

Doktori (PhD) értekezés

**VÍZOLDHATÓ KAROTINOIDOK ÉS
KAROTINOID DENDRIMEREK
ELŐÁLLÍTÁSA**

Háda Magdolna

Témavezető: Dr. Agócs Attila

Programvezető: Dr. Deli József



**Pécsi Tudományegyetem
Általános Orvostudományi Kar
Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet**

2012

TARTALOMJEGYZÉK

RÖVIDÍTÉSEK	5
I. BEVEZETÉS	7
II. KAROTINOIDOK	10
2.1. A KAROTINOIDOK CSOPORTOSÍTÁSA.....	12
2.2. NÉHÁNY FONTOSABB, ILLETVE ÁLTALAM HASZNÁLT OXIGÉNTARTALMÚ KAROTINOID KÖZELEBBRŐL.....	12
2.3. A KAROTINOIDOK ÉLETTANI HATÁSAI.....	15
2.4. A KAROTINOIDOK FÉLSZINTETIKUS ÁTALAKÍTÁSAI.....	16
III. KAROTINOID DIMEREK ÉS TRIMEREK ELŐÁLLÍTÁSA	20
3.1. A DENDRIMEREKRŐL ÁLTALÁBAN.....	20
3.1.1. <i>A dendrimerek típusai és tulajdonságai</i>	21
3.1.2. <i>A dendrimerek felhasználása</i>	23
3.2 SAJÁT VIZSGÁLATOK - KAROTINOID DIMEREK ÉS TRIMEREK ELŐÁLLÍTÁSA.....	25
3.2.1. <i>Karotinoid-szukcinátok előállítása</i>	26
3.2.2. <i>Dikarotinoid-szukcinátok (dimerek) előállítása</i>	29
3.2.3. <i>Karotinoid dimerek és trimerek aromás magokkal</i>	30
IV. KAROTINOID-PEG KONJUGÁTUMOK	34
4.1. HIDROFIL KAROTINOIDOK.....	34
4.2. A POLIETILÉN-GLIKOL (PEG).....	36
4.2.1. <i>A PEG-ok általános tulajdonságai</i>	36
4.2.2. <i>A PEG-ok felhasználása</i>	37
4.2.3. <i>A PEGilálás</i>	37
4.2.4. <i>A PEG-konjugátumok típusai</i>	38
4.3. SAJÁT VIZSGÁLATOK KAROTINOID-PEG KONJUGÁTUMOK ELŐÁLLÍTÁSÁRA.....	39
4.3.1. <i>Karotinoid konjugátumok mPEG550-el</i>	39
4.3.2. <i>Karotinoid konjugátumok tetraetilén-glikollal (TEG) és oktaetilén-glikollal (OEG)</i>	41
4.3.3. <i>Karotinoid dimerek TEG és OEG összekötő elemmel</i>	41
4.3.4. <i>Hidrofilicitás és antioxidáns hatás</i>	43
V. AZ AZID-ALKIN CLICK-REAKCIÓ BEVEZETÉSE A KAROTINOID KÉMIÁBA	46
5.1 A CLICK-REAKCIÓKRÓL ÁLTALÁBAN.....	46
5.2. SAJÁT VIZSGÁLATOK- KAROTINOIDOK CLICK-REAKCIÓJA.....	50
5.2.1. <i>Karotinoid-pentinoátok előállítása</i>	51
5.2.2. <i>A reakciókörülmények optimalizálása</i>	51
5.2.3. <i>Karotinoid-pentinoátok reakciója PEG-azidokkal</i>	52
5.2.4. <i>Reakciók di- és triazidokkal</i>	53
VI. KÍSÉRLETI RÉSZ	54
6.1. KAROTINOID-SZUKCINÁTOK ELŐÁLLÍTÁSA.....	55
6.2. NEM AROMÁS DIÉSZTEREK.....	57

6.3. ÉSZTEREK AROMÁS SAVAKKAL.....	58
6.4. ÉSZTEREK AROMÁS ALKOHOLOKKAL.....	60
6.5. KAROTINOID KONJUGÁTUMOK mPEG550-EL	61
6.6. KAROTINOID KONJUGÁTUMOK TETRAETILÉN-GLIKOLLAL ÉS OKTAETILÉN-GLIKOLLAL	63
6.7. KAROTINOID DIMEREK TEG ÉS OEG ÖSSZEKÖTŐ ELEMMELEL	65
6.8. KAROTINOID-PENTINOÁTOK	66
6.9. KAROTINOID KONJUGÁTUMOK mPEG550-AZIDDALEL	68
VII. ÖSSZEFOGLALÁS.....	71
VIII. IRODALOMJEGYZÉK.....	73

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönöm Prof. Sümegi Balázs egyetemi tanárnak, hogy munkámat a Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézetben lehetővé tette.

Köszönöm Prof. Deli Józsefnek, hogy kísérleteimet támogatta a karotin kémiai kutatócsoportban.

Hálásan köszönöm témavezetőmnek, Dr. Agócs Attila egyetemi docensnek, hogy munkámat állandó figyelemmel kísérte és mindenben segítette.

Köszönöm Dr. Nagy Veronika egyetemi adjunktusnak a munkámhoz nyújtott szakmai segítségét.

Köszönetet mondok Dr. Takátsy Anikónak, Dr. Szabó Zoltánnak és Dr. Böddi Katalinnak a tömegspektrométerrel végzett mérésekért, valamint Turcsi Erika egyetemi tanársegédnek és Götz Zsuzsanna vegyésztechnikusnak az elvégzett HPLC mérésekért, illetve Gulyás Gergely egyetemi tanársegédnek az NMR-spektrumok felvételéért.

Köszönöm Götz Norbert és Rigó Judit vegyésztechnikusoknak a laboratóriumi munkában nyújtott segítségét.

RÖVIDÍTÉSEK

Apok - 8'- β -apokarotinol

Bn - benzil

CD - ciklodextrin

Cry - β -kriptoxantin

DCC - diciklohexil-karbodiimid

DMAP - 4-dimetilamino-piridin

DMF - dimetil-formamid

DMSO - dimetil-szulfoxid

EOE – 1-etoxi-etil

4-OH-ech - 4-hidroxi-echinenon

Kar - karotinoid

Lut – lutein

MOM – metoxi-etil

mPEG - polietilén-glikol-monometil éter

OEG - oktaetilén-glikol

PEG - polietilén-glikol

PEO - polietilén-oxid

RAR - retinoic acid receptor

RES - reticuloendothelial system

Ret - retinol

TBDMS – terc-butil-dimetil-szilil

TEA – trietil-amin

TEG – tetraetilén-glikol

THP – tetrahidro-2H-piranyl

Zea - zeaxantin

I. BEVEZETÉS

A természetben megtalálható tetraterpének nemcsak feltűnő színeik miatt érdemelték ki a figyelmet, hanem számos más oka is van annak, hogy napjainkban az analitikai, biokémiai és orvosi kémiai kutatások középpontjába kerültek. Egészségünk megőrzése szempontjából igen fontos, hogy a kiegyensúlyozott étrend naponta tartalmazzon megfelelő mennyiségű friss zöldséget és gyümölcsöt. A zöldségfélék és gyümölcsök jótékony hatásukat elsősorban a bennük lévő karotinoidoknak és vitaminoknak köszönhetik. Napjainkban közel 700 féle, természetes forrásból izolált karotinoid ismeretes. Ezek közül közelebbről főleg a β -karotint, luteint, zeaxantint, likopint vizsgálták. A legfontosabb források a sárgarépa, sütőtök (α -, β -karotin), paradicsom (likopin), citrom, narancs (β -kriptoxantin), zöldleveles zöldségfélék (lutein), kukorica (zeaxantin), pirospaprika (kapszantin, kapszorubin).

A karotinoidok számos jótékony hatása ismert. Ezek a természetes pigmentek antioxidáns aktivitást mutatnak, mely tulajdonságuk szorosan összefügg a konjugált kettőskötéseket tartalmazó szénláncukkal, a kromofórral. Antioxidáns hatásukat a szervezetben kialakuló reaktív oxigén származékokkal (reactive oxygen species = ROS) reagálva a poliénlánc felhasadása, ill. oxidálódása révén fejtik ki. Az olyan kémiai folyamatok során, mint pl. a hidrogén-peroxid dezaktiválása, a karotinoidok intermedierekké alakulnak át, majd teljesen lebomlanak.¹

A karotinoidok egyes daganatos megbetegedések kezelésére, ill. megelőzésére is alkalmazhatók, antimutagén hatásuk is ismeretes.^{2,3} Csökkentik egyes szív- és érrendszeri megbetegedések kialakulásának kockázatát. A zeaxantinnak és a luteinnek nagy szerepe van az időskori látásromlás (makula degeneráció) megelőzésében.⁴ A szubsztituálatlan β -végcsoportot tartalmazó karotinoidok a szervezetben az A-vitamin prekursorai.

Ebből is látható, hogy szervezetünknek szüksége van karotinoidokra, melyet megfelelő mennyiségű zöldség és gyümölcs elfogyasztásával teljes mértékben fedezhetünk. Felszívódásukat és hasznosulásukat a szervezetben viszont meghatározza a karotinoidoknak az a tulajdonsága, hogy zsírolható vegyületek.

Napjainkban a különféle dendrimereket intenzíven tanulmányozzák. Több mint 50 féle dendrimercsaládot ismerünk, mindegyik egyedi tulajdonságokkal rendelkezik,

felületük, belsejük és magjuk tetszés szerint alakítható a kívánt felhasználási módtól függően. Sok lehetséges alkalmazási mód kapcsolódik az egyedi molekuláris felépítésükhöz, multifunkcionális felszínükhöz és a belső üregek jelenlétéhez. Ezek a tulajdonságok teszik lehetővé, hogy a legmodernebb (nano)technológiákban használják fel őket. Rendkívüli az érdeklődés a gyógyászat területéről, de más iparágak is széleskörűen tudják hasznosítani ezeket a vegyületeket.

Karotinoid dendrimerekre korábban nem volt irodalmi példa, így érdekes alanyai lehetnek számos biológiai hatásvizsgálatnak is. Nagy eséllyel megváltozott élettani hatással rendelkezhetnek, például megnövekedhet a karotinoidok antioxidáns hatása, ahogy azt más bioaktív vegyületeknél is megfigyelték.^{5,6,7,8,9} Az oldhatósági tulajdonságaikon is változtathatunk, így hatékonyabbá tehetjük a szervezetben való hasznosulásukat.

Az emberi lét víz alapú, így a szervezetben sokkal jobban hasznosulnak azok a vegyületek, melyek vízben könnyen oldhatóak. A karotinoidok a hosszú apoláros szénlánc következtében hidrofóbok, ezért fiziológiai hasznosulásuk sokkal hatékonyabb lehet, ha javítunk a vízoldhatóságukon. Jobb felszívódást követően növekedhet az antioxidáns hatásuk is. Egyes hidrofíil karotinoid-sók már mint kardioprotektív gyógyszerek is bevezetésre kerültek.^{10,11}

Napjainkban már nem igazán könnyű új karotinoidot találni, a múlt században azonban még fénykorát élte a karotinoidok szerkezetfelderítése és leírása. Manapság ezeknek az izoprénvázas vegyületekkel kapcsolatos vizsgálódásoknak és kísérleteknek főleg táplálkozás-egészségügyi vonatkozásai vannak. A karotinoidok fél szintetikus / szintetikus átalakítását az utóbbi években már csak világszerte 3-4 kutatócsoportban művelik több-kevesebb intenzitással, az újszerű reakciók bevezetésére a karotinoidkémiaiban alig akad példa. Ennek egyik oka, hogy a karotinoidok rendkívül érzékeny vegyületek, levegő, fény és savnyomok hatására könnyen elbomlanak, a velük való munka nagy odafigyelést és elővigyázatosságot kíván.

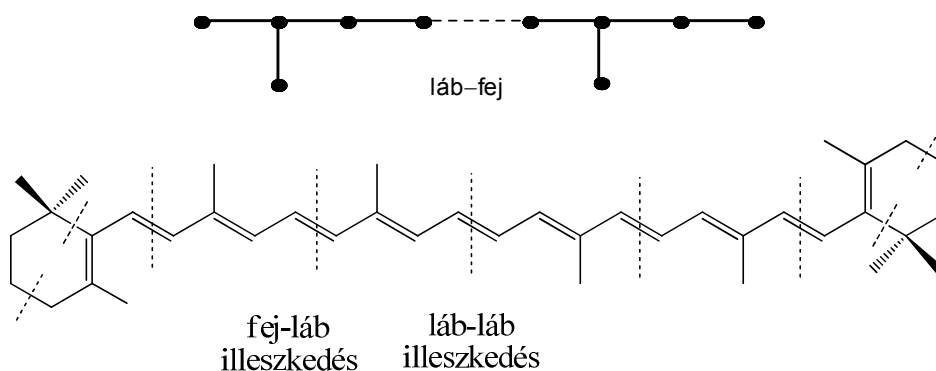
Munkám során azt a célt tűztük ki, hogy új típusú karotinoidszármazékokat, köztük vízoldható vegyületeket állítsunk elő, valamint, hogy új reakciótípusokat honosítsunk meg a karotinoidok kémiajában. Ezekhez a célkitűzésekhez kapcsolódva dolgozatomban három részből áll: a karotinoid dendrimerek szintézisére irányuló kísérletekből (III. fejezet), a karotinoid-PEG konjugátumok előállításából (IV. fejezet) és az azid-alkin click-reakció bevezetéséből a karotinoidkémiaiba (V. fejezet). Az egyes

témákhoz szorosan kapcsolódó irodalom áttekintését a megfelelő fejezetek elején mutatom be.

II. KAROTINOIDOK

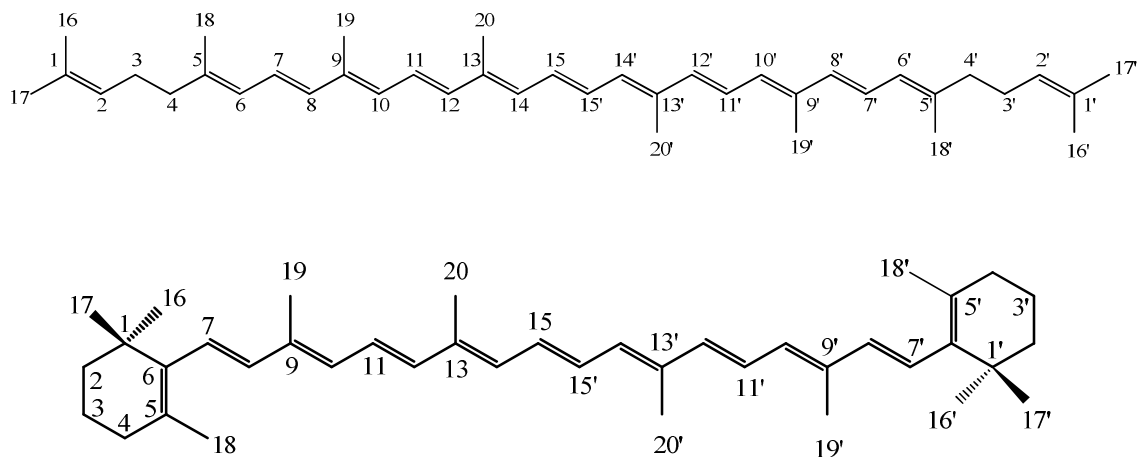
A karotinoidok az izoprénvázias vegyületek csoportjába tartoznak. 8 izoprénegység összekapcsolódásával jönnek létre a jellegzetesen 40 szénatomot tartalmazó tetraterpének. Ezek a vegyületek alkotják a természetes pigmentek egyik legjelentősebb és legnépesebb csoportját. Főleg növények színanyagait adják, de számos képviselőjük van az állatvilágban is. A világon évente megközelítőleg 100 millió tonna karotinoid képződik. A karotinoidokat az állati szervezet csak külső forrásból képes felvenni, amit a szervezetében alakít át a rá jellemző állati karotinoiddá.^{12,13}

A karotinoidok esetében az izoprén egységek szabályosan fej-láb illeszkedéssel kapcsolódnak egymáshoz. Ez alól a molekula közepén levő láb-láb kapcsolódás a kivétel, így a molekula szénváza szimmetrikus lehet.¹⁴

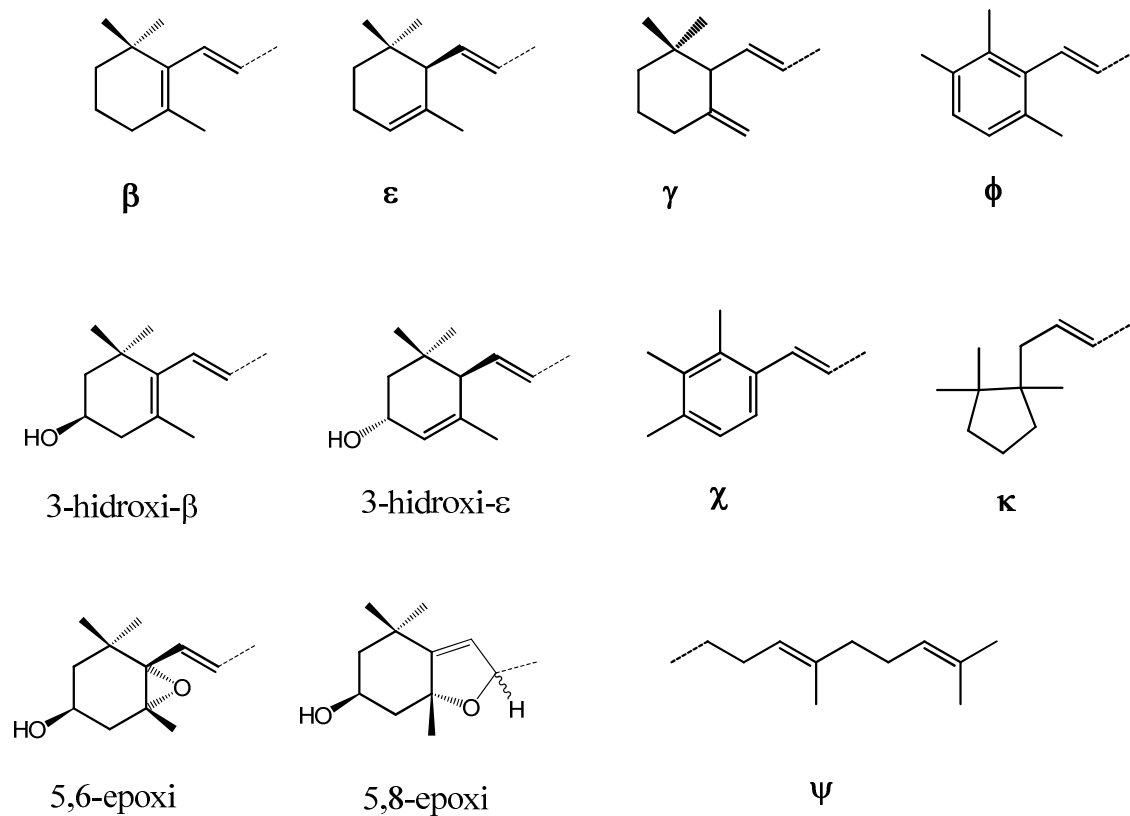


1. ábra. Izoprén egységek kapcsolódása a β -karotinban

A karotinoidok lévén, hogy 8 izoprén egységből épülnek fel, levezethetők a $C_{40}H_{56}$ aciklusos alapvegyületből, a likopinból, mely 11 konjugált kettőskötést tartalmaz. A likopin molekula egyik, vagy mindkét végén különféle végcsoportok kialakulásával származtatható a többi karotinoid is (1. ábra, 2. ábra).¹⁵ A likopinból a gyűrűzáródás típusától függően α -, β -, vagy γ -karotin keletkezik (3. ábra).



2. ábra. A likopin és a β -karotin számozása



3. ábra. Karotinoid végcsoportok

A karotinoidok hidrofóbbok, a hidroxil csoportot tartalmazóak a természetben zsírsav észterként fordulnak elő. Különleges viselkedésük az aggregáció, mely természetes körülmények között is megvalósul, pl. virágszirmokban helikális szupramolekuláris szerkezeteket képeznek.^{16,17,18,19}

2.1. A karotinoidok csoportosítása

A karotinoidok általánosságban két csoportra oszthatók. A karotinszénhidrogénekhez tartoznak az α -, β - és γ -karotin, valamint likopin. A második nagy csoport az oxigéntartalmú xantofillek, melyeket tovább lehet csoportosítani:

- a) karotinoid-alkoholok pl.: lutein, zeaxantin, α -, β -kriptoxantin, alloxantin
- b) epoxidok pl.: violaxantin (zeaxantin *bisz*-epoxidja), neoxantin, kukurbitaxantin
A
- c) ketonok pl.: kapszantin, kantaxantin, echinenon

A karotinoidokat osztályozhatjuk még szénatomszám szerint, szénlánc szerint, a kötés típusa szerint.

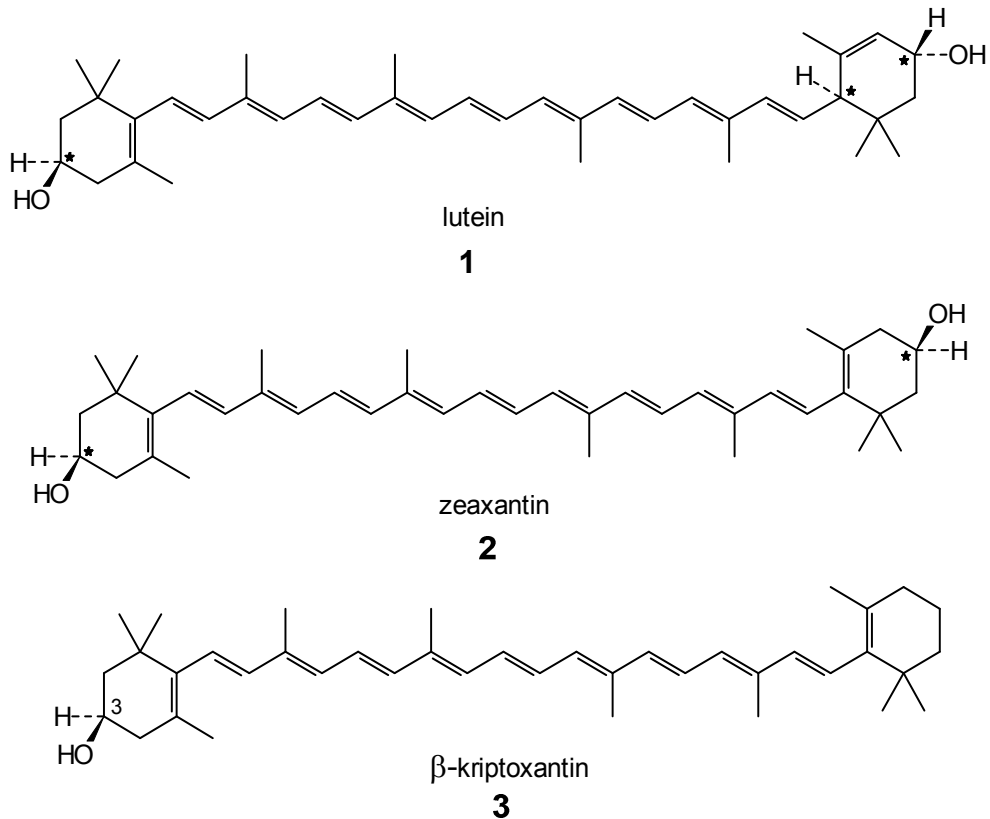
2.2. Néhány fontosabb, illetve általam használt oxigéntartalmú karotinoid közelebbről

A oxigéntartalmú karotinoidok közül a természetben legelterjedtebbek a hidroxivegyületek. Legjelentősebb képviselőjük a régen xantofillnak nevezett lutein (levélxantofill), amely a klorofill állandó kísérője. Olyan karotinoidok is ismertek, amelyek alkoholos hidroxilcsoporton kívül még más oxigéntartalmú csoportot (pl. epoxid-, karbonilcsoportot) tartalmaznak.

A **lutein (1)** ((3*R*,3'*R*,6'*R*)- β,ϵ -karotin-3,3'-diol) és a **zeaxantin (2)** (3*R*,3'*R*)- β,β -karotin-3,3'-diol) (4. ábra) a ciklusos hidroxil C_{40} -karotinoidok közül rendkívül elterjedtek, algákban és magasabb rendű növényekben mind megtalálhatóak. Sok madár tollzatában a tápanyagból származó lutein és zeaxantin lerakódik sárga pigmentként, esetenként olyan származék alakjában, amely a növényvilágban nem lelhető fel. A lutein a tojássárgájában is megtalálható, optikailag aktív, akárcsak az α -karotin. Növényekben gyakran észterei (pl. dipalmitátja) alakjában fordul elő. A zeaxantin az érett kukoricaszem egyik jellegzetes pigmentje, de megtalálható gyümölcsökben, sőt levelekben is. Optikailag aktív, dipalmitátja *Physalis*-fajokban fordul elő.

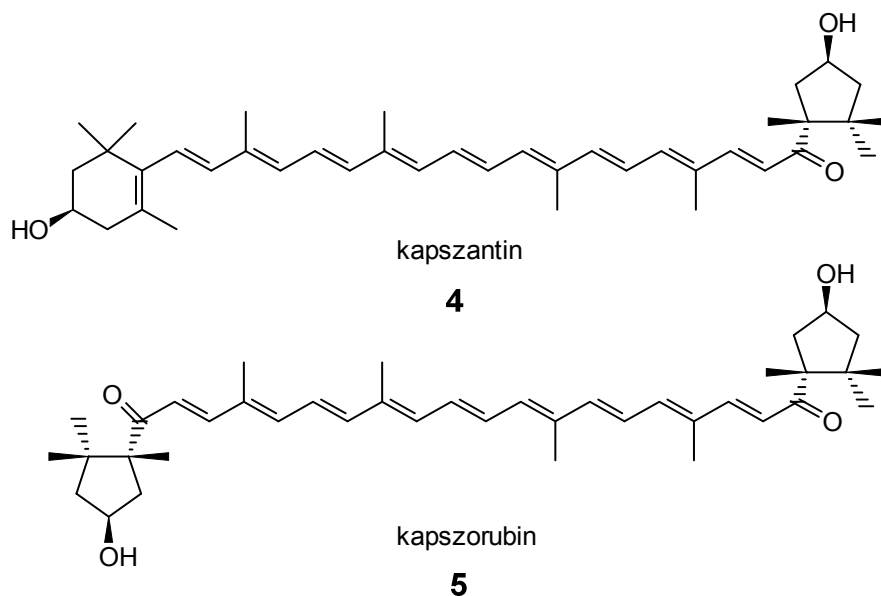
A **β -kriptoxantint (3)** (3-hidroxi- β,β -karotin) (4. ábra) első izolálásakor - *Physalis*-fajok bogyójából- egységesnek vélték, ezért eredetileg görög betűs megjelölés nélkül csak kriptoxantinnak nevezték el. Később megtalálták a sárga kukoricaszemben, tojássárgájában, őszibarackban, pirospaprikában és néhány más növényben is.

Szerkezetfelderítését az segítette, hogy A-vitamin hatása van, míg a zeaxantin és lutein ilyen hatást nem mutat.



4. ábra. Fontosabb hidroxi-karotinoidok

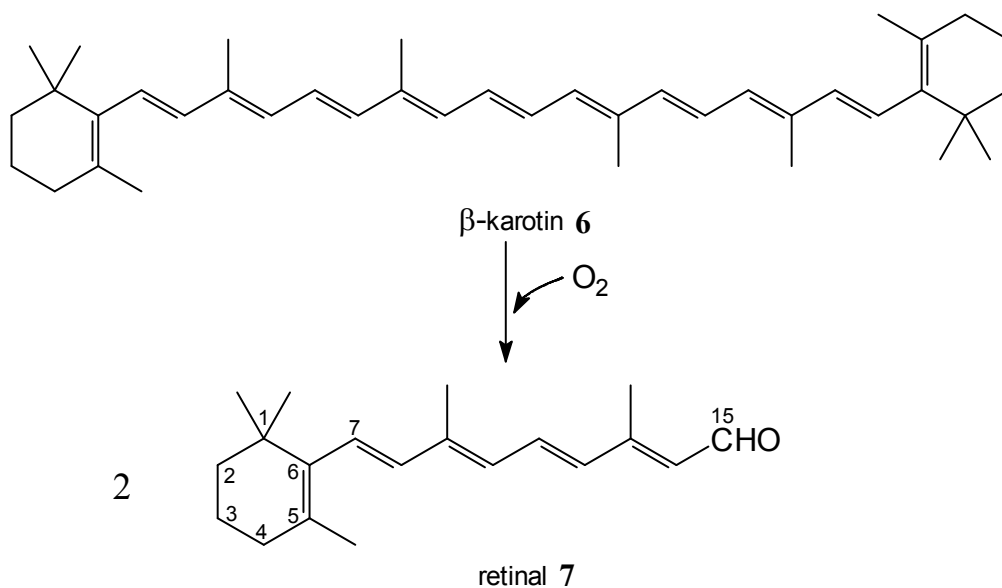
Kapszantin (4) ((3*R*,3'*S*,5'*R*)-3,3'-dihidroxi-β,κ-karotin-6'-on) és **kapszorubin (5)** ((3*S*,5*R*,3'*S*,5'*R*)-3,3'-dihidroxi-κ,κ-karotin-6,6'-dion) (5. ábra) a karbonilcsoportot tartalmazó hidroxi karotinoidok jellegzetes képviselői, a pirospaprika (*Capsicum annuum*) érésekor képződnek. E vegyületek ciklopentán-gyűrűt tartalmaznak mely kevésbé elterjedt a karotinoidokban. A ketocsoport a poliénlánccal konjugálódik és ez okozza a mélyvörös színt.



5. ábra. Karbonilcsoportot tartalmazó karotinoidok

A degradált karotinoidok, vagy apokarotinoidok csoportjába tartozó vegyületek szén lánc rövidebb, kevesebb, mint 40 szénatomot tartalmaznak.

