

**Az OTKA -T 037441 nyilvántartási számú, „Karotinoidok kémiai átalakításai” c.
kutatási téma 2005. évi szakmai zárójelentése**

- 1. A „Karotinoidok kémiai átalakításai” c. kutatási témánk keretében Prof. Dr. A. Selva (CNR, Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare di Milano) kutatócsoportjával együttműködve előállítottuk és vizsgáltuk a likopin (ψ,ψ -karotin) α -ciklodextrinnel (α CD) és β -ciklodextrinnel (β CD) képzett vízoldható zárványkomplexeit. A komplexeket a fényszóráson alapuló spektroszkópiai (MALS)- és tömegspektrometriai módszerekkel (IS/ESIMS, tandem MS) jellemeztük. A MALS-módszer alkalmazásával megállapítottuk, hogy a komplexek vizes oldataiban a részecskék viszonylag nagy-, a nanométer mérettartományba eső méretű aggregátumokat képeznek, s az α CD/likopin-, valamint a β CD/likopin-komplexek aggregátumainak alakja eltérő. IS/ESIMS-módszert alkalmazva megfigyeltük, majd tandem MS révén megerősítettük, hogy az α CD/likopin-komplexben az alkotórészek aránya 1:1. A MALS- és MS-módszerek együttes alkalmazásával javaslatot tettünk a vizes oldatban képződő CD/likopin-aggregátumok szerkezetére is. Eredményeinket a *Carbohydrate Research* c. folyóiratban publikáltuk (ld. a 2002. évi szakmai részjelentés 2/1. mellékletének 1. sorszámú publikációját és a részjelentéshez 2 példányban mellékelte különlenyomatot, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közlemények**” c. fejezetét).**
- 2. A karotinoidok poliénláncának (*E/Z*)-izomerizációjával (**Kémiai átalakítás**) kapcsolatos vizsgálataink folytatásaként tiszta, kristályos állapotban előállítottuk a szemisztetikus diasztereoizomer violaxantinok [(all-*E*, 3*S*,5*S*,6*R*,3'*S*,5'*S*,6'*R*)-violaxantin = *syn-syn* violaxantin; (all-*E*, 3*S*,5*S*,6*R*,3'*S*,5'*R*,6'*S*)-violaxantin = *syn-anti* violaxantin] fő mono-*cis*izomerjeit, a (9*Z*)- és a (13*Z*)- *syn-syn* violaxantint, valamint a (9*Z*)-, (9'*Z*)-, (13*Z*)- és (13'*Z*)- *syn-anti* violaxantint. Az össz-*transz* (all-*E*)-társzerkezetű *syn-syn* és *syn-anti* violaxantint zeaxantin-diacetát (zeaxantin ex *Lycium halimifolium*) ftálmonopersavval történő epoxidációjával állítottuk elő. A (*Z*)-izomerek előállítása a megfelelő (all-*E*)-vegyületekből termikus izomerizációval, ill. jóddal katalizált fotoizomerizációval történt. Az izomereket HPLC-vel, valamint preparatív oszlopkromatográfiával (CC) választottuk szét. A vegyületek térszerkezetét spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, CD, MS)határoztuk meg. Eredményeinket a *Helvetica Chimica Acta* c. folyóiratban publikáltuk; azokról korábban hazai és nemzetközi konferenciákon is beszámoltunk (ld. a 2002. évi szakmai részjelentés 3. pontját, s az ahhoz csatolt 5. sz. publikációt, a 2002. év során tartott előadások és poszterek csatolt összefoglalóit; a 2003. évi szakmai részjelentés 2. pontját és az ahhoz csatolt 2/1. melléklet 3., 10. és 11. sz. publikációját, a korábban mellékelte előadás- és poszterösszefoglalókat, a különlenyomat 2 példányát, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közlemények**” c. fejezetét).**
- 3. Mocsári gólyahír (*Caltha palustris*) szíromleveleiből 3'-epiluteint izoláltunk és spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, CD, MS) próbáltuk igazolni szerkezetét, konfigurációját. Mivel a különböző NMR.-spektroszkópiai módszerekkel nem lehet különbséget tenni a 3'-epilutein és a 6'-epilutein között, ezért a főzött, ill. gőzölt sóskából izolált epilutein C-3'- és C-6' kiralitáscentrumai abszolút konfigurációjának meghatározása CD-spektroszkópia alkalmazásával történt. Célunk elérése érdekében összehasonlítottuk a mocsári gólyahír szíromleveleiből izolált, a 3'-oxolutein (ketolutein; a lutein MnO₂-os és NiO₂-os oxidációjával nyertük; ld. a 2003.**

évi részjelentés **10.** pontját és ezen beszámoló **8.** pontját is) NaBH₄-es redukciójával előállított és a lutein savval katalizált epimerizációjával preparált (**Kémiai átalakítások**) epilutein-minták CD-spektroszkópiai adatait. A különböző eredetű epilutein-preparátumok CD-spektroszkópiai adatainak egyezése bizonyította a minták azonosságát, továbbá a királis centrumok (3*R*,3'*S*,6'*R*)-konfigurációját.

