a teljes extraktum hipofázikus frakciójának legpolárisabb [főként (Z)-izomereket tartalmazó] 1. zónája többször ismételt oszlopkromatográfiás elválasztása során nyertünk.

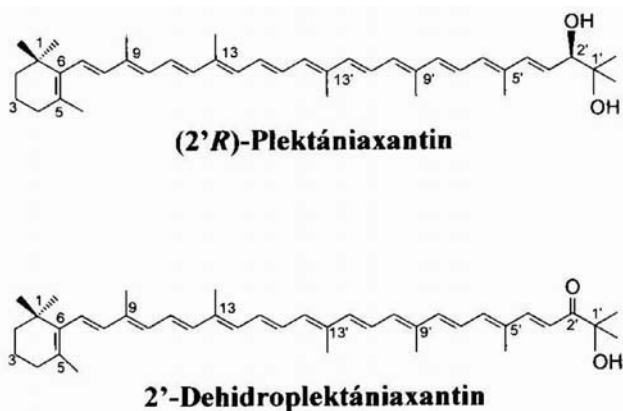
A továbbiakban a piros csészegomba (*Sarcosypha coccinea*) karotinoidjainak izolálását és azonosítását tárgyaljuk.⁵⁵ Ezen ehető gomba teljes extraktumának preparatív méretű oszlopkromatográfiás analízise során (all-E)-, (13Z)-, (13'Z)- és (15Z)-plektániaxantint, (all-E)-, (9Z)-, (9'Z)-, (13Z)-, (13'Z)- és (15Z)-2'-dehidroplektániaxantint (18. ábra) és β -karotint (β , β -karotin) izoláltunk és azonosítottunk.

Különösen érdekes volt, hogy a 2'-dehidroplektániaxantin a CaCO₃-oszlopon intenzív mély-kék színű zónaként adszorbeálódott.

3. Táblázat. Az (all-*E*)-, (9*Z*)- és (9'*Z*)-kapszantin-5,6-epoxid λ_{\max} -értékei benzolban az 5,6-epoxid \rightarrow 5,8-epoxid átrendeződés (furanoid-oxid reakció) előtt és után.

Izomer	Furanoid-oxid reakció előtt		Furanoid-oxid reakció után	
(all- <i>E</i>)	507	487	487	463
(9 <i>Z</i>)	503	474	487	462
(9' <i>Z</i>)	503	474	482	458

Az (all-*E*)-plektániaxantint [(2'*R*)-3',4'-didehidro-1',2'-dihidro- β,ψ -karotin-1',2'-diol] és az (all-*E*)-2'-dehidroplektániaxantint (1'-hidroxi-3',4'-didehidro-1',2'-dihidro- β,ψ -karotin-2'-on) tiszta, kristályos állapotban izoláltuk és spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H- és ¹³C-NMR, IR, MS) azonosítottuk. Az említett két karotinoid ¹³C-NMR-spektroszkópiai adatait munkacsoportunk közölte elsőként.⁵⁵ A plektániaxantin és a 2'-dehidroplektániaxantin már ismert karotinoidok,⁵⁶⁻⁶⁰ de (*Z*)-izomerjeiket más kutatók eddig még nem izolálták. A plektániaxantin és a 2'-dehidroplektániaxantin fent említett új *cis*-izomerjeit különleges oldhatósági viszonyaik miatt nem tudtuk kristályos állapotban izolálni. Ezért, ezeket a karotinoidokat csupán oldatban, UV/VIS-spektroszkópiai tulajdonságaik alapján azonosítottuk.

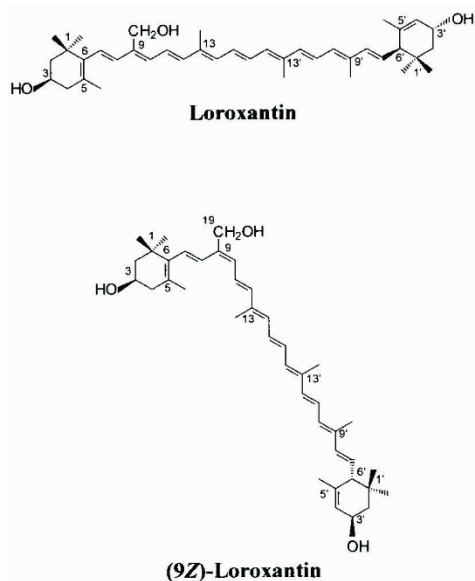


18. Ábra. A plektániaxantin és a 2'-dehidroplektániaxantin szerkezete.

