

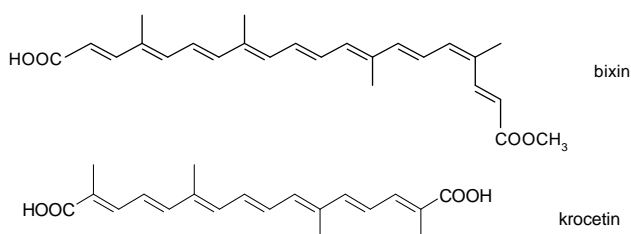
Hidrofil karotinoidok

Háda Magdolna, Nagy Veronika, Deli József, Agócs Attila*

PTE ÁOK, Biokémia és Orvosi Kémia Intézet, Szigeti út 12, H-7624 Pécs

1. Bevezetés

A természetben csak néhány hidrofil karotinoidszármazék található (bixin, krocetin), ám közülük csak a krocetin glikozidja, a krocinn rendelkezik jó vízoldhatósággal.



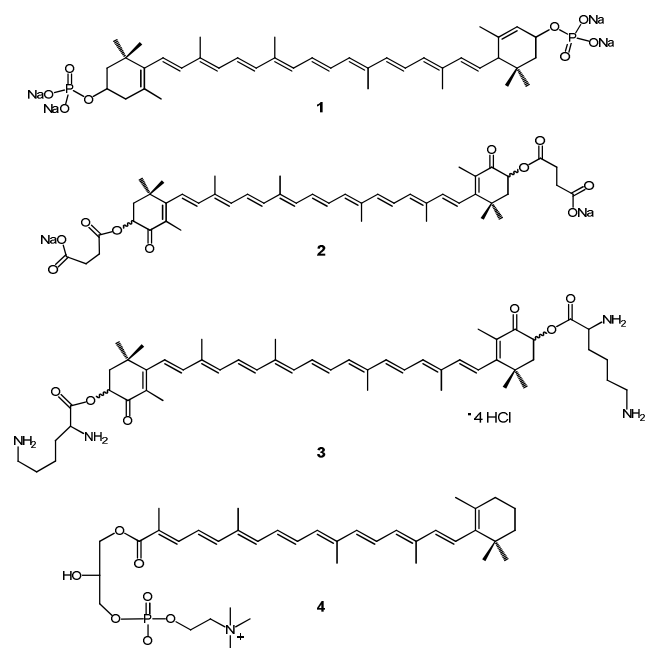
Hidrofil karotinoidokat általában két céllal állítanak elő: a megváltozott, ill. megnövekedett biológiai aktivitásuk miatt orvosi felhasználásra, vagy az élelmiszeriparban és takarmányozásban használt karotinoidok kiváltására. Az elmúlt két évtizedben számos módszert közöltek (általában szabadalom formájában) a karotinoidok vízoldhatóságának növelésére. Ezek a készítmények többnyire karotinok és valamilyen szolubilizáló anyag egyszerű keverékei, például polietilén-glikol (PEG) diszperziók. Cikkünkben csak a kémiai módosításokkal és komplexképzéssel kapott hidrofil származékokkal kapcsolatos eredményeket ismertetjük. Az új vegyületekkel kapcsolatosan a vízoldhatóságukon kívül a legfontosabb kérdések, hogy felülmúlják-e a természetes karotinoidok antioxidáns hatását, ill. hogy milyen toxikológiai és farmakokinetikai paraméterekkel rendelkeznek: ezek a kérdések a legtöbb bemutatandó vegyület esetében még válaszra várnak. Néhány hidrofil karotinszármazéknál jelentősen megnövekedett antioxidáns hatást találtak vizes oldatban a megfelelő hidrofób kiindulási karotinhoz képest,¹ ami biztató eredmény a jövőre nézve.

A legkézenfekvőbb módszer a karotinoidok hidrofilités telítésére, ha töltéssel rendelkező sókat vagy nagyon poláros származékokat állítunk elő (a karboxilcsoportok miatt a bixin vagy a krocetin kis mértékben oldódik vízben). Ilyen típusú származékokat szintetizáltak az elmúlt években elsősorban Lockwood és Sliwka kutatócsoportjai.