Eredményeinket a *Helvetica Chimica Acta* c. folyóiratban publikáltuk (ld. a 2004. évi szakmai részjelentés **1.** pontját, az ahhoz mellékelte különnyomat 2 példányát, a 2003. évi beszámoló **4.** pontját, a csatolt 2/1 sz. melléklet 4., 7., 11., 17., 20. és 23. publikációját, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közlemények**” c. fejezetét).

- 4.** A karotinoidok poliénláncának (*E/Z*)-izomerizációjával (**Kémiai átalakítás**) kapcsolatos további vizsgálataink során a mocsári gólyahír (*Caltha palustris*) szíromleveleiből tiszta, kristályos állapotban izolált és azonosított (all-*E*)-3'-epiluteinből termikus izomerizációval, ill. jóddal katalizált fotoizomerizációval preparatív méretben előállítottuk a vegyület (9*Z*)-, (9'*Z*)-, (13*Z*)-, (13'*Z*)-, (15*Z*)- és (9*Z*,9'*Z*)-izomerjét. Az izomerek térszerkezetét spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H-NMR, CD, MS) határoztuk meg. Eredményeinket a *Helvetica Chimica Acta* c. folyóiratban publikáltuk (ld. a 2004. évi részjelentést **2.** pontját a mellékelte különnyomat 2 példányával), valamint azokat hazai és nemzetközi konferenciákon, előadói üléseken is bemutattuk (ld. a 2003. évi részjelentés **5.** pontját és 2/1. sz. mellékletének 8., 11. és 23. sz. publikációit, a 2002. évi részjelentést és mellékleteit, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közlemények**” c. fejezetét is).
- 5.** Ismert, hogy a lutein savval katalizált epimerizáció révén in vitro főként 3'-epiluteinné alakul; a reakció során anhidratizáció is lejátszódik, így anhidrolutein I (deoxilutein II) is képződik (**Kémiai átalakítások**; ld. a 3. pontot is). Ezen karotinoidok képződését a különböző élelmiszerek (zöldségfélék, gyümölcsök) feldolgozása során ezideig nem vizsgálták. Kísérleteink során megállapítottuk, hogy az oxálsavat nagy mennyiségben tartalmazó sósokának főzés, gőzölés hatására jelentősen megváltozik a karotinoid-összetétele; csökken lutein-tartalma, ugyanakkor tekintélyes mennyiségű 3'-epilutein és anhidrolutein I képződik. A lutein epimerizációját és anhidratizációját a zöldpaprika főzése, sütése, savanyítása, a kapor savanyítása, valamint néhány gyümölcs (szilva, fekete szeder) konzerválása során is megfigyeltük. A lutein-tartalom feldolgozás során bekövetkező drámai csökkenése ezen élelmiszerek biológiai értékének csökkenését jelentheti. Mivel a 3'-epilutein és az anhidrolutein I biológiai aktivitását ezideig nem vizsgálták, eredményeink ezen karotinoidok biológiai szerepének tisztázására sarkallnak. Eredményeinket a *Bioorg. Med. Chem. Lett.* c. folyóiratban publikáltuk, valamint hazai és nemzetközi konferenciákon is bemutattuk (ld. a 2003. évi részjelentés **3.** pontját, annak 2/1 sz. melléklete 4., 7., 17. és 19. sz. publikációját, a mellékelte különnyomatokat); ld. továbbá ezen zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét is.
- 6.** Főzött sóska (~3 kg) teljes extraktumából (ld. a 2003. évi részjelentés **3.** pontját; a 2004. évi részjelentés **1.** pontját; továbbá ezen zárójelentés **5.** pontját) 350 mg, főként luteint és 3'-epiluteint tartalmazó értékes fitoxantin-keveréket, továbbá 8 mg anhidrolutein I-et (92,2%; HPLC) izoláltunk kristályos állapotban. Az utóbbi vegyületet autentikus mintával történő együttkromatografálással (CC, HPLC), UV/VIS- és ¹H-NMR-spektroszkópiai, valamint tömegspektrometriai adatai alapján azonosítottuk. Az anhidrolutein II jelenlétét szemimikro-méretben oszlopkromatográfiával, továbbá HPLC-vel mutattuk ki.

Az epimerizációt az anhidratizáció mellett (*E/Z*)-izomerizáció is kíséri (**kémiai átalakulások**), így szemimikro-méretben sikerült izolálnunk és UV/VIS-spektroszkópiai adataik alapján azonosítanunk az extraktumban nagyobb mennyiségben jelenlévő anhidrolutein I fő mono-*cis*-izomerjeit [(9*Z*)-, (9'*Z*)-, (13*Z*)-, (13'*Z*)].

A fenti izomereket az anhidrolutein I preparatív méretű izomerizációjával is előállítottuk, azokat azonban sajátos oldhatósági viszonyaik miatt kristályosítani nem tudtuk, így szerkezetazonosításukat végülis az izomerizációs elegy on-line HPLC-NMR-analízisével végeztük el.

A fenti eredmények egy részét a *Chemistry and Biodiversity* c. folyóiratban megjelent közleményünk tartalmazza; további részeit a *Journal of Chromatography, Plant Analysis* c. folyóirathoz beküldött és közlésre elfogadott közleményünk, továbbá a MKE Vegyészkonferencia 2005 (Hajdúszoboszló), a 14th International Carotenoid Symposium, 2005 (Edinburgh), a 6th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods, 2005 (Siófok), a 11th International Symposium on Separation Sciences, 2005 (Pardubice) rendezvények megfelelő előadás- és poszterösszefoglalói tartalmazzák (ld. a mellékletként beküldött közleményeket és konferencia-absztraktokat, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét is).

