

185. Isolierung von 10'-Apo- β -carotin-10'-ol und (3R)-10'-Apo- β -carotin-3,10'-diol (Galloxanthin) aus Rosenblüten

5. Mitteilung über Rosenfarbstoffe¹⁾

von Edith Märki-Fischer und Conrad Hans Eugster*

Organisch-chemisches Institut, Universität Zürich-Irchel, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(7.IX.87)

Isolation of 10'-Apo- β -carotene-10'-ol and (3R)-10'-Apo- β -carotene-3,10'-diol (Galloxanthin) from Rose Flowers

The novel (all-*E*)-10'-apo- β -carotene-10'-ol (2) and (all-*E*,3*R*)-10'-apo- β -carotene-3,10'-diol (5) have been isolated from petals of one yellow species and various whitish or yellow or yellow blend varieties of rose cultivars. Each (all-*E*)-compound is accompanied by a (*Z*)-isomer, probably the (9*Z*)-isomer. Diol 5 proved to be identical with galloxanthin, an apo-10'-carotenol previously isolated from the retina of chicken.

Unsere Analyse der Carotinoide aus *Rosa foetida* HERRM., der in der modernen Rosenzüchtung wohl einflussreichsten Spezies, hatte zur Identifikation von mehr als 35 Carotinoiden geführt [4]. Ihr struktureller Schwerpunkt liegt mit ca. 87% eindeutig bei den C₄₀-Epoxiden. In der vorliegenden Arbeit berichten wir über erste Ergebnisse einer analogen Untersuchung der Carotinoide aus der modernen Teehybride 'Whisky Mac' (M. TANTAU 1967), deren Gelbton im Vergleich mit *R. foetida* viel weniger gesättigt, dafür stärker nach Bronze nuanciert ist²⁾. Die Analyse der Carotinoide ergab, dass viel weniger Epoxide vorliegen (33%) und der Anteil an Apocarotinoiden mit 12% ziemlich hoch liegt³⁾.

Eine Vortrennung der hypophasischen Carotinoide an Kieselgel ergab eine 'Auroxanthin'-Zone, deren weitere Auftrennung durch HPLC in Fig. 1a abgebildet ist. Darunter fielen vor allem die Pike 1, 2 und die Schulter 7 mit dem kurzwelligen λ_{\max} 403 nm (Hauptmaximum) auf, was auf das Vorliegen von Apocarotinoiden mit 8 konjugierten Doppelbindungen schliessen liess.

Die Anreicherung der einzelnen Komponenten erfolgte durch weitere chromatographische Trennungen (s. Fig. 1b und *Exper. Teil*).

¹⁾ 1. bis 4. Mitt., s. [1-4].

²⁾ Farbkoordinaten im CIELAB-Farbraum (Petalenoberseite; Werte von *R. foetida* in Klammern): L*78 a* + 14, b* + 63 (L*83, a* - 4, b*100-109).

³⁾ Gesamtanalyse der Carotinoide wird später in anderem Zusammenhang mitgeteilt.