Az asztaxantin-diszukcinát nátrium sója **2** (1.ábra),^{2,3} mely kismértékben oldódik vízben, az egyik elsőként előállított hidrofil karotinoid, mely azóta komoly karriert futott be erőteljes antioxidáns hatása miatt: *Cardax* néven⁴⁻⁶ mint szívvédő gyógyszer, vizsgálata jelenleg klinikai fázisban van. Más származékok, mint az **1** difoszfát^{7,8} vagy a **3** dilizínát⁹⁻¹¹ hidrofilebb karakterrel rendelkeznek, hiszen

többszörös sót képeznek. Az **1** (vízoldhatósága 29,27 mg/ml) és a **2** vegyület (2,85 mg/ml) is diszpergálható vízben, míg a **3** só (181,6 mg/ml) az első szintetikus előállított, valóban vízoldható karotinoid. A közelmúltban Sliwka és mtsai olyan új kationos karotinoid lipideket állítottak elő, ahol egy kvaterner ammónium rész felelős a vegyületek amfipatikus jellegéért.^{12,13}

Sliwka és mtsai előállítottak karotintartalmú foszfolipid mimetikumokat (**4**) is,¹⁴⁻¹⁶ oxokarotinoidokból keto- és aldoxim hidrokloridokat szintetizáltak,²⁰ továbbá egyes természetes hidrofil karotinoidok, mint a krocinn (a krocetin glikozil észtere) és a bixin, részletes fizikai-kémiai vizsgálatát is elvégezték.¹⁷⁻¹⁹ Ezen sószerű vegyületek antioxidáns hatását és néhány esetben az aggregációs sajátságait is részletesen feltérképezték a fent említett cikkekben.²¹



1. Ábra. Hidrofil karotinoid sók.

Kutatócsoportunkban az elmúlt évtizedekben elsősorban a karotinoidok izolálására és szerkezetmeghatározására koncentráltunk. Néhány éve új kutatási irányként megkezdtük a karotinoidok szisztematikus derivatizálását, átalakítását. Ezzel kapcsolatosan egyik fő célunk éppen a hidrofil karotinoid-származékok előállítása volt, a bevezetésben említett példákhoz képest más megközelítésben. Az alábbiakban bemutatjuk a három fő csoportra osztható újonnan előállított származékokat.

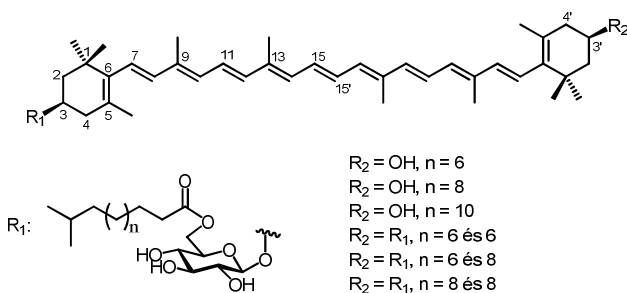
*e-mail: attila.agocs@aok.pte.hu; Tel.: +36-72-536001 (mellék 31864); Fax: +36-72-536225

2. Ciklodextrin-komplexek

A ciklodextrinek (CD) közismert, csonka gúla alakú, biokompatibilis oligoszacharidok, melyeket széleskörűen alkalmaznak a kromatográfiában, a környezeti kémiában, továbbá mint élelmiszeradalékot és komplexképző ágens. 2000-ig nem jelent meg olyan közlemény, amely fényt derített volna a CD-ek és karotinoidok közötti kölcsönhatásra. A CD-eket egyszerűen karotinokkal összekeverve szolubilizáló szerként használták.²²⁻²⁵ Később azt találták, hogy gyűrűs végcsoportot nem tartalmazó karotinoidok (pl. likopin, bixin) 1:1 arányú zárványkomplexet képeznek a CD-el, és az így komplexált karotinoidok kevésbé bomlékonyak, mint az eredeti karotinok.²⁶⁻³¹ Kutatásaink szerint a gyűrűs végcsoport nem fér be a CD-ek apoláris üregébe, de 3-4 CD molekula körbeveszi a végcsoportot és oda másodlagos kölcsönhatásokkal kötődik. Számos CD-karotinoid kombinációt kipróbálva a legjobb vízdoldhatóságot és stabilitást a véletlenszerű eloszlásban metilézett β -CD (RAMEB) komplexekkel értük el kapszantin, kapszorubin vagy lutein felhasználásával.³² A CD-komplexek vizes oldatai hosszú időn át stabilak maradnak, tehát nincs aggregáció, és a komplexképzés nem pH-függő. A RAMEB-lutein komplexszel végzett élettani vizsgálatok szerint a komplex elősegíti a lutein beépülését az idegsejtekbe.³³ Ezeknek a nanokapszulázott karotinoidoknak az a legnagyobb hátránya, hogy csak magas (95%) CD koncentráció mellett tarthatók komplexben és tehetők vízdoldhatóvá a karotinoidok.

