

Б. Г. САВИНОВ и А. А. МИХАЙЛОВНИНА

**НЕО- β -КАРОТИН В КАК ПРОДУКТ ПЕРВИЧНОГО
СТЕРЕОИЗОМЕРНОГО ПРЕВРАЩЕНИЯ β -КАРОТИНА
ПРИ НАГРЕВАНИИ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 20 XI 1952)

Применение хроматографического адсорбционного анализа, разработанного нашим выдающимся соотечественником М. С. Цветом, при исследовании группы каротиновых красящих веществ позволило обнаружить их способность к изомеризации под влиянием различных факторов с образованием ряда геометрических изомеров, отличающихся от исходного природного вещества своими свойствами, в том числе и биологической активностью (1). Механизм подобной стереоизомеризации заключается в осуществлении цис-поворотов у стерически активных двойных связей. Образующиеся при этом различные возможные цис-изомеры, в отличие от исходного неизомеризованного вещества, находящегося в полной транс-форме, обладают иной адсорбируемостью на хроматографических адсорбентах. Для растворов этих стереоизомеров характерен сдвиг максимумов поглощения в видимой части спектра (примерно на 4—5 м μ в сторону более коротких волн для каждого цис-поворота) и появление дополнительного максимума поглощения в ближней ультрафиолетовой области («цис-пика»).

Особый интерес представляет стереоизомеризация А-витаминно-активных природных каротиновых красящих веществ и, в частности, наиболее активного из них — β -каротина. Изучению изомеризации β -каротина посвящен ряд работ (1, 2). При помощи хроматографического анализа по Цвету из растворов β -каротина, подвергавшихся искусственной изомеризации, получено свыше 10 различных зон на адсорбционных колонках. Пигменты этих зон (стереоизомеры) были названы нео- β -каротинами. Индексация их, в зависимости от положения по высоте колонки, предложена в свое время Цехмейстером. Из стереоизомеров β -каротина был выделен в кристаллическом состоянии и ближе изучен моно-цис-изомер нео- β -каротин U.

В данной работе нами изучались превращения β -каротина в растворе при разных температурах. При этом образцы выдерживались в темноте в запаянных в атмосфере инертного газа ампулах, чтобы избежать влияния других изомеризующих факторов, кроме температуры. При последующем хроматографировании бензольно-бензиновых растворов на Al_2O_3 обнаружено нарушение хроматографической однородности исходного вещества. Наряду с зоной неизмененного транс- β -каротина ниже ее во всех опытах образовывалась вторая зона, обладающая розово-желтой окраской. Количество пигмента этой зоны было различным в зависимости от условий. Так, при выдерживании растворов β -каротина в течение 60 суток при 5° образовалось 2,3% нового вещества, при 20° за это же время 13,6%, при 50° в течение 24 час. 14,6% и при 100° за это же время 28,2%.

Разделения образующейся в результате нагревания розово-желтой

зоны от зоны, соответствующей неизмененному β -каротину, удавалось достигнуть при хроматографировании раствора на Al_2O_3 , активированной после тщательного растирания прокаливанием в течение 2 час. при красном калении и проявлении хроматограммы сначала смесью бензола с бензином в отношении 1 : 3, а потом только бензином. Зоны затем разделялись механически путем разрезания столбика адсорбента и отдельно элюировались бензином, содержащим 1% спирта.

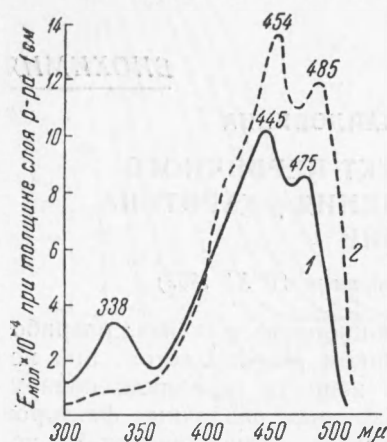


Рис. 1. Кривые поглощения в гексане: 1 — нео- β -каротина В, 2 — транс- β -каротина

338 м μ был обнаружен цис-пик, соответствующий по величине коэффициента экстинкции нео- β -каротину В.

В дальнейшем мы поставили своей задачей выявить условия максимального накопления обнаруженного стереоизомера. Для этой цели несколько ампул с раствором β -каротина в бензоле (концентрация 0,1 мг/мл) помещались в термостат и выдерживались там при 100°. Через определенные промежутки времени одна из ампул вскрывалась, некоторая часть ее содержимого разбавлялась в мерной колбе бензином и колориметрировалась со стандартом из 0,036% раствора $K_2Cr_2O_7$ для определения общего количества окрашенных веществ в прошедшем обработке растворе (в мг/мл). Остальная часть раствора в ампуле разбавлялась бензином (1 : 3), и полученный раствор хроматографировался на Al_2O_3 . После проявления хроматограммы пигмент розово-желтой зоны, располагающейся ниже β -каротина, элюировался в мерную колбу бензином, содержащим 1% спирта. Концентрация пигмента в растворе устанавливалась также колориметрированием со стандартом из раствора двухромовокислого калия. Полученные данные о накоплении нео- β -каротина В при нагревании приводятся в табл. 1.