A **retinol (8)** közismert néven A-vitamin, olyan 15-apokarotinoid, mely β -jonon gyűrűt tartalmaz. 4 izoprén egység építi fel, a diterpének egyik legfontosabb képviselője.

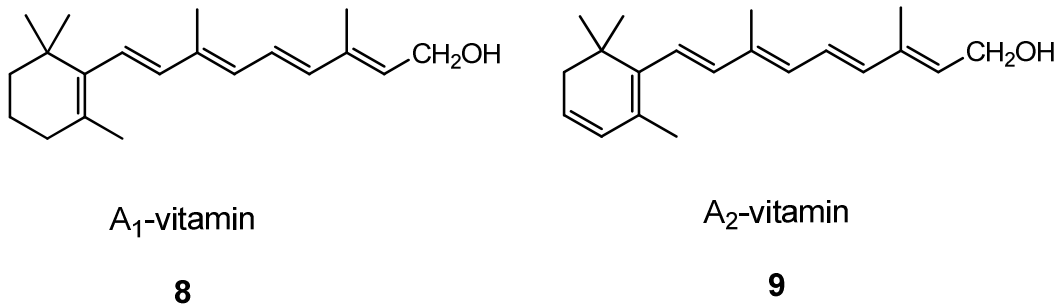


6. ábra. A retinal képződése β -karotinból

Az A-vitamin a növényekben található karotinoidokból keletkezik a tápcsatorna mukózasejtjeiben oxidációs hasítással. A β -karotinból (6) két molekula retinal (7)

képződik, az α -, vagy a γ -karotinból csak egy molekula (6. ábra). A képződött aldehidből redukcióval alkohol, a retinol (8) keletkezik.

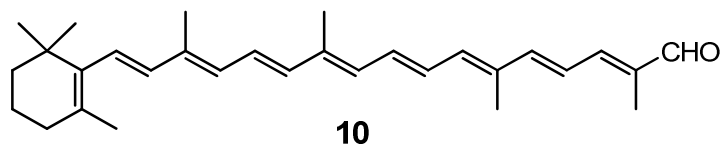
Két alakja közül az A_1 -vitamin (8) a magasabbrendű élőlényekben, az A_2 -vitamin (9) a halak májában fordul elő (7. ábra).



7. ábra. A-vitaminok

A látás élettanában fontos szerepe van, hiánya látási zavarokat (farkasvakságot) okoz. Felszívódásuknak feltétele a jó zsíremésztés, ill. a micellás struktúra differenciálódása. A karotinok felszívódását és A-vitaminná alakulását az epesavak segítik elő. A karotinból felszívódott mennyiség nagyrészt a bélhámsejtekben, illetve a májban alakul A-vitaminná.

8'- β -apokarotinal (10) 6 izoprénegységből felépülő 30 szén atomot tartalmazó karotinoid. Különböző citrusfélélékből izolálták mint kísérő karotinoidot. Redukcióval alakítható át 8'- β -apokarotinollá (24) (8. ábra).



8. ábra. 8'- β -apokarotinal

2.3. A karotinoidok élettani hatásai

A karotinoidok biológiai szerepe részben a fényelnyelő képességükben rejlik. A karotinoidok, mint járulékos pigmentek a fotoszintetizáló szervezetekben az elnyelt

fényenergiát képesek átadni a fotoszintézisben részt vevő festékeknek. Jótékony hatásukat csak növeli, hogy saját fényelnyelésük révén fényvédő hatást fejtenek ki a fotoszintetikus apparátusra, ezáltal védik a klorofillt a fotokémiai oxidációval szemben. Nem fotoszintetizáló szervezeteknél a sejtekben fényvédő szerepet látnak el. E fényvédő hatás kifejtésében döntő szerepe van a karotinoidok kromoforjának és a kettős kötés rendszernél tapasztalható *cisz-transz* izomériának.

Az emberi szervezetben kb. 100-150 mg karotinoid található, ennek 80-85%-a a zsírszövetben és a makulában, 8-12%-a a májban, 2-3%-a az izomban és kb. 1%-a a vérérszékben fordul elő. Az emberi vérérsék fő karotinoidjai a β -karotin (6) (15-30%), α -karotin, β -kriptoxantin (3), likopin, lutein (1), zeaxantin (2). A szervezet sérum karotinoid koncentrációját jelentősen befolyásolják az életkörülmények, ill. különböző stresszhelyzetek. Például kimutathatóan alacsonyabb a karotinoid mennyisége a dohányosoknál, UV-besugárzásnak kitett egyéneknek, szürkehályog és sarlósejtes vérszegénység esetén, valamint koraérett gyerekeknek.

Bizonyított, hogy a karotinoidok antimutagenikus hatással rendelkeznek, kemoprotektív és kemopreventív ágensek rákbetegségek (főleg bőrrák) esetén.^{20,21,22,23,24} A sejtmembránkárosodást okozó szabad gyökök képződését gátolják citoprotektív hatást kifejtve, így antioxidánsként, lipidperoxidációs inhibitorként alkalmazhatók.^{25,26} Módosítani képesek a daganatkeletkezés folyamatát²⁷ és a szív- és érrendszeri elváltozásokat.²⁸ Kapcsolatot találtak a prosztatadaganat kialakulásának valószínűsége és a magas likopinbevitel között,²⁹ míg a β -karotin magas szintje összefüggést mutat a tüdőrák kialakulási kockázatának csökkenésével.^{30,31}

A xantofilok közül a lutein és a zeaxantin védőhatást mutatnak az időskori makula degenerációval szemben.^{32,33}

2.4. A karotinoidok félszintetikus átalakításai

Az 1960-as évekig a karotinoid kémiát főként a természetes forrásból származó karotinoidok izolálása jellemezte. Az 1970-es évektől azonban az izolálás mellett egyre nagyobb mértékben jelentek meg a karotinoidok szintetikus vagy félszintetikus átalakításával foglalkozó kutatások. Napjainkra a karotinoidokkal kapcsolatos kutatásokat főleg biokémiai, dietetikai és élelmiszertudományi vizsgálatok uralják.

A szintetikus munkák két fő csoportra oszthatók, a karotinoidok totálszintézisére és a természetes karotinoidok kémiai módosításaira.

Számos példa található a karotinoidok és izomerjeik totálszintézisére, mint a peridinin és izomerjei, az optikailag aktív fukoxantin és halocintiaxantin, kapszantin (**4**), kukurbitaxantin, kapszorubin (**5**) előállítása, vagy az első optikailag aktív izomer (2S)- β,β -karotin-2-ol szintézise.³⁴ A totálszintézisek során általánosan követett elv a végcsoportok elkészítése, majd azok poliénlánra kapcsolása Wittig-reakciók segítségével.

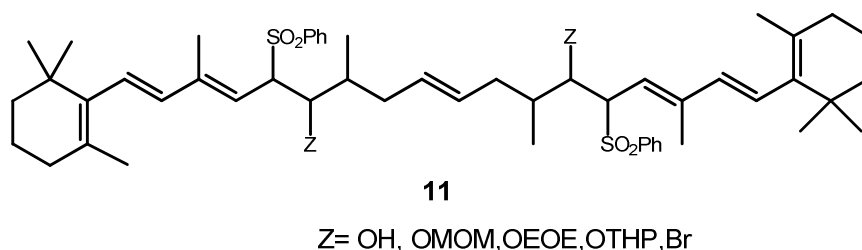
A félszintetikus átalakítások között epoxidálást, redukciót, savkatalizált gyűrűnyitási reakciókat találunk.

Intézetünkben Deli és munkatársai vizsgálták a β -kriptoxantin (**3**) átalakítását 5,6-mono-, illetve 5,6,5',6'-diepoxidokká.³⁵ Foglalkoztak a karpoxantin és a kukurbitaxantin A³⁶ valamint a kapszokarpoxantin és a 3,6-epoxikapszantin³⁷ epimerjeinek félszintetikus előállításával. Az ezekben a kísérletekben előállított vegyületeket elsősorban természetes forrásból izolált karotinoidok szerkezetigazolásához, ill. a bioszintetikus utak feltérképezéséhez használták.^{38, 39}

Pfander és mtsai zeaxantinból (**2**) mono-, ill. diglükozid észtereket állítottak elő.⁴⁰ Karotinoid-glikozidok előállítására a közelmúltban intézetünkben is kidolgoztak egy igen hatékony módszert.⁴¹ Ezek a vegyületek a természetben található ún. termoxantinok mimetikumai.

Lockwood és mtsai asztaxantin borostyánkősav-észtereit állították elő,⁴² továbbá lutein- és asztaxantin észterek gyök elimináló hatását vizsgálták (lásd IV. fejezet).^{43,44}

Előállítottak teljesen újszerű karotinoidokat, például C(11) és C(11') fenil-szubsztituált vegyületeket (**11**), allil-szulfon és 2,7-difenilokt-4-én-dial összekapcsolásával és kétszeres eliminációval (9. ábra).

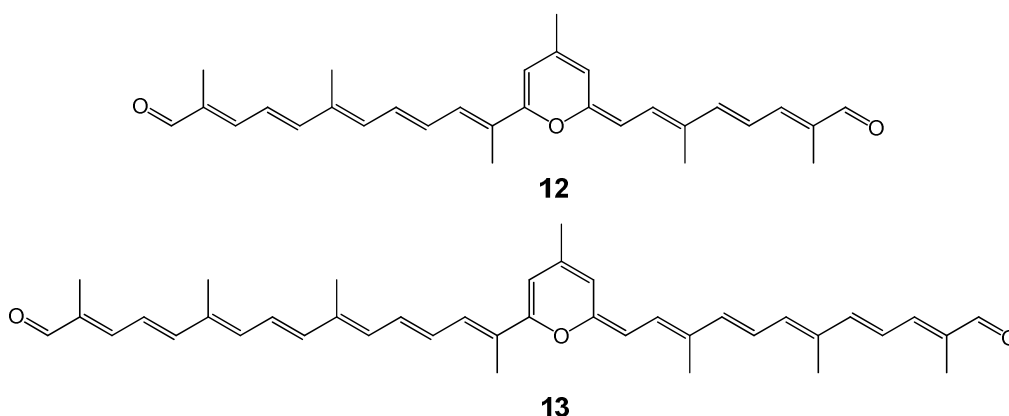


9. ábra. Fenil-szubsztituált β -karotin származék

Ezek a vegyületek kevésbé stabilisak, viszont úttörői lehetnek nanoméretű drótok kifejlesztésének, ugyanis megváltozott vezetési sajátságokkal bírnak a fenilcsoport jelenléte miatt.⁴⁵

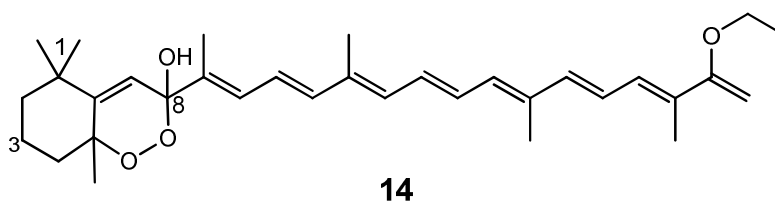
Egyes új likopin metabolitok szerepét igazolták a zsírsavcsereben. A 10'-apolikopin-10'-savat és a 14'-apolikopin-14'-savat a megfelelő *all-transz* izomerekből Wittig és Horner-Wadsworth-Emmons kapcsolással állították elő.⁴⁶ Ezek a metabolitok részt vesznek a zsírsavcsere szabályozásában.⁴⁷ A 10'-apolikopin-10'-sav csökkenti a TNF α gén expresszióját, illetve gátolja a zsírszövetben a magas zsírtartalom által kiváltott gyulladás kialakulását. Továbbá aktiválja a RAR receptorokat (retinoic acid receptors) a zsírszövetben.⁴⁸

Sliwka és mtsai láncközi pirángyűrűt tartalmazó analogont állítottak elő (**12**, **13**) (10. ábra).⁴⁹ A karotinoidok fényelnyelését eltolva nagyobb hullámhosszú (λ_{\max}) tartományokba növelhető a biológiai aktivitás. Ezt megcélözva szintetizáltak a heterociklust tartalmazó karotinoidokat. Pirán gyűrűt iktatva a kettős kötésű láncba batokrómm eltolódást észleltek.



10. ábra. Pirángyűrűk a konjugált láncban

Li He és mtsai közelebbről is megvizsgálták a karotinoidok vas(III)-kloriddal végzett oxidációját. A reakcióidő és a reaktánsok koncentrációjának a változtatásával olyan karotinoidot állítottak elő, mely változtatni tudja a színét (11. ábra),⁵⁰ mintegy kombinálva a karotinoidok és antocianinok tulajdonságait.



11. ábra. Kék színű karotinoid

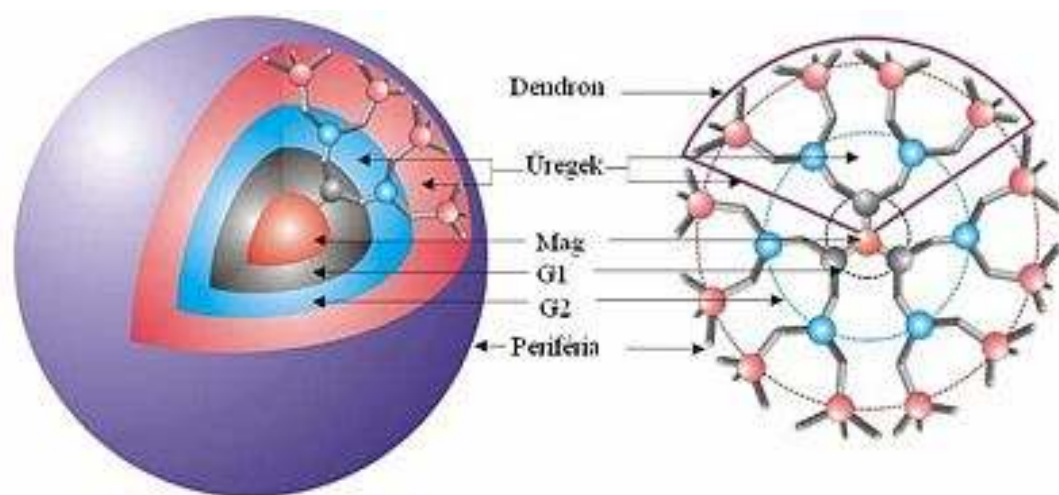
Érdekes eredményeket hozhat karotinoidok kapcsolása flavonoidokkal, mivel mind két vegyülettípus jótékony élettani hatással rendelkezik, összekapcsolásukkal esetleg felerősödött, megváltozott antioxidáns hatást is elérni lehet.⁵¹ Ilyen irányú kísérleteket folytat a düsseldorfi egyetemen Stefan Beutnera és csoportja. Ugyancsak megnövekedett kemoprotektív hatást lehet elérni szeléntartalmú, karotinoidot is tartalmazó triglicerid mimetikumokkal, melyeket Sliwka és mtsai szintetizáltak.⁵² Egyes szintetikus karotinoidszármazékok hatékonyabbnak bizonyultak a szemsejtek védelmében, mint maga a lutein, amely szintén jó fotoprotektív hatással rendelkezik.⁵³

A fent említett példák jól mutatják, hogy karotinoidokkal kapcsolatos szisztematikus szintetikus vizsgálatok ritkák, a legtöbb esetben egy-egy speciális vegyület előállítása a cél. Természetesen ezek az ismeretek is hozzájárulnak a szintetikus karotinoidkémia eszköztárának bővüléséhez, de még valószínűleg sok lehetőség hever kiaknázatlanul.

III. KAROTINOID DIMEREK ÉS TRIMEREK ELŐÁLLÍTÁSA

3.1. A dendrimerekről általában

A dendrimerek nagymértékben elágazó szerkezetű makromolekulák, amelyekben egy központi maghoz ágszerűen kapcsolódnak a szubsztituensek. Az újabb és újabb elágazások jelölik az ún. generációk határait: a makromolekulák egy egyszerű magból épülnek fel, erre rakódik egy-egy újabb generáció. A molekulák növelésével azonban egyre kevesebb hely jut az új generációknak, a reakcióidő növekszik, egyre nehezebb egy újabb generációt beépíteni (12. ábra). Az ágak között különböző (nano)méretű üregek találhatóak, melyek biomolekulák és gyógyszerek szállítására is alkalmasak lehetnek.



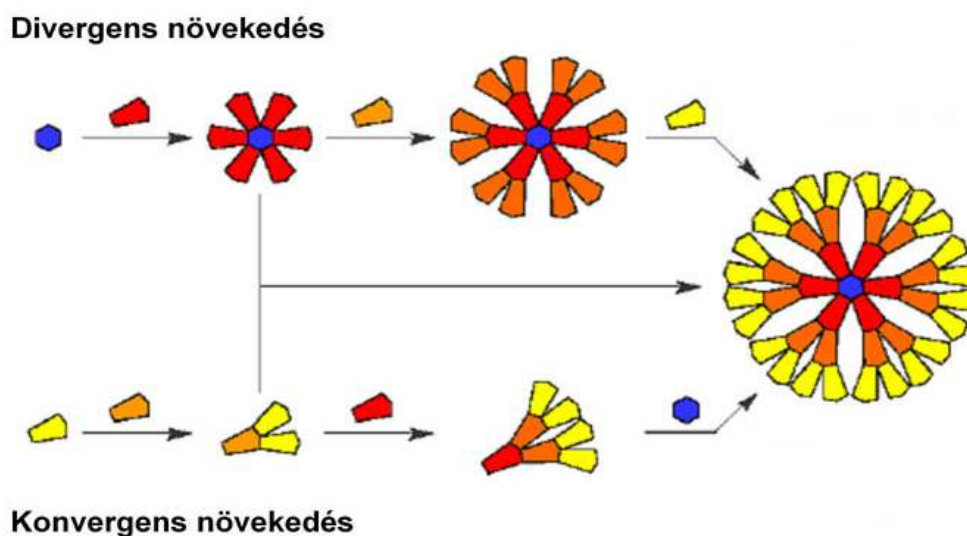
12. ábra. Dendrimer molekula. G₁ – első generáció, G₂ – második generáció

A dendrimerek kutatása az 1970-es években kezdődött, ekkor szintetizálták Vögtle és Tomalia az első dendrimer molekulát.^{54,55} A különleges, elágazó molekulák sok kutatónak felkeltették az érdeklődését, így míg az 1990-es években csak tucatnyi publikációt találhattunk az irodalomban erről a témáról, 2004-ben már több mint 1000 dendrimerekkel foglalkozó cikk jelent meg, ez a szám napjainkra tovább nőtt. A dendrimerek és a dendritikus polimerek kulcsfontosságú pozíciókat töltenek be az új technológiai alkalmazások között. Az első dendrimer alapú gyógyszer 2008-ban jelent meg.^{56,57} A kutatók többféle dendrimeren kísérleteztek: grafitszerű-,

kemilumineszcenciás tulajdonságokkal rendelkező,⁵⁸ optikailag aktív,⁵⁹ fénygyűjtő⁶⁰ (mesterséges fotoszintézis), heteroatomot tartalmazó (Si, P, B, Ge stb.),⁶¹ keresztkötött dendrimerek stb.

3.1.1. A dendrimerek típusai és tulajdonságai

A dendrimerek előállítására két módszer használatos: a divergens és a konvergens módszer (13. ábra).



13. ábra. Divergens módszer és konvergens módszer

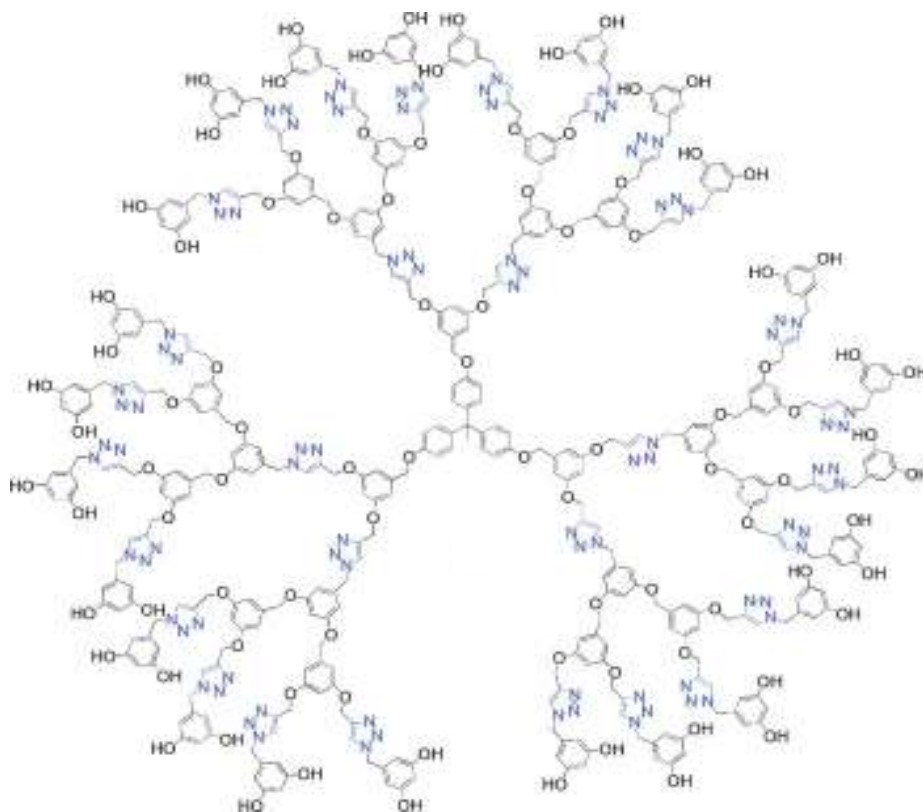
A divergens módszer dendrimerek nagy léptékű előállítására alkalmas, a magtól indítja a szintézist a perifériák felé. A központi mag molekula reakcióba lép olyan monomerekkel, melyek egy reaktív és egy védett csoportot tartalmaznak a dendrimer továbbépítésének céljából. Így jön létre az első generációs dendrimer, majd a védőcsoportok eltávolítása után az így kialakult periférián levő funkcionális csoportok reakcióba lépnek új monomerekkel. Ezeket a folyamatokat a kívánt generáció eléréséig ismétlik. Problémák léphetnek fel azonban a csoportok mellékreakciói miatt, melyek nem tervezett szerkezethez vezetnek. A mellékreakciók megelőzése érdekében nagy feleslegben kell alkalmazni reagenst, ez viszont nehezíti a végső termék tisztítását.

A konvergens módszer a divergens módszer hátrányainak kiküszöbölésére alkalmas. Ennél a módszernél a molekulát visszafelé építik, a külső csoportoktól haladva a mag felé. Amikor az elágazó karok (dendronok) elég hosszúak, egy multifunkcionális maghoz kapcsolják őket. Bár ez az eljárás kevésbé alkalmas ipari termelésre, laboratóriumi célokra kiváló, számos előnye miatt:

- Viszonylag könnyű tisztítani a végső terméket.
- A termék szinte szerkezeti hibák nélkül állítható elő.
- A kívánt csoportokat precízebben el lehet helyezni a molekulán, így javul a tervezhetőség.

Hátránya viszont, hogy nem teszi lehetővé a magasabb generációk előállítását, mert szterikus gátlás léphet fel a dendronok és a mag reakciója során.

A molekula növekedésével a dendrimerek globuláris szerkezetet vesznek fel. A dendronok összesűrűsödnek ahogy a perifériák felé közelítünk, ilyen például az a triazol/benzil-éter dendrimer, melyet Malkoch és mtsai szintetizáltak négy lépésben (14. ábra).⁶² A kritikus elágazási állapot elérésekor a dendrimer növekedése helyszűke miatt megáll. A legmagasabb generációs dendrimerekre a funkciós csoportok magas száma és a belső üregek jelenléte jellemző.⁶³



14. ábra. Egy tipikus dendrimer

A lineáris polimerekkel ellentétben a dendrimerek monodiszperz makromolekulák. A klasszikus polimerizációs módszerek véletlenszerű termékeket eredményeznek, viszont a dendrimerek specifikus szintézismódszerei lehetővé teszik a dendrimerek mérete és molekulatömege feletti ellenőrzést. Molekuláris szerkezetüknek

köszönhetően sokkal jobb fizikai és kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek, mint a lineáris polimerek: oldatban az egyenes polimerláncok kitekередnek, a dendrimereknél, éppen ellenkezőleg, kompakt, gömb alakú szerkezet jön létre. A dendrimer oldatok viszkozitása ezért jóval alacsonyabb, mint a lineáris polimereké. A viszkozitás a negyedik generációnál éri el a maximumát, majd lassan csökkenni kezd, ez a viselkedés nem jellemző a lineáris polimerekre. A molekula felszínén található funkcióscsoportoknak köszönhető a nagyfokú oldhatóság és reakciókészség. A dendrimer oldhatósága nagyban függ ezektől a csoportoktól. A hidrofil csoportokkal rendelkező dendrimerek oldhatóak poláros oldószerekben, a hidrofób csoportokat tartalmazók apoláris oldószerben oldódnak jól. Az alacsony generációs dendrimerek, melyek elég nagyok ahhoz, hogy gömbszerűek legyenek, de nem hoznak létre szoros illeszkedésű rendszert, hatalmas felülettel rendelkeznek a térfogatukhoz képest (akár 1000 m²/g). A dendrimerek néhány nagyon fontos egyedi tulajdonsággal is rendelkeznek a globuláris alaknak és a belső üregeknek köszönhetően. A legfontosabb, hogy más molekulákat zárhatunk ezekbe a cellákba. Meijer és mtsai bengáli vöröst és 4-nitro-benzoosavat helyeztek egy polipropilén-iminben létrehozott „dendritikus doboz” belsejébe.⁶⁴

Biológiai szempontból fontos tulajdonsága a dendrimereknek, hogy megfelelően megválasztott monomer esetén természetes makromolekulákhoz (pl. inzulin, hemoglobin) méretben és formában is nagymértékben hasonló szerkezetek állíthatók elő.

3.1.2. A dendrimerek felhasználása

A dendrimerek szállítóközegként való felhasználása már a kezdetekben felkeltette a kutatók figyelmét, viszont a dendrimert, mint gyógyszeralapanyagot a Starpharma fejlesztette ki 2008-ban. A piacra került termék, a VivaGel, egy vaginális mikrobicid, mely meggátolja a HIV-vel és más szexuális úton terjedő vírusokkal való fertőződést.^{54,65,66,67,68} Ez az első klinikai tesztekre küldött dendrimer alapú gyógyszer. További gyógyászati felhasználásuk lehet sebgyógyulásakor a hegesedő szövet kialakulásának a megelőzésében.⁶⁹

Nemcsak a gyógyszergyártó cégek foglalkoznak dendrimerek felhasználásával, a molekulák diagnosztikus felhasználásban is bizonyítottak, így például a Dade Behring cég Stratus CSTM műszere is dendrimereket használ fel szív- és érrendszeri rendellenességek felderítésére. A mérés során a véráramban keresnek olyan protein

biomarkereket, melyek sérült szívizomra utalnak.⁷⁰ A dendrimereket mint MRI kontrasztanyagokat is előzetes klinikai teszteknek vetették alá.^{71,72,73} Néhány kutatócsoport már készített is gadolíniumionokat tartalmazó dendrimereket. Az előzetes vizsgálatok azt mutatják, hogy a dendrimerek jobb kontrasztanyagok, mint az eddig használtak.

Vizsgálatok folynak a dendrimerek hatóanyag célbajuttatás és más terápiás közvetítőként való alkalmazására is. A dendrimerek képesek a hatóanyagokat a felületükön vagy a belsejükben raktározni. Egyes szíálsav dendrimerek megakadályozzák az emberi szervezetben levő eritociták összetapadását, amit influenzavírussal történő fertőzés idézhet elő.⁷⁴ A dendrimerek hasznos terápiás szerek lehetnek a bakteriális és virális fertőzések megelőzésében. A vízben oldódó dendrimerek képesek szolubilizálni gomba- és baktériumölő tulajdonságokkal rendelkező kisebb, savas, hidrofób molekulákat. A dendrimerek lehetnek nanokapszulázók is, melyek megvédik és elszállítják a különböző hatóanyagokat tetszőleges helyre a szervezetben, vagy akár időzített szerkezetek, melyek megfelelő időben engedik el a biológiailag aktív vegyületeket. A lassú elengedés csökkenti a toxikus hatást. A dendrimerek kitűnő szállítói lehetnek az antitumor gyógyszereknek.⁷⁵

Érthető tehát a dendrimerek iránti nagy érdeklődés. Az egyedi tulajdonságok variálhatósága, a molekulák sokfélesége még számos felhasználási területet rejt. Egyre nagyobb teret hódítanak a legmodernebb technológiák alkalmazásánál.