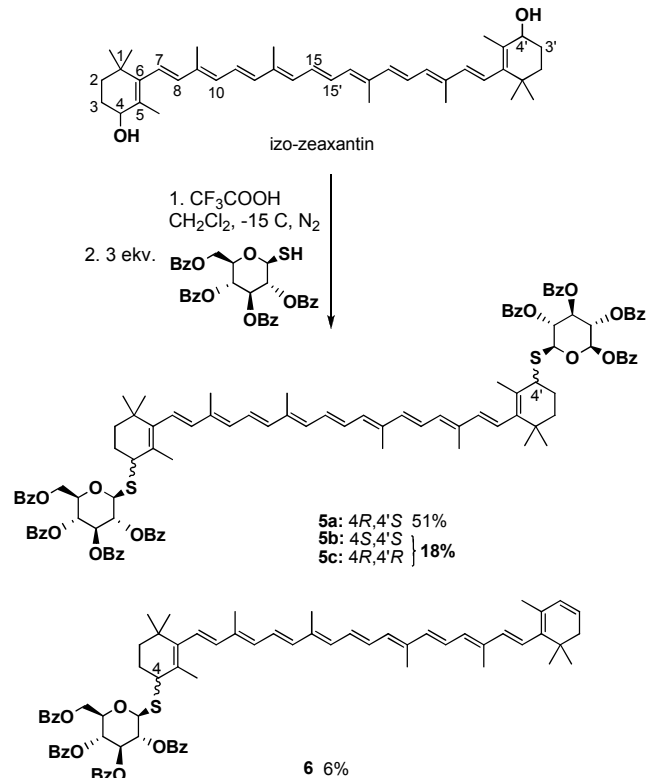
3. Glikozidok

A karotinoid-glikozidok a természetben – többek között – hőtűrő baktériumok sejtmembránjában található meg. Ezeket a vegyületeket termoxantinoknak (2.ábra) is hívják, és bár csak kevésbé hidrofilek, mivel amfifil jellegük miatt képesek beépülni a sejtmembránba, fokozott érdeklődésre tarthatnak számot. Ez a különleges tulajdonságuk részben felelős lehet a *Thermus* fajok hőtűrő sajátosságáért.³⁴



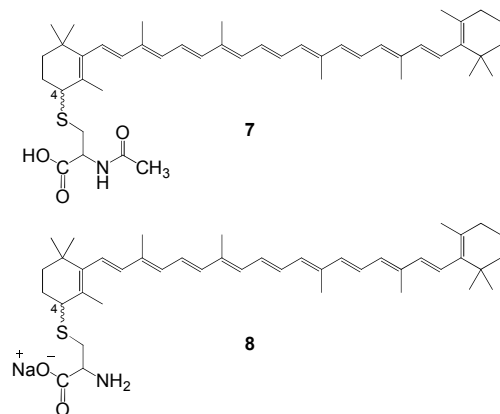
2. Ábra. Termoxantinok.

Karotinoid-glikozidok kémiai szintézisére csak néhány próbálkozás történt: karotinoid-alkoholok direkt glikozilezése^{35,36} és egy 3-hidroxi- β -jononból kiinduló totálszintézis.^{37,38} Asztaxantin-glikozidokat bioszintetikus úton is előállítottak.³⁹



3. Ábra. Termoxantin mimetikumok előállítása (Bz=benzoiol).