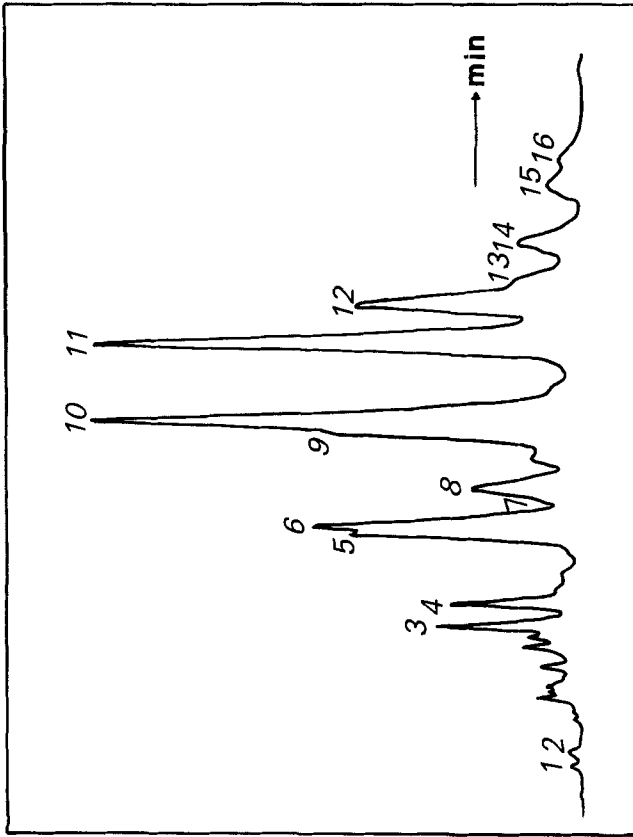


Fig. 1a. HPLC der Zone 4 aus einer Kieselsäule ('Auroxanthin'-Zone). Zuordnungen: Pik 1 ($r_t = 3,44$) = 10'-Apo- β -carotin-10'-ol (2); Pik 2 ($r_t = 3,75$) = (9Z)-10'-Apo- β -carotin-10'-ol (4); Pik 3 ($r_t = 6,32$) = Lutein; Pik 4 ($r_t = 6,78$) = Zeaxanthin; Pik 5 ($r_t = 8,19$) = (8S)-Mutatoxanthin; Pik 6 ($r_t = 8,36$) = (8R)-Mutatoxanthin; Schulter 7 = Galloxanthin (5); Pik 8 ($r_t = 9,13$) = Antheraxanthin; Schulter 9 = (9Z)-Antheraxanthin; Pik 10 ($r_t = 10,18$) = (8R,8'S)-Auroxanthin; Pik 11 ($r_t = 12,04$) = (8S,8'S)-Auroxanthin; Pik 12 ($r_t = 12,85$) = (8R,8'R)-Auroxanthin; Schulter 13 (9Z,8'R)-Luteoxanthin; Pik 14 ($r_t = 14,13$) = (9Z,8R,8'R)-Auroxanthin; Pik 15 ($r_t = 15,31$) = ein Auroxanthin; Pik 16 ($r_t = 15,81$) = ein Auroxanthin.

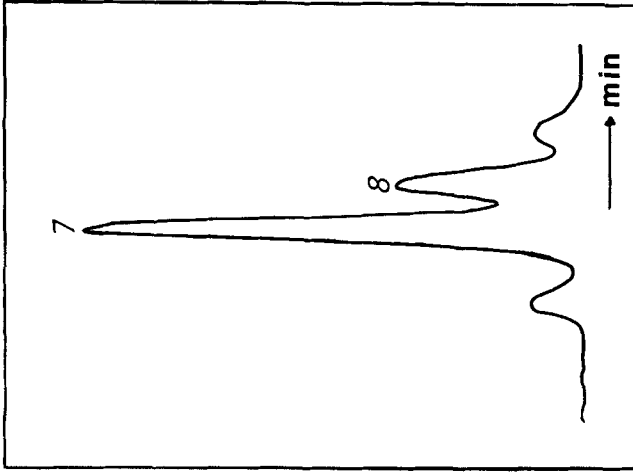


Fig. 1b. Anreicherung von Galloxanthin (5 = Pik 7, $r_t = 9,80$). Pik 8 ($r_t = 10,49$) = Antheraxanthin; ($r_t = 9,80$). (Trennleistung der Säule nicht mehr optimal).

Tabelle. 400-MHz-¹H-NMR-Spektren (CDCl₃). Zuordnung durch Einstrahlungsexperimente bei **1** gesichert.