7. A lutein savak hatására bekövetkező epimerizációja (ld. 2003. évi részjelentés **3.** pont; 2004. évi részjelentés **1., 8.** és **9.** pont; ezen zárójelentés **5.** és **6.** pont) jól ismert reakció. Összehasonlítottuk az INEXA INDUSTRIA EXTRACTORA C. A. (Quito, Ecuador) cég által bársonyvirágból (*Tagetes erecta*) ipari méretekben izolált lutein-észter-keverék, valamint a belőle hidrolízissel előállított lutein viselkedését (**kémiai átalakulásait**) THF/H₂O (1:1) oldószerkeleggyel készített 50 mg/dm³ koncentrációjú oldatban 37 °C-on, 0,1 N HCl jelenlétében (modellkísérlet az emberi gyomorban uralkodó pH-viszonyokra). A fenti kísérleti körülmények között a lutein-észterek keveréke –eltekintve a kismértékű (*E/Z*)-izomerizációtól– gyakorlatilag változatlan marad, míg 1 óra elteltével a „szabad” lutein több, mint 60 %-a 3'-epilutein és anhidroluteinek képződése következtében átalakul, degradálódik. Ezen eredmény egyértelműen demonstrálja az észtercsoportok védőhatását, a vizsgált anyagok biológiai hasznosíthatóságának, hatásainak különbözőségét.

Eredményeinkre a Vegyészkonferencia 2005 (Hajdúszoboszló), a 14th International Carotenoid Symposium 2005 (Edinburgh) rendezvények poszterösszefoglalói, valamint az *Eur. Food Res. Technol.* c. folyóirathoz beküldendő közlemény utalnak (ld. a csatolt mellékleteket és ezen zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét).

8. A lutein **kémiai átalakításait** vizsgálva a vegyületből nikkelperoxiddal (NiO₂), ill. mangán-dioxiddal (MnO₂) történő oxidációval preparatív méretben 3'-oxoluteint (ketoluteint) állítottunk elő, majd spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H- és ¹³C-NMR, CD, MS) elvégeztük a vegyület teljes szerkezetazonosítását (ld. a 2002. évi részjelentés **6.** pontjának 2. részét; a 2003. évi részjelentés **4.** és **10. pontját**). Új eredménynek tekinthető a vegyület szerkezetének ¹³C-NMR- és részletes kiroptikai adatokkal történő megerősítése. A vegyület NaBH₄-del történő redukciója lutein és 3'-epilutein ~1:1 arányú keverékének képződéséhez vezetett (ld. ezévi zárójelentés **3.** pontját is).

A 3'-oxolutein szerkezetigazolására és az oxidáció melléktermékeinek azonosítására vonatkozó eredményeinkre a Vegyészkonferencia 2003 (Hajdúszoboszló) és a 14th International Carotenoid Symposium 2005 (Edinburgh) rendezvényeken bemutatott

poszterek összefoglalói, továbbá a *Letters in Organic Chemistry* c. folyóirathoz közlésre előkészített közleményünk másolatai utalnak (ld. a csatolt mellékleteket, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét).

9. A karotinoidok (*E/Z*)-izomerizációjával kapcsolatos vizsgálataink folytatásaként lutein jóddal katalizált fotoizomerizációjával (**kémiai átalakítás**) preparatív méretben előállítottuk a vegyület 9,9'-di-*cis*-izomerjét [(9*Z*,9'*Z*)-lutein = neolutein C], majd spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR, CD, MS) elvégeztük teljes szerkezetazonosítását. Eredményeinket a *Helv. Chim. Acta* c. folyóirathoz beküldött és közlésre elfogadott közleményünkben publikáltuk (ld. a csatolt mellékleteket, továbbá ezen zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét).

10. A „**Karotinoidok kémiai átalakításai**” c. pályázatunk céljainak megfelelően elvégeztük a piros paprika fő karotinoidjának, a kapszantinak kálium-dikromáttal történő oxidatív lebontását. A reakció a következő termékek képződéséhez vezetett: kapszokróm, kapszantin-5,6-epoxid, 3,3'-dihidroxi-5,6-szeko-β,κ-karotin-5,6,6'-trion, 3-hidroxi-szemi-β-karotinon-10'-aldehid, 3-hidroxi-szemi-β-karotinon-8'-aldehid, apo-8-kapszantilal, apo-10-kapszantilal, (9'*Z*)-apo-10-kapszantilal, apo-12-kapszantilal, apo-14-kapszantilal. A kapszantin-5,6-epoxid és a kapszokróm kivételével a felsorolt vegyületek a kapszantin excentrikus hasadásának termékei. Japán kutatók eredményei szerint az említett oxidációs termékek közül néhány a piros paprikából is izolálható.

Eredményeinkről a MKE által szervezett Vegyészkonferencián (Hajdusoboszló, 2003) számoltunk be (ld. a 2002. évi részjelentés 6. pontjának 3. részét; a 2003. évi részjelentés 9. pontját, az ott említett 2/1. sz. melléklet 16. sz. poszterét a csatolt mellékletekkel, továbbá az idei zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét). A publikáció közlésre történő előkészítése folyamatban van.