Kutatócsoportunkban β -karotinból vagy iso-zeaxantinból generált dikationt a megfelelő cukor nukleofillel reagáltatva mono- és ditioglikozidokhoz jutottunk (3.ábra).⁴⁰ A védőcsoportok eltávolításával az **5** és **6** molekulákból hidroliz termoxantin mimetikumokat állítottunk elő. Ezzel a módszerrel a jövőben CD-eket is kívánunk karotinoidokhoz kovalensen kapcsolni.



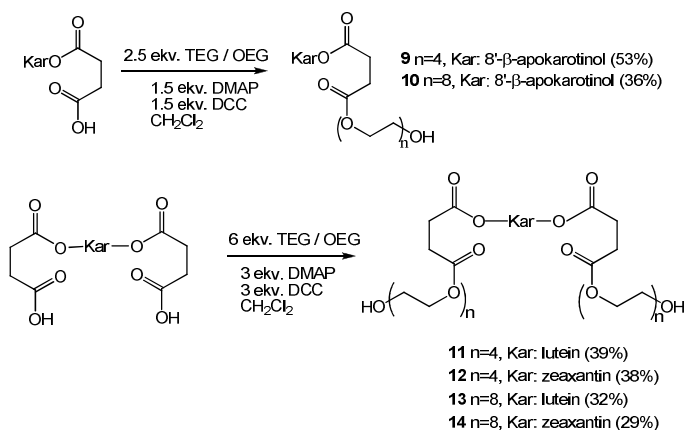
4. Ábra. Karotinoidok cisztein konjugátumai.

Hasonló módon kéntartalmú aminosavak is kapcsolhatók karotinoidokhoz jó kitermeléssel. *N*-acetyl-ciszteint használva nukleofilként olyan karotinoid-cisztein konjugátumot állítottunk elő, ahol az aminosav a kénatomon keresztül kapcsolódik a karotinoidhoz (**7**, 4. ábra). Deacetilezés után előáll a kívánt, hidrolitikusan stabil vízdoldható származék **8**.⁴¹

4. Pegilált karotinoidok

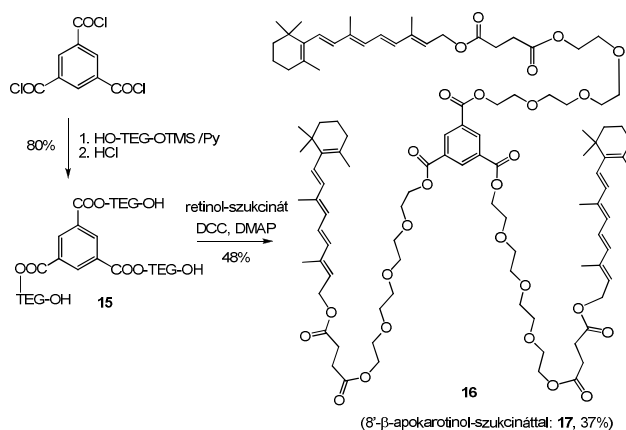
Számos biomolekulának (elsősorban peptidnek) állították már elő polietilén-glikollal (PEG) képzett származékát,^{42,43} azonban kovalensen kötött PEG-karotinoid konjugátumokat korábban nem szintetizáltak. A hidofil PEG-konjugátumoknak rendszerint kedvezőbbek a farmakokinetikai jellemzői és hatékonyan alkalmazhatóak a hatóanyagok célba juttatásában. Az irodalomban található leírás karotinoid-PEG diszperziók készítésére, melyek a pigmentek biológiai hozzáférhetőségét hivatottak javítani.⁴⁴ A kovalens PEG-konjugátumok kétségtelen előnye, hogy kevésbé változtatják meg az ozmotikus homeosztázist, mint az ionos vegyületek (pl. a bevezetésben említettek), továbbá a PEG-konjugátumok vízdoldhatósága nem pH-függő. Ha a PEG rész fiziológiás körülmények között viszonylag könnyen hidrolizálható kötéssel kapcsolódik a karotinoidhoz, akkor a PEG egyszerűen a karotinoid rész indifferens, poláros célbajuttató egységként funkcionálhat.

