

ХЕМОЭНЗИМНЫЙ СИНТЕЗ *all-trans*-ИЗОМЕРОВ ЛЮТЕИНА И ЗЕАКСАНТИНА

© 2021 г. С. В. Печинский^{а,*}, А. Г. Курегян^а, Э. Т. Оганесян^а

^а Пятигорский медико-фармацевтический институт, филиал Волгоградского государственного медицинского университета Министерства здравоохранения России, пр. Калинина 11, Пятигорск, 357532 Россия

*e-mail: hplc@yandex.ru

Поступило в Редакцию 1 июля 2021 г.

После доработки 21 июля 2021 г.

Принято к печати 26 июля 2021 г.

Предложен способ синтеза *all-trans*-изомеров лютеина и зеаксантина, который включает этап этерификации лютеина и зеаксантина бензойной кислотой в присутствии энантиоселективной липазы Novozyme 435. Дальнейший гидролиз дибензоатов лютеина и зеаксантина приводит к образованию исходных ксантофиллов только в *all-trans*-конфигурации.

Ключевые слова: лютеин, зеаксантин, бензойная кислота, этерификация, Новозим 435 (Novozyme 435), сложные эфиры

DOI: 10.31857/S0044460X21090109

Предыдущие наши сообщения были посвящены разработке методики модификации структур ксантофиллов с целью обоснования получения целевых соединений на их основе. Эксперимент проводился на примере астаксантина, лютеина и зеаксантина природного происхождения [1, 2]. Нас, в первую очередь, интересовала сама возможность этерификации ксантофиллов с целью дальнейшей химической оптимизации молекулы и поэтому мы не ставили целью предыдущего эксперимента получить продукт с определенной геометрической конфигурацией. Однако, когда методика этерификации разработана, опубликована и в соответствии с ней получены новые экспериментальные соединения [3, 4], несомненно, встал вопрос о геометрической конфигурации и исходных ксантофиллов, и продуктов их этерификации, и их изомерных форм. Эту задачу тем более необходимо решать, так как каротиноиды – это рекордсмены среди природных соединений по числу возможных изомеров, а большинство групп лекарственных веществ, которые было бы логично в дальнейшем использовать для этерификации ксантофиллов, тоже могут иметь изомеры. В связи с этим становится очевидной

необходимость развития идеи получения ксантофиллов с определенной геометрической конфигурацией как объектов дальнейшей химической модификации.

Так, природные лютеин и зеаксантин преимущественно являются полностью *транс*-изомерами. Для них возможны стереоизомеры *R* и *S* по положению 3 и 3', а также *цис*- и *транс*-изомеры по положениям 9, 9' и 13, 13' [5, 6]. Геометрия молекулы каротиноидов, в частности лютеина и зеаксантина, играет важнейшую роль в их фармакологической активности и биодоступности [7, 8]. Нативной конфигурацией для обоих соединений является *транс*-форма, которая обеспечивает максимальное сродство с рецепторами, и, следовательно, биологическое действие [9].

Еще одной значимой проблемой, связанной с каротиноидами в целом, является то, что человеческий организм не способен синтезировать каротиноиды *de novo* [10]. Это в полной мере относится к лютеину и зеаксантину, которые называют «макулярными ксантофиллами». Они избирательно накапливаются в макуле, предотвращая фотоокисли-

тельный стресс, способны подавлять возрастную макулярную дегенерацию, и поэтому являются незаменимыми компонентами пищевого рациона и пищевыми добавками [11, 12].

По сведениям разных авторов, среднее потребление лютеина в сутки составляет 1–3.5 мг/сут, а зеаксантина – 0.1 мг/сут [13, 14]. В России рекомендован суточный прием лютеина до 5 мг/сут, для зеаксантина – до 1 мг/сут [15]. Как уже отмечалось выше, значимым фактором, влияющим на степень усвоения каротиноидов, является не только количество потребляемого каротиноида, но его геометрическая конфигурация.