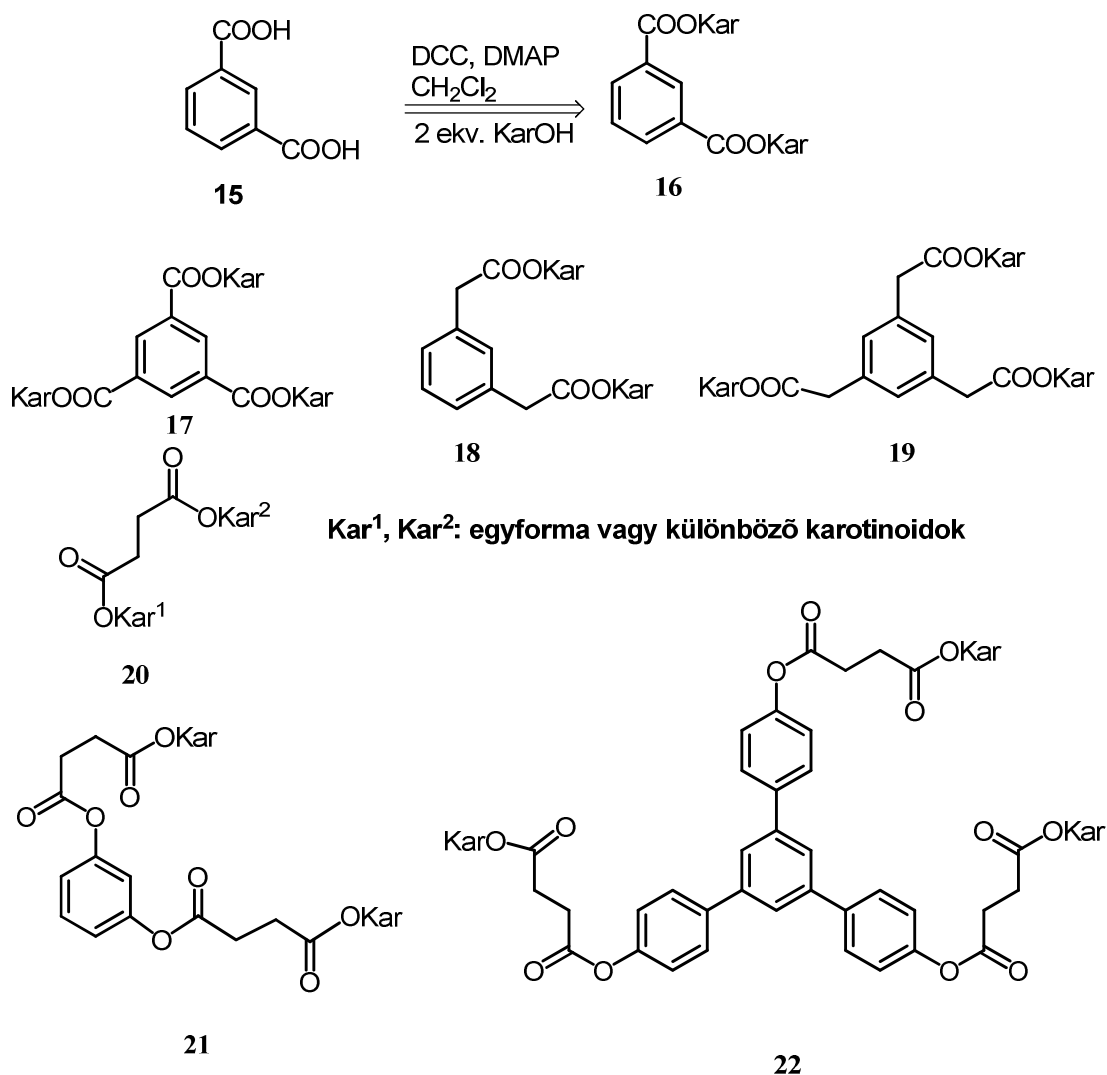
3.2 Saját vizsgálatok - karotinoid dimerek és trimerek előállítása

A karotinoidokat tartalmazó dendrimerek ismeretlenek az irodalomban. A karotinoid dendrimerek már az 1. generációban meglehetősen nagy méretűek lehetnek és mutathatják a dendrimerek előző fejezetben taglalt különleges tulajdonságait. A közös maghoz kapcsolt karotinoidok aggregációs viselkedése szintén érdekes lehet.

Célunk elsősorban karotinoid dimerek és trimerek előállítása volt egyszerű, jól követhető reakcióban. Kísérleteinkben mind hetero-, mind homodimerek, illetve trimerek előállítását is terveztük, olyan egyszerű magokkal, melyek könnyen kezelhetőek és stabil végterméket eredményeznek.

A karotinoidok központi egységhez történő kapcsolására legegyszerűbb módszerként előzetesen az észterképzés vagy az éterképzés mutatkozott. Éterképzési reakcióra hidroxikarotinoidokból gyakorlatilag nincs példa, saját kísérleteink alapján ez nem véletlen, hiszen ezek a reakciók legtöbbször a pigment bomlásához vezetnek és alacsony kitermeléssel mennek, ha egyáltalán izolálható a kívánt termék.

Legegyszerűbben alifás dikarbonsavak észterezésével állíthatunk elő homo- és heterodimereket (**20**). További lehetőség dimerek (**16, 18**) és trimerek (**17, 19**) képzésére az aromás di-, és trikarboxil vegyületek hidroxilcsoportot tartalmazó karotinoidokkal való észterképzése. Ezzel párhuzamosan tervbe vettük a karotinoidok "átfunkcionalizálását" savakká, hogy az így kapott karboxil-csoportot tartalmazó vegyületeket reagáltathassuk hidroxil-csoportot tartalmazó vegyületekkel, úgymint többértékű fenolokkal (**21, 22**) vagy benzil-alkoholokkal. Az ilyen magok használata azért is előnyös, mert lehetővé teszik, hogy a karotinoidok térben közel kerüljenek egymáshoz, így alkalmas alanyai lehetnek különböző aggregációs vizsgálatoknak (15. ábra).



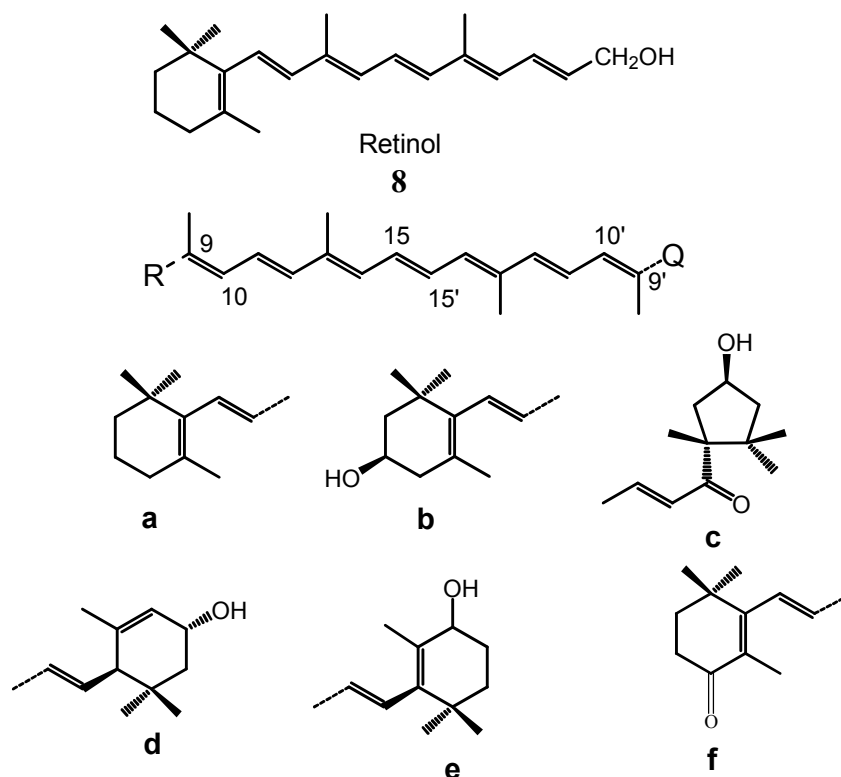
15. ábra. Néhány tervezett dimer és trimer

3.2.1. Karotinoid-szukcinátok előállítása

A kísérleteket alifás karbonsavakkal képzett dimerek előállításával kezdtük, amelyhez először különböző hidroxi-apokarotinoidokat savanhidridekkel reagáltattuk, majd az így kapott monoésztereket (ill. monokarbonsavakat) egy másik hidroxi-apokarotinoiddal észteresítve kaphatunk dimereket.

Kísérleteinkben modellvegyületként eleinte retinolt (**8**), később 8'- β -apokarotinolt (**24**) használtunk, mivel ezek olcsón hozzáférhetőek, illetve könnyen szintetizálhatóak, valamint primer hidroxil-csoportot tartalmaznak, így reaktivitásuk nagyobb a gyűrűs, szekunder hidroxil-csoportot tartalmazó hidroxi-karotinoidokénál. A retinollal elvégzett sikeres kísérleteket más karotinoidokkal is megismételtük, például a szintén egy hidroxilcsoportot tartalmazó β -kriptoxantinnal (**3**) és 4-hidroxi-echinenonnal

(25), ill. a két hidroxilcsoportot tartalmazó luteinnel (1), izo-zeaxantinnal (23), kapszantinnal (4) és zeaxantinnal (2). Ez utóbbi azért is jó választás, mert benne a két hidroxilcsoport szimmetrikusan helyezkedik el (16. ábra).



16. ábra. Kísérleteimben használt karotinoidok

R=a, Q=b: β -kriptoxantin (3); R=Q=b: zeaxantin (2); R=b, Q=d: lutein (1); R=Q=e: izozeaxantin (23); R=b, Q=c: kapszantin (4); R=a, Q=CH₂OH: 8'- β -apokarotinol (24); R=f, Q=e: 4-hidroxi-echinenon (25).

A dimerek előállításához első lépésként az irodalmihoz hasonló módon⁴² disavanhidrid feleslegében észtereztük a karotinoidokat szobahőmérsékleten diklórmetános közegben: az eredmény mono-, ill. diészter lett. Kísérleteinket többféle savanhidriddel is elvégeztük. Az 1. táblázatban látható, karotinoidokat és savanhidrideket használtuk fel a vizsgálataink során.

Kísérleteinket először maleinsav-anhidriddel kezdtük, ahol *cisz* konfigurációjú dimerek jöhetnének létre. Sajnos a maleinsavval végzett kísérletek nem hozták meg a várt eredményeket, azt tapasztaltuk, hogy a retinollal (8) és az izozeaxantinnal (23) is nagyon instabil vegyületek keletkeznek, amelyek már -70 fokon is elbomlanak. Ezért a továbbiakban más karotinoiddal nem végeztük el a reakciókat. Vizsgálatainkat borostyánkősav-anhidriddel folytattuk, mely nem tartalmaz kettőskötést, ekkor mindegyik

vizsgált karotinoid reagált az anhidriddel, és sikerült jó hozamokat elérnünk. A legmagasabb kitermelést a 8'- β -apokarotinollal (**24**) értük el. Az izozeaxantin (**23**) esetében instabil vegyületet kaptunk. Kísérleteinket egy aromás savanhidriddel is elvégeztük. Választásunk a ftálsav-anhidridre esett, mivel így orto-dimereket kaphatunk. A térben fixált szerkezettel a funkciós csoportok közel kerülhetnek egymáshoz, így intramolekuláris aggregáció is kialakulhat. Itt is azt kellett tapasztalnunk, amit előzőleg a maleinsav-anhidridnél is megfigyeltünk: mindkét esetben instabil termék keletkezett, a főtermék valamilyen kis kromatográfiás mobilitású bomlástermék. A kísérleteket megismételtük más oldószerben is. Piridin alkalmazásával kedvezőbb eredményre számítottunk, de sajnos így is ugyanazt az eredményt kaptuk: elbomlottak a termékek minden esetben, még igen alacsony hőmérsékleten is.

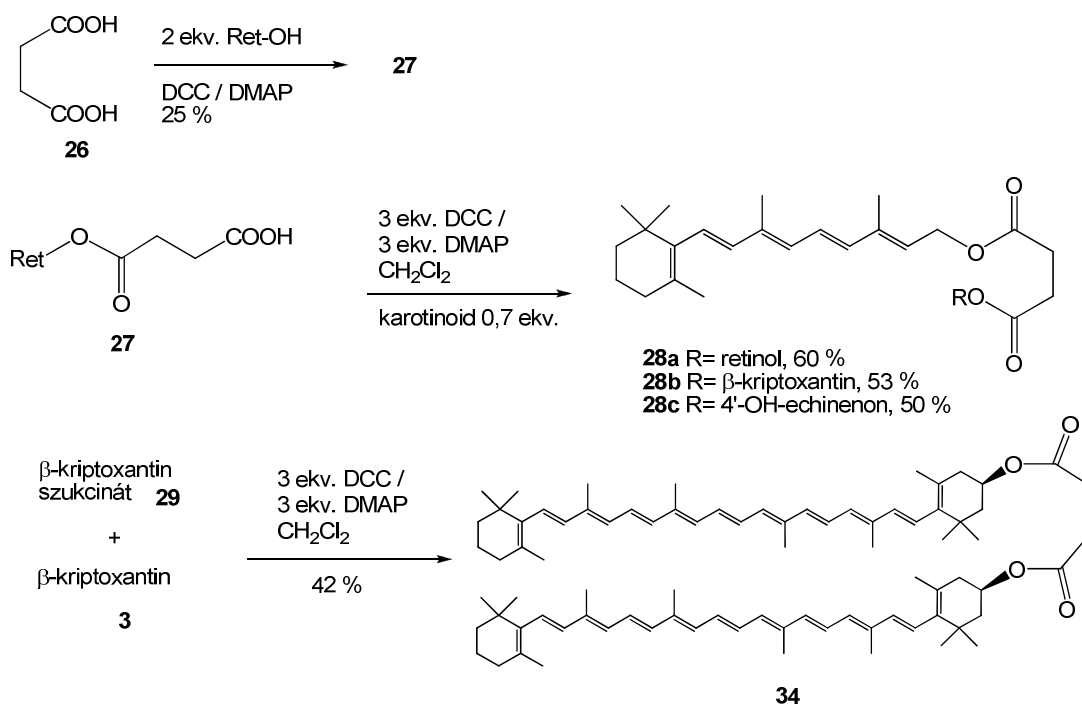
1. táblázat. Karotinoidok észteresítése disavanhidridekkel

Kar-OH v. OH-Kar-OH	$\xrightarrow[\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{DMAP}]{2, \text{ v. } 4 \text{ ekv. disavanhidrid}}$ monoészter v. diészter		
	Maleinsav - anhidrid	Borostyánkősav- anhidrid (26)	Ftálsav- anhidrid
retinol (8)	<i>elbomlott -70 °C-on is</i>	85 % (27 , monoészter)	<i>elbomlott (piridinben is)</i>
izozeaxantin (25)	<i>elbomlott -70 °C-on is</i>	<i>instabil termék</i>	<i>elbomlott (piridinben is)</i>
β-kriptoxantin (3)	-----	78 % (29 , monoészter)	-----
8'-β-apokarotinol (26)	-----	92 % (30 , monoészter)	-----
4-hidroxi-echinenon (27)	-----	72% (31 , monoészter)	-----
zeaxantin (4)	-----	84% (32 , diészter)	-----
lutein (1)	-----	70% (33 , diészter)	-----

3.2.2. Dikarotinoid-szukcinátok (dimerek) előállítása

Az előállított karotinoid-szukcinátokból hidroxilcsoportot tartalmazó karotinoidokkal Steglich-féle észterképzéssel diészterek állíthatók elő. Terveinkben elsődlegesen diciklohexil-karbodiimid (DCC) ill. dimetil-amino-piridin (DMAP) segítségével hidroxikarotinoidok észterezése szerepelt, oldószerként diklórometánt használva.⁷⁶ A DCC (aktív észter kialakítása) és DMAP (erős nukleofil, megakadályozza az aktív észter intramolekuláris átrendeződését) alkalmazása elengedhetetlen, hogy az egyik reaktánst aktívabbá tegyünk, így a karotinoidok számára optimális, viszonylag enyhe körülményeket alkalmazva a reakció lejátszódhat.

Az először előállított karotinoid szukcinát-észtert ugyanolyan körülmények között újabb karotinnal reagáltattuk, így homo-, ill. heterodiésztereket kaptunk. Ezekben a reakciókban sikerült jó kitermelést elérni. Mivel a karotinoidok nagyon érzékenyek, az 50%-os hozamot is sikerként könyvelhetjük el. A reakciót nemcsak apokarotinnal (pl. retinol (**8**)), végeztük el, hanem 40 szénatomot tartalmazó karotinoidokkal is (**28b**, **28c**). Erre példa az előzőleg szintetizált β -kriptoxantin-szukcinát (**29**), melyet β -kriptoxantinnal (**3**) reagáltattuk, így egy homoésztert kaptunk (**34**). A reakció hozama 42% -os volt, ami jónak mondható.



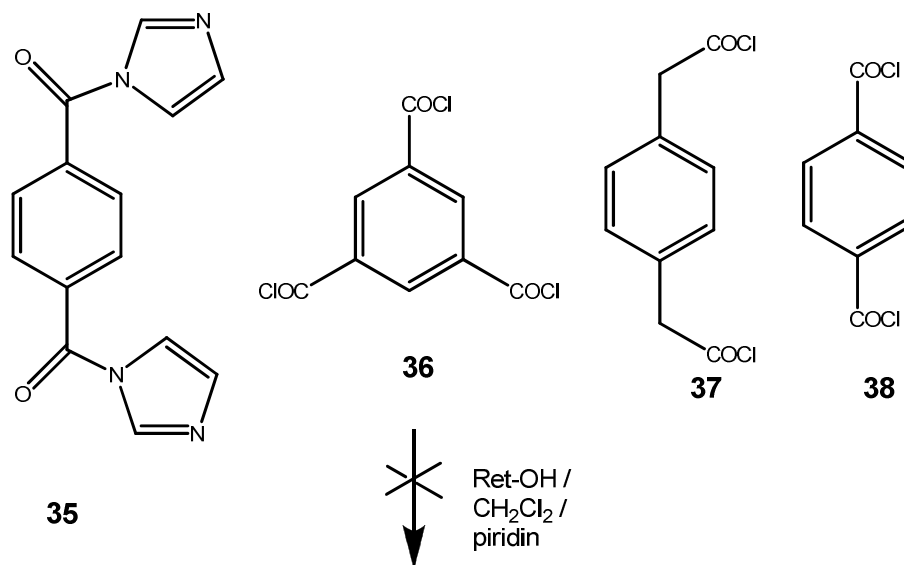
17. ábra. Homo-, és heterodimerek előállítása

Lehetséges a DCC/DMAP/disav reagenskombináció is karotinoid-felesleget alkalmazva. Kísérleteinkben retinol diésztert (**28a**) állítottunk elő borostyánkősavat (**26**) alkalmazva. A kitermelés szerényebb volt (25%), mint a kétlépéses módszernél (51%), ezért más esetekben nem alkalmaztuk ezt az eljárást (17. ábra).

3.2.3. Karotinoid dimerek és trimerek aromás magokkal

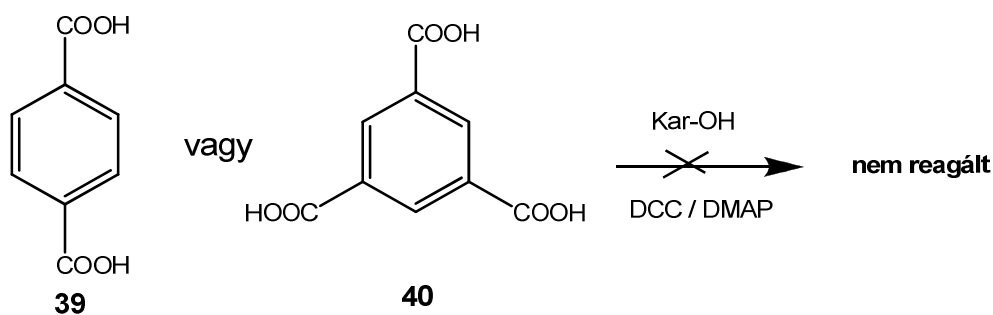
A diészterek szintézise után aromás karbonsavakkal és alkoholokkal kísérleteztünk dimerek és trimerek előállítására. Ezek a molekulák már 1. generációs dendrimereknek tekinthetők, molekulatömegük az 1000-2000 Da nagyságrendbe esik.

Először a kereskedelemben kapható aromás savkloridokat (**36**, **37**, **38**) próbáltuk észteresíteni, sajnos eredménytelenül. Hasonló módon a **35** aktív észter sem váltotta be a hozzá fűzött reményeket, bomlás és rossz kitermelés volt a reakciók eredménye (18. ábra).



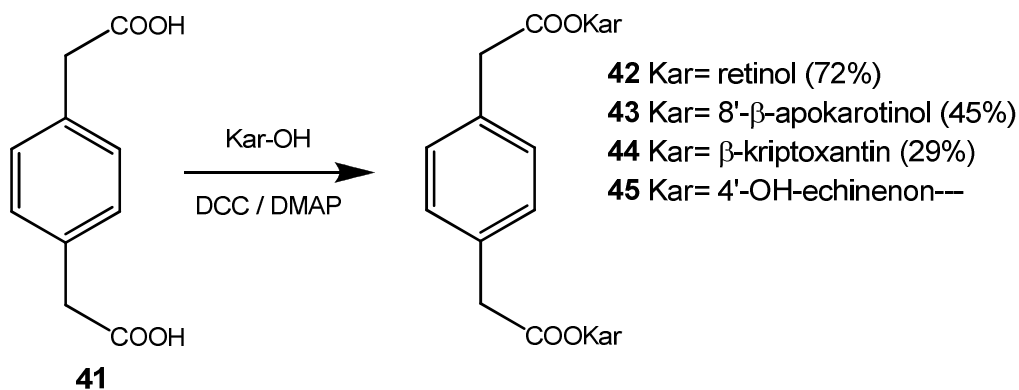
18. ábra. Néhány lehetséges mag

Terveztük aromás di-, és trikarbonsavak (19. ábra, **39**, **40**) magként való alkalmazását is, a kísérletek viszont nem vezettek eredményes reakcióhoz. Ez valószínűleg sztereoelektronikus és/vagy szterikus okokra vezethető vissza. A kapcsolási kísérleteket ezekben az esetekben is DCC-vel végeztük, valamint a Mitsunobu-reakciót is kipróbáltuk, de azzal nem kaptunk jó eredményeket.



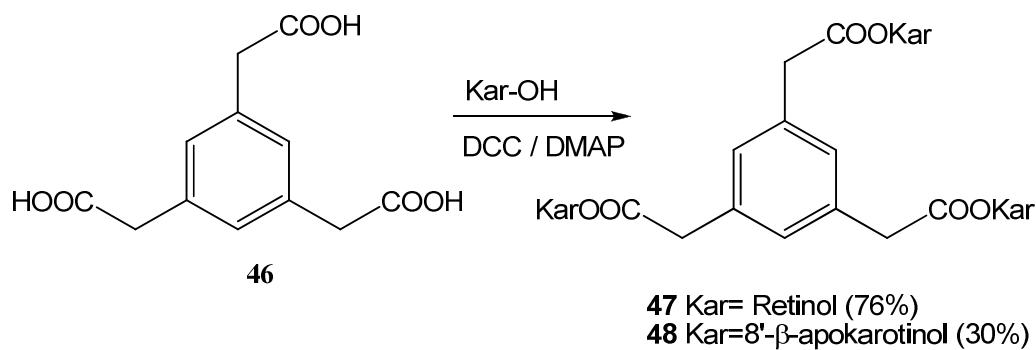
19. ábra. Kísérletek aromás di-, és trisavakkal

Aromás diecetsavak (20. ábra, **41**) használatával viszont már végbement a kívánt átalakulás. A retinollal (**8**) végzett reakciónál 72%-ban képződött homo-diészter (**42**), apokarotinollal (**43**) 45%-os és β -kriptoxantinnal (**44**) 29%-os kitermelést értünk el, a 4-hidroxi-echinenonnal (**45**) viszont nem keletkezett észter izolálható mennyiségben.



20. ábra. Kísérletek aromás diecetsavakkal

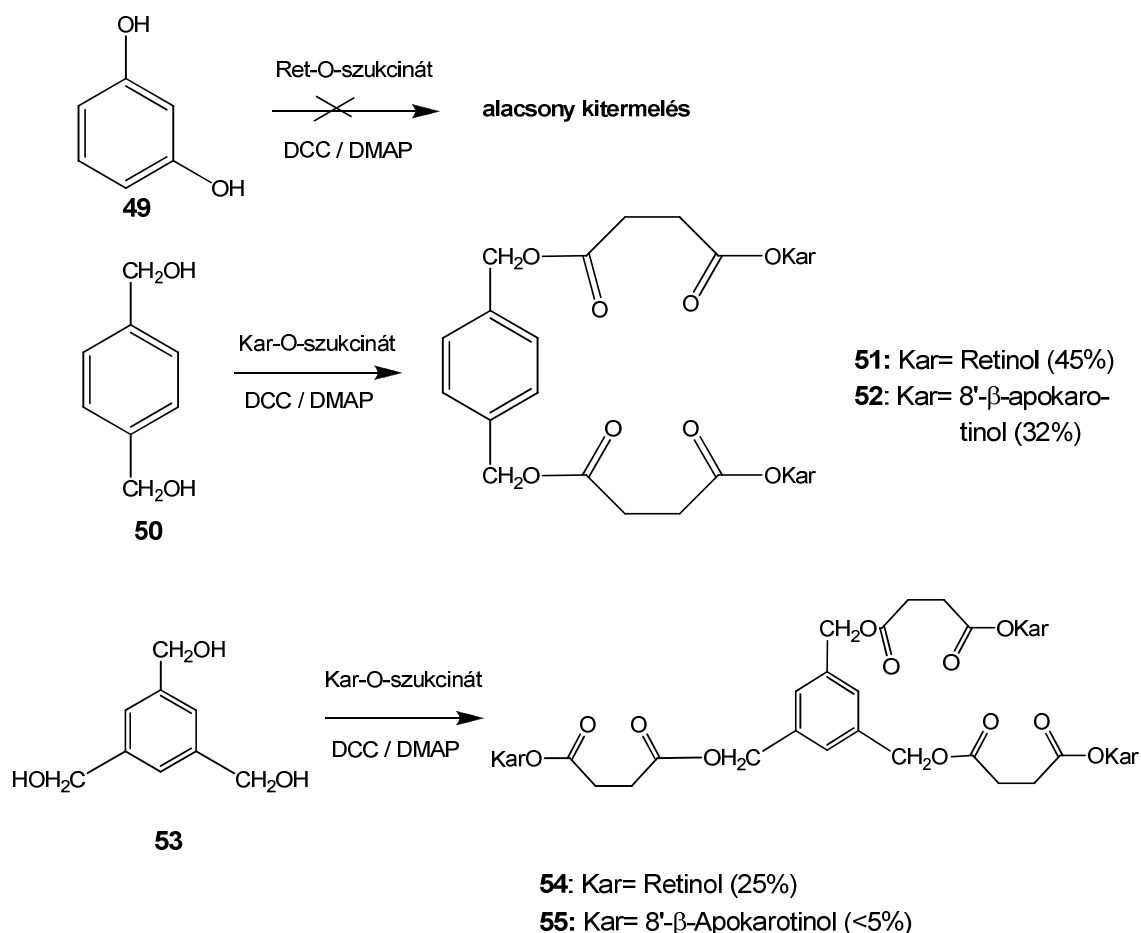
Triecetsavval (21. ábra, **46**) próbálkozva retinol ill. 8'- β -apokarotinol triésztert (**47**, **48**) állítottunk elő jó hozammal. A többi karotinoid esetében nem kaptunk értékelhető terméket.



21. ábra. Kísérletek aromás triecetsavakkal

Fenolos funkciós csoportot tartalmazó magokkal (22. ábra, **49**) reagáltatva a retinol-szukcinátot (**27**) csak nagyon alacsony kitermeléssel keletkezett termék. Viszont aromás alkoholokkal, mint az 1,4-diollal (**50**) jó hozamot tudtunk elérni retinol- (**51**), és 8'- β -apokarotinol-szukcináttal is (**52**). Érdekesség viszont, hogy az 1,3,5-triollal (**53**) (melyet 1,3,5-benzol trikarbonsavból állítottunk elő két lépésben) bár azonos körülményeket alkalmaztunk a hozam igen alacsony lett mind retinol- (**54**), mind β -apokarotinol-szukcináttal (**55**).

Teljes (C₄₀) karotinoidokat, vagy azok szukcinátjait feleslegben alkalmazva a fentiekhez hasonló reakciókban nem képződtek a termékek izolálható mennyiségben.



22. ábra. Kísérletek aromás alkoholokkal, fenolokkal

Az elvégzett kísérletek alapján megállapítható, hogy aromás magok esetén valószínűleg sztereoelektronikus okokból szükséges legalább egy metilén-csoport, mint összekötő, enélkül nem tapasztalható átalakulás, és a kitermelések több esetben meglehetősen szerények.

A dendrimerek előállítására irányuló kísérletek tehát az alábbi eredménnyel zárultak: apokarotinolokból sikerült 1. generációs dendrimereket előállítani, de ezek

tovább már nem bővíthetők. A külső végükön szabad funkciós csoportot tartalmazó trimerek szintézise (dihidroxi-karotinoidokból) viszont nem járt eredménnyel.

Néhány származékkal *in vitro* antioxidáns teszteket végeztünk, az eredményeket más molekuláékéval együtt a következő fejezet végén elemezzük.