Karotinoid-szukcinátokból PEG észtereket és diésztereket állítottunk elő⁴⁵ különböző hosszúságú polietilén-glikolokkal [tetraetilén-glikol (TEG), oktaetilén-glikol (OEG), PEG-550 monometil-éter (mPEG-550), 5.ábra]. Ha a reakciókban a karotinoid-szukcinátot alkalmaztuk feleslegben, akkor dimerekhez jutottunk, ahol a két karotin rész között egy PEG összekötő elem található.⁴⁶ Hasonló módon, több lépésben olyan dendritikus jellegű karotinoid trimereket állítottunk elő, melyek TEG vagy OEG elemeken keresztül kapcsolódnak a központi egységhez (6.ábra).⁴⁷



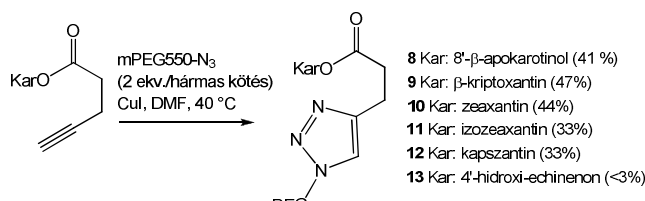
5. Ábra. TEG- és OEG-konjugátumok mono- és diszukcinátokból (Kar = Karotinoid).

A termékek vízdoldhatósága – a várakozással megegyezően – arányos volt a konjugátumok PEG tartalmával. Bár az észteres konjugáció miatt a vegyületek *in vivo* érzékenyek lehetnek hidrolízisre, az a tény, hogy a karotinoid regenerálódik fiziológiás körülmények között, akár előnyös is lehet. Az előzetes eredmények szerint néhány PEG-karotinoid konjugátum (5. ábra) jó antioxidáns aktivitást mutatott hidrogén-peroxiddal kiváltott oxidatív stresszben.



6. Ábra. Trimerek TEG összekötő elemmel.

A közelmúltban új módszert dolgoztunk ki PEG-karotinoid konjugátumok kialakítására: elsőként alkalmaztuk az azid-alkin click-reakciót a karotinoidkémiaiban. A reakciókörülmények optimalizálása után sikeresen kapcsolunk PEG-azidokat karotinoid-pentinoátokhoz.⁴⁸ A módszer valószínűleg más, bioaktív molekulákkal képzett konjugátumok előállítására is felhasználható lesz a jövőben, ugyanis a reakciók enyhe körülmények között és megfelelő kitermeléssel játszódhatnak le (7. ábra).



7. Ábra. Karotinoid-PEG konjugátumok előállítása click-reakcióval.

6. Összefoglalás

A hidofil karotinoidok előállításával kapcsolatos intenzív kutatás kevesebb, mint 15 éve kezdődött. Az elmúlt években kutatócsoportunkban többféle vízdoldható származékot állítottunk elő. Amint azt a *Cardax*[®] példája is mutatja, a vízdoldható karotinoidok igen hatékony antioxidáns hatással rendelkezhetnek és más, a módosítatlan karotinoidoktól eltérő tulajdonságokat is felvehetnek. Bár néhány esetben történtek már *in vivo* fiziológiás és antioxidáns vizsgálatok az újonnan előállított vegyületekkel, mégis elmondhatjuk, hogy még hosszú út áll előttünk, hogy a hidofil karotinoidok viselkedését (összehasonlítva a természetes karotinoidokkal is) teljes mértékben megértsük.

Köszönetnyilvánítás

Köszönetet mondunk az OTKA PD 77467 és OTKA K 83898 számú pályázatoknak valamint a TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0029 és a TÁMOP/SROP-4.2.2/B-10/1-2010-0029 pályázat által nyújtott támogatásért.

Hivatkozások

- 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**, *13*, 4458–4466.
- Cardounel, A.J.; Dumitrescu, C.; Zweier, J.L.; Lockwood, S.F. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2003**, *307*, 704–712.