Получение каротиноидов из природного сырья подразумевает его технологическую обработку, например, экстракцию. Так, традиционная экстракция каротиноидов из растительных объектов проводится при высоких температурах, в большей степени неполярными растворителями, например, *n*-гексаном или хлороформом, требует дополнительной обработки сырья вспомогательными реагентами. В результате большинства технологических операций, как правило, происходит частичный переход *транс*-изомеров в *цис*-формы, что не может не влиять на биодоступность и физиологическую активность каротиноидов [16]. Изомеризацию ксантофиллов могут инициировать различные факторы, например, механическое воздействие, в частности интенсивное перемешивание [17], присутствие катионов металлов [18], повышение температуры, воздействие света [19]. Эти негативные с точки зрения геометрии молекулы ксантофилла факторы следует учитывать при разработке способов и методик их получения.

Лютеин и зеаксантин получают не только экстракцией из растительных объектов, но и синтетическим путем, который характеризуется значительной многостадийностью, использованием агрессивных реагентов, катализаторов и высокой энергозатратностью и обладает низкой энантиоселективностью.

Следует подчеркнуть, что в целом проблема получения и использования субстанций с большим диапазоном изомерных форм является важной не только для каротиноидов. Получение образцов, содержащих только один тип изомеров, с высоким уровнем чистоты имеет общетеоретическое

и принципиальное значение в области не только синтеза фармакологически активных субстанций, но и создания стандартных образцов для любых классов соединений, так как их использование обеспечивает не только аналитическую достоверность и воспроизводимость исследований, но и достоверность фармакологического эксперимента.

Решить фактически все эти проблемы можно, опираясь на один из важнейших приоритетов в современном фармацевтическом синтезе – концепцию «зеленой» химии, которая объединяет 12 направлений экологических химических технологий. Внедрение принципов «зеленого» синтеза – это яркое проявление современного тренда и запроса на будущее в области разработки новых лекарственных средств. Следует выделить некоторые пункты концепции «зеленой» химии, которые имеют непосредственное отношение к фармацевтическому синтезу и тематике нашего исследования, – оптимальный катализ, минимизация использования вспомогательных веществ в ходе синтеза и снижение энергозатрат синтеза [20].

Идея получения соединений в форме только одного из изомеров может быть реализована путем стереоселективного синтеза. Инструментом для достижения такой цели во всем мире является хемоэнзимный синтез, который по совокупности условий проведения является примером практического применения принципов «зеленой» химии. Такой прогрессивный подход имеет несколько преимуществ перед традиционным химическим синтезом, а именно стереоселективность, возможность проведения реакций без нагревания или при невысоких температурах, без повышения давления, без использования агрессивных растворителей. Кроме того, применение энзимов позволяет проводить синтезы в органических (неводных) средах, а иммобилизация энзимов решает вопросы их повторного использования [21].

Липазы, благодаря их уникальным свойствам, все чаще используются в биокаталитических реакциях. Они могут катализировать как реакции гидролиза, так и этерификации в зависимости от условий. В отличие от других ферментов, они работают в реакциях с сильно отличающимися субстратами, что позволяет использовать широкий спектр различных спиртов и карбоновых кислот в реакциях этерификации [22]. Липазы облада-

ют высокой энантиоселективностью за счет пространственного строения активного домена.

Расположение аминокислот в активном центре липаз, взаимодействующим с субстратом, не позволяет образовываться нескольким изомерным формам целевого продукта. Боковые цепи аминокислот, входящих в активный центр, создают максимально узкий промежуток-тоннель между ними, за счет чего пространственно ориентируют молекулы только в одном направлении. В настоящее время липазы с заданными энантиоселективными свойствами получают методом направленной эволюции [23].

Учитывая все эти преимущества липаз, мы предположили, что хемоэнзимный синтез можно использовать для получения *all-trans*-изомеров лютеина и зеаксантина.