Результаты опытов показывают, что равновесие изомеризации, направленное в сторону образования нео- β -каротина В, наступает через 3 часа нагревания. В опытах, проведенных при 150 и 200°, значительно возрастал распад каротина до бесцветных соединений и уменьшалось количество определяемого нео- β -каротина В.

Для выделения нео- β -каротина В в кристаллическом состоянии 200 мл раствора β -каротина в бензоле с концентрацией 0,2 мг/мл помещалось в 4 больших ампулы, по 50 мл в каждую. Током углекислого газа, свободного от кислорода, из ампул вытеснялся воздух. Запаянные ампулы выдерживались в термостате при 100° в течение 3 час. После

Бензиновые растворы пигментов промывались несколько раз водой (от спирта) и высушивались безводным Na_2SO_4 . При измерении кривой поглощения бензинового раствора пигмента розово-желтой зоны было обнаружено два максимума поглощения в видимой части спектра: при 475 и 445 м μ . Полученные данные позволили предположить, что новое окрашенное вещество, образующееся при нагревании раствора β -каротина, соответствует стереоизомеру, названному нео- β -каротином В (3,6-ди-цис- β -каротину). Измерение кривой поглощения раствора этого изомера в гексане (см. рис. 1) подтвердило первоначальное предположение. При

Бензиновые растворы пигментов промывались несколько раз водой (от спирта) и высушивались безводным Na_2SO_4 . При измерении кривой поглощения бензинового раствора пигмента розово-желтой зоны было обнаружено два максимума поглощения в видимой части спектра: при 475 и 445 м μ . Полученные данные позволили предположить, что новое окрашенное вещество, образующееся при нагревании раствора β -каротина, соответствует стереоизомеру, названному нео- β -каротином В (3,6-ди-цис- β -каротину). Измерение кривой поглощения раствора этого изомера в гексане (см. рис. 1) подтвердило первоначальное предположение. При

Таблица 1

Продолжит. нагрев. в час.	Образовалось нео- β -каротина В в %
1	12,5
2	21,1
3	28,4
4	28,1
5	28,5
24	28,2

хроматографирования на Al_2O_3 в условиях, описанных выше, и разделения зон пигмент розово-желтой зоны переводился в бензиновый раствор. Таким способом было получено около 240 мл бензинового раствора нео- β -каротина В с концентрацией 0,05 мг/мл. Ввиду возможного обратного превращения нео- β -каротина В в β -каротин (реакция изомеризации обратима) полученный раствор ставился на кристаллизацию в темноте на холоду. Выпавшие кристаллы отсасывались, промывались спиртом и высушивались в вакууме. Таким способом было получено 5 мг кристаллического нео- β -каротина В, что составляло 12,5% от исходного β -каротина или 41,1% от количества нео- β -каротина В, образовавшегося в растворе в результате термической изомеризации.

Нео- β -каротин В представляет собой в чистом виде кристаллическое порошкообразное вещество темнокрасного цвета. Т. пл. 146° (т. пл. транс- β -каротина $183-184^\circ$). Под микроскопом его кристаллы, полученные из бензольного раствора, имеют вид правильных квадратных пластинок; из петролейно-эфирного раствора нео- β -каротин В кристаллизуетеся в виде удлиненных призм.

Были измерены максимумы поглощения выделенного изомера в различных растворителях. Результаты приводятся в табл. 2.

Из данных табл. 2 видно, что сдвиг максимумов поглощения нео- β -каротина В по сравнению с первоначальным транс- β -каротином в более коротковолновую область равен 9—11 м μ , что и характерно для ди-цис-изомеров.

Следует отметить, что при нагревании растворов β -каротина в атмосфере инертного газа образуются также и некоторые другие цис-изомеры, но в очень незначительном количестве. Превращения каротина при

нагревании его растворов идут, таким образом, в двух главнейших направлениях: изомеризация с образованием нео- β -каротина В и глубокий распад молекулы с образованием бесцветных продуктов разложения.

Эти наблюдения позволяют высказать предположение о том, что термический распад β -каротина сопровождается, повидимому, предварительной изомеризацией молекулы в менее устойчивую цис-форму. Выявление во всех проведенных опытах нео- β -каротина В — ди-цис-стереоизомера с высоким цис-пиком — подтверждает вероятность такого предположения.

Цис-поворот у центральной двойной связи (см. рис. 2) сильно искривляет молекулу, увеличивая ее дипольный момент и делая ее, таким образом, менее устойчивой. Характерно, что одновременно с этим существенно понижается и А-витаминная активность каротина.

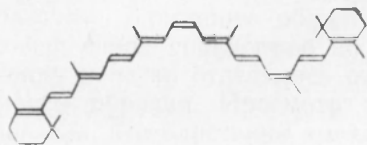


Рис. 2

Таблица 2

Растворитель	Максимумы поглощения в видимой части спектра в м μ	
	нео- β -каротин В	транс- β -каротин
Бензин (40—80°)	475; 445	485; 453
Гексан	475; 443	486; 454
Бензол	486; 456	496; 465
Этанол	476; 444	485; 453
Хлороформ	485; 452	495; 463

Институт органической химии
Академии наук УССР

Поступило
30 IX 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Б. Г. Савинов, Ф. Л. Гринберг, Усп. хим., 17, 74 (1948). ² L. Zeschmeister et al., J. Am. Chem. Soc., 64, 1856 (1942); 66, 137 (1944); 67, 108 (1945).