3. Frey, D.A.; Kataisto, E.W.; Ekmanis, J.L.; O'Malley, S.; Lockwood, S.F. *Org. Process. Res. Dev.* **2004**, *8*, 796–801.
4. Gross, G.J.; Lockwood, S.F. *Life Sci.* **2004**, *75*, 215–224.
5. Gross, G.J.; Lockwood, S.F. *Mol. Cell Biochem.* **2005**, *272*, 221–227.
6. Hix, L.M.; Frey, D.A.; McLaws, M.D.; Osterlie, M.; Lockwood, S.F.; Bertram, J.S. *Carcinogenesis* **2005**, *26*, 1634–1641.
7. Nadolski, G.; Cardounel, A.J.; Zweier, J.L.; Lockwood, S.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 775–781.
8. Zsila, F.; Nadolski, G.; Lockwood, S.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 3797–3801.
9. Jackson, H.L.; Cardounel, A.J.; Zweier, J.L.; Lockwood, S.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3985–3991.
10. Zsila, F.; Fitos, I.; Bikádi, Z.; Simonyi, M.; Jackson, H.L.; Lockwood, S.F. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 5357–5366.
11. Naess, S.N.; Sliwka, H.R.; Partali, V.; Melo, T.B.; Naqvi, K.R.; Jackson, H.L.; Lockwood, S.F. *Chem. Phys. Lipids* **2007**, *148*, 63–69.
12. 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**, *17*, 1138–1148.
13. Pungente, M.D.; Jubeli, E.; Opstad, C.L.; Al-Kawaz, M.; Barakat, N.; Ibrahim, T.; Khalique, N.A.; Raju, L.; Jones, C.; Leopold, P.L.; *Molecules* **2012**, *17*, 3484–3500.
14. Foss, B.J.; Nalum Naess, S.; Sliwka, H.R.; Partali, V. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 5237–5240.
15. Foss, B.J.; Sliwka, H.R.; Partali, V.; Naess, S.N.; Elgsaeter, A.; Melo, T.B.; Naqvi, K.R. *Chem. Phys. Lipids* **2005**, *134*, 85–96.
16. Foss, B.J.; Sliwka, H.R.; Partali, V.; Naess, S.N.; Elgsaeter, A.; Melo, T.B.; Naqvi, K.R.; O'Malley, S.; Lockwood, S.F. *Chem. Phys. Lipids* **2005**, *135*, 157–167.
17. Naess, S.N.; Elgsaeter, A.; Foss, B.J.; Li, B.J.; Sliwka, H.R.; Partali, V.; Melo, T.B.; Naqvi, K.R. *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 45–53.
18. Breukers, S.; Opstad, C.L.; Sliwka, H.R.; Partali, V. *Helv. Chim. Acta* **2009**, *92*, 1741–1747.
19. Foss, B.J.; Sliwka, H.R.; Partali, V.; Köpsel, C.; Mayer, B.; Martin, H.D.; Zsila, F.; Bikádi, Z.; Simonyi, M. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 4103–4108.
20. 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**, *161*, 32–37.
21. Foss, B.J.; Nadolski, G.; Lockwood, S.F. *Mini-Rev. Med. Chem.* **2006**, *6*, 953–969.
22. Sente, L.; Mikuni, K.; Hashimoto, H.; Szejtli, J. *J. Inclus. Phenom. Mol.* **1998**, *32*, 81–89.
23. Pfizner, I.; Francz, P.I.; Biesalski, H.K. *Bba-Gen. Subjects* **2000**, *1474*, 163–168.
24. Basu, H.N.; Del Vecchio, A. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **2001**, *78*, 375–380.