В качестве биокатализатора в эксперименте мы использовали иммобилизованную *Candida antarctica* липазу В, выпускаемую под коммерческим наименованием Novozyme 435, которая обладает высокой стабильностью и активностью в органических растворителях и катализирует реакции с соединениями, имеющими ароматические фрагменты в структуре. Кроме того, этот тип биокатализатора использовался при синтезе пальмитата ретинола [24] и лаурата ретинола [25] с образованием *trans*-изомеров этих эфиров.

Использование биокатализатора Novozyme 435 позволяет избежать использования агрессивных дополнительных реактивов, характерных для классической схемы этерификации, тем самым снижает значение *E*-фактора синтеза [20]. Кроме того, эффективность этерификации сильно зависит от температуры. Повышение температуры увеличивает выход продукта, но при температурах выше 50°C наблюдается деградация фермента и ксантофилла и со временем снижается эффективность, поэтому нами была выбрана температура 37°C как баланс между эффективностью и стабильностью. Синтез при температуре ниже 40°C – это еще одно преимущество методики с позиций «зеленой» химии, так как при промышленном масштабировании произойдет резкое снижение энергозатрат для получения целевого продукта. Несомненным плюсом данного подхода является многократное использование биокатализатора, даже на десятом

цикле активность не падает ниже 80%, что является важной экономической составляющей. Таким образом, в эксперименте были учтены некоторые принципы «зеленого» синтеза, что может быть преимуществом нашей методики перед ранее известными в случае ее опытно-промышленного масштабирования.

В качестве кислоты для реакции этерификации нами было предложено использовать кислоту бензойную, так как она является ароматическим соединением, имеет относительно простое строение, является мало токсичной, обладает свойствами консерванта и была ранее использована для получения эфиров ксантофиллов. Вероятней всего, для получения *trans*-изомеров лютеина и зеаксантина можно использовать и другие кислоты, с которыми ранее были получены сложные эфиры лютеина и зеаксантина [1, 2].

В качестве объектов исследования, характеризующихся наличием изомерных форм, использовали образцы лютеина и зеаксантина (Sigma-Aldrich), полученные из растительных объектов по ранее описанной методике [26–28] и их изомеризованные формы.

Все образцы предварительно были проанализированы методом ВЭЖХ. Установлено, что в образцах лютеина и зеаксантина производства Sigma-Aldrich содержание *trans*-изомеров составляло 95.2 и 94.7%. В лютеине и зеаксантине, полученных из природных объектов, содержание *trans*-изомеров равно 76.4 и 73.1% соответственно (табл. 1).

Изомеризацию исходных ксантофиллов проводили, используя положительные результаты экспериментов, описанные в работах [25, 29]. Для изомеризации ксантофиллов 2 ммоль гексановые растворы лютеина и зеаксантина обрабатывали 1 ммоль раствором иода. Дополнительно на реакционную смесь воздействовали флуоресцентной лампой мощностью 25 Вт в течение 10 мин. После изомеризации количество *trans*-изомеров лютеина и зеаксантина в образцах составляло 57.5 и 52.3% соответственно. Анализ всех полученных образцов после синтеза показал высокую чистоту и содержание *trans*-изомеров более 99% (табл. 1), что подтверждает высокую энантиоселективность данного способа.