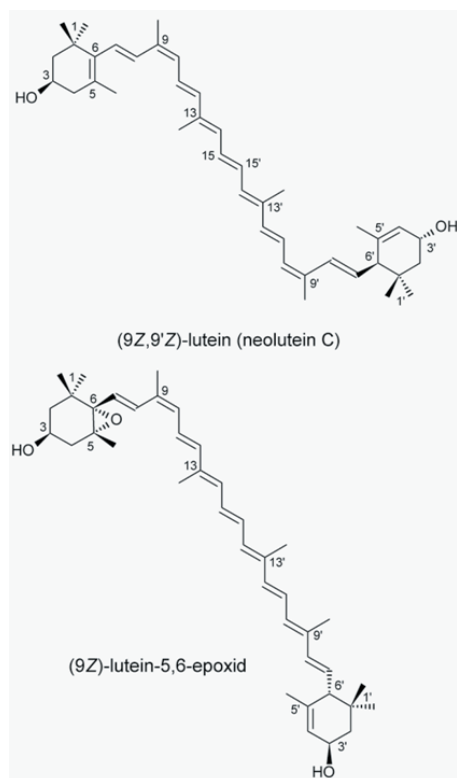
A Nyugat-Magyarországi Egyetem alga-génbankjából származó egyik eukarióta zöldalga-mintából loroxantint [(all-*E*),3*R*,3'*R*,6'*R*)- β,ϵ -karotin-3,19,3'-triol]; 19-hidroxilutein] és (9'*Z*)-loroxantint [(9'*Z*),3*R*,3'*R*,6'*R*)- β,ϵ -karotin-3,19,3'-triol]; (9*Z*)-19-hidroxilutein] (19. ábra) izoláltunk tiszta, kristályos állapotban.^{15,61} Szerkezetüket, abszolút konfigurációjukat spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H-NMR, CD, MS) elsőként Eugster és munkatársai határozták meg, miután e vegyületeket a *Chlorella vulgaris* nevű zöldalgából kristályos állapotban izolálták.⁶² A munkacsoportunk által izolált loroxantin és (9*Z*)-loroxantin ¹H-NMR-spektroszkópiai adatai jó egyezést mutattak az irodalmi értékekkel.⁶² A vegyületek a bioszintézis során luteinből, illetve (9*Z*)-luteinből képződnek.

3.6. Gyógynövények virágzatainak és terméseinek karotinoid-analízise

Az utóbbi 5-6 évben számos gyógynövény virágzatának és termésének karotinoid-analízisét (HPLC, CLC) végeztük el. Megállapítottuk, hogy a kanadai aranyvessző (*Solidago canadensis* L.) virágzatának fő karotinoidja a laboratóriumunkban már korábban előállított (9*Z*,9'*Z*)-lutein (neolutein C), a vérehulló fecskefű virágzatának fő karotinoidja (a karotinoid-tartalom 75%-a) az (all-*E*)-lutein-5,6-epoxid, az őszi oroszlánfőg (*Leontodon autumnalis* L.) virágzata pedig jelentős mennyiségű (9*Z*)-lutein-5,6-epoxidot tartalmaz (20. ábra).⁶³⁻⁶⁵



19. Ábra. A loroxantin és a (9*Z*)-loroxantin szerkezete.



20. Ábra. A (9*Z*,9'*Z*)-lutein (neolutein C) és a (9*Z*)-lutein-5,6-epoxid szerkezete.