11. A SZTE Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézetével, Prof. Molnár József kutatócsoportjával együttműködve megvizsgáltuk a karotinoidoknak a tumorsejtek multidrog-rezisztenciájára és apoptózisára gyakorolt hatását. A kemoterápiás gyógyszerek, s egyéb hatóanyagok antitumor kemoterápiában történő alkalmazhatóságának alapja az MDR-1 gén által kódolt, multidrog-rezisztenciáért felelős membrán-transzport fehérje, a p 170 glikoprotein aktivitásának gátlása. Munkánk célja e ténynek megfelelően a **karotinoidok, s ezen fehérje kölcsönhatásának (kémiai átalakítás) vizsgálata** volt. Az antiproliferatív és citotoxikus hatásokat különböző sejtvonalakon, a tumorsejtek hatóanyag-felvételét az emberi MDR-1 génnel transzformált egér limfoma sejteken tanulmányoztuk rodamin-123 indikátorral, áramlási citométerben.

A paprikából és más növényekből általunk izolált karotinoidok (először 12 természetes forrásból izolált karotinoid hatását vizsgáltuk) jelentős multidrog-rezisztencia-gátlást okoztak. A kapszantin és a kapszorubin jelentősen fokozták a drogakkumulációt, melynek mértéke a kezeletlen sejtek akkumulációjához viszonyítva 30-szorosára nőtt. A likopin, a lutein, az anteraxantin és a violaxantin közepes hatással rendelkeztek, az α- és a β-karotin pedig hatástalannak bizonyultak a tumorsejtek multidrog-rezisztenciájának változására.

Eredményeinket korábban az *In vivo* és az *Anticancer Research* c. folyóiratokban, továbbá az Erdélyi Múzeum Egyesület Orvostudományi és Gyógyszerészeti Szakosztálya által megjelentetett kiadványban könyvfejezetként publikáltuk, valamint hazai és nemzetközi konferenciákon is referáltuk (ld. a 2002. évi részidős jelentés 2.

pontját, a 2003. évi részidős jelentés 6. pontját és a jelentéshez kapcsolódó 2/1. melléklet publikációs listájának 5., 6., 9., 14., 15. és 22. publikációit a már korábban csatolt mellékletekkel).

A fenti vizsgálatokat a későbbiekben szemisztetikus úton (**kémiai átalakításokkal**) előállított karotinoid-5,6-epoxidokra (β -karotin-mono- és diepoxid, 15,15'- β -karotin-diepoxid, α -karotin-monoepoxid), karotinoid-5,8-epoxidokra (= furanoid-oxidokra) [mutatokróm, aurokróm, (5*S*,8*R*)-kapszokróm, (5*R*,8*R*)-kapszokróm, (5*R*,8*S*)-kapszokróm, (5*S*,8*S*)-kapszokróm, luteokróm, (8*R*)- és (8*S*)-luteoxantin, flavoxantin, krizantémaxantin] és néhány *cisz*-karotinoidra [(13*Z*) + (13'*Z*)-lutein, (13*Z*)- és (9*Z*)-zeaxantin, (9*Z*)-violaxantin = violeoxantin, (9'*Z*)-neoxantin is kiterjesztettük. Az eredmények közlése részben megtörtént (ld. a 2004. évi részjelentés 4. pontját a kapcsolódó Publikációs lista 3., 6., 9., 10., 13., 18., 19., 26., 29., 30. sz. közleményeit, továbbá az ideai zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetét és a mellékletként csatolt 2005.-ben megjelent, ill. közlésre beküldött és megjelenés alatt álló közleményeket).

12. Az előző pontban leírt vizsgálatainkhoz kapcsolódva, japán kutatókkal [Prof. M. Kawase (Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University, Sakado) és Prof. N. Motohashi (Meiji Pharmaceutical University, Tokyo) munkacsoportjaival] együttműködve a következő fitoxantin-keverék biológiai aktivitását vizsgáltuk: piros fűszerpaprika hipofázikus (poláris; (1))- és epifázikus (kevésbé poláris, ill. apoláris; (2)) karotinoidjait tartalmazó fitoxantin-keverék; 'Valencia narancs' héjának hipofázikus karotinoidjait tartalmazó fitoxantin-keverék (3); 'Golden delicious' alma hipo (4))- és epifázikus karotinoidjait tartalmazó keverék (5)). Megvizsgáltuk az egyes fitoxantin-keverékek és a β -karotin *Helicobacter pylori* (gyomorfekélyt előidéző baktérium) elleni, HIV (AIDS)-vírus elleni, citotoxikus, multidrog-rezisztencia-gátló és szabadgyök-fogó (scavenger) hatását. A (4) sz. minta jelentős anti-*Helicobacter pylori*-aktivitást mutatott ($MIC_{50} = 36 \mu\text{g/ml}$). A HIV-vírus ellen valamennyi mintánk inaktívnak bizonyult. A (3)-as és (4)-es sz. minták valamivel magasabb citotoxikus aktivitást mutattak három emberi tumorsejt-vonal (pikkelyes sejtkarcinóma HSC-2 és HSC-3, állkapocs alatti mirigykarcinóma HSG) és az emberi promielocitás leukémiás HL-60 sejtek ellen, mint háromféle, az emberi szájból található sejt (fogínyból származó fibroblaszt HGF, pulpasejt és periodontális ligamentum-fibroblaszt HPLF) ellen. Ezen mintáink tehát tumorspecifikus citotoxikus aktivitást mutattak. Az (1)-es, a (3)-as és a (4)-es sz. minták jóval magasabb multidrog-rezisztencia-gátló hatást fejtettek ki, mint a referenciavegyületként alkalmazott verapamil. Az ESR-spektroszkópiai mérések tanúsága szerint mintáink (a β -karotint is beleértve) csak alig detektálható mennyiségben képeztek gyököket alkalikus körülmények között (**kémiai átalakítások**) és nem fejtettek kigyökfogó hatást a hipoxantin- és xantin-oxidáz reakció eredményeként képződő szuperoxid (O_2^-)-anionokra. Ugyanakkor az (1)-es és (2)-es sz. minták eredményes gyökfogóként viselkedtek az 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)-gyökökkel szemben, a (2)-es és az (5)-ös sz. minták pedig jelentősen gátolták a szingulet oxigén ($^1\text{O}_2$) képződését.