	1 synth.	2 isol. ^{a)}	2 synth. ^{a)}	5 isol. ^{a)}
H-C(3)				4,00 (m)
H-C(7)	6,14 (d, J = 15)	6,12	6,12	6,12
H-C(8)	6,23 (d, J = 15)	6,18	6,18	6,18
H-C(10)	6,16 (d, J = 11)	6,15	6,16	6,15
H-C(10')	9,59 (d, J = 8)			
2H-C(10')		4,25 (d, J = 6) ^{b)}	4,25 (t, J = 6) ^{c)}	4,24 (d, J = 6) ^{b)}
H-C(11)	6,76 (dd, J = 15, 11)	6,65	6,65	6,65
H-C(11')	6,19 (dd, J = 15, 8)	5,87 (dt, J = 15, 5, 6)	5,87 (dt, J = 15, 5, 6)	5,87 (dt, J = 15, 5, 6)
H-C(12)	6,36 (d, J = 15)	6,35	6,35	6,36
H-C(12')	7,16 (d, J = 15)	6,34 (d, J = 15, 5)	6,34 (d, J = 15, 5)	6,34 (d, J = 15, 5)
H-C(14)	6,29 (d, J = 10)	6,23	6,23	6,22
H-C(14')	6,64 (d, J = 10)	6,23	6,23	6,22
H-C(15)	6,87 (dd, J = 15, 11)	6,61 (m)	6,61 (m)	6,61 (m)
H-C(15')	6,61 (dd, J = 15, 11)	6,61 (m)	6,61 (m)	6,61 (m)
CH ₃ (16)	1,03 (s)	1,03	1,03	1,07
CH ₃ (17)	1,03 (s)	1,03	1,03	1,07
CH ₃ (18)	1,72 (s)	1,73	1,73	1,73
CH ₃ (19)	1,99 (s)	1,97	1,97	1,98
CH ₃ (20)	2,02 (s)	1,97	1,97	1,98
CH ₃ (20')	1,96 (s)	1,91	1,91	1,91
HO-C(10')			1,34 (t, J = 6)	

^{a)} Falls keine Angabe, entsprechen die Signale denen von **1**.

^{b)} In sehr verdünnter Lösung aufgenommen; Kopplung mit HO-C(10') wegen Austausch nicht sichtbar.

^{c)} In wesentlich konzentrierterer Lösung aufgenommen; Kopplung von HO-C(10') mit 2H-C(10') führt zu 't', da gleichgrosse ³J wie H-C(11') mit 2H-C(10').

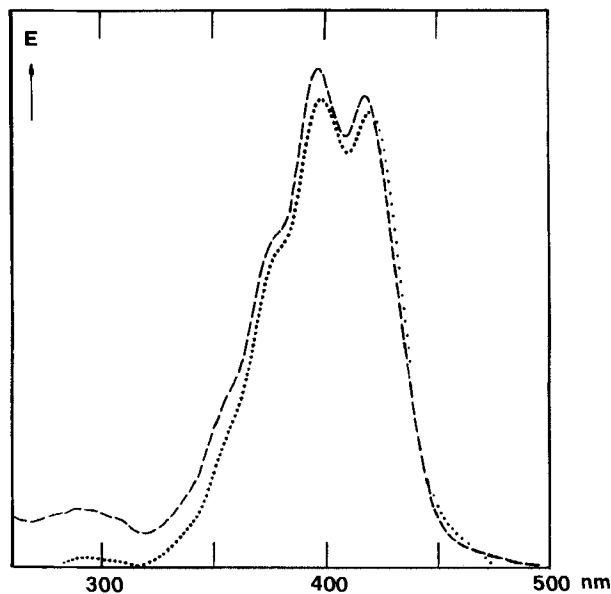
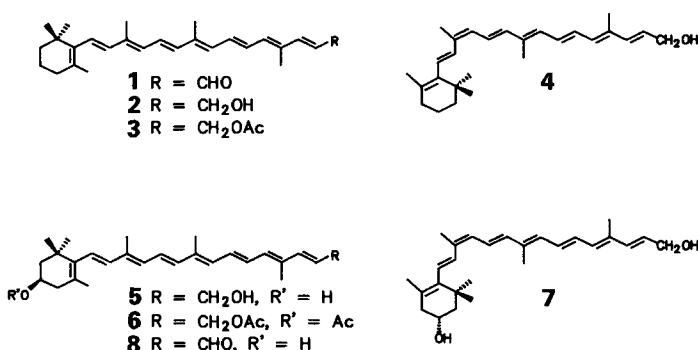