IV. Karotinoid-PEG konjugátumok

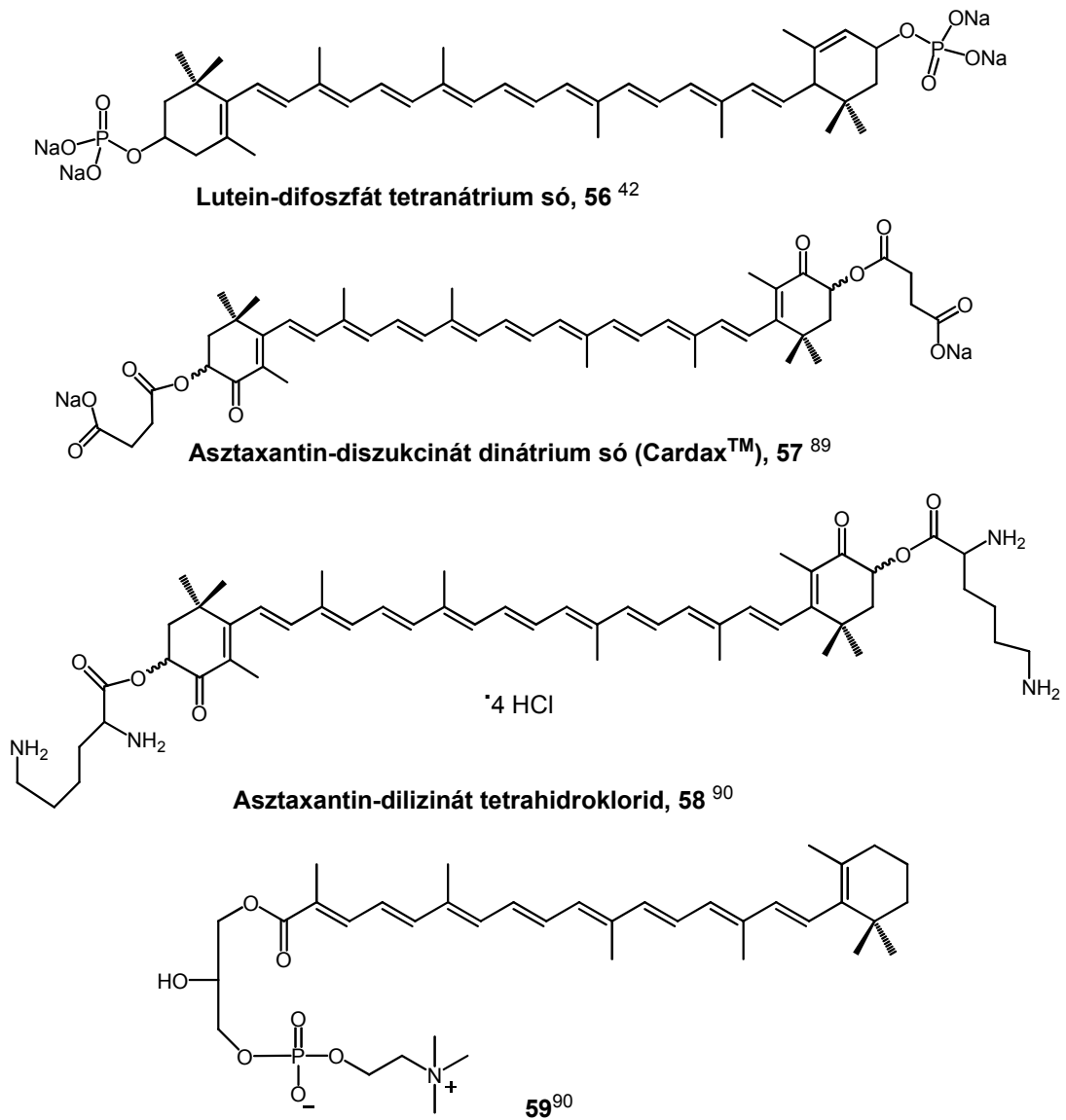
4.1. Hidrofil karotinoidok

A hidroxil csoportot tartalmazó karotinoidok a természetben általában zsírsavval észteresített formában fordulnak elő, hosszú szénláncuk miatt hidrofób vegyületek. A tápcsatornából való felszívódásukat nagyban javíthatja, ha belőlük vízoldható származékokat készítünk. Az alábbiakban röviden összefoglalom az irodalomban található ezzel kapcsolatos munkákat.

A ciklodextrinek (CD) csonka kúp alakú, kívül hidrofil, belül hidrofób üreget tartalmazó, biokompatibilis oligoszacharidok, melyeket széleskörűen alkalmaznak a kromatográfiában, a környezeti kémiában, továbbá mint élelmiszeradalékot és komplexképző ágenst. A CD-ket egyszerűen karotinokkal összekeverve szolubilizáló szerként használták.^{77,78,79,80} 2000-ig nem jelent meg olyan közlemény, amely fényt derített volna a CD-k és karotinoidok közti kölcsönhatásra. Később azt találták, hogy gyűrűs véget nem tartalmazó karotinoidok (pl. likopin, bixin) 1:1 arányú zárványkomplexet képeznek a CD-el, és ezekben a komplexben a karotinoidok kevésbé bomlékonyak, mint szabad formában.^{81,82,83,84,85,86} A gyűrűs végcsoport ugyan nem fér be a CD-k apoláris üregébe, de 3-4 CD molekula körbeveszi a végcsoportot és oda másodlagos kölcsönhatásokkal kötődik. Számos CD-karotinoid kombinációt kipróbálva a legjobb eredményt a véletlenszerűen metilezett β -CD (RAMEB) komplexekkel érték el kapszantin, kapszorubin vagy lutein felhasználásával.⁸⁷ Ezeknek a nanokapszulázott karotinoidoknak az a legnagyobb hátránya, hogy csak magas (95%) CD koncentráció mellett tarthatók komplexben és tehetők vízoldhatóvá a karotinoidok. A CD-komplexek vizes oldatai viszont hosszú időn át stabilak maradnak, tehát nincs aggregáció, és a komplexképzés nem pH-függő. A RAMEB-lutein komplex- szel végzett élettani vizsgálatok szerint a CD elősegíti a lutein beépülését az idegsejtekbe.⁸⁸

Más típusú megközelítést jelentenek a kovalens módosítások. Az irodalomban igen kevés példa található ionos, sószerű anyagok előállítására. Ilyen típusú származékok például a lutein és az asztaxantin diszukcinátjai (**57**),^{42,89} difoszfát- és aminosav-származékai (23. ábra).⁹⁰ Ezek a vegyületek orvosi, gyógyszerészeti szempontból is jelentősek, az asztaxantin-diszukcináttal (**57**, *Cardax*[®]) már klinikai 3. fázisú vizsgálatok folynak szív- és érrendszeri megbetegedések kezelésére. Ezeknek a

származékoknak a vízoldhatósága meglehetősen jó, 5-180 mg karotinoid/ml víz között változik, a legjobb a dilizinát-tetrahidroklorid (**58**) sóé.



23.ábra. Néhány vízoldhatóbb karotinoid

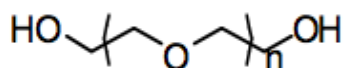
A közelmúltban Sliwka és mtsai olyan új kationos karotinoid foszfolipideket állítottak elő, amelyben egy kvaterner ammónium só felelős az amfipatikus karakterért.^{91,92,93,94} Előállítottak aldoxim és ketoxim-hidrokloridokat is oxokarotinoidokból, ezek korlátozott mértékben diszpergálhatók voltak vízben.⁹⁵

Az említett vegyületek antioxidáns és aggregációs sajátságait is vizsgálták a fenti cikkekben, és egyes hidrofil származékoknál megnövekedett antioxidáns aktivitást találtak.⁹⁶

4.2. A polietilén-glikol (PEG)

A polietilén-glikol (PEG) (vagy polietilén-oxid, PEO) olcsó, semleges, vízdoldható, biológiailag kompatibilis, az FDA (Food and Drug Administration) által engedélyezett polimer, így valószínűleg a legszélesebb körben alkalmazott szintetikus poliéter vegyület.⁹⁷ A rövid etilén-glikol származékok toxikusak lehetnek, mint pl. az etilén-oxid és az 1,4-dioxán.⁹⁸ A PEG-ok a molekulatömegüktől függően lehetnek folyadékok vagy alacsony olvadáspontú szilárd vegyületek.

A PEG-ok meglehetősen sokfélék, különbözhetnek a polimerek hosszúságában, molekulatömegükben és fizikai tulajdonságaikban is (pl. viszkozitás), a kémiai tulajdonságaik viszont közel azonosak. A PEG-ok az alábbi általános képlettel írhatóak le:



Lévén a PEG-ok általában polimerek keverékei, pontos molekulatömegük nem adható meg, így az átlagos molekulatömeget használjuk, melyet közvetlenül a képlet után tüntetünk föl (pl. PEG-350). A polietilén-glikolok jól oldódnak poláris és apoláris oldószerekben is, mint vízben, metanolban, benzolban és diklór-metánban, viszont nem oldódnak hexánban és más alifás szénhidrogénekben.

4.2.1. A PEG-ok általános tulajdonságai

A PEG-ok oldódnak szerves oldószerekben és vizes közegben egyaránt, így segítik enzimek és bioaktív vegyületek oldódását szerves oldószerekben és vízben. A monomerek számának a növekedésével a PEG-ok toxicitása is csökken, $M_r > 1000$ esetén már egyáltalán nem károsak az élő szervezetre. Mivel sejtarát, immunválaszt sem indukál az élő szervezetbe juttatva, a PEG ugyanígy csökkenti a vele kapcsolt fehérjék, peptidek és más bioaktív vegyületek antigén hatását. Nem biodegradábilis, valamint a kiválasztódása az élő szervezetben meglehetősen lassú, ezáltal jelentősen megnövelheti a vele kovalensen kapcsolt molekulák fiziológiai hatását. Stabilizálja a bioaktív molekulákat, valamint a PEG-gel kapcsolt liposzómák, nanorészecskék proteinek felezési idejét megnöveli a vérben, és felvételét az endoplazmás retikulumba (RES), csökkenti a bioaktív anyag máj és a lép által való lebontását. Aggregációs

vizsgálatokhoz is használható, tömény oldatokban sejtegyesülést eredményezhet. A PEG-t alkalmazzák fehérjék és nukleinsavak reverzibilis kicsapására. Kiváló vivőanyagai lehetnek gyógyszermolekuláknak, ugyanis kovalens konjugátumai endocitózis által képesek a sejtmembránon áthatolni, hogy elérjék az intracelluláris célpontot.⁹⁸

4.2.2. A PEG-ok felhasználása

A polietilén-glikolok és a metoxi-polietilén-glikolok felhasználása igen széleskörű, lévén, hogy nem toxikusak, túlnyomóan élelmiszer-, gyógyszeripari és biotechnológiai felhasználásra készülnek.

Számos iparág alkalmazza felületaktív anyagként, mint pl. az élelmiszer-, kozmetikai és gyógyszeripar. Biológiai és orvostudományban elterjedt diszpergáló közeg. Oldószerként, vivőanyagként, kenőcsök és kúpok alapanyagként, tabletták adalékanyagaként hasznosítja a gyógyszeripar és a biotechnológia. A PEG önmagában hashajtóként is alkalmazható.

Olyan gyógykezeléseknél ahol a hatóanyag nehezen szívódik fel a szervezetben, illetve nehéz eljutni a célszervig, használhatnak PEG-gyógyszerkonjugátumokat megnövelve a kezelés célzottságát és sikerességét. Ezt az eljárást alkalmazták már a neutropénia és hepatitis C kezelése során is.^{99,100,101,102} Továbbá így könnyítik meg a számos kis molekulatömegű farmakon aktív peptid fehérje és genetikai anyag célba jutását.

Egyes PEG-konjugátumok antitumor hatást mutattak kísérleti állatok esetében, de az emberi szervezetre gyakorolt ilyen típusú hatásvizsgálatok még egyelőre gyerekcipőben járnak.

4.2.3. A PEGilálás

A PEGilálás során kovalens kötéssel kapcsolnak polietilén-glikolt különböző molekulákhoz (pl. proteinhez, gyógyszerhez, örökítőanyaghoz), így fokozva annak aktivitását. Számos példát találunk az irodalomban az így készült gyógyszerek jótékony hatásáról.^{103,104}

A kovalens kapcsolással javul a hidrofób gyógyszerek, szerves (makro)molekulák vízdoldhatósága. A kapcsolás révén létrejövő fizikai és kémiai változások (mint pl. konformáció, elektrosztatikus tulajdonságok, hidrofilitás) képesek

növelni a terápiás hatóanyag tartózkodási idejét a szervezetben. A kovalens kapcsolat elfedheti a hatóanyagot a gazda immunrendszerétől (csökkenti az immunogenitást és antigenitást) ezáltal meghosszabbodik a hatóanyag keringési ideje, csökken a veseürítés.

A PEGilálás során azon kívül, hogy növeljük a molekula tömegét, néhány jelentős farmakológiai előnyre is szert tehetünk.^{96,97,104}

1. növekszik a gyógyszer oldhatósága szerves oldószerekben vagy vizes oldatban
2. a gyógyszeradagolás gyakoriságát csökkenthetjük, anélkül, hogy hatékonysága romlana
3. hosszabb keringési időtartam
4. növeli a gyógyszerek stabilitását
5. stabilizálja a fehérjék és bioaktív anyagok fiziológiai mutatóit

Ma a piacon kapható PEGilált peptid-, ill. fehérjealapú gyógyszerek nagy része irányított mutagenézissel vagy kémiai módosítással készült, és ezáltal megnövelt stabilitással, szelektivitással vagy nagyobb hatásfokkal rendelkezik. Ilyen például a PEGademáz, az adenozin-deamináz enzim PEG-gel kapcsolt formája. Ebben a fehérjében a lizin-oldalláncokhoz polietilén-glikol alegységek kapcsolódnak kovalens kötéssel. Ez a kovalens módosítás tízszeresére, vagy még nagyobbra növeli a fehérje *in vivo* felezési idejét.^{105,106,107}

Polimerekhez (így a PEG-hez is) fehérjék, ellenanyagok, enzimek, citokinek is köthetők, ezáltal célzott terápiára van lehetőség. A konjugátum kialakításával a hatóanyag toxicitása csökkenthető, a sejtek gyógyszerrezisztenciája pedig kikerülhető. A sejtekbe pinocitózissal kerülhetnek, a gyógyszer a hordozóról a sejten belüli pH, illetve enzimek hatására hasad le. A polimerek jelentős része a sejten belül degradálódik, illetve exocitózisra kerül. Ezek alapján remény van arra, hogy molekuláris szinten szelektív, kiváló hatóanyagok, amelyek farmakokinetikai tulajdonságaik miatt estek el a további fejlesztéstől, a jövőben felhasználhatók lesznek pl. daganatok elleni küzdelemben.⁹⁵

4.2.4. A PEG-konjugátumok típusai

A PEGiláláshoz felhasználható PEG-származékokat többféleképpen csoportosíthatjuk. Fontos, hogy a PEG-polimer egyik vagy mindkét végén alkalmas-e a funkcionálizálásra. Ha mindkét végén ugyanolyan aktivált funkciós csoporttal rendelkezik, akkor a PEG homobifunkcionális. Ha a két végcsoport eltér egymástól, akkor a PEG származék heterobifunkcionális, vagy heterofunkcionális.

Első generációs PEGilálásról beszélünk, ha a polietilén-glikol reaktív savszármazékokkal reagál, ilyen molekulák pl. az anhidridek, savkloridok, karbonátok. Második generációról beszélünk, ha a PEG-gel reagáló molekulák a következők: aldehidek, észterek, amidok, stb. A harmadik generációs PEGilező reagensekben a polimer elágazó, esetleg Y vagy fésű formájú, emiatt csökkent viszkozitást mutatnak, valamint a szövetekben nem halmozódnak fel.

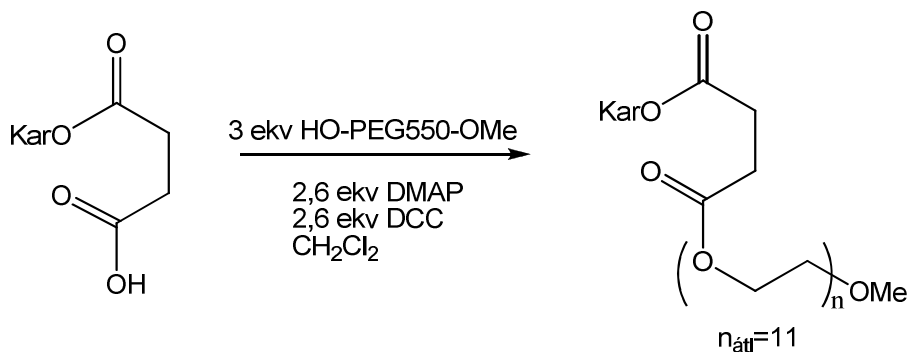
4.3. Saját vizsgálatok karotinoid-PEG konjugátumok előállítására

Számos biomolekulának (elsősorban peptidnek) állították már elő polietilén-glikollal (PEG) képzett konjugátumát,^{108,109} azonban kovalensen kötött PEG-karotinoid konjugátumokat korábban nem szintetizáltak. Az irodalomban található leírásokat karotinoid-PEG diszperziók készítésére, melyek a pigmentek biológiai hozzáférhetőségét hivatottak javítani.¹¹⁰ A PEG-konjugátumok kétségtelen előnye, hogy kevésbé változtatják meg az ozmotikus homeosztázist, mint az ionos vegyületek (pl. a 3.1. részben említettek), továbbá a PEG-konjugátumok vízdoldhatósága nem pH-függő. Ha a PEG rész – fiziológias körülmények között – viszonylag könnyen hidrolizálható kötéssel kapcsolódik a karotinoidhoz, akkor a PEG egyszerűen a karotinoid rész indifferens, poláros célbajuttató egységeként funkcionálhat.

Célunk tehát az volt, hogy kovalensen kötött PEG-karotinoid konjugátumokat állítsunk elő és vizsgáljuk a termékek vízdoldhatóságát. A korábban előállított szukcinátok felhasználása kézenfekvőnek tűnt, a PEG-ok hidroxilcsoportjával elvileg egyszerűen észterezhetőek. Vizsgálatainkhoz mono- és bifunkcionális PEG-okat is használtunk, ahogy azt a következő részben részletesen tárgyaljuk.

4.3.1. Karotinoid konjugátumok mPEG550-el

A feleslegben használt monofunkcionális polietilén-glikolt (PEG550-OMe, mPEG-550) észtereztük az előzőleg előállított karotinoid-szukcinátokkal (**27**, **29**, **30**, **31**) szobahőmérsékleten. A Steglich-féle eljárást alkalmazva, mint ahogy a dimereknél is tettük,¹¹¹ dimetil-aminopiridint (DMAP) és diciklohexil-karbodiimidet (DCC) használtunk, így a kívánt termékeket elfogadható hozammal sikerült előállítani (24. ábra).



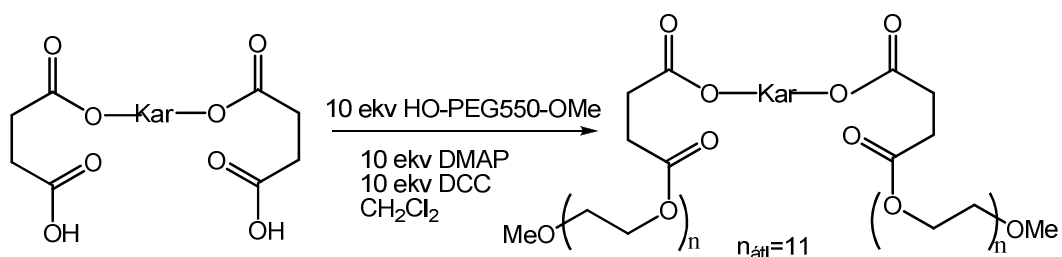
27 Kar: retinol
29 Kar: β -kriptoxantin
30 Kar: 8'- β -apokarotinol
31 Kar: 4-OH-echinenon

60 Kar: retinol (52%)
61 Kar: β -kriptoxantin (45%)
62 Kar: 8'- β -apokarotinol (37%)
63 Kar: 4-OH-echinenon (20%)

24. ábra. PEG-karotinoid konjugátumok előállítása

A termékeket a karotinoidok bomlása okozta melléktermékektől preparatív rétegekromatográfiával választottuk el. Maga a karotinoid-PEG konjugátum sem egy egységes termék, hiszen polimer keveréket használtunk. A diverzitása jól észrevehető a kromatogramon, melyen különböző, de egymáshoz közel levő sávokban jelenik meg. Ez viszont nem okozott gondot az elválasztás során, lévén a kiindulási anyagokhoz képest a termék polaritása jóval nagyobb. A **62**-as terméket előállítottuk mPEG550-szukcinát és 8'- β -apokarotinol reakciójával is, hasonló kitermeléssel, mint a fenti úton.

Karotinoid diszukcinátok esetén ugyanazon reakciókörülményeket alkalmazva a diszukcinát mindkét végéhez észterkötéssel tudtuk kapcsolni a mPEG550 polimert jó kitermeléssel (25. ábra, **64**, **65**).



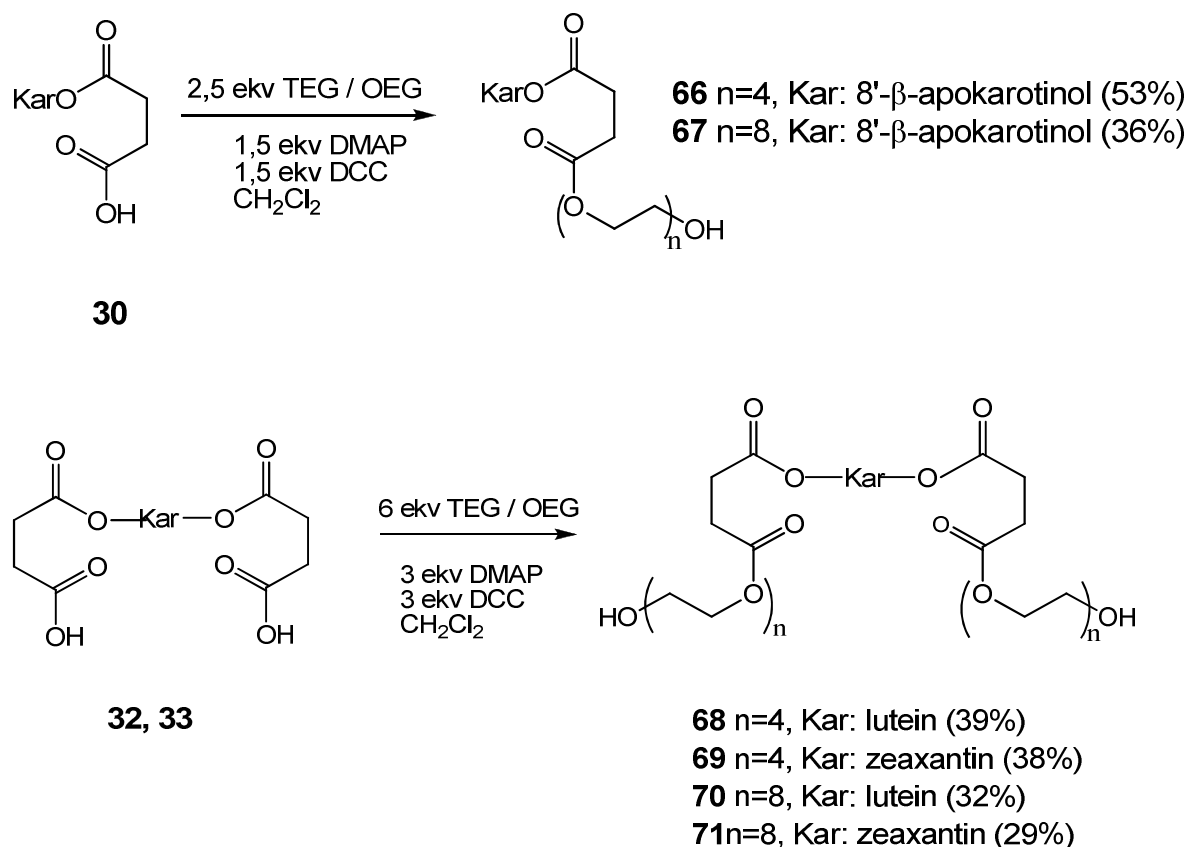
32 Kar: Zeaxantin
33 Kar: Lutein

64 Kar: zeaxantin (56%)
65 Kar: lutein (42%)

25. ábra. Bifunkciós karotinoidok mPEG550-el

4.3.2. Karotinoid konjugátumok tetraetilén-glikollal (TEG) és oktaetilén-glikollal (OEG)

Tetraetilén-glikollal és oktaetilén-glikollal is létrehoztuk a megfelelő karotinoidokkal alkotott konjugátumokat, észterestést alkalmazva (26. ábra). Akár karotinoid-szukcinát (30), akár diszukcinát volt a kiindulási anyag (32, 33), feleslegben a TEG-t, és az OEG-t alkalmaztuk, hogy a PEG-oknak csak az egyik vége reagáljon a szukcináttal (66, 67, 68, 69, 70, 71). Megfigyelhető, hogy a PEG-lánc hosszának növekedésével a kitermelés kismértékben csökken. Az így kapott termék előnye, hogy az egyik végén szabad hidroxil-csoportot tartalmaz, amely más molekulákhoz kapcsolható pl. észterestéssel (lásd 4.3.3).

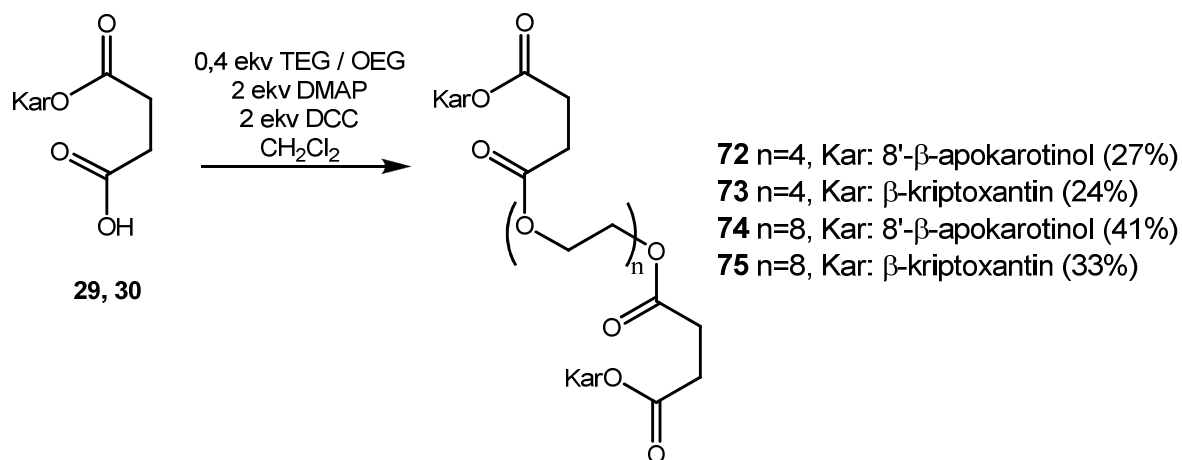


26. ábra. TEG- és OEG-karotinoid konjugátumok

4.3.3. Karotinoid dimerek TEG és OEG összekötő elemmel

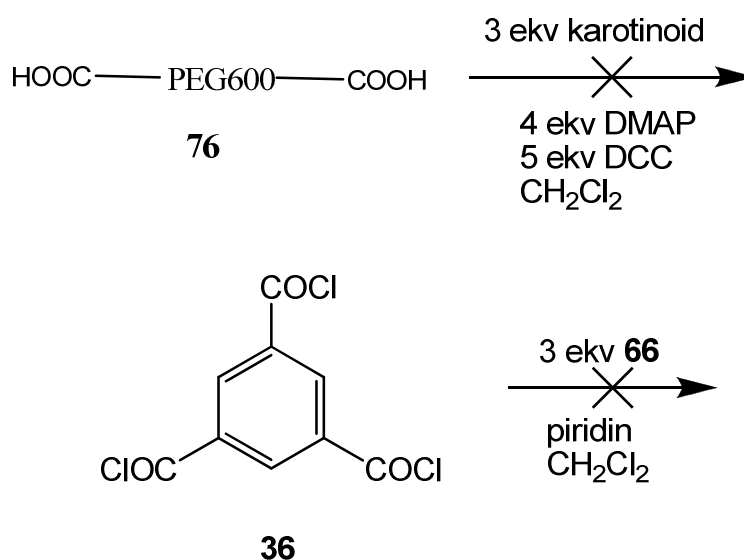
A korábban használt módszerrel PEG láncsal összekapcsolt homodimereket is előállítottunk (27. ábra) karotinoid-szukcinátok feleslegben való alkalmazásával. A PEG-el képzett dimerek néhány melléktermék mellett keletkeztek, elfogadható

hozammal. Ezeknek a vegyületeknek PEG-tartalma meglehetősen csekély, így jelentős vízoldhatóságot nem várhatunk tőlük.



27. ábra. Karotinoid dimerek TEG- és OEG-el

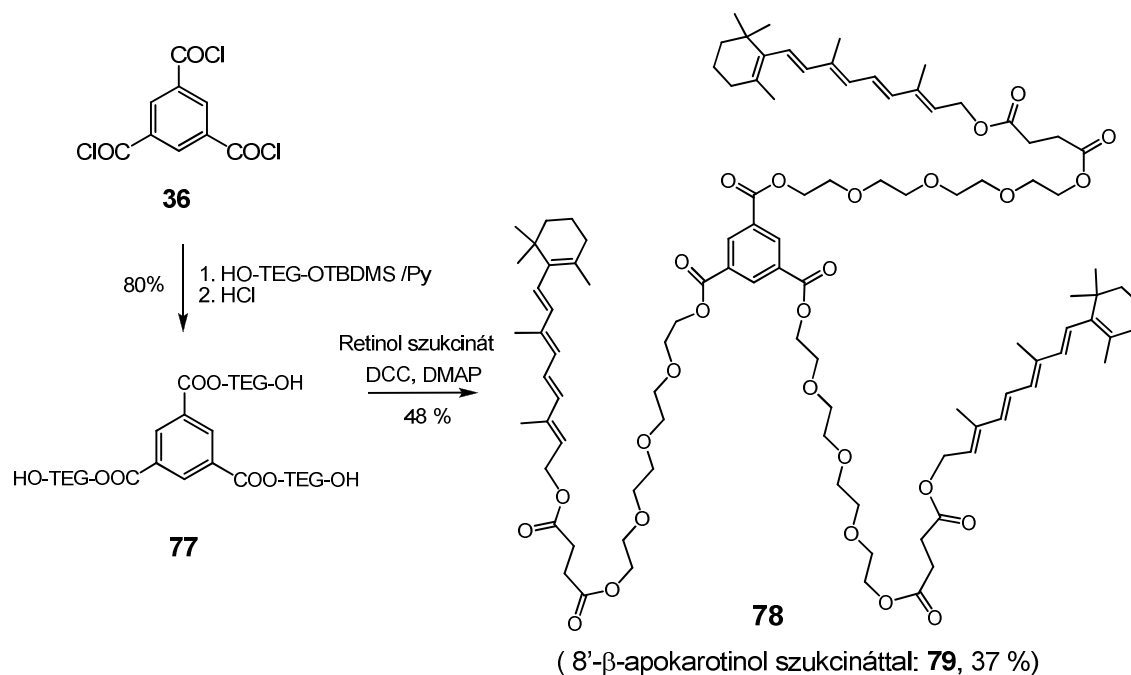
Elvileg másik megközelítés is lehetséges (28. ábra): karotinoid alkoholokkal és PEG mono- vagy dikarbonsavszármazékokkal (**76**) a már fent ismertetett úton előállíthatóak PEG-karotinoid konjugátumok, de sajnos ezek a kísérletek nem voltak eredményesek. Aromás savkloridokat is próbáltunk alkalmazni: a benzol-1,3,5-trikarbonsav-triklorid (**36**) alkalmazásával egy érdekes trimert alkothattunk volna, de sajnos nem kaptuk meg a reakció során a várt terméket.