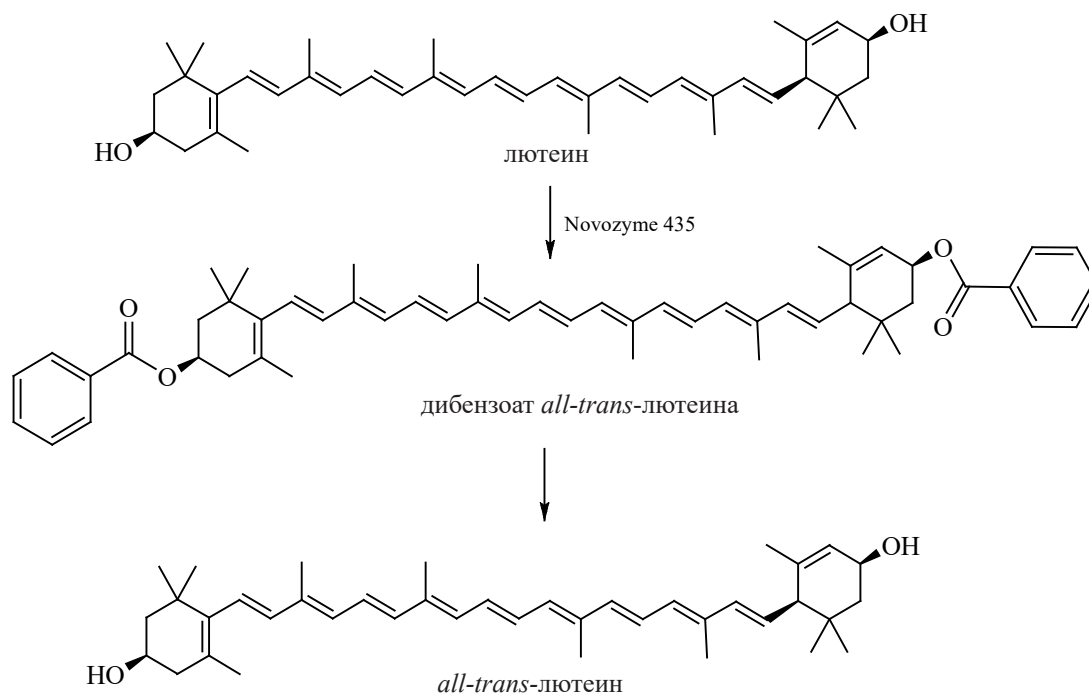
Таблица 1. Содержание *транс*-изомеров в субстанциях лютеина и зеаксантина

Образцы	Содержание <i>транс</i> -изомеров, %	
	до синтеза	после синтеза
Лютеин (Sigma-Aldrich)	95.2	99.7
Зеаксантин (Sigma-Aldrich)	94.7	99.5
Лютен из растительного объекта	76.4	99.6
Зеаксантин из растительного объекта	73.1	99.4
Лютеин после изомеризации	57.5	99.4
Зеаксантин после изомеризации	52.3	99.3

Преимуществом предложенного способа является то, что его можно использовать для объектов с исходным низким содержанием *транс*-изомеров. Причем выход продукта реакции несколько выше, чем содержание *транс*-изомеров в первоначальном образце. Это, по-видимому, связано с переходом *цис*-изомеров в *транс*-форму под действием фермента или других благоприятных условий обратной изомеризации.

Таким образом, нами предложен двухступенчатый способ получения *all-trans*-изомеров зеаксантина и лютеина (схема 1).

На первой стадии проводится этерификация ксантофиллов, катализируемая иммобилизованным энантиоселективным энзимом Novozyme 435. Этерификация ксантофилла происходит в активном центре энзима. Этот центр представляет собой «карман», который является доступным только для одного типа изомера ксантофилла и помимо этого стабильно, и, вероятней всего, необратимо изомеризует структуру каротиноида под себя. В результате этого продуктом реакции на первой стадии является дибензоат *all-trans*-лютеина или -зеаксантина, а последующий гидролиз

Схема 1.

этих *транс*-эфиров на втором этапе позволяет получить каротиноид в *all-транс*-конфигурации.

Резюмируя обсуждение результатов эксперимента, можно констатировать, что предложенный способ получения *all-транс*-изомеров лютеина и зеаксантина имеет перспективы использования при получении субстанций и стандартных образцов, содержащих только один тип изомера, причем для объектов с изначально низким содержанием *транс*-изомеров; способ может применяться для очистки указанных ксантофиллов, полученных из природного сырья, или после неправильного хранения. Разработанный способ отвечает требованиям концепции «зеленого» синтеза, отличается экономическим и технологическим преимуществом и с этих позиций он имеет приоритет в случае промышленного масштабирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Лютеин и зеаксантин, использованные в эксперименте, были получены по методикам, описанным в работах [26–28].