4. Összefoglalás

Az 1970-es évek elején az alkalikus kálium-permanganáttal történő oxidatív lebontást karotinoid-5,6-epoxidokra is alkalmazva 4-5 mg karotinoidból kiindulva igazoltuk a violeoxantin és a neoxantin poliénláncának (9Z)-, ill. (9'Z)-tér szerkezetét. Az 1970-es évek közepétől különböző reakciókinetikai modellek alkalmazásával meghatároztuk néhány szimmetrikus és aszimmetrikus karotinoid, valamint (13Z/13'Z)- és (15Z)-izomerjeik termikus izomerizációjának reakciókinetikai és termodinamikai paramétereit (k , E_a , A , ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger , ΔS^\ddagger).

Az (all-E)- és a (13Z)-zeaxantin példáján összehasonlítottuk ezen izomerek jóddal katalizált fotoizomerizációjának sebességét, majd vizsgáltuk néhány (13Z)-karotinoid jóddal katalizált fotoizomerizációjának fajlagos sebességét és annak hullámhossz-függését is.

A már említett kutatásaink mellett az 1970-es évek elejétől 1990-ig mintegy 40 karotinoid-izomert (mono- és di-cisz) állítottunk elő, ill. izoláltunk természetes forrásból, spektroszkópiai módszerekkel (UV-VIS, IR, ^1H - és ^{13}C -NMR, CD, MS) igazolva szerkezetüket.

Az 1990-es években piros paprikából új végcsoportokat (3,6-epoxi- β , 3,5,6-trihidroxi- β , 6-hidroxi- γ) tartalmazó karotinoidokat izoláltunk, majd sztereo-utómozgással előállítottuk e vegyületek, továbbá a szemiszintetikus violaxantinok, a 3'-epilutein, az anhidrolutein I sztérikusan nem gátolt mono-cisz-izomerjeit és meghatároztuk szerkezetüket. Az 1990-es évtized végére így már közel 80-ra nőtt azon karotinoid-izomerek száma, amelyeknek izolálását, előállítását és teljes szerkezetigazolását laboratóriumunkban végeztük el.

Növénybiokémiai kutatásaink során vizsgáltuk a violaxantin-deepoxidáz enzim szubsztrát-specifitását, a (13Z)-violaxantin fény által indukált képződését zöld levelekben, különböző xantofillok kapcsolódását a magasabb rendű növények II fotorendszerének nagy térkitöltésű fénygyűjtő komplexéhez, a szín biológiai alapját, mint a *Citrus*-gyümölcsök esztétikai minőségének fokmérőjét, s az ABA bioszintéziséhez szükséges (9Z)-karotinoidokat hasító enzim aktivitását. Elvégeztük néhány (9Z)-, (9'Z)-, (9Z,9'Z)-, (9Z,13Z)-, (9Z,13'Z)-karotinoid-, -karotinoid-5,6-epoxid és egy új, a *Rosa damascena*-ból izolált, a karotinoidokat excentrikusan hasító oxigenáz enzim (RdCCD1) kölcsönhatásának vizsgálatát is.

Vizsgáltuk a (9'Z)-neoxantinból képződő karotinoid-gyökök, gyök-kationok szerkezetét, tulajdonságait, valamint ezen részecskék jelenlétét az LHC II fénygyűjtő komplexben.

A karotinoid-izomerek növényekben, növényi részekben, algákban, gombákban történő előfordulását vizsgálva *Asparagus falcatus* L. terméséből egy új (9Z)-karotinoid-epoxidot [(9Z)-kapszantin-5,6-epoxid] izoláltunk és elvégeztük szerkezetazonosítását. Egy zöldalga-fajból loroxantint és (9Z)-loroxantint, a piros csészegombából (*Sarcoscypha coccinea* Scop. Lamb.) plektániaxantint és 2'-dehidroplektániaxantint izoláltunk kristályos állapotban. Az utóbbi két vegyület cisz-izomerjeit félmikro-méretben

izoláltuk, szerkezetükre jellemző UV/VIS-spektroszkópiai adataik alapján következtettünk.