25. Lancrajan, I.; Diehl, H.A.; Socaciu, C.; Engelke, M.; Zorn-Kruppa, M. *Chem. Phys. Lipids* **2001**, *112*, 1–10.
26. Mele, A.; Mendichi, R.; Selva, A.; Molnar, P.; Toth, G. *Carbohydr. Res.* **2002**, *337*, 1129–1136.
27. Polyakov, N.E.; Leshina, T.V.; Konovalova, T.A.; Hand, E.O.; Kispert, L.D. *Free Radical. Biol. Med.* **2004**, *36*, 872–880.
28. Bikádi, Z.; Kurdi, R.; Balogh, S.; Szemán, J.; Hazai, E. *Chem. Biodivers.* **2006**, *3*, 1266–1278.
29. Lyng, S.M.; Passos, M.; Fontana, J.D. *Process. Biochem.* **2005**, *40*, 865–872.
30. Lockwood, S.F.; O'Malley, S.; Mosher, G.L. *J. Pharm. Sci.* **2003**, *92*, 922–926.
31. Cheevewattanagul, N.; Jirasripongpun, K.; Jirakanjanakit, N.; Wattanakaroon, W. *Adv. Mat. Res.* **2010**, *93–94*, 202–205.
32. Deli, J.; Agócs, A.; Iványi, R.; Németh, K.; Visy, J.; Szemán, J.; Sente, L.; Simonyi, M. *Carotenoid Sci.* **2008**, *12*, 201.
33. Horváth, G.; Szőke, É.; Kemény, A.; Bagoly, T.; Deli, J.; Sente, L.; Pál, S.; Sándor, K.; Szolcsányi, J.; Helyes, Z. *J. Mol. Neurosci.* **2012**, *46*, 1–9.
34. Yokoyama, A.; Sandmann, G.; Hoshino, T.; Adachi, K.; Sakai, M.; Shizuri, Y. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 4901–4904.
35. Pfander, H. *Pure Appl. Chem.* **1976**, *47*, 121–128.
36. Pfander, H. *Pure Appl. Chem.* **1979**, *51*, 565–580.
37. Yamano, Y.; Sakai, Y.; Hara, M.; Ito, M. *J. Chem. Soc. Perk. Trans. 1* **2002**, 2006–2013.
38. Yamano, Y.; Sakai, Y.; Yamashita, S.; Ito, M. *Heterocycles* **2000**, *52*, 141–146.
39. Yokoyama, A.; Shizuri, Y.; Misawa, N. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3709–3712.
40. Nagy, V.; Agócs, A.; Turcsi, E.; Deli, J. *Tetrahedron Lett.* **2010**, *51*, 2020–2022.
41. Zand, A.; Agócs, A.; Deli, J.; Nagy, V. *Acta Biochim. Pol.* **2012**, *59*, 149–150.
42. Khandare, J.; Minko, T. *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 359–397.
43. Kōdera, Y.; Matsushima, A.; Hiroto, M.; Nishimura, H.; Ishii, A.; Ueno, T.; Inada, Y. *Prog. Polym. Sci.* **1998**, *23*, 1233–1271.
44. Martin, A.; Mattea, F.; Gutierrez, L.; Miguel, F.; Cocero, M.J. *J. Supercrit. Fluid* **2007**, *41*, 138–147.
45. Háda, M.; Nagy, V.; Takátsy, A.; Deli, J.; Agócs, A. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 3524–3526.
46. Háda, M.; Petrovics, D.; Nagy, V.; Böddi, K.; Deli, J.; Agócs, A. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 3195–3197.
47. Háda, M.; Nagy, V.; Gulyás-Fekete, G.; Deli, J.; Agócs, A. *Helv. Chim. Acta* **2010**, *93*, 1149–1155.
48. Háda, M.; Nagy, V.; Takátsy, A.; Deli, J.; Hait, J.; Agócs, A. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 2480–2482.