Регистрацию спектров ЯМР ^1H проводили на спектрометре Bruker AMXIII-400 при 400 МГц в $\text{DMSO}-d_6$, внутренний стандарт – ТМС. Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре Agilent 6420, сопряженном с ВЭЖХ-системой Agilent HPLC 1100, методом химической ионизации при атмосферном давлении (APCI), температура ионного источника – 120°C, газ-носитель – гелий, энергия CID – 40 эВ. Параметры ВЭЖХ: колонка Dionex Acclaim C30 (250x4.6 мм x 5 мкм), температура колонки – 30°C; УФ детектор 445 нм; линейный градиент: подвижная фаза – метанол–*трет*-бутилметилловый эфир:ацетонитрил (90:5:5, фаза А), *трет*-бутилметилловый эфир–метанол–ацетонитрил (90:5:5, фаза Б); линейный градиент: фазы А–Б (100:1%)→А–Б (10:90%) за 90 мин; объем пробы – 20 мкл, скорость подвижной фазы – 1.0 мл/мин; объем пробы, автоматически вводимой в масс-детектор, – 20 мкл. Температуры плавления определены на приборе ПТП (М).

Методика получения смеси изомеров (изомеризация). К раствору 2 ммоль лютеина или зеаксантина в 20 мл *n*-гексана прибавляли 1 ммоль иода. Реакционную смесь при перемешивании со скоростью 50 об/мин облучали флуоресцентной

лампой мощностью 25 Вт в течение 10 мин. Непрореагировавший иод отмывали 10%-ным спиртовым раствором иодида калия.

Методика получения *all-транс*-изомеров лютеина или зеаксантина. К раствору 2 ммоль лютеина или зеаксантина в 20 мл *n*-гексана добавляли 0.3 г Novozyme 435 и избыток бензойной кислоты (0.6 г, 5 ммоль). Полученную реакционную смесь перемешивали в течение 12 ч при 37°C со скоростью 50 об/мин. После окончания реакции этерификации иммобилизованный фермент отделяли фильтрованием. Для отделения непрореагировавшей бензойной кислоты, изомеров лютеина или зеаксантина фильтрат охлаждали до –4°C. Полученный раствор фильтровали, к фильтрату прибавляли 80 мл ацетона и охлаждали до –10°C в течение 12 ч. Дибензоаты лютеина и зеаксантина, которые кристаллизуются при температуре ниже –7°C, отделяли фильтрованием.

К полученным эфирам прибавляли 50 мл 10%-ного спиртового раствора гидроксида калия и перемешивали в течение 3 ч со скоростью 100 об/мин при температуре 40°C. За ходом реакции омыления следили с помощью ВЭЖХ-анализа, чтобы определить завершение омыления, о чем свидетельствует полное исчезновение пика эфира. Далее раствор количественно переносили в делительную воронку, прибавляли 100 мл *n*-гексана и 5 г сульфата натрия, перемешивали 10 мин и отделяли верхний слой органического растворителя. Раствор промывали водой, очищенной до значения pH 7. Полученный раствор охлаждали при температуре –20°C в течение 12 ч. *транс*-Изомеры лютеина или зеаксантина отделяли фильтрованием. На всех этапах получения реакционные смеси предохраняли от действия света и кислорода воздуха, учитывая высокую светочувствительность и способность к окислению лютеина и зеаксантина.