Az utóbbi 5-6 évben számos gyógynövény virágzatának és termésének karotinoid-analízisét elvégezve megállapítottuk, hogy a kanadai aranyvessző (*Solidago canadensis* L.) virágzatának fő karotinoidja a laboratóriumunkban már korábban előállított (9Z,9'Z)-lutein (neolutein C), az őszi oroszlánfag (*Leontodon autumnalis* L.) virágzata pedig (9Z)-lutein-5,6-epoxidot tartalmaz.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondok Dr. Szabolcs József, Dr. Tóth Gyula, Dr. Deli József professzoroknak, a pécsi karotinoid-munkacsoport vezetőinek, továbbá valamennyi hazai és külföldi munkatársamnak akik kutatómunkámat az elmúlt több, mint 40 év során segítették. A dolgozat az OTKA K76176 pályázat támogatásával valósult meg.

Hivatkozások

- Zechmeister, L. 'Cis-Trans' Isomeric Carotenoids, Vitamins A and Arylpolyenes, Springer Verlag: Wien, 1962.
- Schiedt, K., Liaaen-Jensen, S. In *Carotenoids Vol. 1A: Isolation and Analysis* Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, 1995; Ch. 5, pp. 81-108.
- Molnár, P.; Kawase, M.; Motohashi, N. In *Functional Polyphenols and Carotenoids with Antioxidative Action* Motohashi N. Ed.; Research Signpost, Trivandrum-695 023, Kerala, India: 2005, Ch. 6, pp. 111-131.
- Molnár, P.; Körtvélyesi, T.; Matus, Z.; Szabolcs, J. *J. Chem. Res.* 1997, (S) 4, 120-121; *J. Chem. Res.* 1997, (M) 4, 801-841.
- Molnár, P.; Szabolcs, J. *J. Chem. Soc. Perkin Trans 2* 1993, 261-266.
- Bernhard, K. In *Carotenoids Vol. 1A: Isolation and Analysis* Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, 1995; Ch. 6, pp. 117-130.
- Pfander, H.; Riesen, R. In *Carotenoids Vol. 1A: Isolation and Analysis* Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander H. Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, 1995; Ch. 6, pp. 145-190.
- Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Eds.; *Carotenoids Vol. 1B: Spectroscopy*, Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, 1995.
- Karrer, P.; Solmssen, U.; *Helv. Chim. Acta* 1937, 20, 682-688.
- Szabolcs, J. *Pure Appl. Chem.* 1976, 47, 147-159.
- Molnár, P.; Szabolcs J. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 1973, 79, 465-468.
- Molnár, P.; Szabolcs, J. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* 1979, 99, 155-173.
- Molnár, P. *Egyetemi doktori értekezés*, 1975, Pécs.
- Molnár, P. *Kandidátusi értekezés*, 1988, Pécs.
- Molnár, P. *Akadémiai Doktori Értekezés*, 2004, Pécs.
- Szabolcs, J. In *Carotenoids Chemistry and Biology* Krinsky, N. I.; Mathews-Roth, M. M.; Taylor, R. F. Eds.; Plenum Press: New York-London, 1989; pp. 39-58.
- Molnár, P.; Szabolcs, J. *Phytochem.* 1980, 19, 623-627.
- Molnár, P.; Szabolcs, J. *Phytochem.* 1980, 19, 633-637.
- Radics, L.; Molnár, P.; Szabolcs, J. *Phytochem.* 1983, 22, 306-310.
- Molnár, P.; Szabolcs, J.; Radics L. *Phytochem.* 1986, 25, 195-199.