Eredményeinkről a *Phytotherapy Research* c. folyóiratban megjelent közleményünkben számoltunk be (ld. a 2004. évi szakmai részjelentés 5. pontját, az ahhoz csatlakozó Publikációs lista 11. sz. közleményét, a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleményét és a csatoltan megküldött különlenyomatokat).

13. CD- és UV/VIS-spektroszkópiai adatok alapján kimutattuk, hogy a természetes forrásból (*Bixa orellana*) izolált bixin (*cisz*-társzerkezetű apokarotin-dikarbonsav-monometilészter) kapcsolódni képes az emberi szervezetben előforduló AGP (alfa₁-acid-glycoprotein) nevű összetett fehérjéhez. A **karotinoid- és a vizsgált fehérjemolekula kölcsönhatását (kémiai átalakulás)** erős batokróm eltolódás és a fő abszorpciós sávok kiszélesedése jelzi, utalva arra, hogy a fehérje kötőhelye főként aromás csoportokat tartalmaz, továbbá arra, hogy a molekulák kapcsolódásáért hidrofób kölcsönhatások és H-kötések egyaránt felelősek. CD-spektroszkópiával követett titrálási kísérleteink alapján meghatároztuk a képződő rendszerre jellemző asszociációs konstans értékét ($K_a = 6,8 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$) és a kötés sztöchiometriáját (0,16). Ezen utóbbi alacsony érték az AGP szerkezeti izomorfizmusával függ össze. Eredményeinkről a *Bioorganic Chemistry* c. folyóiratban megjelent dolgozatunkban számoltunk be (ld. a 2004. évi részjelentés **6.** pontját, továbbá a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleményét és a csatoltan megküldött különlenyomatokat).
14. CD- UV/VIS- és fluoreszcencia-spektroszkópia alkalmazásával vizsgáltuk a természetes **bixin** (ex *Bixa orellana*) és az **emberi szérumalbumin** (human serum albumin; HSA) közötti **kölcsönhatásokat (kémiai átalakulás)**. A méréseket fiziológias körülmények között végezve megállapítottuk, hogy az UV- és látható tartományban jelentkező CD-sávok nem kovalens **karotinoid – szérum-albumin komplexek** képződésére utalnak. A CD-spektroszkópiával követett titrálással meghatározott asszociációs konstans, $K_a = 1,4 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$; a kötőhelyek száma, $n = 1,2$. A fluoreszcencia-spektroszkópiai mérések is hasonló értékeket eredményeztek. A **bixin-HSA-komplexek** kristályszerkezetét vizsgálva, spektroszkópiai méréseink eredményeit értékelve arra a következtetésre jutottunk, hogy a bixin-kötőhely valószínűleg az IA szubdomén hemin kötő-zsebben található. Eredményeinket a *Chemistry and Biodiversity* c. folyóiratban megjelent dolgozatunkban foglaltuk össze (ld. a 2004. évi részjelentés **7.** pontját, továbbá a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleményét és a csatoltan megküldött különlenyomatokat).
15. A Hoffmann-La Roche (majd jogutódjával a DSM Nutritional Products) céggel (Basel) történő kutatási együttműködésünk keretében összehasonlítottuk a kínai és a magyar származási helyű *Lycium barbarum* L. (fontos látásélesség-javító gyógynövény) karotinoid-összetételét. Megállapítottuk, hogy a Kínából származó és a Pécs környékén gyűjtött termékek karotinoid-összetétele közel azonos. A termékek különösen nagy (>90%) mennyiségben tartalmaznak zeaxantint. Sikerült továbbá néhány kis mennyiségben előforduló karotinoidot, pl. (Z)-izomereket és β-citraurint (C₃₀-apokarotinal) is azonosítanunk. Eredményeinket az *Olaj Szappan Kozmetika* c. folyóiratban publikáltuk, valamint a *10. Magyar Gyógynövény Konferencián* is előadtuk (ld. a 2002. évi részjelentés **4.** pontját a mellékelt előadásösszefoglalóval, a 2003. évi beszámoló **1.** pontját és annak 2/1 mellékletében a 2. és 12. sz. publikációkat, a 2003. évi részjelentéshez mellékelt különlenyomatokat, a 2004. évi részjelentés Publikációs listájában a 2. és 16. sz. közleményeket és a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleményét).
16. Ugyancsak a Hoffmann-La Roche céggel, valamint karunk Farmakológiai és Farmakoterápiai Intézetével történő kutatási együttműködés keretében vizsgáltuk a