***all-транс*- β,ϵ -Каротин-3,3'-дибензоат(1).** Выход 1.12 г (69%), т. пл. 166–168°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (*J*, Гц): 1.05 с (6H, $\text{Me}^{16,17}$), 1.17 с (6H, $\text{Me}^{16,17}$), 1.62 с (3H, Me^5), 1.74 с (3H, Me^5), 1.84 т (1H, H^2 , *J* 12.0), 1.89 д. д (1H, $\text{H}^{2'}$, *J* 13.1, 7.4), 1.92 с (3H, Me^{19}), 1.97 с (9H, $\text{Me}^{19,20,20'}$), 2.29 д. д (1H, *ax*- H^4 , *J* 16.5, 9.5), 2.58 м (1H, *eq*- H^4 , *J* 16.5), 5.55 с (1H, H^4), 6.10 с (2H, $\text{H}^{7,8}$), 6.14 м (3H, $\text{H}^{8,10,10'}$), 6.27 м (2H, $\text{H}^{14,14'}$), 6.36 д (2H, $\text{H}^{12,12'}$, *J* 14.5), 6.65–6.71 м

(4H, H^{11,11',15,15'}), 7.45 д (4H, H_{Ar}, *J* 8.5), 7.57 т (2H, H_{Ar}, *J* 7.5), 8.06 д (4H, H_{Ar}, *J* 2.0). Масс-спектр, *m/z*: 777.4851 [*M* + H]⁺ (вычислено для C₅₄H₆₄O₄H⁺: 777.4877).

***all-trans*-β,β-Каротин-3,3'-добензоат (2).**

Выход 1.10 г (68%), т. пл. 184–186°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.12 с (6H, Me^{16',17'}), 1.17 с (6H, Me^{16,17}), 1.74 с (6H, Me^{5,5'}), 1.77 м (1H, H^{2'}), 1.95 т (1H, H², *J* 12.0), 1.97 с (12H, Me^{19,19',20,20'}), 2.28 д. д (1H, *ax*-H⁴, *J* 16.5, 9.5), 2.58 м (1H, *eq*-H⁴, *J* 16.5), 6.12 с (2H, H^{7,8}), 6.13 м (3H, H^{8',10,10'}), 6.28 м (2H, H^{14,14'}), 6.37 д (2H, H^{12,12'}, *J* 14.5), 6.68–6.73 м (4H, H^{11,11',15,15'}), 7.45 д (4H, H_{Ar}, *J* 8.5), 7.57 т (2H, H_{Ar}, *J* 7.5), 8.06 д (4H, H_{Ar}, *J* 2.0). Масс-спектр, *m/z*: 777.4853 [*M* + H]⁺ (вычислено для C₅₄H₆₄O₄H⁺: 777.4877).

***all-trans*-β,ε-Каротин (3).** Выход 0.77 г (98%), т. пл. 184–185°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 0.99 с (6H, Me^{16',17'}), 1.07 с (6H, Me^{16,17}), 1.37 д. д (1H, H^{2'}, *J* 13.0, 7.0), 1.62 с (3H, Me⁵), 1.74 с (3H, Me⁵), 1.84 т (1H, H², *J* 12.0), 1.92 с (3H, Me¹⁹), 1.97 с (9H, Me^{19,20,20'}), 2.05 д. д (1H, *ax*-H⁴, *J* 16.5, 9.5), 2.38 м (1H, *eq*-H⁴, *J* 16.5), 5.55 с (1H, H⁴), 6.09 с (2H, H^{7,8}), 6.13 м (3H, H^{8',10,10'}), 6.26 м (2H, H^{14,14'}), 6.35 д (2H, H^{12,12'}, *J* 14.5), 6.65–6.71 м (4H, H^{11,11',15,15'}). Масс-спектр, *m/z*: 569.4334 [*M* + H]⁺ (вычислено для C₅₄H₆₄O₄H⁺: 569.4353).