21. Tóth, G.; Kajtár, J.; Molnár, P.; Szabolcs, J. *Acta Chim. Acad. Sci. Hung.* **1978**, *97*, 359-361.
22. Molnár, P.; Radics, L.; Szabolcs, J. *Acta Chim. Hung.* **1983**, *112*, 477-485.
23. Deli, J.; Molnár, P.; Tóth, G.; Szabolcs, J.; Radics, L. *Phytochem.* **1988**, *27*, 547-549.
24. Eugster, C. H.; In *Carotenoids Vol. 1A: Isolation and Analysis* Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander, H. Eds.; Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, **1995**; Ch. 4, pp. 71-80.
25. Thompson, A. J.; Jackson, A. C.; Parker, R. A.; Morpeth, D. R.; Burbidge, A.; Taylor, I. B. *Plant Mol. Biol.* **2000**, *42*, 833-845.
26. Kalala, M.; Cowan, A. K.; Molnár, P.; Tóth, G. *South Afr. J. Bot.* **2001**, *67* 376-377.
27. Peintler, G. *A Comprehensive Program Package for Fitting Parameters of Chemical Reaction Mechanisms*, A. J. University, Szeged (Hungary), **1993**.
28. Hindmarch, A. C. *Ordinary Differential Equation Solver*, UCID-30001 rev. 3. Lawrence Livermore Laboratory, Livermore, CA 94500, **1974**.
29. Bard Y. *Nonlinear Parameter Estimation*, Academic Press New York, **1974**.
30. Kuki, M.; Koyama, Y.; Nagae, H. *J. Phys. Chem.* **1991**, *95*, 7171-7178.
31. Harada, I.; Furukawa, Y.; Tasumi, M.; Shirakawa, H.; Ikeda, S. *Chem. Lett.* **1980**, *3*, 267-275.
32. Slama-Schwok, A.; Blanchard-Desce, M.; Lehn, J. M. *J. Phys. Chem.* **1990**, *94*, 3894-3902.
33. Matsuyama, T.; Sakai, H.; Yamaoka, H.; Maeda, Y. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1982**, 229-235.
34. Ding, R.; Grant, J. L.; Metzger, R. M.; Kispert, L. D. *J. Phys. Chem.* **1988**, *92*, 4600-4610.
35. Brunner, M. *Ph.D. Theses*, **1997**, Berne.
36. Doering, W. von E.; Sotiriou-Leventis, C.; Roth, W. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2747-2760.
37. Parkes, K. E. B.; Pattenden, G.; Baranyai, M.; Molnár, P.; Szabolcs, J.; Tóth, G. *Tetrahedron Lett.* **1986**, *27*, 2535-2538.
38. Deli, J.; Molnár, P.; Tóth, G.; Baumeler, A.; Eugster, C. H. *Helv. Chim. Acta* **1991**, *74*, 819-824.
39. Deli, J.; Matus, Z.; Molnár, P.; Tóth, G.; Décsy, Z.; Eugster, C. H. *Helv. Chim. Acta* **1993**, *76*, 952-956.
40. Deli, J.; Matus, Z.; Molnár, P.; Tóth, G.; Szalontay, G.; Steck, A.; Pfander, H. *Chimia* **1994**, *48*, 102-104.
41. Deli, J.; Molnár, P.; Matus, Z.; Tóth, G.; Steck, A. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1435-1443.
42. Deli, J.; Molnár, P.; Matus, Z.; Tóth, G.; Steck, A.; Pfander, H. *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 1233-1241.
43. Deli, J.; Molnár, P. *Curr. Org. Chem.* **2002**, *6*, 1197-1219.
44. Molnár, P.; Deli, J.; Matus, Z.; Tóth, G.; Steck, A. *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 1444-1450.
45. Molnár, P.; Deli, J.; Matus, Z.; Tóth, G.; Renneberg, D.; Pfander, H. *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 1535-1541.
46. Molnár, P.; Deli, J.; Tóth, G.; Häberli, A.; Pfander, H. *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 1327-1339.
47. Molnár, P.; Deli, J.; Zsila, F.; Steck, A.; Pfander, H.; Tóth, G. *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 11-27.
48. Molnár, P.; Deli, J.; Ösz, E.; Matus, Z.; Zsila, F.; Tóth, G. *Helv. Chim. Acta* **2004**, *87*, 2169-2179.
49. Hentschel, P.; Grynbaum, M. D.; Molnár, P.; Putzbach, K.; Rehbein, J.; Deli, J.; Albert, K. *J. Chrom. A* **2006**, *1112*, 285-292.
50. Grotz, B.; Molnár, P.; Stransky, H.; Hager, A. *J. Plant Phys.* **1999**, *154*, 437-446.
51. Phillip, D.; Molnár, P.; Tóth, G.; Young, A. J. *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.* **1999**, *49*, 89-95.
52. Phillip, D.; Hobes, S.; Paulsen, H.; Molnár, P.; Hashimoto, H.; Young, A. J. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 25160-25169.
53. Oberholster, R.; Cowan, A. K.; Molnár, P.; Tóth, G. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 303-307.
54. Molnár, P.; Deli, J.; Tóth, G.; Häberli, A. Pfander, H.; Bernhard, K. *J. Nat. Prod.* **2001**, *64*, 1254-1255.
55. Molnár, P.; Barthó, L.; Deli, J.; Ösz, E.; Tóth, G.; Pfander, H. *10th National Conference on Medicinal Plants*, 13-15 November **2002**, Kecskemét (Hungary), *Program & Book of Abstracts*, P-26, p. 210.
56. Arpin, N.; Liaaen-Jensen, S. *Phytochem.* **1967**, *6*, 995.
57. Bae, M.; Lee, T. H.; Yokohama, H.; Böttger, H. G.; Chichester, C. O. *Phytochem.* **1971**, *10*, 625.
58. Vacheron, M. J.; Michel, G.; Guilluy, R.; Arpin, N. *Phytochem.* **1969**, *8*, 897.
59. Buchecker, R.; Arpin, N. Liaaen-Jensen, S. *Phytochem.* **1976**, *15*, 1013.
60. Britton, G.; Liaaen-Jensen, S.; Pfander H. Eds.; *Carotenoids Handbook*, Birkhäuser Verlag: Basel-Boston-Berlin, **2004**.
61. Molnár, P.; Deli, J.; Tóth, Gy.; Ördög, V.; Vörös, L.; Szabó, L. *Gy. 5th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods*, September 3-5, **2003**, Siófok, Hungary.
62. Márki-Fischer, E.; Buetikofer, P. A.; Buchecker, R.; Eugster, C. H. *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 1175.
63. Horváth, Gy.; Molnár, P.; Farkas, Á.; Szabó, L. Gy.; Turcsi E.; Deli J. *Chromatographia* **2010**, *71*, S103-S108.
64. Turcsi, E.; Horváth, Gy.; Molnár, P.; Szabó, L. Gy.; Deli J. *Carotenoid Science* **2008**, *12*, 18.
65. Horváth, Gy.; Molnár, P.; Szabó, L. Gy.; Turcsi, E.; Deli J. *METT Elvázlatástudományi Vándorgyűlés*, Tapolca, **2010**. november 10-12. Végleges program; Előadás- és poszterkivonatok P-15, 20. old.
66. Huang, F. C.; Horváth, Gy.; Molnár, P.; Turcsi, E.; Deli J.; Schrader, J.; Sandmann, G.; Schmidt, H.; Schwab W. *Phytochem.* **2009**, *70*, 457-467.
67. Focsan, A. L.; Molnár, P.; Deli, J.; Kispert, L. D. *J. Phys. Chem. B* **2009**, *113*, 6087-6096.