Fig. 2. UV/VIS-Spektren (Et₂O) von ——— 10'-Apo-β-carotin-10'-ol (**2**; sh 377; λ_{max} 397, 418; λ_{min} 409) und ····· (3R)-10'-Apo-β-carotin-3,10'-diol (**5**; sh 380; λ_{max} 398, 420; λ_{min} 410)

Verbindung aus Pik 1. Insgesamt wurden *ca.* 1,5 mg blaugelbes Öl **2** erhalten. Sein UV/VIS-Spektrum (*Fig. 2*) liess wegen der fast fehlenden Feinstruktur zunächst auf einen Ester oder einen Aldehyd schliessen, doch blieben Reduktionen mit NaBH₄, LiAlH₄ und DIBAH erfolglos. Das MS enthielt neben Ionen höherer Masse einen prominenten Pik *m/z* 379, der sich später als Molekularpik ($M^+ + 1$) erwies. Acetylierung ergab ohne Zwischenstufen ein Monoacetat **3**; Oxydation mit MnO₂ führte zur Entfärbung. Strukturbeweisend war das ¹H-NMR-Spektrum, das – neben Verunreinigungen – sämtliche Signale enthielt, die mit einem 10'-Apo-β-carotinol übereinstimmten, s. *Tabelle* und die Daten mit einem Vergleichspräparat, das durch Reduktion von 10'-Apo-β-carotin-10'-al (**1**) [5] hergestellt wurde. Dies und die HPL-Cochromatographie beweisen, dass die in Pik *1* aufgefundene Substanz mit 10'-Apo-β-carotin-10'-ol (**2**) identisch ist.



Verbindung aus Pik 2. Die uns zur Verfügung stehende Menge reichte nicht zu einer vollständigen Strukturermittlung aus. Da das UV/VIS-Spektrum gegenüber dem von **1** mit Ausnahme einer hypsochromen Verschiebung um 4 nm fast identisch war und zudem keinen 'cis-Pik' erkennen liess, schlossen wir auf das Vorliegen eines (*Z*)-Isomeren von **1**. Am wahrscheinlichsten ist die (9*Z*)-Struktur **4**.

Substanz aus Schulter 7. Nach weiteren Anreicherungsstufen (s. *Fig. 1b*) erhielten wir *ca.* 0,5 mg blaugelbes Öl **5**. Auch hier war das UV/VIS-Spektrum mit demjenigen von **2** fast deckungsgleich. Milde Acetylierung führte unter Auftreten eines Zwischenproduktes (polareres Monoacetat) zu einem Produkt **6** mit Molekularion *m/z* 478 (EI-MS). Darauf darf auf das Vorliegen des *O,O'*-Diacetates einer C₂₇H₃₈O₂-Verbindung geschlossen werden. Das ¹H-NMR-Spektrum zeigte in der Vinyl-Region sehr gute Übereinstimmung mit den Signalen von **2**. Bei den CH₃-Signalen fiel die Tieffeldverschiebung von CH₃(16)/CH₃(17) auf, was zusammen mit dem *m* bei 4,0 ppm das Vorliegen einer Zeaxanthin-Endgruppe belegt, vgl. [6]. Beweisend dafür ist der ausgeprägte Cotton-Effekt im CD, welcher für (3*R*,3'*R*)-Zeaxanthin und verwandte Verbindungen typisch ist. Obschon uns keine authentische Vergleichsprobe zur Verfügung stand, kann mit Sicherheit angenommen werden, dass (3*R*)-10'-Apo-β-carotin-3,10'-diol (**5**) vorliegt.

Die Verbindung **5** ist ebenfalls von einem (*Z*)-Isomeren begleitet, für welches aufgrund des UV/VIS-Spektrums Struktur **7** in Frage kommt.