piros csészegomba (*Sarcoscypha coccinea*) karotinoid-összetételét. HPLC és preparatív oszlopkromatográfia alkalmazásával megállapítottuk, hogy ezen ehető gomba fő karotinoidjai a (2'*R*)-plektániaxantin, a 2'-dehidroplektániaxantin és a β-karotin. Ezen komponenseket kristályos állapotban is izoláltuk; szerkezetüket spektroszkópiai módszerekkel (UV/VIS, ¹H- és ¹³C-NMR, CD, IR, MS) igazoltuk.

Izoláltuk továbbá a (2'*R*)-plektániaxantin és a 2'-dehidroplektániaxantin számos új, eddig nem azonosított (*Z*)-izomerjét is. Mivel ezen izomereket sajátos polaritási viszonyaik miatt kristályosítani nem tudtuk, térszerkezetükre UV/VIS-spektroszkópiai adataink alapján következtettünk.

A 2'-dehidroplektániaxantin (ketokarotinoid) redukciójával (NaBH₄; **kémiai átalakítás**) racém plektániaxantint állítottunk elő. A racém keverék enantiomerjeinek elválasztása és azonosítása, továbbá az izolált (*Z*)-izomerek szerkezetazonosítása kapilláris technikát alkalmazó on-line HPLC-NMR- és HPLC-MS-módszerekkel a Tübingeni Egyetem Szerves Kémiai Intézetével történő NATO-együttműködés keretében jelenleg folyik.

Az eddigi eredményeket a 10. Magyar Gyógynövény Konferencián bemutatott poszter, a 2002. évi részjelentés 5. pontjához csatolt 2/1 sz. melléklet 7. sorszámú publikációja és a részjelentéshez akkor mellékelt poszterösszefoglaló tanúsítja (ld. a 2005. évi zárójelentés „10. Közleményjegyzék” c. fejezetének vonatkozó közleményét is).

17. A Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Kara Növényélettani és Növényi Biotechnológiai Intézetével (Mosonmagyaróvár), a MTA Balaton Limnológiai Kutatóintézetével (Tihany), valamint a PTE TTK Növénytan Tanszékével együttműködve megvizsgáltuk 9 különböző algatörzs karotinoid-összetételét. A minták teljes extraktumának HPLC-analízise során csökkenő polaritásuk sorrendjében valamennyi mintában a következő karotinoidokat sikerült azonosítanunk: neokróm-epimerek, (all-*E*)-neoxantin, (9'*Z*)-neoxantin, violaxantin, luteoxantin, lutein-5,6-epoxid, a vegyület (*Z*)-izomerjei, az anteraxantin (*Z*)-izomerjei, lutein (valamennyi minta fő karotinoidja), zeaxantin, (9*Z*)-, (9'*Z*)-, (13*Z*)-, (13'*Z*)- és (15*Z*)-lutein, α-kriptoxantin, a vegyület (*Z*)-izomerjei, α- és β-karotin.

Újabb vizsgálataink szerint az egyik mintában (MACC-438 *Chlorella* sp.; 8. sz. minta) loroxantint (a poliénlánc 9-es C-atomján –CH₃-csoport helyett –CH₂OH-csoport van) és a vegyület (9*Z*)-izomerjét sikerült kimutatnunk. Nagyobb mintamennyiségből kiindulva ezen két utóbbi vegyületet tiszta, kristályos állapotban is izoláltuk, elvégeztük jóddal katalizált fotoizomerizációjukat (**kémiai átalakítás**) és teljes szerkezetazonosításukat.

Eredményeinket az 5. Balaton Szimpóziumon (2003. szept. 3-5) bemutatott poszterrel demonstráltuk (ld. 2003. évi részjelentés 7. pontját, a részjelentés 2/1. mellékletének 18. sz. publikációját, az akkor beküldött poszterösszefoglalókat, továbbá a 2005. évi zárójelentés „10. Közleményjegyzék” c. fejezetének vonatkozó közleményét is).

18. A Hoffmann-La Roche (majd jogutódjával, a DSM Nutritional Products) céggel (Basel) történő kutatási együttműködés keretében megvizsgáltuk a 'Golden delicious' sárga alma karotinoid-összetételét. A gyümölcs teljes extraktumának HPLC-analízisével csökkenő polaritásuk sorrendjében a következő karotinoidokat azonosítottuk: (all-*E*)-neoxantin, (9'*Z*)-neoxantin, (all-*E*)-violaxantin, luteoxantin, (9*Z*)-violaxantin (violeoxantin; a gyümölcs fő karotinoidja), anteraxantin, mutatoxantin-epimerek, lutein, (9*Z*)-, (9'*Z*)-, (13*Z*)-, (13'*Z*)- és (15*Z*)-lutein, β-kriptoxantin-5,6-epoxid, a vegyület (*Z*)-izomerje, β-kriptoxantin, a vegyület (*Z*)-

izomerje, β -karotin és (Z)-izomerje. Az extraktum fő komponenseit [(all-E)-violaxantin, (9Z)-violaxantin, lutein] kristályos állapotban is izoláltuk.