Research of the geometrical isomerization of carotenoids in Pécs during the last 40 years

From 1970 to 1990 the geometrical configuration of the polyene chain of approximately 40 mono- and di-*cis* carotenoids was determined. The structure elucidation of sterically unhindered geometrical isomers was carried out by classic chemical and by ¹H and ¹³C NMR methods. Starting in 1971 the classical method of alkaline permanganate oxidation was used for the structure elucidation of isomers of violaxanthin and neoxanthin. Oxidative degradation of (all-*E*)-violaxanthin resulted in two main products, namely (all-*E*)-apo-10'-violaxanthal and (all-*E*)-apo-12'-violaxanthal. A similar experiment with violoxanthin [(*9Z*)-violaxanthin] resulted in not only *trans* C₂₇- and C₂₅-epoxy-apo-carotenals, but also their mono-*cis* counterparts. During the degradation of neoxanthin X [(all-*E*)-neoxanthin], only all-*trans* C₂₇- and C₂₅-epoxy-apo-aldehydes appeared, but from neoxanthin [(*9'Z*)-neoxanthin = foliixanthin] only *cis* C₂₇- and C₂₅-epoxy-apo-aldehydes have formed. The number and the structure of degradation products unambiguously determined the 9-mono-*cis* geometrical configuration of violoxanthin and of neoxanthin. Using this method it was possible to determine the position of the *cis* double bounds from 4- to 5 mg-s of material. The structure elucidation of other mono- and di-*cis*-isomers was carried out by NMR-methods.