28. ábra. Dimerképzés savszármazékokkal

Mivel a közvetlen észterezés nem vezetett eredményre, más stratégiát alkalmaztunk ez utóbbi trimer előállítására (29. ábra). Az aromás magot először TEG-al

reagáltatva egy trifunkciós észtert állítottunk elő, majd azt reagáltattuk a megfelelő karotinoid szukcináttal. Ezzel a módszerrel megkaptuk a várt termékeket (**78**, **79**). Sajnos diszukcinátokkal (**32**, **33**) végezve nem kaptunk izolálható mennyiségű terméket ebben az esetben sem.



29.ábra. TEG tartalmú trimer előállítása

4.3.4. Hidrofilicitás és antioxidáns hatás

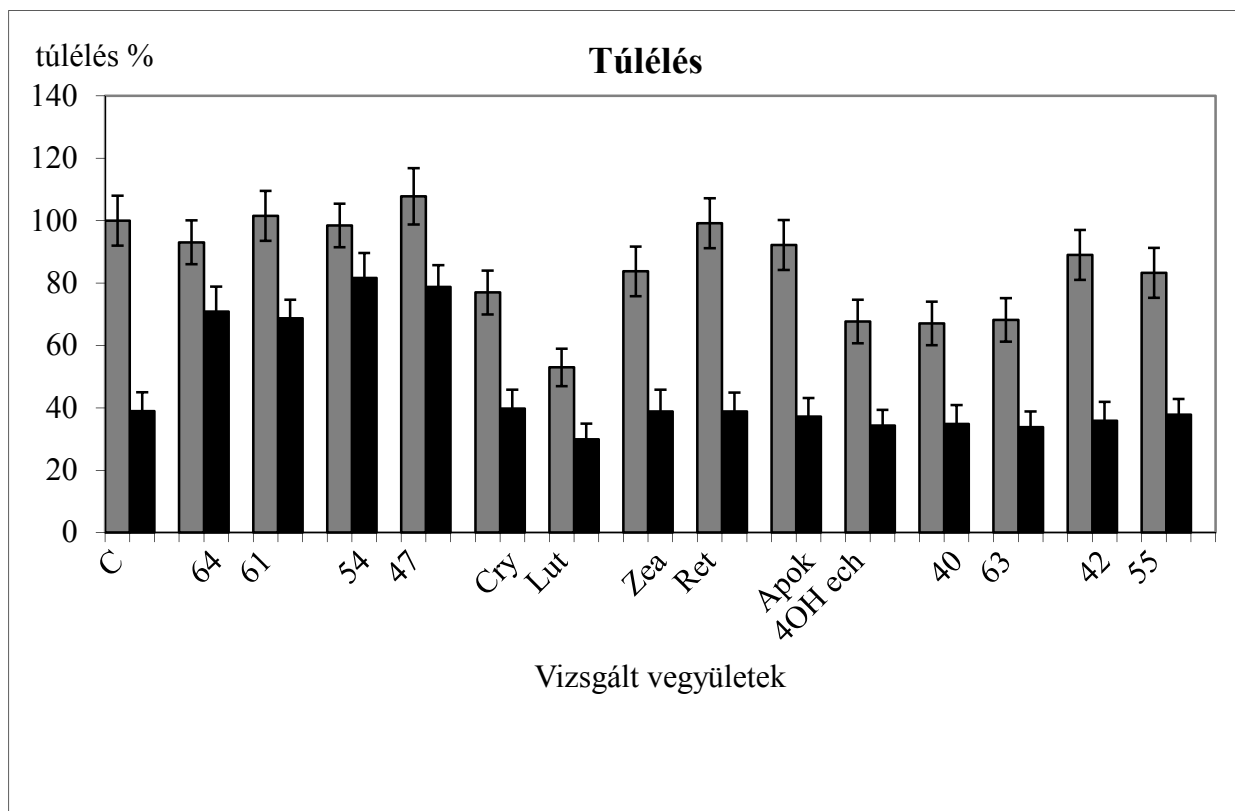
Néhány PEG-konjugátumnak megvizsgáltuk a vízdoldhatóságát és antioxidáns aktivitását. Az alábbi táblázat mutatja az eredményeket. A jobb oldali oszlopban 1 ml 96%-os etanolban a maximálisan feloldható anyag mennyisége található mg-ban. Ez az alkoholos oldat bármilyen arányban elegyedik vízzel anélkül, hogy zavarosodást és kicsapódást észlelnénk. Legnagyobb mennyiségben a zeaxantin-diszukcinát-mPEG550 konjugátum (**64**) oldódott etanolos vízben. Mint ahogy azt sejteni lehetett, a PEG-lánc számának és hosszának csökkenésével az oldhatóság is csökken. A legrosszabb a dimerek esetében (**72**), ahol a PEG részaránya a molekulán belül igen kicsi.

2. Táblázat. Maximálisan feloldható anyag mennyisége 96% etanolban

Vegyület	mg/ml 96 % EtOH
61	37,5
63	3,34
64	66
66	2,7
71	2,67
72	0,375

Sliwka és mtsai kimutatták, hogy a hidrofil karotinoidok vizes oldatban négyszer erősebb elektrondonorok (antioxidánsok), mint hidrofób megfelelőik,¹¹² így előzetesen jogosan várhattuk az antioxidáns hatás erősödését a PEG-származékoktól.

Az antioxidáns vizsgálatokat emberi májsejtkultúrán végeztük. A sejteket az előállított hidrofil karotinoidok vizes oldatával kezeltük, majd az oxidatív stressz kiváltására hidrogén-peroxidot használtunk. A sejtek túlélési arányát 1 nap múlva mértük. Az eredmények az alábbi diagramon láthatóak (30. ábra): a kontroll (C) a karotinoiddal nem kezelt állományt jelenti. A szürke oszlopok a hidrogén peroxidos kezelés nélküli túlélést a fekete oszlopok az oxidatív stressz utáni túlélést jelentik. Mint látható, a kontroll és a hidrofób natív karotinoidokkal (*Lut (1)*, *Cry (3)*, *Zea (2)*, *Ret (8)*, *Apok (24)*) kezelt sejtek esetében megközelítőleg 40%-os az oxidatív stressz utáni túlélés. A PEG-konjugátumok (**64**, **61**, **63**) alkalmazása viszont jelentős túlélési arányt hozott, 80, 70, és 50% körüli értékekkel. A retinollal alkotott trimerek (**54**, **47**) mindegyike jó antioxidánsnak bizonyult a túlélési arány 80% körüli. Az ugyancsak retinollal alkotott dimer (**42**) hatása jóval gyengébb volt. Ezek csak előzetes adatok, a méréseket másféle körülmények között és más módszerekkel is tervezzük elvégezni *in vitro* és *in vivo* is, de mindenestre reményt keltő tendenciát mutatnak a PEG-konjugátumok aktivitását illetően.



30. ábra. Májsejtek túlélési aránya oxidatív stressz után

V. Az azid-alkin click-reakció bevezetése a karotinoid kémiába

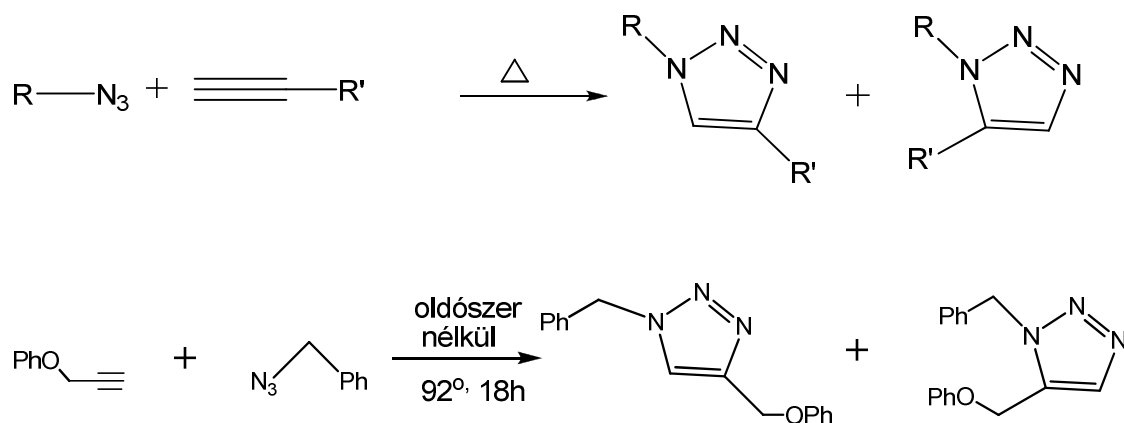
5.1 A click-reakciókról általában

A click-kémia középpontjában az anyagok moduláris felépítése áll, alapja a természetbarát kémia és a kombinatorika. Bevezetője K. Barry Sharpless professzor, aki 2001-ben publikált elmélete szerint¹¹³ a természetben lejátszódó folyamatokat célozta meg átültetni a kémiai szintézis talajára. Megfigyelései az élő szervezetekben végbemenő szintézisekre összpontosultak, ahol egy egyszerűbb kiindulási vegyületből sokszor bonyolult makromolekulát kaphatunk viszonylag enyhe körülmények mellett. A click-reakció előtérbe kerülése nem véletlen, mivel számos kedvező tulajdonsággal bír. Ilyen pl. az egyszerű kivitelezhetőség, enyhe reakciókörülmények és magas atomhatékonyság. A reakció során stabil termékek keletkeznek környezetbarát köztitermékek mellett, melyek könnyen eltávolíthatóak egyszerű tisztítással, átkristályosítással vagy desztillációval, preparatív kromatográfia nem szükséges. Lehetséges oldószer nélkül, mikrohullámmal is kivitelezni reakciókat, ez viszont gyorsíthatja bizonyos mellékreakciók lejátszódását, illetve növeli az 1,4-addíció végbemenetelét. Ezek a reakciók vízre és oxigénre nem érzékenyek. Jellemző még a sztereospecifitás is, de ez nem feltétlenül jelent enantioszelektivitást.

Általánosságban elmondható, hogy a click-reakciónál a termodinamikai hajtóerő 83,7 kJ/mol körül van, vagy még attól is nagyobb, valamint a szabadentalpia-változása definíció szerint legalább -84 kJ/mol.

Alkalmazhatósága valóban széleskörű, számos funkciós csoport használható click-reakcióban a megfelelő katalizátorokkal, úgymint terminális azidok és alkinek, szabad tiolok (Staudinger reakció).

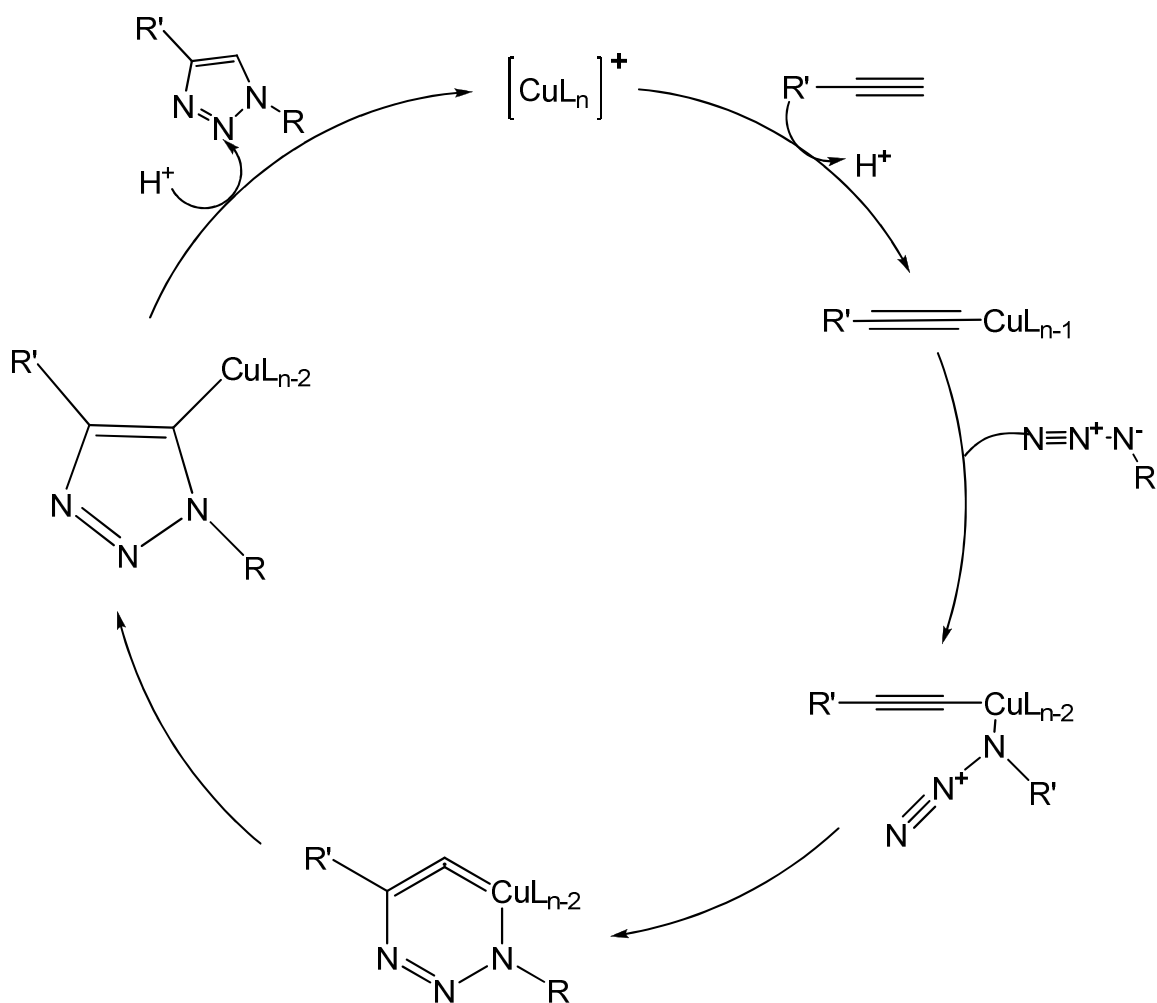
A Huisgen-féle 1,3-dipoláris cikloaddíció¹¹⁴ mintegy előfutára a click-reakcióknak. Egylépésben lejátszódó periciklusos folyamat, mely nem igényel katalizátort. Ez a reakció azonban még nem igazán nevezhető valódi click-folyamatnak mivel számos tulajdonsága nem egyezik meg a click-kémiában elvártakkal. Ilyen pl. a magas hőmérséklet, és nem utolsósorban ez a reakció nem sztereoselektív: két regioizomer keletkezik (31. ábra).



31. ábra. Huisgen-féle 1,3-dipoláris cikloaddíció ¹¹⁵

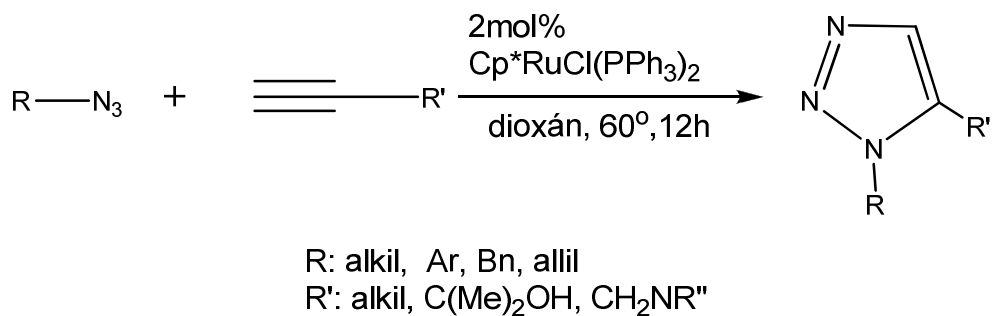
Katalizátorok alkalmazásával azonban ezek a reakciók nemcsak regioszelektívvé tehetők, hanem enyhébb reakciókörülmények alkalmazása is lehetővé válik.

Az általam alkalmazott és egyben az egyik legelterjedtebb cikloaddíciós reakció a réz(I)-katalizált azid-alkin reakció. A click-reakciók előbbieken felsorolt összes jó tulajdonságával rendelkezik. A folyamat egy terminális azid és egy alkin csoport között megy végbe, mely egy 1,4-diszubsztituált 1,2,3-triazolt eredményez (32. ábra). A végcsoportok között szelektíven lejátszódnak a reakciók, még akkor is ha más funkciós csoportok vannak jelen, így számos, akár biológiailag aktív csoportot is kapcsolhatunk. ^{116,117} Az irodalomban találunk példát olyan kísérletekre is, melyek során a fehérjéket térképeztek fel click-reakció segítségével. ¹¹⁸ Sokáig az azidok miatt ez a reakció típus háttérbe szorult, pedig a számos jó tulajdonsága túlkompenzálja az azidokkal végzett esetleges nehéz munkát. A reakció nem igényel erélyes körülményeket, akár szobahőmérsékleten is lejátszódik, melléktermék keletkezése ritka, általában magát a terméket sem kell tisztítani. Katalizátorként Cu(I) alkalmazunk, mely a reakció után regenerálható, és az adagolását is egyszerű megoldani, akár nanorészecskék formájában is megvalósítható. ¹¹⁹

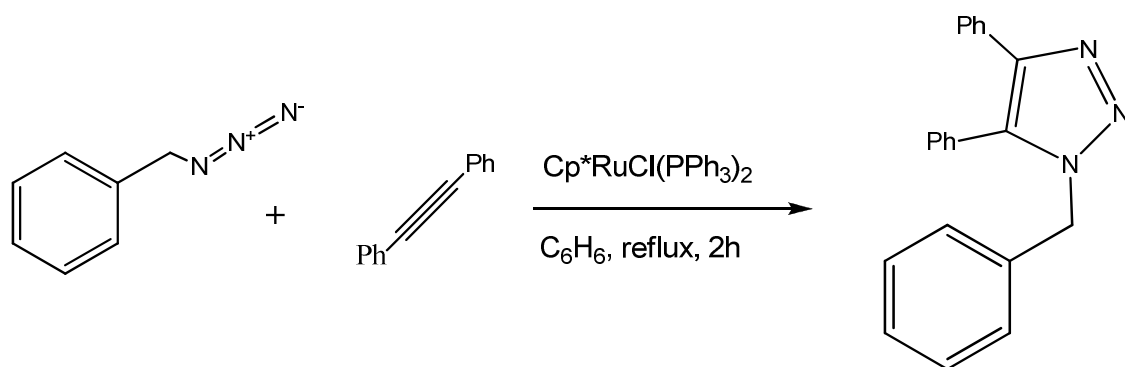


32. ábra. Réz(I)-katalizált azid-alkin reakció mechanizmusa

Cu(I)-n kívül más katalizátorok is használhatók. Ezek közül a legjobb eredményeket a Ru(II) használatával érték el, mely egy cikloaddíciós reakcióban 1,5-diszubsztituált triazolokat eredményez. A Cu(I) katalizátorral ellentétben a Ru(II)-vel nem csak láncvégi (33. ábra) alkin-csoportok adhatnak triazolokat, hanem láncközies (34. ábra).



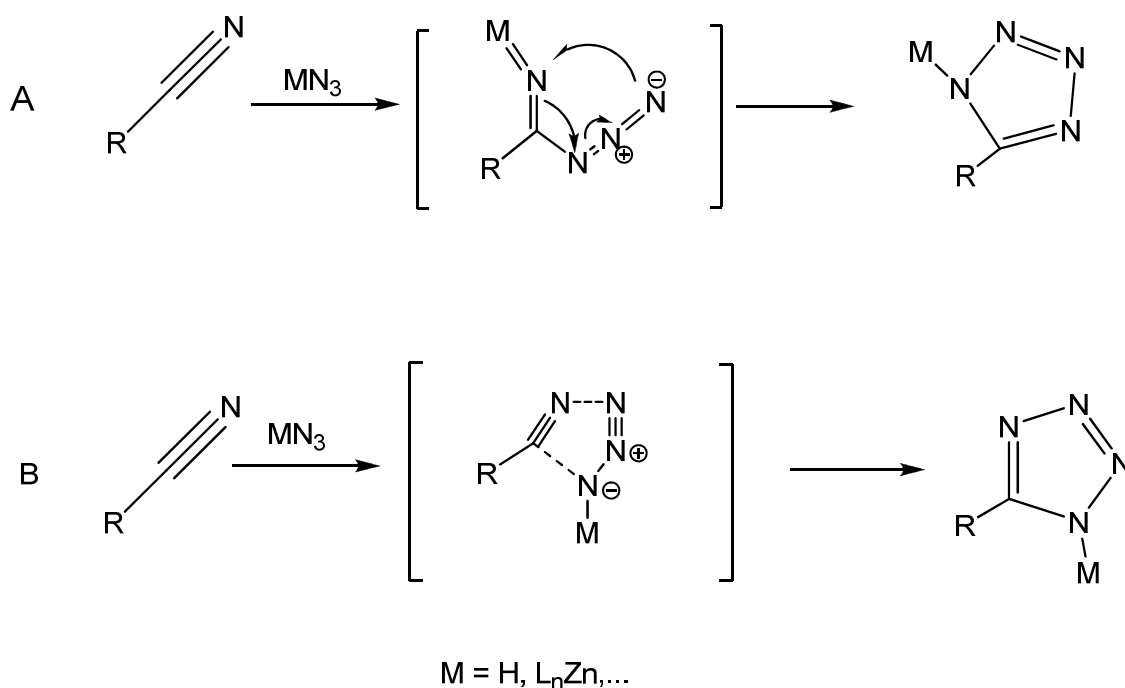
33. ábra. Ruténium által katalizált click-reakció



34. ábra. Láncközi alkincsoport click-reakcióban

A click-reakciók fontos termékei még a Sharpless és munkatársai által is vizsgált tetrazolok. Szintézisük Na-aziddal történik katalizátorként Zn-et használva. (35. ábra).

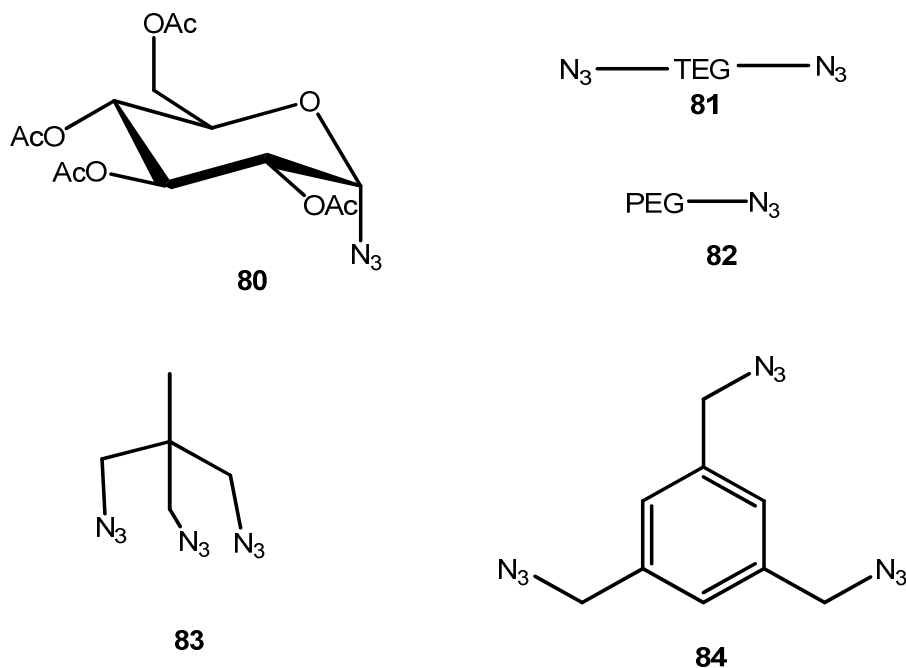
A Zn szerepe mint katalizátor érdekesnek tűnik, talán több is, mint egy katalizátor, mivel más Lewis-savval helyettesítve a reakció nem működött. A vizsgálatok eredményei alapján feltételezhetjük, hogy a reakció kétféle képpen mehet végbe, ez a két út azonban sokszor együtt következik be (36. ábra)¹²⁰.



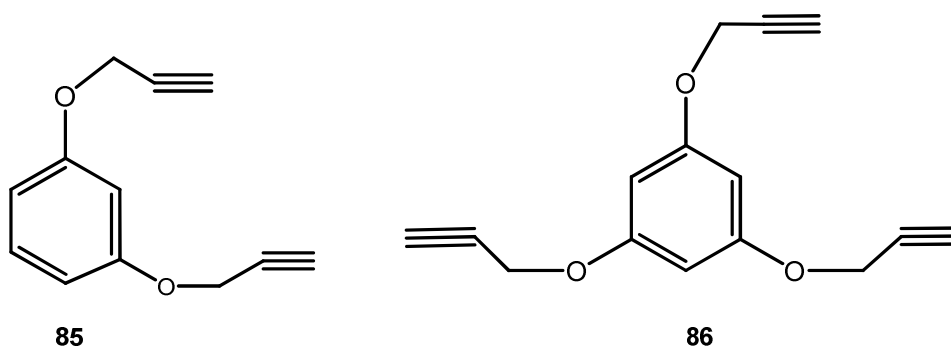
35. ábra. Tetrazol képződése

5.2. Saját vizsgálatok – karotinoidok click-reakciója

A megfelelő azid és alkin funkciós csoportok kialakítására két megközelítés lehetséges. A karotinoid tartalmazhatja az azid-csoportot és a reaktáns az alkin-csoportot, vagy fordítva. Ezért többféle, az alábbiakban látható építőelemet állítottunk elő az irodalomból ismert, vagy ahhoz hasonló módon (37., 38. ábra).¹²¹



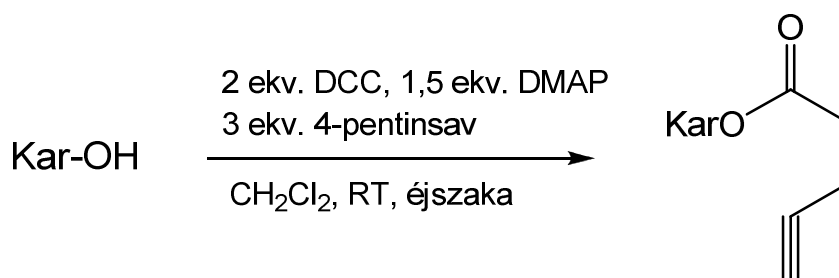
37. ábra. Azido csoportot tartalmazó építőelemek



38. ábra. Alkin építőelemek

5.2.1. Karotinoid-pentinoátok előállítása

Az alkin funkciót először karotinoidok propargil-kloriddal való reakciójával szeretnénk volna kialakítani Williamson féle éterképzéssel. A kísérletek azonban nem hoztak túl jó eredményt, instabil termékek keletkeztek és a kitermelés is igen alacsony lett. Ezután a 4-pentinsavra esett a választásunk, melynek alkalmazásával karotinoid-pentinoátokat állítottunk elő jó hozammal. Ezeknek a vegyületeknek előnye, hogy jól kristályosíthatóak toluol/metanol/víz elegyből, mely még jobban megkönnyítette a velük való további munkát.



87 Kar: 8'- β -apokarotinol (75%, redukcióval)

88 Kar: β -kriptoxantin (90%)

89 Kar: zeaxantin (53%)

90 Kar: izozeaxantin (61%)

91 Kar: lutein (47%)

92 Kar: kapszantin (59%)

93 Kar: 4-hidroxi-echinenon (52%)

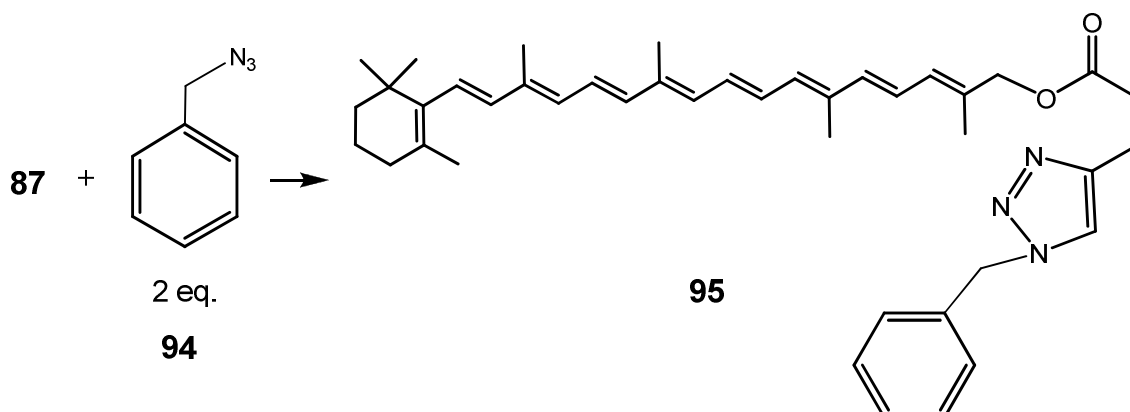
39. ábra. Karotinoid-pentinoátok képzése

5.2.2. A reakciókörülmények optimalizálása

Az optimális reakciókörülmények megtalálásához az előzőleg szintetizált β -apokarotinol-pentinoátot reagáltattuk benzil-aziddal, mint modellvegyülettel, különböző feltételek mellett.