Eredményeinkre a 2003. évi részjelentés 8. pontjához tartozó 2/1. sz. melléklet 21. sz. posztere, az akkor beküldött poszterösszefoglaló, továbbá a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleménye utal.

A 'Golden delicious' almából izolált fitoxantin-keverék biológiai hatásait, a hatásokkal kapcsolatos **kémiai átalakulásokat** ezen zárójelentésben már tárgyaltuk (ld. 12.pont).

19. A Berni Egyetem Kémiai és Biokémiai Intézetével, valamint a Roche Vitamins Ltd. (DSM Nutritional Products, Basel) céggel együttműködve elvégeztük a *Physalis alkekengi* (zsidócsereesznye) bogyótermése és kehelylevele össz-karotinoid-tartalmának, a metanolos és éteres extraktumok különböző (hipo- és epifázikus) frakcióinak, továbbá a teljes extraktumok (összesen 14 különböző frakció) karotinoid-összetételének HPLC-analízissel történő meghatározását, különös tekintettel a kis mennyiségben előforduló karotinoidokra, karotinoid-izomerekre.

Eredményeinkre a 2004. évi részjelentés 10. pontja, az „Elválasztástudományi Vándorgyűlés 2004” (Hévíz) rendezvényen bemutatott poszter összefoglalója (ld. 2004. évi részjelentés publikációs listájának 28. sz. konferenciakiadványa), a beküldött poszter, továbbá a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleménye utal.

20. Ugyancsak a Berni Egyetem Kémiai és Biokémiai Intézetével, valamint a Roche Vitamins Ltd.(DSM Nutritional Products, Basel) céggel együttműködve elvégeztük a birs (*Cydonia oblonga* Mill.) karotinoid-összetételének HPLC- és oszlopkromatográfiás (CC)-analízissel történő meghatározását. A birsból nyert teljes extraktum hipofázikus frakciójában csökkenő polaritásuk sorrendjében a következő karotinoidokat azonosítottuk: (9'Z)- és (all-E)-neokróm-epimerek, (9'Z)-neoxantin, (9'Z)-violaxantin (= violeoxantin), a luteoxantin (Z)-izomerjei, (all-E)-neoxantin, auroxantin-epimerek, (all-E)-luteoxantin, (all-E)-violaxantin, 5,8-epoxi-5,8-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-ol, a β -kriptoxantin (Z)-izomerjei. Az extraktum epifázikus frakciójában kriptoflavint, 5,8-epoxi-5,8-dihidro-12'-apo- β -karotin-12'-ol-epimereket, (Z)- és (all-E)- β -kriptokróm-epimereket, (Z)- β -kriptoxantint, (all-E)- β -kriptoxantint, fitoint és fitofluint azonosítottunk. A karotinoid-5,8-epoxidok (furanoid-oxidok; nevük „-króm”-ra végződik) a laboratóriumban a megfelelő 5,6-epoxidokból protonkatalizálta átrendeződés (**kémiai átalakítás**) révén állíthatók elő.

Eredményeinkre a 6th Balaton Symposium on High Performance Separation Methods (Siófok, 2005. szeptember 7-9) és a 8th Symposium on Instrumental Analysis (2005. szeptember 25-28, Graz, Ausztria) rendezvényeken bemutatott poszterek összefoglalói, a 2005. évi zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó közleményei és a csatolt mellékletek utalnak.

21. A karotinoidok izolálásának, kristályosításának, a karotinoidokkal kapcsolatos laboratóriumi munka módszereinek (karotinoidok kezelése), s ezen vegyületek *transz-cisz* (E/Z)-izomerizációjának (**kémiai átalakítások**) problémakörét egy japán szerzőtársakkal közös könyvfejezetben foglaltuk össze. A könyv (Ed.: Prof. Noboru Motohashi, aki egyúttal szerzőtársam is) 2005. áprilisában jelent meg (ld. a 2004. évi részjelentés 3. pontját, ezen részjelentéshez kapcsolódó Publikációs lista 12. sorszámú dokumentumát, továbbá a 2005. évi szakmai zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c.

fejezetének vonatkozó dokumentumát és a mellékelt könyvfejezet-különlenyomatokat).