Subsequently, the kinetic, equilibrium and thermodynamic parameters (k , K , A , E_A , ΔH^\ddagger , ΔG^\ddagger , ΔS^\ddagger) of the reversible thermal isomerization of several symmetrical and unsymmetrical carotenoids were calculated. The Arrhenius parameters were calculated by non-linear parameter estimation with statistical weights $w_i = 1/k_i^2$. Values of E_A , ΔH^\ddagger , G^\ddagger , ΔS^\ddagger and A were obtained from the rate constants determined on the basis of Models I-IV. The values of the activation parameters are of the order of 100-110 kJ/mol and show insignificant dependence on the structure of the different

end groups. The rate of the iodine-catalyzed photoisomerization of (all-*E*-), (9*Z*-) and (13*Z*-)zeaxanthin was compared and the 'specific rate' (per unit light energy at given wavelength) of the iodine-catalyzed photoisomerization for several (13*Z*-)carotenoids was investigated. Our experiments confirmed that the intermediates of thermal isomerization are carotenoid radicals (Car[•]), but those of the iodine-catalyzed photoisomerization are carotenoid-iodine charge-transfer complexes and carotenoid radical cations (Car^{•+}; Car²⁺).

As the missing links of the biosynthetic pathway of paprika-carotenoids, carotenoids containing new end groups were isolated; their sterically unhindered mono-*cis* isomers were also prepared and their geometrical configuration was determined. The structure elucidation of these new isomers was carried out by spectroscopic methods (UV/VIS, ¹H and ¹³C NMR, CD, MS). For separation and identification of the (*Z*-)isomers of anhydrolutein I (= deoxylutein II) on-line capillary ¹H NMR and MS techniques were used.

Our investigation included the substrate specificity of the enzyme violaxanthin-deepoxidase, the light-induced formation of (13*Z*-)violaxanthin in green leaves, the binding of xanthophylls to the bulk light-harvesting complex (LHC) of photosystem II in higher plants, the biochemical basis of colour as an aesthetic quality in *Citrus*-fruits and the (9*Z*-)epoxycarotenoid cleavage enzyme activity for ABA biosynthesis, the interaction of the enzyme RdCCD1 (isolated from *Rosa damascena* L.) and several (9*Z*-), (9'*Z*-), (9*Z*,9'*Z*-), (9*Z*,13*Z*-) and (9,13'*Z*-)carotenoids, the

formation and structure of carotenoid radicals and radical cations starting from (9'*Z*-)neoxanthin and the presence of these particles in LHC II complexes.

Recently two novel carotenoids, (9*Z*-)capsanthin-5,6-epoxide and (all-*E*-)capsoneoxanthin were isolated from natural source (*Asparagus falcatus* L.). The occurrence of (9*Z*-)capsanthin-5,6-epoxide in the fruits of *A. falcatus* L. supports our earlier suggestion that in higher plants exclusively the (9*Z*-)isomers of unsymmetrical carotenoid-epoxides occur without any detectable amounts of the corresponding (9'*Z*-)isomers.

From the edible mushroom Scarlet elf cup (*Sarcoscypha coccinea*) (all-*E*-), (13*Z*-), (13'*Z*-) and (15*Z*-)plectanixanthin, as well as (all-*E*-), (9*Z*-), (9'*Z*-), (13*Z*-), (13'*Z*-) and (15*Z*-)2'-dehydroplectanixanthin and β,β-carotene were isolated and identified.

From a green alga taxa (all-*E*-) and (9*Z*-)loroxanthin were isolated in a pure crystalline state and their structure elucidation was carried out by spectroscopic methods.

During the last 5-6 years the carotenoid analysis of inflorescences and fruits of a number of medicinal plants was carried out. It was demonstrated that the main carotenoid of the inflorescence of Canadian goldenrod (*Solidago canadensis* L.) is the (9*Z*,9'*Z*-)lutein (neolutein C) and the inflorescence of hawkbits (*Leontodon autumnalis* L.) contains (9*Z*-)lutein-5,6-epoxide.