Bemerkungen. Die C_{27} -Apocarotinole **2**, **4**, **5** und **7** sind bisher in Pflanzen nicht aufgefunden worden. Hingegen kennt man einige seltene Vorkommen der Aldehyde **1** [7] und **8** [7a]. Bei seiner Untersuchung der Carotinoide aus der Retina von Hühneraugen erhielt Wald [8] ein Polyen mit damals unerklärtem kurzem Chromophor, welches er Galloxanthin nannte. Spätere Untersuchungen von Goldsmith *et al.* [9], die sich auf Angaben von B. H. Davies und S. Pollard (University College of Wales, Aberystwyth) stützen, schlugen für Galloxanthin die Konstitution eines 10'-Apo- β -carotin-3,10'-diols vor. Die chiroptischen Daten und somit die absolute Konfiguration blieben damals noch unbestimmt. Neuere Untersuchungen⁴⁾ führten zu (3*R*)-Chiralität, so dass Galloxanthin mit Sicherheit ein Apo-10'-zeaxanthinol (**5**) darstellt. Daraus folgt die unerwartete Tatsache, dass Galloxanthin sowohl als Sehpigment in der Retina von Vögeln wie auch als Katabolit in Rosenblüten vorkommt. Unseres Wissens ist dies der erste Fall, wo ein Apo-carotinol sowohl im Tier- als auch im Pflanzenreich nachgewiesen worden ist; Retinol ist, im Gegensatz zu Retinal, bisher nicht in Pflanzen aufgefunden worden.

Die Apocarotinole **2** und **5** wurden von uns inzwischen in folgenden Rosenspezies und Rosensorten nachgewiesen: *Rosa hugonis* HEMSLEY (hellgelbe Strauchrose aus China), 'Gottfried Keller' (*Foetida*-Hybride, Blüten aprikosenfarben, F. MÜLLER, 1894), 'Alberic Barbier' (Kletterrose, Blüten rahmgelb, BARBIER 1900), 'François Juranville', (Blüten salmorange, BARBIER 1906), 'Penelope' (Strauchrose, Blüten muschelrosa, PEMBERTON 1924), 'Madame Meiland' (Teehybride, Blüten rosa und hellgelb gemischt, F. MEILLAND 1945), 'Sutter's Gold' (Teehybride, Blüten gelb mit rötlich, SWIM 1950), 'Piccadilly' (Teehybride, Blüten rot und gelb, SAM MCGREDY IV 1960), 'Alexander' (Teehybride, Blüten orangerot, HARKNESS 1972), 'Gold Bunny' (Floribunda, Blüten hell orange, PAOLINO 1978). Damit ist gezeigt, dass diese C_{27} -Apocarotinole zumindest in Rosenblüten ziemlich verbreitet vorkommen.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit, Herrn Richard Huber, Dotikon, und Herrn Kurt Hauenstein, Rafz, für die bereitwillige Überlassung von Rosenblüten und den analytischen Abteilungen unseres Hauses für Spektren.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* S. [4] und zusätzlich: HPLC-Analysen: *Spherisorb S-5 μ CN*, 4,6 \times 250 mm; mobile Phase Mischung aus *A* (Hexan/0,1% *N*-Ethyl-diisopropylamin) und *B* (CH_2Cl_2 /MeOH) Fluss 1,5 ml/min; Detektionssystem *Hewlett-Packard 1040A* mit Programmierereinheit *HP-85*. CD: bei RT. in EPA (Et_2O /Isopentan/ $EtOH$ 5:5:2); *Jasco-J-500-A*-Spektropolarimeter mit Programmierereinheit *Epson QX 10*; Gehaltsbestimmung mit $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 2500$ cm Hauptmaximum.

2. *Aufarbeitung.* Frische Petalen der Teehybride 'Whisky' (Herbst 1986) wurden mit Aceton/MeOH 4:1 unter Zusatz von gepulvertem $CaCO_3$ (1 g/2 l) bis zur Farblosigkeit extrahiert. Übliche Aufarbeitung und Verseifung mit 10% KOH/MeOH: 130 mg Rohecarotinoide (53 mg/100 g Petalen getrocknet).