Hydrophilic carotenoids

Carotenoids are substantially hydrophobic antioxidants. Hydrophobicity is rather a disadvantage, because their utilization in medicine as antioxidants or in food chemistry as colorants would require some water dispersibility for their effective uptake or use in many other ways. In the past 15 years several attempts were made to synthesize partially hydrophilic carotenoids, these are compiled in this article focusing on the results achieved by our group. It was also shown that hydrophilic carotenoids have much higher electron-scavenging (antioxidant) potential than their hydrophobic counterparts.

Cyclodextrins (CD) are known biocompatible oligosaccharides, that have been applied in many fields of chromatography, environmental chemistry and also as food additives and complexing agents. Until the year 2000 there were no studies in connection with carotenoids that would reveal the real interaction between CDs and carotenoids. CDs were used as solubilizing agents, simply mixed with carotenoids in different proportions. Later it was found that carotenoids without cyclic end groups at least on one end (eg. lycopene or bixin) could form 1:1 inclusion complexes which are more stable than the native carotenoids. We

found that cyclic end-groups cannot enter the relatively apolar cavities of CDs because of their size, but 3-4 CD molecules surround each end-group and bound there through secondary interactions. A lot of CD derivatives were tested with various carotenoids and the most successful formulations were the RAMEB (randomly methylated β -CD) complexes of capsanthin, capsorubin and lutein. The major drawback of these nanocapsulated carotenoids is that they contain a relatively high percentage (95%) of CD which is required to maintain their complexation ability and the water solubility of the complexes. The aqueous solution of these complexes are stable over months, no aggregation can be observed, and the complexation is not pH dependent. The RAMEB-Lutein complex has been recently found to facilitate the incorporation of lutein in neurons.

Carotenoid glycosides occur in Nature as constituents of cell membranes of certain heat-resistant microorganisms. These compounds, also called thermoxanthins, are slightly more hydrophilic than simple carotenoids, however, their amphiphilic structure is noteworthy. The length of the thermoxanthins is equal to the width of the phospholipid bilayer, and they are incorporated into the cell membrane modifying its properties. This particular behaviour of thermoxanthins is believed to be partially responsible for the heat resistance of the *Thermus* species (Fig. 2.).

For the chemical synthesis of carotenoid glycosides only a few methods have been published: direct glycosylation of carotenoid alcohols using the classical Königs-Knorr procedure and total synthesis starting from 3-hydroxy- β -ionone. Glycosides of astaxanthin were also prepared by a biosynthetic process.

Mimetics of natural thermoxanthins were prepared by the generation of dications from β -carotene or isozeaxanthin, which were treated with appropriate sugar derivatives as nucleophiles to produce mono- and dithioglycosides. The most successful reaction, to synthesize a thioglycoside in this case, can be seen on Figure 3. After deprotection partially water-soluble thermoxanthin mimetics could be obtained. With this method CDs could be also coupled to carotenoids in the future.

In a similar way sulphur containing amino acids can be coupled to carotenoids in good yields. With *N*-acetylcysteine as a nucleophile the products obtained are carotenoid-cysteine conjugates in which the amino acid moiety binds to the carotenoid via sulphur. The

water dispersibility of the products can be increased by deprotection of the amino group to obtain **8** (Fig. 4.).

Polyethyleneglycol (PEG) conjugates of a wide range of biomolecules are known (especially peptides), however, no covalently-bound PEG-carotenoid conjugates have been synthesized before. The hydrophilic PEG conjugates usually have better pharmacokinetic behaviour and, in general, are more efficient in drug targeting. There are examples of carotenoid-PEG dispersions in the literature which enhance the bioavailability of carotenoids. PEG conjugates change the osmotic homeostasis much less than ionic compounds. Furthermore, the water solubility of PEG conjugates is independent of pH. If the PEG moiety is connected to the carotenoid through a relatively labile bond, which can be cleaved under physiological conditions, the PEG will serve solely as an indifferent, polar carrier for carotenoids.

Carotenoid-PEG esters and diesters were synthesized from several carotenoid succinates with polyethyleneglycols of different chain length (tetraethyleneglycol (TEG), octaethyleneglycol (OEG), PEG-550 monomethyl ether (mPEG-550)) (Fig. 5.). The same way carotenoid dimers and trimers were synthesized, which have a PEG spacer between the carotenoids, with good yields (Fig. 6.).

The water dispersibility of the products was compared and found, as expected, to be proportional with the PEG content of the conjugates. Although the conjugation via ester bond makes these compounds susceptible to hydrolysis (eg. by pancreatic secretions), it might as well be an advantage that they are regenerated to the parent hydroxy-carotenoids under physiological conditions.

Preliminary studies showed elevated antioxidant activity of some PEG-carotenoid ester conjugates in H_2O_2 induced oxidative stress assays.

Recently, we introduced azide-alkyne click chemistry to the field of carotenoid synthesis. After optimization of the reaction conditions, PEG azides could be coupled to carotenoid derivatives bearing an alkyne moiety. This method seems to work well with carotenoids (Fig. 7.), so it could be used in the future to synthesize not only carotenoid-PEG conjugates, but conjugates with other bioactive molecules.