A réz(II)-szulfát/Na-aszkorbát alkalmazása, mint katalizátor nem bizonyult hatásosnak. A kísérletek alapján, mint ahogy az alábbi táblázat is mutatja, a legjobb katalizátor/oldószer párosítás a CuI/DMF kombináció, mind a reakcióidőt, mind a hőmérsékletet figyelembe véve. Esetleges bázis, mint TEA (triethyl-amin) hozzáadására

nem történt jelentős változás. Ezek után az összes reakciót DMF-ben CuI-al végeztük el 40 °C-on.



Katalizátor	Oldószer	Reakcióidő	Hőmérséklet	Kitermelés
CuSO ₄ + Na-aszkorbát	izobutanol, aceton, víz	15 h	40 °C	<5%
CuI	izobutanol, aceton, víz	15 h	40 °C	<5%
CuI	DMSO		40-50 °C	bomlás
CuI	52sopropano l, víz, toluol	15-20 h	70 °C	20 %
CuI	DMF	4 h	40 °C	40-45 %
CuI	DMF+TEA	4 h	40 °C	40-45

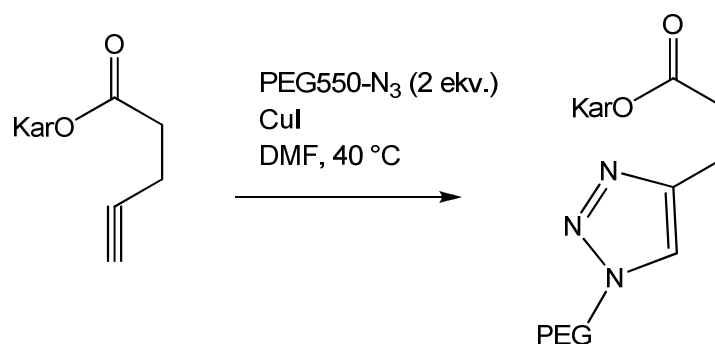
3. Táblázat. Kipróbált reakciókörülmények

5.2.3. Karotinoid-pentinoátok reakciója PEG-azidokkal

Az előzőekben optimalizált reakciót PEG-karotinoid konjugátumok előállítására kívántuk felhasználni, így a korábban előállított PEG-karotinoid észterekkel analóg vegyületeket kaphatunk.

A PEG-azid kiindulási anyagot monofunkciós mPEG550 tozilálásával vagy mezilálásával, majd NaN₃-al való szubsztitúciójával állítottuk elő, oldószerként DMF-et használtunk.¹²² A reakció szobahőmérsékleten egy éjszaka alatt lejátsszódik. Az éteres

kicsapással tisztított terméket feleslegben reagáltattuk az előzőleg előállított különböző karotinoid-pentinoátokkal, click-reakcióban (40. ábra).



- 96** Kar: 8'- β -apokarotinol (52%)
- 97** Kar: β -kriptoxantin (47%)
- 98** Kar: zeaxantin (44%)
- 99** Kar: izozeaxantin (33%)
- 100** Kar: lutein (43%)
- 101** Kar: kapszantin (33%)
- 102** Kar: 4-hidroxi-echinenon (<3%)

40. ábra. Karotinoid-pentinoátok reakciója PEG-aziddal

A reakciók többnyire jó kitermeléssel, rövid idő alatt lejáródtak, így valószínűleg a click-reakció általánosan is alkalmazható lesz a karotinoidok körében.

5.2.4. Reakciók di- és triazidokkal

Kísérleteinket di- és triazidokkal is megismételtük, és próbálkoztunk cukor-azid illetve CD-monoazid származékkal is. A diaziddal való cikloaddíciós reakciókhoz TEG-diazidot alkalmaztunk. A triaziddal végzett kísérleteket aromás 1,3,5-tri(azidometil)-benzolal végeztük (**84**), melyet 1,3,5-(trihroximetil)-benzol-trimezilátból kaptunk NaN_3 -dal való reagáltatás után. A kísérletet nem aromás triaziddal is elvégeztük, 1,3-diklór-2-(klórmetil)-2-metil-propán NaN_3 -dal való reagáltatásával kaptuk a megfelelő triazid reaktánst (**83**). Sajnos egyik triaziddal (**83**, **84**) végzett kapcsolási kísérlet sem hozta a várt eredményeket. 2,3,4,6-Tetra-*O*-acetyl- α -D-glükopiranozil-bromidból előállított monoazidot (**80**)¹²³ reagáltattuk β -apokarotinol-pentinoáttal. Ez a reakció sem vezetett a kívánt termékhez. A di- és triazidokkal, (**81**, **83**, **84**) valamint cukorszármazékokkal (**80**) való 1,3-dipoláris cikloaddíciók optimális reakciókörülményeinek meghatározása további kutatást igényel.

VI. KÍSÉRLETI RÉSZ

A vegyületek NMR-spektrumait Varian Unity Inova (400/100 MHz $^1\text{H}/^{13}\text{C}$) spektrométeren, deuterált kloroformban (CDCl_3) vettük fel. A kémiai eltolódásokat (δ) a maradék oldószerjelhez viszonyítottuk (^1H , ^{13}C). A molekulatömegeket Bruker Daltonics Autoflex II MALDI berendezéssel határoztuk meg. Az összes mérés pozitív-ion módban, pulzáló ionizációval készült (337 nm; nitrogén lézer, maximum frekvencia: 50 Hz; a lézer intenzitása 20-30%). A spektrumok 1000 mérés összegzéseként külső kalibrációval készültek. Az eredményeket Flex Analízis szoftvercsomaggal (2.4. verzió) értékeltük ki.

A vegyületek tisztaságát HPLC-készülékkel vizsgáltuk. A HPLC mérések Dionex P580 típusú gradiens keverő pumpán, Dionex PDA-100 típusú detektorral, Chromeleon 6.70 verziójú szoftverrel történtek.

- Eluensek: 12% H_2O / MeOH (A), MeOH (B) és 50% Aceton / MeOH (C)
- Áramlási sebesség: 1,250 ml/perc
- Detektálási idő: 45 perc
- Hullámhossz (λ): 450 nm
- Oszlop: fém, 250*4,6 mm
- Töltet: Chromsyl RP-18 endcapped (utánszilanzált) 5 μm . Gradiens program: 100% A-val, 80% A és 20% B, 50% A és 50% B, 100% B, 100% C, 100% B, 100% A, visszamosás: 5 percen át 100% A-n marad.

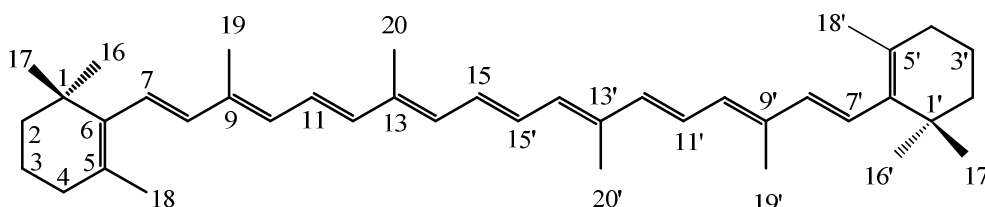
A vékonyréteg-kromatogramok DC-Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) típusú rétegen készültek, a foltokat UV-fény alatt vagy cérium-foszfor-molibdenátos előhívóoldattal tettük láthatóvá. Az anyagokat preparatív vékonyrétegen (0,25-2 mm), vagy oszlop-kromatográfiával (Kieselgel 60, 0,04-0,063 mm) tisztítottuk.

A szerves oldatokat vízmentes MgSO_4 -n szárítottuk és vákuumban, 35-38 °C-on (vízfürdő hőmérséklete) pároltuk be. A vízmentes oldászereket (diklór-metán, piridin) kihevített molekulaszitán tároltuk (4Å). A többi oldószer kereskedelmi, analitikai tisztaságú, melyeket minden további tisztítás nélkül használtunk.

A vizsgálatainkhoz alkalmazott karotinoidokat természetes forrásokból (β -kriptoxantin (**3**), lutein(**1**), izozeaxantin (**23**), zeaxantin (**2**)), illetve szintetikus úton állítottuk elő. A 8'- β -apokarotinolt (**24**) 8'- β -apokarotinalból, a 4'-hidroxi-echinenont kantaxantinból állítottuk elő nátrium-borohidrides redukcióval.

A szintetizált anyagaink HPLC mérések alapján legalább 95% tisztaságúak, UV spektrumuk pedig megegyezik a megfelelő kiindulási karotinoidok spektrumával. Cisz izomerek képződését mérhető mértékben nem tapasztaltunk.

Az NMR spektrumok leírásához az alábbi számozást vettük alapul:



6.1. Karotinoid-szukcinátok előállítása

A karotinoid-alkoholt szobahőmérsékleten diklór-metánban (20 mg/ml) oldjuk. Az oldathoz kevertetés közben, attól függően, hogy egy vagy két hidroxil-csoportot tartalmaz a karotinoid, 2,5, ill. 5 ekvivalens borostyánkősav-anhidridet adunk. Az elegyhez 3, ill. 6 ekvivalens DMAP-t adunk és egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. Ezután a reakcióelegyhez étert adunk, kétszer mossuk 5 %-os citromsavoldattal és egyszer telített NaCl oldattal. Szárítás és bepárlás után toluol/hexán elegyből kristályosítjuk a terméket.

Retinil-szukcinát (27)

Kitermelés: 85%, tömegspektrum: 386 (M^+), összegképlet: $C_{24}H_{34}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 1,01 (*s*, 6H, H-17, H-18); 1,24-2,00 (4*m*, 15H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-20); 2,51 (*m*, 4H, CH_2 -szukcinát); 4,75 (*d*, 2H, H-15, $J_{14,15} = 7,2$ Hz); 5,59 (*t*, 1H, H-14); 5,58-6,62 (2*m*, 5H, olefin). ^{13}C -NMR δ (ppm): 12,7 (C-19, C-20); 19,2 (C-3); 21,7 (C-16); 28,8-28,9 (*m*, C-17, C-18, CH_2 -szukcinát); 33,0 (C-4); 34,2 (C-1); 39,6 (C-2); 61,6 (C-15); 109,9; 124,1; 125,8-125,9 (*m*); 127; 129,3-129,9 (*m*); 135,7 (*m*); 136,6; 137,5; 137,8; 139,3 (polién lánc); 172,0 (C=O); 177,6 (COOH-csoport).

β -Kriptoxantinil-szukcinát (29)

Kitermelés: 78%, tömegspektrum: 634 (M^+), összegképlet: $C_{44}H_{60}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 0,85-2,32 (*m*, 40H, H-17, H-17', H-18, H-18', H-2, H-2', H-3', H-16, H-16', H-4', H-4,

H-19, H-20, H-19', H-20'); 2,63 (*m*, 4H, CH₂, szukcinát); 5,08 (*m*, 1H, H-3); 6,13-6,84 (*m*, 14H, olefin).

8'-β-Apokarotín-szukcinát (30)

Kitermelés: 92%, tömegspektrum: 519 (M⁺), összegképlet: C₃₄H₄₆O₄. ¹H-NMR δ(ppm): 1,02 (*s*, 6H, H-17, H-18); 1,23-2,19 (*3m*, 21H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,69 (*m*, 4H, CH₂-szukcinát); 4,59 (*s*, 2H, H-8'); 6,15-6,63 (*2m*, 12H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,8 (C-19, C-20, C-19', C-20'); 14,7; 19,3 (C-3); 21,8 (C-16); 28,8-28,9 (*m*, CH₂-szukcinát, C-17, C-18); 33,1 (C-4); 34,3 (C-1); 39,6 (C-2); 70,38 (C-8'); 123,3-131,6 (*m*); 132,2; 133,0; 135,7-138,6 (*m*, polién lánc); 172,0 (C=O); 177,2 (COOH-csoport).

4-Hidroxi-echinenon-szukcinát (31)

Kitermelés: 72%, tömegspektrum: 666 (M⁺), összegképlet: C₄₄H₅₈O₅. ¹H-NMR δ(ppm): 1,02-1,99 (*3m*, 36H, H-2, H-2', H-3', H-17, H-17', H-18, H-18', H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,59 (*2m*, 4H, CH₂-szukcinát,); 2,99 (*s*, 2H, H-3,); 5,27 (*m*, 1H, H-4); 6,16-6,64 (*2m*, 14H, olefin).

Zeaxantín-diszukcinát (32)

Kitermelés: 70%, tömegspektrum: 768 (M⁺), összegképlet: C₄₈H₆₄O₈. ¹H-NMR δ(ppm): 1,05 (*2s*, 12H, H-17, H-17', H-18, H-18'); 1,72 (*s*, 6H, H-16, H-16'); 1,58 (*t*, 2H, H-2b, H-2'b); 1,75 (*t*, 2H, H-2a, H-2'a); 1,96 (*d*, 12H, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,13 (*m*, 2H, H-4b, H-4'b); 2,43 (*m*, 2H, H-4a, H-4'a); 2,66 (*m*, 8H, CH₂-szukcinát); 5,08 (*m*, 2H, H-3, H-3'); 6,1-6,7 (*3m*, 14H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7-12,8 (C-19, C-19', C-20, C-20'); 21,5 (C-16, C-16'); 28,5-28,9 (*m*); 29,2; 30,0 (C-17, C-17', C-18, C-18', CH₂-szukcinát); 36,7 (C-4); 38,3 (C-1); 43,9 (C-2); 69,1 (C-3, C-3'); 124,9-125,5 (*m*); 130,1; 131,5; 132,6; 135,5; 136,4; 137,6; 137,9; 138,7 (polién lánc); 171,8 (2C=O); 177,4 (COOH-csoport).

Luteinil-diszukcinát (33)

Kitermelés: 70%, tömegspektrum: 768 (M⁺), összegképlet: C₄₈H₆₄O₈. ¹H-NMR δ(ppm): 1,07 (*m*, 12H, H-17, H-17', H-18, H-18'); 1,45-2,26 (*m*, 24H, H-2b, H-2'b, H-2a, H-2'a, H-4b, H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,45 (*m*, 2H, H-4a, H-4'a); 2,67 (*m*, 8H,

CH₂-szukcinát); 5,00-5,60 (*m*, 2H, H-3, H-3'); 6,1-6,8 (2*m*, 14H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,9-13,1 (*m*, C-19, C-19', C-20, C-20'); 21,4, 22,9, 25,6 (C-16, C-16'); 28,5-29,9 (*m*); 33,3 (C-17, C17', C-18, C-18', CH₂-szukcinát); 36,7, 38,3 (C-1, C1'); 39,1, 43,9, 54,9 (C-4, C-4'); 69,1-69,4 (*m* C-3, C-3'); 119,6-140,8 (*m*, polién lánc); 171,7-171,8 (*m*, 2C=O); 177,8 (2 COOH-csoport).

6.2. Nem aromás diészterek

Az előzőleg előállított karotinoid-szukcinátot (**27**, **29**, **31**) szobahőmérsékleten diklór-metánban (20 mg/ml) oldjuk. Az oldathoz kevertetés közben 0,7 ekvivalens karotinoid-alkoholt adunk, mely lehet megegyező is, homo-diészterek előállításánál, vagy különböző, hetero-diészterek előállításánál. Az elegyhez 3 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adunk és egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogén atmoszféra alatt. Ezután a reakciólegyhez étert adunk és mossuk 5 %-os citromsavoldattal, majd 10%-os NaHCO₃ oldattal és telített NaCl oldattal. Szárítás és bepárlás után preparatív vékonyréteg-kromatográfiával tisztítottuk a terméket (hexán:aceton=8:2)

Bisz-retinil-szukcinát (28a)

Kitermelés: 60%, tömegspektrum: 654 (M⁺), összegképlet: C₄₄H₆₂O₄. ¹H-NMR δ(ppm): 1,01-2,34 (2*m*, 42H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,64 (*m*, 4H, CH₂-szukcinát); 4,74 (*d*, 4H, H-15, *J*_{14,15} = 6 Hz); 5,58 (*s*, 2H, H-14); 6,06-6,63 (2*m*, 10H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7, (C-19, C-20); 19,2 (C-3); 21,7; 24,7; 24,8; 25,5 (CH₂-szukcinát, C-16); 27,3; 28,9-29,7 (*m*, C-17, C-18); 33; 33,7-34,2 (*m*, C-4, C-1); 39,6; 40,6 (C-2); 61,607 (*m*, C-15.); 124,2-127 (*m*); 128,3; 129,3; 129,8; 129,9; 130; 135,7-137,8 (*m*); 157,3 (polién lánc); 172,2 (2C=O). Elemanalízis számított: C 80,69; H 9,54; mért: C 80,72; H 9,63.

β-Kriptoxantinil-retinil-szukcinát (28b)

Kitermelés: 62%, tömegspektrum: 920 (M⁺), összegképlet: C₆₄H₈₈O₄. ¹H-NMR δ(ppm): 0,85-2,35 (3*m*, 61H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-4', H-17, H-17', H-18, H-18', H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,63 (*m*, 4H, CH₂, szukcinát); 4,77 (*d*, 2H, H-15 Ret,

$J_{14,15}=7,2$ Hz); 5,08 (*m*, 1H, H-3 β -kriptoxantin); 5,60 (*m*, 1H, H-14 Ret.); 6,1-6,7 (*m*, 19H, olefin). $^{13}\text{C-NMR}$ δ (ppm): 12,7-13,1 (*m*, C-19, C-19', C-20, C-20'); 19,2 (C-3); 21,4 (C-16); 21,7 (C-16'); 25,6; 28,4; 28,9 (C-18'); 29,2 (C-17, C-18,); 29,5; 30,0; 30,3 (C-17 –kript.); 33,1; 33,7(C-4); 34,3(C-1); 36,7 (C-1, C-1'); 38,3; 39,6 (C-2); 43,9 (C-4'); 61,5; 68,8 (C-3', C-15 Ret, CH₂-szukcinátok); 124,3; 125,8; 127,0; 129,3; 129,6-130,2 (*m*); 130,7; 131,4; 132,3; 133,1; 135,7; 136,6; 137,5-138 (*m*); 138,6; 139,2 (polién lánc); 171,9; 172,2 (2C=O). Elemanalízis számított: C 83,43; H 9,63; mért: C 83,39; H 9,62.

4-Hidroxi-echinenonil-retinil-szukcinát (28c)

Kitermelés: 50%, tömegspektrum: 935 (M⁺), összegképlet: C₆₄H₈₆O₅. $^1\text{H-NMR}$ δ (ppm): 1,48 (*m*, 57H, H-2, H-2', H-3, H-3', H-4, H-17, H-17', H-18, H-18', H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,64 (*m*, 6H, CH₂-szukcinát, H-3 ech.); 4,74 (*t*, 2H, H-15 Ret.); 5,26 (*m*, 1H, H-4' Ech.); 5,59 (*m*, 1H, H-14 Ret.); 6,14-6,63 (*2m*, 20H, olefin). Elemanalízis számított: C 82,18; H 9,27; mért: C 82,24; H 9,36.

Bisz- β -kriptoxantinil-szukcinát (34)

Kitermelés: 53%, tömegspektrum: 1188 (M⁺), összegképlet: C₈₄H₁₁₄O₄. $^1\text{H-NMR}$ δ (ppm): 0,87-2,16 (*2m*, 78H, H-2, H-2', H-3', H-4b, H-4', H-16, H-16', H-17, H-17', H-18, H-18', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,33 (*m*, 6H, CH₂, szukcinát, H-4a.); 5,09 (*m*, 2H, H-3); 6,15-6,62 (*m*, 28H, olefin). Elemanalízis számított: C 84,94; H 9,67; mért: C 84,88; H 9,62.

6.3. Észterek aromás savakkal

A karotinoid-alkoholt (**3**, **9**, **24**) CH₂Cl₂-ban (20mg/ml) oldjuk. Az oldathoz kevertetés közben aromás di-, ill. trisavat (**41**, **46**) adunk, a karboxilcsoportok számától függően 0,5 és 1/3 ekvivalens mennyiségben. Az elegyhez 1,5 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adunk, egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. Ezután a reakciólegyhez étert adunk és mossuk 5 %-os citromsavoldattal, majd 10%-os NaHCO₃ oldattal és telített NaCl oldattal. Szárítás és bepárlás után preparatív kromatográfiával tisztítottuk a terméket (hexán:aceton= 7:3).

Bisz-retinil-1,4-benzoldiecetsavdiészter (42)

Kitermelés: 72%, tömegspektrum: 730 (M^+), összegképlet: $C_{50}H_{66}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 1,02 (*s*, 12H, 2H-17, 2H-18); 1,25-2,01 (*4m*, 30H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-20); 3,60 (*s*, 4H, CH_2 -benzil); 4,74 (*d*, 4H, H-15, $J_{14,15} = 7,2$ Hz); 5,59 (*t*, 2H, H-14); 6,07-6,67 (*2m*, 14H, olefin); 7,23 (*s*, 4H, H-aromás). ^{13}C -NMR δ (ppm): 12,7 (*m*, C-19, C-20); 19,2 (C-3); 21,7 (C-16); 25,4; 28,9 (C-17, C-18); 33,0; 34,2; 34,9 (C-4, C-1); 39,6; 40,9 (C-2); 61,7 (C-15); 124,2; 125,8; 129,9; 128,3; 129,3; 129,4; 129,9; 132,8; 135,7; 136,6; 137,5; 137,8; 139,2 (polién lánc); 171,4 (2C=O). Elemanalízis számított: C 82,15; H 9,10; mért: C 82,20; H 9,17.

Bisz-8'- β -apokarotenil-1,4-benzoldiecetsavdiészter (43)

Kitermelés: 45%, tömegspektrum: 994 (M^+), összegképlet: $C_{70}H_{90}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 1,03-1,97 (*4m*, 54H, H-2, H-3, H-4, H-17, H-18, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20'); 3,64 (*m*, 4H, CH_2 -benzil); 4,57 (*s*, 4H, H-8'); 6,15-6,62 (*2m*, 14H, olefin); 7,23 (4H, H-aromás). Elemanalízis számított: C 84,47; H 9,19; mért: C 84,53; H 9,26.

Bisz- β -kriptoxantinil-1,4-benzoldiecetsavdiészter (44)

Kitermelés: 14%, tömegspektrum: 1263 (M^+), $C_{90}H_{118}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 0.85-2.11 (*m*, 72H); 2.63 (*m*, 8H, CH_2 -szukc.); 3.62 (*m*, 4H, CH_2 -benzil); 5.08 (*m*, 2H, H-3'); 6.13-6.84 (*m*, 28H, olefin); 7.21 (4H, H-aromás). Elemanalízis számított: C 85,53; H 9,41; mért: C 85,41; H 9,50.

Trisz-retinil-1,3,5-benzoltriacetsavtriészter (47)

Kitermelés: 76%, tömegspektrum: 1057 (M^+), összegképlet: $C_{72}H_{96}O_6$. 1H -NMR δ (ppm): 1,02-2,15(*4m*, 63H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 3,58 (*s*, 6H, CH_2 -benzil); 4,73 (*d*, 6H, H-15, $J_{14,15} = 6,4$ Hz); 5,59 (*t*, 3H, H-14); 6,06-6,65 (*2m*, 21H, olefin); 7,05 (*s*, 3H, H-aromás). ^{13}C -NMR δ (ppm): 12,7, 12,8 (*m*, C-19, C-20); 19,3 (C-3); 21,7 (C-16); 24,9; 25,6; 28,9 (C-17, C-18); 33,0; 33,9; 34,3 (C-4, C-1); 39,6; 41,0 (C-2, CH_2 -benzil); 61,8 (C-15); 124,3; 125,8; 126,9; 129,0; 129,3; 129,8; 129,9; 128,3; 129,3; 129,4; 129,9; 134,5; 135,8; 136,6; 137,6; 137,8; 139,2 (polién lánc); 171,4 (C=O). Elemanalízis számított: C 81,44; H 8,70; mért: C 81,46; H 8,73.

Trisz-8'-β-apokarotenil-1,3,5-benzoltriacetavtriészter (48)

Kitermelés: 30% tömegspektrum: 1454 (M⁺), összegképlet: C₁₀₂H₁₃₂O₆. ¹H-NMR δ(ppm): 1,03-1,97 (4m, 81H, H-2, H-3, H-4, H-17, H-18, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20'); 3,64 (s, 6H, CH₂-benzil); 4,56 (s, 6H, H-8'); 6,15-6,62 (2m, 21H, olefin); 7,16 (3H, H-aromás). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,8 (C-19, C-19', C-20, C-20'); 14,7; 19,3 (C-3); 21,7 (C-16); 24,9; 25,6; 28,8; 30,3 (m, C-17, C-18); 33,1; 33,9 (C-4); 34,3 (C-1); 39,6; 41,2 (CH₂-benzil, C-2); 70,3 (C-8'); 123,3-130,8 (m); 131,6; 132,2; 132,9; 134,6; 135,7-138,4 (m, polién lánc); 171,0 (C=O); 177,2 (COOH). Elemanalízis számított: C 84,21; H 8,99; mért: C 84,20; H 9,02.

6.4. Észterek aromás alkoholokkal

A szintetizált karotinoid-szukcinátot (**27**, **30**) szobahőmérsékleten diklórmetánban (20 mg/ml) oldjuk. Az oldathoz kevertetés közben 1/3-ad ekvivalens alkoholt, 3 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adunk és egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. Ezután a reakcióelegyhez étert adunk és mossuk 5 %-os citromsavoldattal, majd 10%-os NaHCO₃ oldattal és telített NaCl oldattal. Szárítás és bepárlás után preparatív kromatográfiával tisztítottuk a terméket (hexán:aceton= 7:3).

1,4-Dihidroximetil-benzol-bisz-(retinil-szukcinát)diészter (51)

Kitermelés: 45%, tömegspektrum: 875 (M⁺), összegképlet: C₅₆H₇₄O₈. ¹H-NMR δ(ppm): 1,02-2,02 (3m, 42H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,67 (m, 8H, CH₂-szukcinát); 4,74 (d, 4H, H-15, J_{14,15}=7,6 Hz); 5,13 (s, 4H, CH₂-benzil); 5,58 (t, 2H, H-14); 6,10-6,65 (2m, 14H, olefin); 7,36 (s, 4H, H-aromás). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,9 (C-19, C-20); 19,3 (C-3); 21,8; (C-16); 24,9; 25,6; 28,9-29,17 (m); 29,7 (C-17, C-18, CH₂-szukcinát); 33,1; 33,9; 34,3 (C-4, C-1); 39,6 (C-2); 61,6 (C-15); 66,2 (CH₂-benzil) 124,2; 125,9; 129,9; 127,0; 128,3; 128,4 (m); 129,4; 129,9; 135,7; 135,9; 136,7; 137,6; 137,8; 139,3 (polién lánc); 172,1-172,2 (2 C=O). Elemanalízis számított: C 76,85; H 8,52; mért: C 76,88; H 8,48.

1,4-Dihidroximetil-benzol-bisz-(8'-β-apokarotinil-szukcinát)diészter (52)

Kitermelés: 32%, tömegspektrum: 1139 (M⁺), összegképlet: C₇₆H₉₈O₈. ¹H-NMR δ(ppm): 1,02 (s, 12H, H-17, H-18); 1,23-2,04 (3m, 42H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,70 (m, 8H, CH₂-szukcinát); 4,57 (s, 4H, H-8'); 5,14 (s, 4H, CH₂-benzil); 6,14-6,64 (2m, 28H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 12,8; 14,7 (C-19, C-19', C-20, C-20'); 19,3 (C-3); 21,7 (C-16); 24,9 (CH₂-szukcinát); 28,9-29,1 (m, C-17, C-18); 33,1 (C-4); 33,9; 34,3 (C-1); 39,6 (C-2); 66,2 (CH₂-benzil) 70,38 (C-8'); 123,3-129,6; 130,4; 130,7; 131,6; 132,2; 132,9; 135,7- 138,5 (polién lánc), 171,9; 172,0 (2 C=O). Elemanalízis számított: C 80,10; H 8,67; mért: C 80,20; H 8,71.

1,3,5-Trihidroximetil-benzol-trisz-(retinil-szukcinát) triészter (54).

Kitermelés: 25%, tömegspektrum: 1273 (M⁺), C₈₁H₁₀₈O₁₂. ¹H-NMR δ(ppm) = 0.95-2.0 (3m, 63H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2.66 (m, 12H, CH₂-szukc.); 4.74 (d, 6H, H-15, *J*_{14,15} = 7.2 Hz); 5.13 (s, 6H, CH₂-benzil); 5.58 (t, 3H, H-14); 6.10-6.65 (2m, 21H, olefin); 7.28 (s, 4H, H-aromás). ¹³C-NMR δ(ppm) = 12.7 (C-19, C-20); 19.2 (C-3); 21.6 (C-16); 24.8; 25.5; 28.9-29.1 (m); 29.7 (C-17, C-18, CH₂-szukc.); 33.0; 33.8; 34.2 (C-4, C-1); 39.5 (C-2); 61.5 (C-15); 65.9 (CH₂-benzil); 124.1; 125.9; 129.9; 127.0; 128.3; 128.4 (m); 129.4; 129.8; 135.7; 135.9; 136.7; 137.6; 137.8; 139.2 (polién lánc); 172.0 (2 C=O). Elemanalízis számított: C 76,38; H 8,55; mért: C, 76,35; H, 8,59.

6.5. Karotinoid konjugátumok mPEG550-el

Az előállított karotinoid-szukcinátokat (**27**, **29**, **30**, **32**, **33**) szobahőmérsékleten diklór-metánban (20 mg/ml) oldjuk. Majd az oldathoz kevertetés közben szukcinátok esetén 3 ekvivalens, diszukcinátok esetén 6 ekvivalens monofunkcionális polietilén-glikol-metilétert (mPEG550) adunk. Ezután a reakcióelegyhez szukcinátok esetén 3, illetve diszukcinátok esetén 6 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adagolunk. Egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. Feldolgozás során 1-2 csepp vizet és 100 ml étert adunk az elegyhez, szárítószerrel szárítjuk, szűrés után bepároljuk. A terméket preparatív vékonyréteg kromatográfiával tisztítottuk, eluensként hexán:aceton 2:8, vagy diklórmetán:metanol 95:5 elegyét alkalmazva. Ezekben az esetekben a tömegspektrumoknál az átlagos molekulatömeghez legközelebb eső (és legintenzívebb) 3 csúcsot adtuk meg.