3. *Chromatographie.* Grobtrennung an Kieselgel (*Merck* 40–63 μ , Säule 4 \times 25 cm) mit Hexan/0,05% $Et(i-Pr)_2N$ /Aceton 9:1 \rightarrow 5:5. Nach weiterer Säulentrennung der Fraktionen 2 (Monohydroxy-Komponenten) und 4 (*Auroxanthin*-Zone Säule 1,5 \times 16 cm, Material und System wie oben) folgte TLC an Kieselgel-Fertigplatten

⁴⁾ B. H. Davies und Mitarbeiter, Privatmitteilung am 27.7.87.

(Merck, Schichtdicke 0,25 und 0,5 mm). HPLC-Analysen zur Erfassung der gesuchten Verbindungen wurden auf jeder Trennstufe durchgeführt, Systeme für Fraktion 2: *A/B* 75:25 (1% MeOH in *B*), Isolieren der Verbindung 2. Fraktion 4: *A/B* 62:38 (2% MeOH in *B*), Isolieren von 5.

4. *Reaktionen*. Umlagerungsversuche mit HCl/CHCl₃, Acetylierung mit Ac₂O/Pyridin bei RT. Reduktionen mit NaBH₄, LiAlH₄ und DIBAH nach Standardmethoden. Oxydation mit MnO₂ in AcOEt bei RT.

5. *Daten der C₂₇-Apocarotinoide*. 10'-*Apo-β-carotin-10'-ol* (2): UV/VIS (Hexan): 418, 398, 378 (sh). UV/VIS (Hexan/CH₂Cl₂): 423, 403, 383 (sh). ¹H-NMR: s. *Tab*. CI-MS: 379 (*M*⁺ + 1).

10'-*Apo-β-carotin-3,10'-diol* (5): UV/VIS (Hexan): 418, 398, 378 (sh). UV/VIS (Hexan/CH₂Cl₂): 423, 403, 383 (sh). CD (EPA): 226 (0), 245 (+), 257 (0), 296 (–), 328 (0), 408 (+), 423 (0). ¹H-NMR: s. *Tab*. MS (Diacetat): 478 (*M*⁺), 418 (*M*⁺ – AcOH), 358 (*M*⁺ – 2 × AcOH).

10'-*Apo-β-carotin-10'-al* (1): UV/VIS (Hexan): 455 (sh), 434, 410 (sh). ¹H-NMR: s. *Tab*.

(*Z*)-10'-*Apo-β-carotin-10'-ol* (4): UV/VIS (Hexan/CH₂Cl₂): 418, 398, 378 (sh).

(*Z*)-10'-*Apo-β-carotin-3,10'-diol* (7): UV/VIS (Hexan/CH₂Cl₂): 418, 398, 378 (sh).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1977**, *60*, 1754.
- [2] E. Märki-Fischer, U. Marti, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1983**, *66*, 494.
- [3] C. H. Eugster, 'A fresh look at the Yellow' (The History of the yellow Garden Roses) in 'Linger Golden Light', Ed. L. Günthart, Carnegie-Mellon University, Hunt Institute for botanical Documentation, Pittsburgh, Pennsylvania, 1984.
- [4] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 2143.
- [5] R. Rüegg, M. Montavon, G. Ryser, G. Saucy, U. Schwieter, O. Isler, *Helv. Chim. Acta* **1959**, *42*, 854.
- [6] W. Vetter, G. Englert, N. Rigassi, U. Schwieter, in 'Carotenoids', Eds. O. Isler, H. Gutmann und U. Solms, Birkhäuser, Basel, 1971, S. 189ff.
- [7] a) H. Yokoyama, M. White, *Phytochemistry* **1966**, *5*, 1159; b) J. Gross, M. Gabai, A. Lifshitz, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 303; c) H. Thommen, *Naturwissenschaften* **1962**, *49*, 517; d) A. Winterstein, A. Studer, R. Rüegg, *Chem. Ber.* **1960**, *93*, 2951.
- [8] G. Wald, *J. Gen. Physiol.* **1948**, *31*, 377.
- [9] T. H. Goldsmith, J. S. Collins, S. Licht, *Vision Res.* **1984**, *24*, 1661.