***all-trans*-β,β-Каротин (4).** Выход 0.75 г (96%), т. пл. 207–208°C. Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.06 с (6H, Me^{16',17'}), 1.07 с (6H, Me^{16,17}), 1.48 т (1H, H², *J* 12.0), 1.74 с (6H, Me^{5,5'}), 1.77 м (1H, H^{2'}), 1.97 с (12H, Me^{19,19',20,20'}), 2.04 д. д (1H, *ax*-H⁴, *J* 16.5; 9.5), 2.39 м (1H, *eq*-H⁴, *J* 16.5), 6.11 с (2H, H^{7,8}), 6.12 м (3H, H^{8',10,10'}), 6.27 м (2H, H^{14,14'}), 6.36 д (2H, H^{12,12'}, *J* 14.5), 6.68–6.73 м (4H, H^{11,11',15,15'}). Масс-спектр, *m/z*: 569.4337 [*M* + H]⁺ (вычислено для C₅₄H₆₄O₄H⁺: 569.4353).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Печинский С.В., Кюрегян А.Г., Оганесян Э.Т., Степанова Э.Ф. // ЖОХ. 2019. Т. 89. № 5. С. 721; Pechinsky S.V., Kuregyan A.G., Oganesyanyan E.T., Stepanova E.F. // Russ. J. Gen. Chem. 2019. Vol. 89. N 5. P. 913. doi 10.1134/S1070363219050098
2. Печинский С.В., Кюрегян А.Г., Оганесян Э.Т. // ЖОХ. 2020. Т.90. № 5. С. 730; Pechinsky S.V., Kuregyan A.G., Oganesyanyan E.T. // Russ. J. Gen. Chem. 2020. Vol. 90. N 5. P.827. doi 10.31857/S0044460X2005011X
3. Печинский С.В., Кюрегян А.Г., Степанова Э.Ф. Пат. РФ 2702005 (2018) // Б. И. 2019. № 28.
4. Печинский С.В., Кюрегян А.Г., Оганесян Э.Т. Пат. РФ 2739248 (20119) // Б. И. 2020. № 36.
5. Britton G. Carotenoids. Nutrition and Health. Basel; Boston; Berlin: Birkhäuser Verlag, 2009. Vol. 5. P. 464.
6. Krinsky N. Carotenoids in health and disease. New York: Dekker, 2004. P. 503.
7. Ceron C. M., Inmaculada C., Sanchez F.J., Aci'en G.F., Emilio M., Fern'andez-Sevilla M.J. // J. Agric. Food Chem. 2008. N 56. P. 11761. doi 10.1021/jf8025875
8. Sathasivam R., Radhakrishnan R., Hashem A., Abd Allah E.F. // Saudi J. Biol. Sci. 2019. N 26. P. 709. doi 10.1016/j.sjbs.2017.11.003
9. Horvath M.P., George E.W., Tran Q.T., Baumgardner K., Zharov G., Lee S., Sharifzadeh H., Shihab S., Mattinson T., Li B., Bernstein P.S. // Struct. Biol. Commun. 2016. Vol. 72. N 8. P. 609. doi 10.1107/S2053230X16010694
10. Perez-Galvez A., Minguez-Mosquera M.I. // Nutr. Res. 2005. N 25. P. 631. doi 10.1016/j.nutres.2005.07.002
11. Billsten H.H., Bhosale P., Yemelyanov A., Bernstein P.S., Polivka, T. // Photochem. Photobiol. 2003. Vol. 78. N 2. P. 138. doi 10.1562/0031-8655(2003)078<0138:ppoxic>2.0.co;2
12. Murillo A.G., Hu S., Fernandez M.L. // Antioxidants. 2019. Vol. 8. N 9. P. 390. doi 10.3390/antiox8090390
13. Berson E.L., Rosner B., Sandberg M.A., Weigel-DiFranco C., Brockhurst R.J., Hayes K.C., Johnson E.J., Anderson E.J., Johnson C.A., Gaudio A.R., Willett W.C., Schaefer E.J. // Arch. Ophthalmol. 2010. Vol. 128. N 4. P. 403. doi 10.1001/archophthalmol.2010.32
14. Jia Y.-P., Sun L., Yu H.-S., Liang L.-P., Li W., Ding H., Song X.-B., Zhang L.-J. // Molecules. 2017. Vol. 22. N 4. P. 610. doi 10.3390/molecules22040610
15. Рекомендуются уровни потребления пищевых и биологически активных веществ: МР 2.3.1.1915-04. <http://files.stroyinf.ru/data2/1/4293846/4293846547.htm>
16. Mares J. // Annu. Rev. Nutr. 2016. N 36. P. 571. doi 10.1146/annurev-nutr-071715-051110.
17. Milborrow B.V. // Carotenoid Chemistry and Biochemistry. 1981. P. 2027. doi 10.1016/B978-0-08-026224-6.50024-3
18. Li X.-X., Han L.-J. // Eur. Food Res. Technol. 2008. N 227. P.1307. doi 10.1007/s00217-008-0878-y
19. Hernandez-Marin E., Martinez A., Galano A. // J. Phys. Chem. (B). 2013. Vol. 117. N 15. P. 4050. doi 10.1021/jp401647n