- 22.** A karotinoidok UV/VIS-, FT-IR- és Raman-spektroszkópiai adataiból számítható különféle elektrongerjesztési energia-értékek, frekvencia- és hullámszám-adatok felvilágosítást adnak a karotinoidoknak a fotoszintézisben betöltött szerepére [növényi fehérjékkel történő fénygyűjtő komplexek (LHC = Light Harvesting Complexes) képződésére (**kémiai átalakulások**)]. Ennek érdekében H. Hashimoto japán professzor („Light and Control”, PRESTO/JST, and Department of Physics, Osaka City University, Osaka, Japan) munkacsoportjával együttműködve elvégeztük tíz természetes és öt szemisztetikusan *össz-transz* karotinoid optikai abszorpció-, Raman- és FT-IR-spektroszkópiai vizsgálatát. Eredményeinkről a 14. Nemzetközi Karotinoid Szimpóziumon (Edinburgh, 2005. július 17-22.) bemutatott poszter keretében számoltunk be (ld. a 2005. évi szakmai zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó dokumentumát és a csatolt poszterösszefoglalót).
- 23.** A karotinoidok, a klorofill és a citokróm b_{559} fontos kofaktorai a II. sz. fotorendszer fénygyűjtő komplexének (LHC). Ezen vegyületek olyan másodlagos elektronszállító folyamatokban vesznek részt, melyeknek a P680-gyök-kationok ($P680^+$) megkötésében és a II. sz. fotorendszer fényvédő hatásának kifejtésében van jelentőségük. Az említett folyamatok során karotinoid-gyök-kationok (Car^+) képződnek. Különösen érdekes ezen részecskék elektronszerkezetének és környezetüknek az elektronspin-sűrűség-eloszlásra gyakorolt hatása. Munkánk során $SiO_2 - Al_2O_3$ keverékre adszorbeált természetes zeaxantin (ex *Lycium halimifolium*) és violaxantin (ex *Viola tricolor*) besugárzása ($\lambda > 350$ nm) révén előállítottuk a megfelelő karotinoid-gyök-kationokat (Car^+ ; **kémiai átalakítások**). Ezen részecskék szilárd fázison történő stabilizációja a II. sz. fotorendszer reakciócentrumán történő stabilizációhoz hasonló mechanizmus szerint játszódik le. A karotinoid-gyök-kationok (Car^+) elektronszerkezetének jellemzése céljából pulzáló ENDOR (Electron Nuclear Double Resonance) és HYSORE (Hyperfine Sublevel Correlation)-spektroszkópiával meghatároztuk a zeaxantin- és violaxantin-gyök-kationokra jellemző hiperfinom csatolási állandó-értékeket. A 30-40 K hőmérséklettartományban elvégzett ENDOR-mérések 3-4, 8-9 és 12-13 MHz közötti izotróp csatolási állandó-értékeket eredményeztek, melyek három különböző helyzetű metilcsoportnak tulajdoníthatók. A nagymértékű anizotrópia miatt az α -protonok vonalai kiszélesedtek és így a poralakú minta ENDOR-spektrumában nem voltak megfigyelhetők. Az α -protonokra jellemző csatolási állandókat a HYSORE-spektrumok analízise alapján határoztuk meg. A violaxantin-gyök-kation esetében 9,5 MHz, a zeaxantin-gyök-kation esetében 15,0 MHz értéket nyertünk. Eredményeinkről a 14. Nemzetközi Karotinoid Szimpóziumon (Edinburgh, 2005. július 17-22.) és a „47th Rocky Mountain Conference on Analytical Chemistry” (July 31 – August 4, 2005, Denver, Colorado, USA) nevű rendezvényen bemutatott poszterek keretében számoltunk be (ld. a 2005. évi szakmai zárójelentés „**10. Közleményjegyzék**” c. fejezetének vonatkozó dokumentumait és a csatolt poszterösszefoglalót).
- 24.** Az új végcsoportokat tartalmazó karotinoidok és karotinoid-izomerek növénybiokémiai szerepének vizsgálatával kapcsolatos eredményeinket a „XI. Magyar Gyógynövény Konferencia: Gyógynövények napjaink gyógyszerészetében – Tradíciók és újdonságok” c. konferencián tartott előadás foglalta össze (ld. a 2005. évi

szakmai zárójelentés „10. Közleményjegyzék” c. fejezetének vonatkozó dokumentumát és a csatolt előadásösszefoglalót.

25. OTKA-pályázatom utolsó évében (2005) az MTA Szerves- és Biomolekuláris Kémiai Bizottsága és az MKE Szerves- és Gyógyszerkémiai Szakosztálya közös előadói ülésén (Budapest, 2005. március 18.) „A karotinoidok poliénláncának (E/Z)-izomériája; növénybiokémiai vizsgálatok; karotinoid-izomerek előfordulása, izolálása, azonosítása” címmel Bruckner termi előadást tartottam, mely a 2005. február 8.-án a fenti címmel benyújtott akadémiai doktori értekezésem „elővédés”-ének felelt meg (ld. az előadás meghívóját és összefoglalóját).

2005. június 17.-én a Magyar Gyógyszerésztudományi Társaság Gyógynövény Szakosztálya Pécsi Csoportja, az MTA Pécsi Akadémiai Bizottságának Biológiai Szakbizottsága és a PTE ÁOK Gyógyszerésztudományi Szak Farmakognóziái Tanszékének Gyógyszerészettörténeti Csoportja rendezésében „Karotinoidok kutatása Pécsen: Izolálás, szerkezetigazolás, (E/Z)-izomerizáció, növényi biokémiai vizsgálatok...” címmel tartottam előadást (ld. az előadás meghívóját és címlapját).

2006. február 10.-én Budapesten az MTA Nagytermében sikeresen megvédtem akadémiai doktori értekezésemet (ld. az előadás címlapját és összefoglalóját; az MTA Doktori Tanácsa által a nyilvános vita kitűzését, a Meghívót és a Tézisfüzetet).