Retinil-szukcinát-mPEG550 észter (60)

Kitermelés: 52%, tömegspektrum: 844, 888, 832 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 1,0-2,1 (*m*, 20H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20); 2,65 (*m*, 4H, CH₂-szukc.); 3,37 (*s*, 3H, OMe); 3,4-3,7 (*m*, PEG-CH₂); 4,24 (*m*, 2H, PEG-CH₂); 4,75 (*d*, 2H, H-15, ³J_{14,15} = 6,8 Hz); 5,59 (*t*, 1H, H-14); 6,07-6,67 (*2m*, 6H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,9; 19,3; 21,8; 25,6; 28,9-29,1; 29,7; 33,0; 34,3; 39,6; 58,9; 61,5; 63,8; 69,0; 70,5; 72,0; 124,2; 125,9; 129,9; 127,0; 128,3; 128,4-128,6; 129,4; 129,9; 135,7; 135,9; 136,7; 137,6; 137,8; 139,2; 172,1; 172,2.

8'-β-Apokarotinil-szukcinát-mPEG550 észter (61)

Kitermelés: 37%, tömegspektrum: 977, 1011, 1055 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 1,0-2,1 (*m*, 28H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-19', H-20'); 2,66 (*m*, 4H, CH₂-szukc.); 3,37 (*s*, 3H, OMe); 3,4-3,7 (*m*, PEG-CH₂); 4,24 (*m*, 2H, PEG-CH₂); 4,57 (*s*, 2H, H-8'); 6,14-6,63 (*m*, 12H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 12,8; 14,8; 19,3; 21,7; 24,9; 28,9; 29,2; 33,3; 34,5; 39,9; 59,0; 63,9; 68,2; 69,1; 70,3-70,5; 70,6; 123,3-129,6; 130,4-132,9; 135,7-138,5; 172,0; 172,1.

β-Kriptoxantinil-szukcinát-mPEG550 észter (63)

Kitermelés: 45%, tömegspektrum: 1093,5, 1049,5, 1137,5 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 1,0-2,1 (*m*, 43H); 2,30-2,40 (*m*, 2H, H-4); 2,64 (*m*, 4H, CH₂-szukc.); 3,37 (*s*, 3H, OMe); 3,54-3,71 (*m*, PEG-CH₂); 4,25 (*m*, 2H, PEG-CH₂); 5,08 (*m*, 1H, H-3'); 6,11-6,84 (*m*, 14H, olefin H). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 19,7; 21,3; 21,6; 24,8; 25,5; 28,8-29,9; 33,0; 34,2; 36,7; 39,6; 43,9; 49,0; 54,9; 58,9; 61,6; 63,7; 68,8; 69,0; 70,4-70,5; 71,8; 72,5; 124,0-125,5; 126,7-132,6; 135,4-138,6; 171,8; 172,1.

Zeaxantinil-diszukcinát-mPEG550 diészter (64)

Kitermelés: 56%, tömegspektrum: (1788, 1832, 1876) (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 1,0-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,41 (*m*, 2H, H-4, H-4'); 2,62 (*m*, 8H, CH₂-szukc.); 3,35 (*s*, 3H, OMe); 3,4-3,7 (*m*, PEG-CH₂); 4,21 (*m*, 4H, PEG-CH₂); 5,04 (*m*, 2H, H-3, H-3'); 6,08-6,65 (*m*, 14H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 12,8; 13,1; 14,1; 21,6; 22,9; 24,3; 28,7; 29,5; 29,7; 30,3; 34,0; 36,7; 38,3; 43,9; 49,0; 54,9; 59,0; 61,6; 63,8; 68,8; 69,0; 69,1; 70,3-70,5; 71,9; 72,5; 124,0-125,5; 128,1-132,0; 134,0-140,3; 171,8; 172,1.

Luteinil-diszukcinát-mPEG550 diészter (65)

Kitermelés: 42%, tömegspektrum: 1788, 1832, 1876 (M^+). $^1\text{H-NMR}$ $\delta(\text{ppm})$: 0,85-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,42 (*m*, 2H, H-4, H-6'); 2,62 (*m*, 8H, CH_2 -szukc.); 3,35 (*s*, 3H, OMe); 3,4-3,7 (*m*, PEG- CH_2); 4,23 (*m*, 4H, PEG- CH_2); 5,04 (*m*, 1H, H-3); 5,31 (*m*, 1H, H-3'); 5,40 (*m*, 2H, olefin); 6,08-6,65 (*m*, 12H, olefin). $^{13}\text{C-NMR}$ $\delta(\text{ppm})$: 12,7; 12,8; 13,1; 21,6; 22,9; 24,3; 28,7; 29,5; 29,7; 30,3; 34,0; 36,7; 41,5; 43,9; 49,0; 54,9; 59,0; 61,6; 63,8; 68,8; 69,0; 69,1; 70,3-70,5; 71,9; 72,5; 124,0-125,5; 128,1-132,0; 134,0-140,3; 171,8; 172,1.

6.6. Karotinoid konjugátumok tetraetilén-glikollal (TEG) és oktaetilén-glikollal (OEG)

A karotinoid-szukcinátot (**30**, **32**, **33**,) diklórmétánban (20 mg/ml) oldjuk. Az oldathoz szukcinátok alkalmazásánál 2,5 ekvivalens TEG/OEG-t, míg diszukcinátok esetén 5 ekvivalens TEG/OEG-et adunk kevertetés közben, szobahőmérsékleten. Ezután a reakcióelegyhez 1,5-1,5 illetve 3-3 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adagolunk. Egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogén atmoszféra alatt. Feldolgozás során 1-2 csepp vizet és 100 ml étert adunk a reakcióelegyhez. Szárítás és bepárlás után kromatográfiás módszerrel tisztítottuk a terméket, eluensként hexán:aceton 2:8, vagy 1:1 elegyét alkalmazva.

8'- β -Apokarotín-szukcinát-TEG észter (66)

Kitermelés: 53%, tömegspektrum: 694 (M^+), összegképlet: $\text{C}_{42}\text{H}_{62}\text{O}_8$. $^1\text{H-NMR}$ $\delta(\text{ppm})$: 1,05 (*s*, 6H, H-16, H-17); 1,4-2,1 (*m*, 22H, H-2, H-3, H-4, H-18, H-19, H-20, H-19', H-20'); 2,68 (*m*, 4H, CH_2 -szukc.); 3,6-3,73 (*m*, 14H, TEG- CH_2); 4,25 (*m*, 2H, TEG- CH_2); 4,58 (*s*, 2H, H-8'); 6,14-6,63 (*m*, 12H, olefin). $^{13}\text{C-NMR}$ $\delta(\text{ppm})$: 12,7; 12,8; 14,7; 19,2; 21,7; 24,9; 28,9-29,2; 33,9; 34,3; 39,6; 61,7; 63,8; 69,1; 70,3-70,6; 72,4; 123,3-129,6; 130,4-132,9; 135,7-138,5; 172,0; 172,2.

8'- β -Apokarotín-szukcinát-OEG észter (67)

Kitermelés: 36%, tömegspektrum: 870 (M^+), összegképlet: $\text{C}_{50}\text{H}_{78}\text{O}_{12}$. $^1\text{H-NMR}$ $\delta(\text{ppm})$: 1,03 (*s*, 6H, H-16, H-17) 1,4-2,1 (*m*, 22H, H-2, H-3, H-4, H-18, H-19, H-20, H-

19', H-20'); 2,68 (*m*, 4H, CH₂-szukc.); 3,6-3,73 (*m*, 30H, OEG-CH₂); 4,25 (*m*, 2H, OEG-CH₂); 4,58 (*s*, 2H, H-8'); 6,12-6,65 (*m*, 12H, olefin).

Luteinil-diszukcinát-TEG diészter (68)

Kitermelés: 39%, tömegspektrum: 1121 (M⁺), összegképlet: C₆₄H₉₆O₁₆. ¹H-NMR δ(ppm): 0,9-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,41 (*m*, 2H, H-4, H-6'); 2,62 (*m*, 8H, CH₂-szukc.); 3,6-3,75 (*m*, 28H, TEG-CH₂); 4,24 (*m*, 4H, TEG-CH₂); 5,04 (*m*, 1H, H-3); 5,31 (*m*, 1H, H-3'); 5,40 (*m*, 2H, olefin); 6,08-6,65 (*m*, 12H, olefin).

Zeaxantinil-diszukcinát-TEG diészter (69)

Kitermelés: 38%, tömegspektrum: 1121 (M⁺), összegképlet: C₆₄H₉₆O₁₆. ¹H-NMR δ(ppm): 1,08-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,40 (*m*, 2H, H-4, H-4'); 2,65 (*m*, 8H, CH₂-szukc.); 3,47-3,75 (*m*, 28H, TEG-CH₂); 4,25 (*m*, 4H, TEG-CH₂); 5,07 (*m*, 2H, H-3, H-3'); 6,1-6,7 (*m*, 14H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 12,8; 21,4; 24,4-25,5; 28,5; 29,6; 29,7; 30,6; 32,4; 34,0; 36,7; 38,2; 43,9; 49,1; 54,9; 59,0; 61,6; 63,8; 68,8; 69,0; 69,1; 70,3-70,5; 72,5; 124,8-125,5; 130,0; 131,4; 132,5; 134,0- 138,6; 171,8; 172,0.

Luteinil-diszukcinát-OEG diészter (70)

Kitermelés: 32%, tömegspektrum: 1473 (M⁺), összegképlet: C₈₀H₁₂₈O₂₄. ¹H-NMR δ(ppm): 0,85-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,40 (*m*, 2H, H-4, H-6'); 2,63 (*m*, 8H, CH₂-szukc.); 3,4-3,7 (*m*, 60H, OEG-CH₂); 4,23 (*m*, 4H, OEG-CH₂); 5,04 (*m*, 1H, H-3); 5,31 (*m*, 1H, H-3'); 5,40 (*m*, 2H, olefin); 6,07-6,70 (*m*, 12H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 13,0; 21,4; 22,9; 24,5-25,5; 28,7-29,7; 30,6; 33,9; 36,6; 38,3; 43,9; 49,0; 61,6; 63,7; 69,0; 70,2-70,5; 72,5; 124,0-125,5; 128,1-132,0; 134,0- 138,5; 140,4; 171,8; 172,2.

Zeaxantinil-diszukcinát-OEG-OH diészter (71)

Kitermelés: 29%, tömegspektrum: 1473 (M⁺), összegképlet: C₈₀H₁₂₈O₂₄. ¹H-NMR δ(ppm): 1,08-2,1 (*m*, 38H, metil-H, végcsoport-H); 2,43 (*m*, 2H, H-4, H-4'); 2,66 (*m*, 8H, CH₂-szukc.); 3,47-3,75 (*m*, 60H, OEG-CH₂); 4,27 (*m*, 4H, OEG-CH₂); 5,07 (*m*, 2H, H-3, H-3'); 6,1-6,7 (*m*, 14H, olefin).

6.7. Karotinoid dimerek TEG és OEG összekötő elemmel

A karotinoid-szukcinátot (**29**, **30**) CH₂Cl₂-ban (20 mg/ml) oldjuk szobahőmérsékleten. Kevertetés közben 0,4 ekvivalens TEG/OEG-t adunk az oldathoz, majd 2 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adagolunk a reakcióelegyhez. Egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogén atmoszféra alatt. Feldolgozás során 1-2 csepp vizet és 100 ml étert adunk az oldathoz, szárítjuk és bepároljuk. A terméket preparatív vékonyréteg kromatográfiával tisztítjuk, eluensként hexán:aceton 1:1 vagy 2:8 elegyét használva.

8'-β-Apokarotininil-szukcinát-TEG dimer (72)

Kitermelés: 27%, tömegspektrum: 1195 (M⁺), összegképlet: C₇₆H₁₀₆O₁₁. ¹H-NMR δ(ppm): 1,20 (s, 12H, H-16, H-17); 1,4-2,1 (m, 42H, H-2, H-3, H-4, H-18, H-19, H-20, H-19', H-20'); 2,68 (s, 8H, CH₂-szukc.); 3,6-3,73 (m, 12H, TEG-CH₂); 4,25 (t, 4H, TEG-CH₂, J = 5,2 Hz); 4,58 (s, 4H, H-8'); 6,14-6,63 (m, 24H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 14,7; 19,2; 21,8; 24,9; 28,9-29,2; 33,9; 34,3; 39,6; 61,7; 63,8; 69,1; 70,3-70,6; 72,5; 123,3-129,6; 130,4-132,8; 135,6-138,5; 172,0; 172,2.

β-Kriptoxantinil-szukcinát-TEG dimer (73)

Kitermelés: 24%, tömegspektrum: 1463 (M⁺), összegképlet: C₉₆H₁₃₄O₁₁. ¹H-NMR δ(ppm): 1,0-2,1 (m, 76H); 2,30-2,40 (m, 4H, H-4'); 2,64 (m, 8H, CH₂-szukc.); 3,50-3,71 (m, 12H, TEG-CH₂); 4,27 (m, 4H, TEG-CH₂); 5,09 (m, 2H, H-3'); 6,12-6,75 (m, 28H, olefin H).

8'-β-Apokarotininil-szukcinát-OEG dimer (74)

Kitermelés: 41%, tömegspektrum: 1371 (M⁺), összegképlet: C₈₄H₁₂₂O₁₅. ¹H-NMR δ(ppm): 1,20 (s, 12H, H-16, H-17) 1,4-2,1 (m, 42H, H-2, H-3, H-4, H-18, H-19, H-20, H-19', H-20'); 2,68 (s, 8H, CH₂-szukc.); 3,6-3,73 (m, 28H, OEG-CH₂); 4,25 (m, 4H, OEG-CH₂); 4,58 (s, 4H, H-8'); 6,14-6,63 (m, 24H, olefin). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7; 14,6; 19,2; 21,6; 24,8; 25,5; 28,9-29,2; 33,0; 33,8; 34,2; 39,6; 63,8; 68,9; 70,1-71; 123,3-129,6; 130,4-132,8; 135,6-138,5; 172,0; 172,1.

β -Kriptoxantinil-szukcinát-OEG dimer (75)

Kitermelés: 33%, tömegspektrum: 1639 (M^+), összegképlet: $C_{104}H_{150}O_{15}$. 1H -NMR δ (ppm): 1,0-2,1 (*m*, 76H); 2,30-2,40 (*m*, 4H, H-4'); 2,64 (*m*, 8H, CH_2 -szukc.); 3,50-3,75 (*m*, 28H, OEG- CH_2); 4,26 (*m*, 4H, OEG- CH_2); 5,09 (*m*, 2H, H-3'); 6,12-6,75 (*m*, 28H, olefin H).

6.8. Karotinoid-pentinoátok

A karotinoidot CH_2Cl_2 -ban (20 mg/ml) oldjuk szobahőmérsékleten. Kevertetés közben 2 ekvivalens 4-pentinsavat adunk az oldathoz, majd 2 ekvivalens DMAP-t és DCC-t adagolunk a reakcióelegyhez. Egy éjszakán át kevertetjük szobahőmérsékleten, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. 100 ml hexánt adunk a reakcióelegyhez, majd szárítjuk, szűrjük és bepároljuk. A terméket toluol/metanol elegyből vízzel csapjuk ki, majd szűrjük és vákumban szárítjuk.

β -Apokarotinil-pentinoát (87)

Kitermelés: 75%, tömegspektrum: 498,4 (M^+), összegképlet: $C_{34}H_{48}O_2$. 1H -NMR δ (ppm): 1,03 (*s*, 6H, H-17, H-18); 1,23-2,19 (*3m*, 21H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,69 (*m*, 5H, CH_2 -pentinsav); 4,59 (*s*, 2H, H-8'); 6,15-6,63 (*2m*, 13H, olefin).

β -Kriptoxantinil-pentinoát (88)

Kitermelés: 90%, tömegspektrum: 632,6 (M^+), összegképlet: $C_{45}H_{60}O_2$. 1H -NMR δ (ppm): 0,86 (*s*, 3H, H-18'); 1,08 (*s*, 12H, H-17, H-18, H-17', H-18'); 1,11-2,53 (*5m*, 23 H, H-2, H-2', H-4, H-4', 5, 5'-metil, H-19, H-19', H-20, H-20'); 3,65 (*m*, 5H, CH_2 -pentinsav); 5,08-5,13 (*1m*, 1H, H-3); 6,10-6,69 (*2m*, 14H, olefin); 7,26-7,36 (*m*, 1H, H-8).

Zeaxantil-dipentinoát (89)

Kitermelés: 53%, tömegspektrum: 728,3 (M^+), összegképlet: $C_{50}H_{64}O_4$. 1H -NMR δ (ppm): 1,08 (*d*, 12H, H-17, H-18, H-17', H-18'); 1,11-2,17 (*4m*, 24 H, H-2, H-2', H-4,

H-4', 5, 5'-metil, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,17-2,55 (*m*, 10H, CH₂-pentinsav); 5,09-5,13 (*1m*, 2H, H-3, H-3'); 6,11-6,65 (*2m*, 14H, olefin); 7,26-7,36 (*m*, 2H, H-8, H-8').

Izozeaxantinil-dipentionát (90)

Kitermelés: 61%, tömegspektrum: 728,2 (M⁺), összegképlet: C₅₀H₆₄O₄. **¹H-NMR** δ(ppm): 1,02-1,05 (*d*, 12H, H-17, H-18, H-17', H-18'); 1,26-1,98 (*1s*, 3m, 24 H, H-2, H-2', H-3, H-3', 5, 5'-metil, OH csoport H a 3-as helyen, H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,53-2,60 (*m*, 10H, CH₂-pentinsav); 5,29 (*1m*, 2H, H-4, H-4'); 6,14-6,66 (*2m*, 14H, olefin); 7,26-7,31 (*m*, 2H, H-8, H-8').

Luteinil-dipentinoát (91)

Kitermelés: 66%, tömegspektrum: 728,2 (M⁺), összegképlet: C₅₀H₆₄O₄. **¹H-NMR** δ(ppm): 0,09-2,18 (*m*, 36H, H-2b, H-2'b, H-2a, H-2'a, H-4b, H-16, H-16', H-17, H-17', H-18, H-18', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,35-2,53 (*m*, 11H, H-4a, CH₂-pentinsav); 3,35-3,65, 4,132-4,155 (*2m* 2H, H-3, H-3'); 5,08-5,19; 5,32-5,55 (*2m*, 1H, H-4'); 6,1-6,8 (*2m*, 14H, olefin).

Kapszantinil-dipentinoát (92)

Kitermelés: 59%, tömegspektrum: 744,3 (M⁺), összegképlet: C₅₀H₆₄O₅. **¹H-NMR** δ(ppm): 1,03 (*s*, 6H, H-17', H-18'); 1,08 (*s*, 6H, H-17, H-18); 1,18-2,96 (*5m*, 25 H, H-17', H-2', H-6, H-5', H-4, H-3', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,52 (*m*, 10H, CH₂-pentinsav); 2,96-3,02 (*m*, H, H-4'); 5,08-5,31 (*2m*, 2H, H-3, H-3'); 6,15-6,08 (*2m*, 13H, olefin); 7,26-7,36 (*m*, 1H H-8').

4-OH-echinenonil-pentinoát (93)

Kitermelés: 52%, tömegspektrum: 746,8 (M⁺), összegképlet: C₄₅H₅₈O₃. **¹H-NMR** δ(ppm): 0,85-2,00 (*m*, 36H, H-2, H-2', H-3', H-17, H-17', H-18, H-18', H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20'); 2,18-2,60 (*m*, 2H, H-3, CH₂-pentinsav); 3,39 (*m* 5H, CH₂-pentinsav); 5,30 (*m*, 1H, H-4'); 6,15-6,67 (*2m*, 14H, olefin).

6.9. Karotinoid konjugátumok mPEG550-aziddal

2 ekvivalens PEG-azidot DMF-ben oldunk, az oldathoz kevertetés közben előzőleg szintetizált karotinoid-pentionátot (1 ekv.) adunk, majd 0,2 ekvivalens CuI-ot. 4 órán át 40 °C-on kevertetjük, sötétben, nitrogénatmoszféra alatt. Feldolgozáskor 100 ml étert adunk a reakcióelegyhez, szárítjuk és bepároljuk. A poláris piros, olajos főterméket preparatív vékonyréteg-kromatográfiával tisztítottuk, eluensként hexán:aceton 2:8, vagy diklórmetán:metanol 95:5 elegyét alkalmazva.

β-Apokarotininil-pentinoát mPEG-azid adduktum(96)

Kitermelés: 52%, tömegspektrum: 654, 698, 732 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 1,02 (s, 6H, H-17, H-18); 1,25-2,17 (3m, 23H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20', H-pentinsav); 2,77 (m, 4H, CH₂-pentinsav); 3,37-3,85 (3m, PEG-CH₂); 4,49-4,56 (m, 2H, H-8'); 6,15-6,62 (2m, 12H, olefin); 7,52 (s, 1H, H-triazol). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,8 (C-19, C-20); 14,7; 19,2; 21,0 (C-3); 21,8; 21,9 (C-16); 28,8-28,9 (m, CH₂-pentinsav, C-17, C-18); 33,4 (C-4); 34,2 (C-1); 39,6 (C-2); 69,5-71,9(m, C-PEG, C-8'); 122,3-138,4 (m, polién lánc, C-triazol); 172,5 (C=O).

β-Kriptoxantinil-pentionát PEG-azid adduktum (97)

Kitermelés: 47%, tömegspektrum: 1065, 1109, 1153 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 0,99-2,32 (m, 37H, H-16, H-17, H-18, H-19, H-20, H-16', H-17', H-18', H-19', H-20', H-2, H-4b, H-2', H-3, H-4'); 2,74-3,73 (2m, 7H, H-4a, CH₂-pentinsav, CH₂-PEG); 5,08-5,13 (m, 1H, H-4a); 6,06-6,60 (2m, 14H, olefin); 7,26-7,50 (s, 1H, H-triazol). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,7-14,1 (m, C-19, C-19', C-20, C-20'); 21,4-21,6 (C-3', C-16, C-16'); 29,5-29,6 (m, C-17, C-18, C17', C-18'); 33,9-37,6 (m, C-1, C-1', C-4'); 43,2 (C-4); 50,5 (C-2); 58,9-77,4 (m, pentinsav, PEG); 122,3-126,6 (m); 129,4-137,8 (m, C-triazol); 146,4; 150,0; 160,9 (polién lánc); 171,1, 172,4 (C=O).

Zeaxantinil-dipentionát PEG-azid adduktum(98)

Kitermelés: 44%, tömegspektrum: 1612, 1656, 1700 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 0,01-1,26 (3m, 12H, H-17, H-18, H-17', H-18'); 1,77-2,77 (3m, 30 H, H-2, H-2', H-4, H-4', H-16, H-16', H-19, H-19', H-20, H-20', H-pentinsav); 2,84-3,42 (m, 10H, CH₂-pentinsav); 3,44-3,76(m, H-PEG); 4,50(t, 2H, H-3, H-3'); 6,11-6,63 (2m, 10H, olefin); 7,27-7,36 (m, 2H, H-8, H-10, H-8', H-10'); 7,52 (s, 2H, H-triazol). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,8-14,0

(C-19, C-19', C-20, C-20'); 21,4 (C-16, C-16'); 28,5-30,8 (*m*); (C-17, C-17', C-18, C-18'); 33,9; 36,6; 38,4 (C-1, C-1'); 50,1 (C-2, C-2'); 58,9; 59,0; 68,5 (C-3, C-3'); 69,5-77 (2 pentinsav, PEG); 122,1; 130,1; 131,5; 132,6; 135,5; 136,4; 137,6; 137,9; 138,7 (polién lánc); 172,3 (2 C=O).

Izozeaxantinil-dipentionát PEG-azid adduktum (99)

Kitermelés: 33%, tömegspektrum: 1238,1282, 1324 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 0,98-2,17 (*m*, 42H, H-17, H-18, H-17', H-18', H-2, H-2', H-3, H-3', 5, 5'-metil, H-19, H-19', H-20, H-20', CH₂-pentinsav); 2,73-3,12 (*m*, 8H, CH₂-pentinsav); 3,29-3,73 (*m*, H-PEG); 4,82 (*s*, 2H, H-4, H-4'); 6,08-6,67 (*2m*, 14H, olefin); 8,09 (*s*, 2H, H-triazol). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,6 (C-19, C-19', C-20, C-20'); 27,2; 27,3; 28,8; 29,5 (*m*, C-3, C-3', C-17, C-17', C-18, C-18'); 34,5 (C-1, C-1', C-2, C-2'); 69,8; 70,3; 70,4; 70,5; 76,6; 76,9; 77,2 (C-4, C-4', PEG, pentinsav); 122,1; 124,7; 129,8; 129,9; 130,0; 130,1; 132,4 (polién lánc); 172,6 (2C=O).

Luteinil-dipentionát PEG-azid adduktum (100)

Kitermelés: 66%, tömegspektrum: 1236, 1280, 1322 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 0,87-2,17 (*m*, 40H, H-2b, H-2'b, H-2a, H-2'a, H-4b, H-16, H-16', H-17, H-17', H-18, H-18', H-19, H-19', H-20, H-20', CH₂-pentinsav); 2,29-3,01 (*2m*, 9H, H-4a, CH₂-pentinsav); 3,38-3,91; 4,19-4,82 (*3m* 2H, H-3, H-3', H-PEG); 5,30-5,45 (*2m*, 1H, H-4'); 6,1-6,63 (*2m*, 14H, olefin); 7,27 (*d*, 2H, H-triazol).

Kapszantinil-dipentionát PEG-azid adduktum (101)

Kitermelés: 33%, tömegspektrum: 1719, 1763, 1807 (M⁺). ¹H-NMR δ(ppm): 0,83 (*s*, 6H, H-17', H-18'); 1,08-1,28 (*m*, 6H, H-17, H-18); 1,42-1,59 (*1m*, 3H, H-2b, H-2'a, H-5'); 1,70 (*m*, 4H, H-2a, H-16); 1,95-2,45 (*m*, 19H, H-4a, H-19, H-20, H-2b', H-4', H-19', H-20'); 2,63-3,04 (*2m*, 12H, CH₂-pentinsav); 3,52-3,91 (*m*, H-PEG); 5,04-5,23 (*2m*, 2H, H-3, H-3'); 6,10-6,67 (*2m*, 13H, olefin); 7,26-7,36 (*m*, 1H H-8'); 7,51(*s*, 2H, H-triazol). ¹³C-NMR δ(ppm): 12,8-14,0 (*m*, C-19, C-19', C-20, C-20'); 21,4-21,6 (C-3', C-16, C-16'); 28,5-30,0 (*m*, C-17, C-18, C-17', C-18'); 33,9-38,4 (*m*, C-1); 42,2-44,0 (*m*, C-4, C-1'); 44,7 (C-4'); 50,1-50,7 (C-2, C-2'); 58,5-58,9 (*m*, C-5'); 69,5-77,3 (C-3, C-3', C-pentinsav, PEG); 120,6-150,0 (*m* C-triazol, polién lánc); 171,1; 172,4 (C=O), 202,4 (C-6').

8'-β-apokarotenil benzil-azid adduktum (95)

Kitermelés: 45%, tömegspektrum: 611, 673, 717 (M^+), összegképlet: $C_{42}H_{53}N_3O_2$. **¹H-NMR** δ (ppm): 1,03 (*s*, 6H, H-17, H-18); 1,26-2,07 (*3m*, 23H, H-2, H-3, H-4, H-16, H-19, H-19', H-20, H-20', 2H-pentinsav); 2,74-2,77, (*t*, 4H, CH₂-pentinsav); 4,53; 4,74 (*2s*, 2H, H-8'); 5,47 (*s*, 3H, H-7', H-benzil); 6,15-6,63 (*2m*, 13H, olefin); 7,23-7,26; 7,34-7,36 (*2m*, 6H, H-triazol, H-aromás). **¹³C-NMR** δ (ppm): 12,7; 12,8 (C-19, C-20); 14,6; 19,2; 21,0; 21,6 (C-3, C-16); 28,8; 29,5 (*m*, CH₂-pentinsav, C-17, C-18); 33,1; 33,6 (*m*) (C-3); 34,2 (C-1); 39,6 (C-2); 53,9 (C-benzil); 69,8 (C-8'); 121,0; 123,2; 125,1; 126,7; 127,9; 128,5; 128,9; 129,3; 129,5; 130,4; 130,7; 132,1; 132,9; 134,7; 137,1; 137,6; 138,4 -138,4 (*m*, polién lánc, C-triazol); 172,4 (C=O).

VII. ÖSSZEFOGLALÁS

Kutatásaim egyik célja volt karotinoid dendrimerek első generációjának előállítása. Ezek a vegyületek és hasonló, nagy molekulatömegű, több karotinoid egységet is tartalmazó molekulák teljesen ismeretlenek voltak az irodalomban. A kísérletek alapján kiderült, hogy az elsődlegesen tervezett maleinsav-anhidriddel nem tudunk stabil dimereket előállítani, csakúgy, mint a ftálsav-anhidriddel sem. Viszont a munkánk során borostyánkősavanhidriddel jó eredménnyel állítottunk elő homo-, és heterodimereket (17. ábra). Hasonló módon DCC-vel végzett kapcsolással előállítottunk aromás di-, illetve tricetsav észtereket hidroxikarotinoidokból (20., 21. ábra). További vizsgálatainkban az is kiderült, hogy aromás savak és savkloridok (18.; 19. ábra) alkalmazása magként nem lehetséges, valószínűleg sztereoelektronikus, illetve szterikus okok miatt. Megfigyelhető továbbá, hogy csak a monohidroxikarotinoidokkal kaptunk értékelhető eredményt, bár többféle dihidroxikarotinoiddal is próbálkoztunk.

Hasonló eredményeket kaptunk amikor di- és trifenolokat próbáltunk karotinoid-szukcinátokkal kapcsolni: a reakciók nem, vagy csak nyomnyi mennyiségű termék keletkezése mellett játszódtak le (22. ábra)

A megoldást itt is a hidroxilcsoportok távolabbra helyezése jelentette, a hidroximetil-csoportokat tartalmazó maggal már kaptunk értékelhető eredményeket, igaz csak apokarotenoid-szukcinátokkal (27, 30) és szerény kitermeléssel (22. ábra).