20. Anastas P.T., Williamson T.C. // ACS Symp. Ser. 1996. Vol. 626. P. 1. doi 10.1021/bk-1996-0626.ch001
21. Wang R., Hou M., Zhang Y., Ge J., Liu Z. // Catal. Lett. 2015. N 145. P. 995. doi 10.1007/s10562-015-1493-8
22. Shangguan H., Zhang S., Li X., Zhou Q., Shi J., Deng Q., Huang F. // RSC Adv. 2020. N 10. P. 8949. doi 10.1039/D0RA00563K
23. Engstrom K., Nyhlen J., Sandstrom A.G., Backvall J.-E. // J. Am. Chem. Soc. 2010. Vol. 132. N 20. P. 7038. doi 10.1021/ja100593j
24. Liu Z.-Q., Zhou L.-M., Liu P., Baker P.J., Liu S.-S., Xue Y.-P., Xu M., Zheng Y.-G. // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2015. N 99. P. 8891. doi 10.1007/s00253-015-6825-5
25. Huang S.-M., Li H.-J., Liu Y.-C., Kuo C.-H., Shieh C.-J. // Molecules. 2017. Vol. 22. N 11. P. 1972. doi 10.3390/molecules22111972.
26. Курегян А.Г., Печинский С.В., Степанова Э.Ф. Пат. РФ 2659165 (2018) // Б. И. 2018. № 19.
27. Курегян А.Г., Печинский С.В. // Вопр. биол., мед. и фарм. хим. 2016. Вып. 1. С. 22.
28. Курегян, С.В. Печинский // Матер. XXI Междунар. заочной науч.-практ. конф. «Современная медицина актуальные вопросы». Новосибирск., 2013. С. 94.
29. Sundquist A.R., Hanusch M., Stahl W., Sies H. // Photochem. Photobiol. 1993. Vol. 57. N 5. P. 185. doi 10.1111/j.1751-1097.1993.tb09211.x

Chemoenzyme Synthesis of *all-trans*-Isomers of Lutein and Zeaxanthin

S. V. Pechinskii^{a,*}, A. G. Kuregyan^a, and E. T. Oganessian^a

^a Medical Pharmaceutical Institute of Pyatigorsk Branch of Volgograd Medical State University, Pyatigorsk, 357532 Russia
*e-mail: hplc@yandex.ru

Received July 1, 2021; revised July 21, 2021; accepted July 26, 2021

A method for the synthesis of *all-trans*-isomers of lutein and zeaxanthin was proposed, which includes the stage of esterification of lutein and zeaxanthin with benzoic acid in the presence of enantioselective lipase Novozyme 435. Further hydrolysis of lutein and zeaxanthin dibenzoates leads to the formation of the initial xanthophylls in the *all-trans* configuration.

Keywords: lutein, zeaxanthin, benzoic acid, esterification, Novozyme 435, esters