Összefoglalva felemlés eredmény született, bár sikerült 1. generációs dendrimereket előállítani, ezek valószínűleg nem bővíthetők tovább ezen az úton, hiszen a bifunkciós karotinoidok nem reagáltak. Természetesen a kapott trimerek már így is elég nagy méretűek ahhoz, hogy újszerű fizikai és biokémiai tulajdonságokat mutassanak. Az ezekkel kapcsolatos vizsgálatokat a jövőben kívánjuk elvégezni.

Munkám másik célja volt, karotinoidok vízoldhatóbbá tétele különböző karotinoid-szukcinátok PEG, illetve rövidebb szénláncú TEG és OEG konjugátumainak előállításával. A PEG és karotinoid kapcsolását észterkötéssel oldottuk meg karotinoid-szukcinátok és különböző hosszúságú mono- és bifunkciós PEG-származékok felhasználásával. Az egy hidroxilcsoportot tartalmazó PEG550-monometil-étert (mPEG550) feleslegben alkalmazva jó kitermeléssel kaptuk a megfelelő mono- ill diésztereket (24.; 25. ábra). Hasonló módon tetraetilén-glikolt és oktaetilén-glikolt feleslegben alkalmazva, egy vagy két PEG egységet tartalmazó származékokat kaptunk (26. ábra). Ha a karotinoid monoszukcinátokat feleslegben reagáltattunk TEG-al vagy OEG-al, akkor elsősorban dimerek keletkeztek (27. ábra).

Vizsgáltuk a pegilált termékek vízoldhatóságát, ami arányosnak bizonyult a molekula PEG tartalmával, így a várakozásoknak megfelelően a legjobban a **61**, **64** és **63** konjugátumot oldódtak vízben, míg a **72**, **73** dimerek szinte egyáltalán nem. A vízoldható származékok az irodalmi adatok alapján is jobb antioxidánsok, mint a megfelelő karotinoidok, így tervezzük -különösen a lutein származékait- *in vitro* és *in vivo* biológiai vizsgálatokban is tesztelni.

Előállítottunk TEG és OEG tartalmú trimereket is a 29. ábrán látható módon több lépésben, mivel a karotenoid-PEG konjugátumok közvetlen kapcsolása a **33** maghoz nem járt eredménnyel. A jövőre nézve valószínűleg érdekes eredményt hozhat a PEG összekötő elemet tartalmazó és anélküli trimerek tulajdonságainak összehasonlítása.

Először végeztünk "click"-reakciót karotinoidszármazékokkal. Az azid-alkin click-reakcióhoz az alkin funkció könnyebben létrehozható a karotinoidon, ezért ezt az utat választottuk. Több kísérletet is elvégezve a jól kristályosodó és jó kitermeléssel képződő pentionátokra esett a választásunk (39. ábra).

A 8'- β -apokarotininil-pentionáttal és benzil-aziddal végzett előkísérletekkel meghatároztuk az optimális - és lehetőség szerint enyhe - körülményeket, majd különböző pentinoátokat kapcsoltunk PEG-azidhoz közepes kitermeléssel (40. ábra) Így a korábbiakban szintetizált PEG-karotinoid konjugátumok analogonjai előállíthatók azid-alkin click-reakcióval is (40. ábra). Talán még lényegesebb azonban, hogy lehetőség nyílik a click-reakció széleskörű alkalmazására a karotinoidok körében, ezért terveink között szerepel különböző karotinoid-biomolekula konjugátumok előállítása is a közeljövőben

VIII. IRODALOMJEGYZÉK

- ¹ SIES, H.; STAHL, W.: *Am.J.Clin.Nutr.*, **1995**, vol. 62 (Suppl), no. 6, 13155-13215.
- ² MICHAUD ,D., S.; FESKANICH, D.; RIMM, E.; B.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **2000**, vol. 72(4),990-997.
- ³ GIOVANNUCCI, E.: *Exp. Biol. Med. (Maywood)*, **2002**, vol. 227(10), 852-859.
- ⁴ SANGIOVANNI, J, P; CHEW, E, Z;, CLEMONS, T,E; FERRIS, F, L; GENSLER, G; LINDBLAD, A., S.; MILTON, R., C.; SEDDON, J., M.; SPERDUTO, R., D.: *Arch Ophthalmol.* **2007**, vol. 125(9), 1225-1232.
- ⁵SÖNKE S., DONALD, A., TOMALIA: *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2005**, vol. 57, no.15, 2106-2129.
- ⁶ PATRI, A., K.; KUKOWSKA-LATALLO, F., J.; JAMES R. BAKER JR., R., J.: *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2005**, vol. 57, 2203-2214.
- ⁷ SADEKAR, S.; GHANDEHARI, H.: *Adv. Drug Deliver. Rev.*,**2012**, vol 64, 571-588
- ⁸ SWANSON, D., S.; KUKOWSKA-LATALLO, F., J.; PATRI, K., A.; CHEN, CH.; GE, G.; CAO, ZH.; KOTLYAR, K.; EAST, A.; BAKER, R., J: *Int. J. Nanotechnol.*, **2008**, vol.3, 201-210.
- ⁹ SÖNKE S., DONALD, A., TOMALIA: *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2012**, vol. 64, 102-115.
- ¹⁰ MARTIN, K., R.; WU, D.; MEYDANI, M.: *Atherosclerosis*, **2000**, vol. 150, 265-274
- ¹¹ GROSS, G., J.; LOCKWOOD, S., F.: *Life Sci.* **2004**, vol.75, 215-224.
- ¹² FURKA, Á.: *Szerves kémia*. Tankönyvkiadó, Bp., **1991**, 787-789, 792-794.
- ¹³ KOVÁCS, K.; HALMOS, M.: *A szerves kémia alapja*. Tankönyvkiadó, Bp. **1995**.
- ¹⁴ DELI, J.: *A klinikai táplálkázástudomány és dietetika alapjai. Szerves kémia II.*, **1994**, POTE Egészségügyi Főiskola.
- ¹⁵ FRASER, P. D.; BRAMLEY, P. M.: *Prog. Lipid Res.*, **2004**, vol. 43, 247.
- ¹⁶ ZSILA, F., BIKADI, Z., DELI, J. AND SIMONYI, M.: *Chirality*, **2001**, vol.13, 446-453.
- ¹⁷ ZSILA, F., BIKADI, Z., DELI, J. SIMONYI, M.: *Tetrahedron Lett.*, **2001**, vol. 42, 2561-2563.
- ¹⁸ AUWETERC, H.; BENADE, J.; BETTERMANN, H.; BEUTNER, S.; KÖPSEL, C.; LÜDDECKE, E.;MARTIN, H.D.; MAYER, B: *Pigm. Food Techno.*, **1999**, 197-201.
- ¹⁹ KÖHN, S.; KOLBE, H.; MICHAEL KORGER, M.; KÖPSEL, C.; MAYER, B.; AUWETER, H.; LÜDDECKE, E.; BETTERMANN, H.; MARTIN, H.D.: in

Carotenoids, Aggregation and Interface Behaviour of Carotenoids, Birkhäuser Basel **2008**, vol. 4, 53-98.

²⁰ RAO, A.,V. ; RAO, L., G.: *Pharmacol. Res.*, **2007**, vol. 55, 207-216.

²¹ RAO, A.,V.; AGARWAL, S.: *Nutr. Res.*, **1999**, vol. 19, 305-323.

²² TAPIERO, H.; TOWNSEND, D., M.; TEW, K.,D.: *Biomed. Pharmacother.*, **2004**, vol. 58, 100-110.

²³ FERNÁNDEZ: *Adv. Phytomed.*, **2006**, vol. 2, 313-330

²⁴ PALOZZA, P.; SERINI, S.; NICUOLO, D., F.; CALVIELLO, G.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **2004**, vol. 430, 104-109.

²⁵ MORAVA, E.; ANTONI, F.: *Az emberi táplálkozás alapjai*, **1991** Akadémiai Kiadó Budapest.

²⁶ GRASSMANN, J.; HIPPELI, S.; ELSTRE, E.F.: *Plant Physiol.d Biochem*, **2002**, vol. 40, 471-478.

²⁷ VAN POPPEL, G.; GOLDBOHN, R. A.: *Am. J. Clin. Nutr.*, **1995**, vol. 62, 1393-1402.

²⁸ KRITCHEVSKY, S. B.: *J. Nutr.*, **1999**, vol. 129, 5-8.

²⁹ GIOVANUCCI, E.: *J. Natl. Cancer I.*, **1999**, vol. 91, 317-331.

³⁰ BLOCK, G.; PATTERSON, B.; SAUBER, A.: *Nutr. Cancer*, **1992**, 18, 1-29.

³¹ KRINSKY, I., N. : *Soc. Exp. Biol. Med.: Carotenoids and disease prevention*, **1998**, vol. 218, 95-97.

³² LANDRUM, J. T.; BONE, R. A.: *Arch. Biochem. Biophys.*, **2001**, vol. 385, 28-40.

³³ BURNS, J.; FRASER, P. D.; BRAMLEY, P.M.: *Phytochem.*, **2003**, vol. 62, 939-947.

³⁴ MASAYOSHI, I.; YUMIKO, Y.; CHISATO, T.; AKIMORI ,W.; *Arch. Biochem. Biophys.* **2009**, vol. 483; 224-228.

³⁵ MOLNÁR, P.; DELI, J.; MATUS, Z.; TÓTH, GY.,; STECK, A.: *Helv. Chim. Acta*, **1997**, vol. 80, 221-229.

³⁶ MOLNÁR, P.; DELI, J.; MATUS, Z.; TÓTH, G.; STECK, A.; PFANDER, H.: *Helv. Chim. Acta*, **1999**, vol. 82, 1994-2002.

³⁷ DELI, J., MOLNÁR, P., MATUS, Z., TÓTH G., STECK, A., PFANDER, H.: *Helv. Chim. Acta.*, **1998**, vol. 81, 1242-1253.

³⁸ DELI, J., MOLNÁR, P., MATUS, Z., TÓTH, G.: *J. Agricult. Food Chem.*, **2001**, vol. 49, 1517-1523.

³⁹ DELI, J., MOLNÁR, P.: *Curr. Org. Chem.*, **2002**, vol.6, 1197-1219.

- ⁴⁰ PFANDER, H.; HODLER, M.: *Helv. Chim. Acta*, **1974**, vol. 57, 1641-1651.
- ⁴¹ NAGY, V.; AGÓCS, A.; TURCSI, E.; DELI, J.: *Tetrahedron Lett.*, **2010**, vol. 51, 2020-2022.
- ⁴² FREY, D. A.; KATAISTO, E. W.; EKMANIS, J. L.; O'MALLEY, S.; LOCKWOOD, S. F.: *Org. Process. Res. Dev.*, **2004**, vol. 8, 796-801.
- ⁴³ NADOLSKI, G.; ARTURO, J.; CARDOUNEL, A. J.; ZWEIER, J. L.; LOCKWOOD, S. F.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, vol. 16, 775-781.
- ⁴⁴ JACKSON, H. L.; CARDOUNEL, A. J.; ZWEIER, L. J.; LOCKWOOD, S. F.: *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, vol. 14, 3985-3991.
- ⁴⁵ KIM, SB.; KIM, H.; LIM, B.; MEANG, J.; BAE, SH.; CHOI, E.; OH, JT.; HONG, I.; JUNG, SY.; YEO, JE.; KOO, S.: *Pure App. Chem.*, **2011**, vol. 83, 613-620.
- ⁴⁶ REYNAUD, E.; AYDEMIR, G.; RUHL, R.; DANGLES, O.; CARIS-VEYRAT, C.: *J. Agricult. Food Chem.*, **2011**, vol. 59, 1457-1463.
- ⁴⁷ CHUNG, J.; KOO, K.; LIAN, F.; HU, Q. K.; ERNST, H.; WANG, X. D.: *J. Nutr.*, **2012**, vol. 142, 405-410.
- ⁴⁸ GOURANTON, E.; AYDEMIR, G.; REYNAUD, E.; MARCOTORCHINO, J.; MALEZET, C.; CARIS-VEYRAT, C.; BLOMHOFF, R.; LANDRIER, J.F.; RÜHL R.: *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Mol. Cell Biol. L.*, **2011**, vol. 1811, 1105–1114.
- ⁴⁹ OPSTAD, CL.; SLIWKA, HR.; PARTALI, V.: *Eur. J. Org. Chem.*: **2010**, vol. 2010, 435-439.
- ⁵⁰ LI, H.; REBMANN, E.; OPSTAD, CL.; SCHMID, R.; SLIWKA, HR.; PARTALI, V.: *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, vol. 2010; 4630-4636.
- ⁵¹ BEUTNERA, S.; FRIXELA, S.; ERNSTB, H., HOFFMANNA, T.; HERNANDEZ-BLANCOA, I.; HUNSDOERFERA, C.; KIESENDAHLA, N.; KOCKA, S.; MARTIN, H-D.; MAYERA, B.; NOACKA, P.; PEREZ-GALVEZC, A.; KOCKA, G.; SCHERRERSA, R.; SCHRADERD, W.; SELLA, S.; STAHLA, W., *Arkivoc.*, **2007**, 279-295.
- ⁵² HOUTE, H.; PARTALI, V.; SLIWKA, H.,R.; QUARTEY E., G.K., *Chem. Phys. Lipids*, **2000**, vol.105, 105-113.
- ⁵³ KANOFSKY, J., R.; PAUL D. SIMA P.,D.; *Exp. Eye Res.*, **2006**, vol. 82, 907-914.
- ⁵⁴ BUHLEIER, E.; WEHNER, W.; VÖGTLE, F.: *Synthesis*, **1978**, vol. 2, 155–158. YATES, C.R.; HAYES, W.: *Mini-Rev. Org. Chem.*, **2005**, 2, 1-22.
- ⁵⁵ TOMALIA, D. A.; BAKER, H.; DEWALD, J.; HALL, M.; KALLOS, G.; MARTIN, S.; ROECK, J.; RYDER, J.; SMITH, P.: *Polym. J.*, **1985**, vol.17, 117-132.

- ⁵⁶ RUPP,R.; ROSENTHAL, L. S.; STANBERRY, R. L.: *Int. J. Nanomed.*, 2007, vol. 2007:2, 561-566.
- ⁵⁷ PRICE, F. C.; TYSSSEN, D.; SONZA, S.; DAVIE, A.; EVANS, S.; LEWIS, R. G.; XIA, S.; SPELMAN, T.; HODSMAN, P.; MOENCH, R. T.; HUMBERSTONE, A.; PAULL, A. R. J.; TACHEDJIAN G.: SPL7013 Gel (VivaGel®) Retains Potent HIV-1 and HSV-2 Inhibitory Activity following Vaginal Administration in Humans, *Plos One*, **2011**.
- ⁵⁸ NAKANOZO, M.; MA, L.; ZAITSU, K.: *Tetrahedron Lett.*, **2002**, vol. 43, 8185-8189.
- ⁵⁹ CHOW, H. F.; MAK, C. C.: *J. Chem. Soc., Perkins Trans*, **1997**, vol. 1, 91-95.
- ⁶⁰ CHOI, M. S.; YAMAZAKI, T.; YAMAZAKI, I.; AIDA, T.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2004**, vol.43, 150-158.
- ⁶¹ MAJORAL, J. P.; CAMINADE, A.-M.: *Chem. Rev.*, **1999**, vol. 99, 845-880.
- ⁶² ANTONI, P.; NYSTROEM, D.; HAWKER, J. C.; HULT, A.; MALKOCH, M.: *Chem. Commun.*, **2007**, vol. 22, 2249-2251.
- ⁶³ NUMATA, M.; IKEDA, A.; FUKUHARA, C.; SHINKAI, S.: *Tetrahedron Lett.*, **1999**, vol. 40, 6945-6948.
- ⁶⁴ JANSEN, J. F. G. A.; DE BRABANDER-VAN DEN BERG, E. M. M.; MEIJER, E. W. : *Science*, **1994**, vol. 266, 1226-1229.
- ⁶⁵ RUPP, R.; ROSENTHAL, L.S.; STANBERRY R. L.: *Int J Nanomedicine*, **2007**, vol. 2, 561–566.
- ⁶⁶ OWEN, J., D.: *Nanomed.- Nanotechnol.*, **2007**, 3, 338.
- ⁶⁷ NUTTALL, J.; ROMANO, J.; DOUVILLE, K.; GALBREATH, C.; NEL, A.; HEYWARD,W.; MITCHNICK, M.; SAUL WALKER, S.; ZEDA ROSENBERG, Z; : *Infectious Disease Clinics of North America*, **2007**, vol. 21, 219-239.
- ⁶⁸ CUTLER, B.; JUSTMAN, J.: *The Lancet Infectious Diseases*, **2008**, vol. 8, 685-697.
- ⁶⁹ SHAUNAK, S.; SHARYN THOMAS, GIANASI, E.; GODWIN, A.; JONES, E.; TEO, I.; MIRESKANDARI, K.; LUTHERT, P.; DUNCAN, R.; PATTERSON, S.; KHAW, P.; BROCCINI, S.: *Nat. Biotechnol.*, **2004**, vol. 22, 977-984.
- ⁷⁰ ALTINIER, S.; MION, M.; CAPPELLETTI, A.; ZANINOTTO, M.; PLEBANI, M.: *Clin. Chem.*, **2000**, vol. 46, 991-993.
- ⁷¹ GERBER, B. L.; BLUEMKE, D. A.; CHIN, B. B.; BOSTON, R. C.; HELDMAN, A. W.; LIMA, J. A. C.; KRAITCHMAN, D. L.: *Radiology*, **2002**, vol. 225, 104-112.

- ⁷² KOBAYASHI, H.; KAWAMOTO, S.; STAR, R. A.; WALDMANN, T. A.; TAGAYA, Y.; BRECHBIEL, M. W.: *Cancer res.*, **2003**, vol. 63, 271–276.
- ⁷³ BARRETT, T.; RAVIZZINI, G.; CHOYKE, L. P.; KOBAYASHI, H.: *Eng. Med. Biol. Mag.*, **2009**, vol. 28, 12-22.
- ⁷⁴ SAKAMOTO, I, J.; KOYAMA, T.; MIYAMOTO, D.; YINGSAKMONGKON, S.; HIDARI, I, P., J., K.; JAMPANGERN, W.; SUZUKI, T.; SUZUKI, Y.; ESUMI, Y.; NAKAMURA, T.; HATANO, K.; TERUNUMA, D.; MATSUOKA, K.: *Bioorg. Med. Chem.*, **2009**, vol. 17, 5451–5464.
- ⁷⁵ BAKER, R. J. Jn.: *ASH Education Book*, **2009**, vol. 2009, 708-719.
- ⁷⁶ NEISES, B.; STEGLICH, W.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1978**, vol.17, 522–524.
- ⁷⁷ SZENTE, L.; MIKUNI, K.; HASHIMOTO, H.; SZEJTLI, J.: *J. Inclus. Phenom. Mol.* **1998**, vol. 32, 81-89.
- ⁷⁸ PFITZNER, I.; FRAN CZ, P.I.; BIESALSKI, H.K. CAROTENOID : *Bba-Gen. Subjects* **2000**, vol. 1474, 163-168.
- ⁷⁹ BASU, H.N.; DEL VECCHIO, A.: *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **2001**, vol. 78, 375-380.
- ⁸⁰ LANCRAJAN, I.; DIEHL, H.A.; SOCACIU, C.; ENGELKE, M.; ZORN-KRUPPA, M.: *Chem. Phys. Lipids*, **2001**, vol. 112, 1-10.
- ⁸¹ MELE, A.; MENDICHI, R.; SELVA, A.; MOLNAR, P.; TOTH, G.: *Carbohydr. Res.*, **2002**, vol. 337, 1129-1136.
- ⁸² POLYAKOV, N.E.; LESHINA, T.V.; KONOVALOVA, T.A.; HAND, E.O.; KISPERS, L.D.: *Free. Radical Bio. Med.*, **2004**, vol. 36, 872-880.
- ⁸³ BIKADI, Z.; KURDI, R.; BALOGH, S.; SZEMAN, J.; HAZAI, E.: *Chem. Biodivers*, **2006**, vol. 3, 1266-1278.
- ⁸⁴ LYNG, S.M.; PASSOS, M.; FONTANA, J.D.: *Process. Biochem.*, **2005**, vol. 40, 865-872.
- ⁸⁵ LOCKWOOD, S.F.; O'MALLEY, S.; MOSHER, G.L.: *J. Pharm. Sci.*, **2003**, vol. 92, 922-926.
- ⁸⁶ CHEEVEEWATTANAGUL, N.; JIRASRIPONGPUN, K.; JIRAKANJANAKIT, N.; WATTANAKAROON, W.: *Adv. Mat. Res.*, **2010**, vol. 93-94, 202-205.
- ⁸⁷ DELI, J.; IVÁNYI, R.; NÉMETH, K.; VISY, J.; SZEMÁN, J.; SZENTE, L.; SIMONYI, M.: *Carotenoid Science* **2008**, vol. 12, 201.

- ⁸⁸ HORVÁTH, G.; SZÓKE, E.; KEMÉNY, A.; BAGOLY, T.; DELI, J.; SZENTE, L.; PÁL, S.; SÁNDOR, K.; SZOLCSÁNYI, J.; HELYES, Z.: *J Mol Neurosci* **2012**, vol. 46, 1-9.
- ⁸⁹ LOCKWOOD ET AL.: *Life Sciences* , **2004**, vol. 75, 215–224.
- ⁹⁰ LOCKWOOD ET AL, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2004**, vol. 14, 3985–3991.
- ⁹¹ PARTALI ET AL, *Chem. Phys. Lipids*, **2000**, vol. 105, 105–113.
- ⁹² SLIWKA ET AL, *Chem. Phys. Lipid*, **2005**, vol. 34, 85–96.
- ⁹³ POPPLEWELL, L.J.; ABU-DAYYA, A.; KHANNA, T.; FLINTERMAN, M.; KHALIQUE, N.A.; RAJU, L.; OPSTAD, C.L.; SLIWKA, H.R.; PARTALI, V.; DICKSON, G.; PUNGENTE, M.D.: *Molecules*, **2012**, vol. 17, 1138-1148.
- ⁹⁴ PUNGENTE, M.D.; JUBELI, E.; ØPSTAD, C.L; AL-KAWAZ, M.; BARAKAT, N.; IBRAHIM, T.; KHALIQUE, N.A.; RAJU, L.; JONES, C.; LEOPOLD, P.L.; SLIWKA, H.R.; PARTALI, V.: *Molecules*, **2012**, vol. 17, 3484-3500.
- ⁹⁵ WILLIBALD, J.; RENNEBAUM, S.; BREUKERS, S.; HAFEZ, S.H.A.; PATEL, A.; OPSTAD, C.L.; SCHMID, R.; NAESS, S.N.; SLIWKA, H.R.; PARTALI, V.: *Chem. Phys. Lipids*, **2009**, vol. 161, 32-37.
- ⁹⁶ FOSS, B.J.; NADOLSKI, G.; LOCKWOOD, S.F.: *Mini-Rev. Med. Chem.*, **2006**, vol. 6, 953-969.
- ⁹⁷ LUTZ, J.F.; HOTH, A.: *Macromolecules*, **2006**, vol. 39, 893-896.
- ⁹⁸ KODERA, Y.; MATSUSHIMA, A.; HIROTO, M.; NISHIMURA, H.; ISHII, A.; UENO, T.; INADA, Y.: *Prog. Polym. Sci.*, **1998**, vol. 23, 1233–1271.
- ⁹⁹ KOZŁOWSKI, A.; HARRIS, M., J.: *J. Control. Release*, **2001**, vol 72, 217–224.
- ¹⁰⁰ RAJENDER, K. R; MODI, W. M.; PEDDER, S.: *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2002**, vol. 54, 571-586.
- ¹⁰¹ VERONESE, M. F.; PASUT, G.: *Adv. Drug Deliver. Rev*, **2005**, vol.10, 1451-1458.
- ¹⁰² KHANDARE, J.; MINKO, T.: *Prog. Polym. Sci.*, **2006**, vol. 31, 359–397.
- ¹⁰³ LIANG, B.; HE, M.-L.; CHAN, CH.; CHEN, Y.; LI, X.-P.; LI, Y.; ZHENG, D.; LIN, C. M.; KUNG, H.-F.; SHUAI, X.-T.; PENG Y.: *Biomaterials*, **2009**, vol. 30, 4014-4020.
- ¹⁰⁴ PASUT,G.; SERGI, M.; VERONESE, M., F.: *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **2008**, vol. 60, 69–78.

- ¹⁰⁵ LIU, P.; SANTISTEBAN, I.; BURROUGHS, M., L.; OCHS, D., H.; TORGERSON, R., T.; HERSHFIELD, S., M.; RAWLINGS, J., D.; SCHARENBERG, M., A.: *Clin. Immunol.*, **2009**, vol. 130, 162–174.
- ¹⁰⁶ HERSHFIELD, S., M.: *Clin. Immunol. Immun.*, **1995**, vol. 76, S228–S232.
- ¹⁰⁷ BREWERTON, J., L.; FUNG, E.; SNYDER F., F.: *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Mol. Basis Dis.*, **2003**, vol. 1637, 171–177.
- ¹⁰⁸ DAVIS, F. F.; VAN ES, T.; PALCZUK, N. C.: *Non-immunogenic polypeptides. United States Patent US 4179337*. **1973**.
- ¹⁰⁹ VERONESE, F.M; HARRIS, J. M: *Adv. Drug deliver. Rev.*, **2002**, vol. 54, 453–456
- ¹¹⁰ MARTIN, A.; MATTEA, F.; GUTIERREZ, L.; MIGUEL, F.; COCERO, M.J.: *J. Supercrit. Fluid* **2007**, vol. 41, 138–147.
- ¹¹¹ HÁDA, M.; NAGY, V.; TAKÁTSY, A.; DELI, J.; AGÓCS, A.: *Tetrahedron Lett.* **2008**, vol. 49, 3524-3526.
- ¹¹² SLIWKA, H.R.; MELØ, T.B.; FOSS, B.J.; ABDEL-HAFEZ, S.H.; PARTALI, V.; NADOLSKI, G.; JACKSON, H.; LOCKWOOD, S.E.: *Chem. Eur. J.*, **2007**, vol. 13, 4458–4466.
- ¹¹³ KOLB, C., H.; FINN, G., M.; SHARPLESS, K., B.: *Angew. Chem.*, **2001**, vol. 40, 2004 – 2021.
- ¹¹⁴ HUISGEN, R.; GRASHEY, R.; SAUER, J.: *Chem. Alkenes, Interscience, New York*, **1964**, 806-877.
- ¹¹⁵ ROSTOVTSEV, V., V.; GREEN, G., L.; FOKIN, V., V.; SHARPLESS, B., K.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, vol. 41, 2596-2599.
- ¹¹⁶ MANETSCH, R.; KRASINSKI, A.; RADIC, Z.; RAUSHEL, J.; TAYLOR, P.; SHARPLESS, B. K.; KOLB, C. H.: *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, vol. 126, 12809-12818.
- ¹¹⁷ LEWIS, W., G.; GREEN, G. L.; FLAVIO GRYNSZPAN, F.; RADIC, Z.; CARLIER, R. P.; TAYLOR, P.; FINN, G., M.; K. BARRY SHARPLESS, K. B.: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, vol. 41, 1053-1053.
- ¹¹⁸ SPEERS, A. E.; ADAM, G. C.; CRAVATT, B. F.: *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, vol. 125, 4686-4687.
- ¹¹⁹ ALONSO, F.; MOGLIE, Y.; RADIVOY, G.; YUS, M.: *Tetrahedron Lett.* **2009**, vol. 50, 2358-2362.
- ¹²⁰ SHIE, J.-J.; FANG, J.-M.: *J. Org. Chem.*, **2007**, vol. 72, 3141-3144.
- ¹²¹ BERSCHIED, R.; NIEGER, M.; VÖGTLE, F.: *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1991**, 1364-1366.

¹²² BONGER, M., K.; BERG, N., H., B., J., R.; HEITMAN, H., L.;IJZERMAN, P., A.; OOSTEROM, J.; TIMMERS,M., C.: *Bioorg. And Med. Chem.*, **2007**, vol. 15, 4841–4856.

¹²³ TROPPER, D.,F.; ANDERSSON, O., F.; BRAUN, S.; ROY, R.: *Synthesis*, **1992**, 618-620.

SAJÁT KÖZLEMÉNYEK

1. Magdolna Háda, Veronika Nagy, Anikó Takátsy, József Deli, Attila Agócs
Dicarotenoid esters of bivalent acids
Tetrahedron Letters, 49 (2008), 3524-3526. I.F: 2.54
2. Magdolna Háda, Veronika Nagy, Gergely Gulyás-Fekete, József Deli, Attila Agócs
Towards Carotenoid Dendrimers: Carotenoid diesters and triesters with aromatic cores
Helvetica Chimica Acta, (2010), 1149-1155, I.F. 1.28
3. Magdolna Háda, Dóra Petrovics, Veronika Nagy, Böddi Katalin, József Deli, Attila Agócs
First synthesis of PEG-carotenoid conjugates
Tetrahedron Letters, (2011), 3195-3197, I.F. 2.68.
4. Magdolna Háda, Veronika Nagy, Anikó Takátsy, József Deli, Jan Hait, Attila Agócs
Introduction of click chemistry to carotenoids
Tetrahedron Letters (2012), 2480-2482, I.F. 2.68 (2011)
5. Magdolna Háda, Veronika Nagy, József Deli and Attila Agócs
Hydrophilic Carotenoids: Recent Progress
Molecules (2012), 17, 5003-5012, invited review, I.F. 2.39 (2011)
6. Háda Magdolna, Nagy Veronika, Deli József, Agócs Attila
Hidrofíl karotinoidok
Magyar Kémiai Folyóirat (2012), megjelenés alatt.