

2. Die stereoisomeren Sinensiaxanthine und Sinensiachrome: Trennung und Bestimmung ihrer absoluten Konfiguration

7. Mitteilung über Rosenfarbstoffe¹⁾

von Edith Märki-Fischer und Conrad Hans Eugster*

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

(13. XI. 87)

Stereoisomeric Sinensiaxanthins and Sinensiachromes: Separation and Absolute Configuration

The so-called sinensiaxanthins and sinensiachromes, important apocarotenols from various fruits, have been separated into 2 and 4 stereoisomers, respectively, and their absolute configurations have been determined: (3*S*,5*R*,6*S*)-5,6-epoxy-5,6-dihydro-10'-apo- β -carotene-3,10'-diol (**2**), its (9*Z*)-stereoisomer **7**, the (8*R*)- and (8*S*)-epimers of (3*S*,5*R*)-5,8-epoxy-5,8-dihydro-10'-apo- β -carotene-3,10'-diol (**4** and **5**), and their (9*Z*)-stereoisomers **3** and probably **6**. Thus, sinensiaxanthins are cleavage products from (*Z/E*)-isomeric antheraxanthins or violaxanthins (scission at C(9')-C(10')) and sinensiachromes analogously from mutatoxanthins or auroxanthins.

Bei der Untersuchung der Carotinoide aus Blüten von 'François Juranville' (Barbier 1906), einer Hybride zwischen *Rosa wichuraiana* (oder *R. luciae*?) und einer Teerose, deren Petalen wegen der Mischung von Anthocyaninen und Carotinoiden einen rosa überhauchten Gelbton besitzen, stiessen wir bei der chromatographischen Trennung der Carotinoide in der polaren Fraktion, welche auf die Auroxanthin-Zone folgte, auf fluoreszierende Apocarotinoide mit kurzweiliger Absorption bei ca. 373, 393 und 418 nm. Ihre Eigenschaften liessen auf eine Verwandtschaft mit dem von *Curl* und *Bailey* erstmals beschriebenen und benannten 'Sinensiaxanthin'²⁾ [2] schliessen. Später sind ähnliche Verbindungen oft nachgewiesen worden³⁾. Da verschiedene dieser Angaben auf mangelhafter Charakterisierung beruhen, ist 'Sinensiaxanthin' in Standardübersichten [12][13] nicht aufgenommen worden⁴⁾. *Curl* hatte im 'Sinensiaxanthin' bereits eine 5,6-Epoxy-Funktion vermutet [2a] und das Vorkommen eines Stereoisomeren wahrscheinlich gemacht [2b]. 'Sinensiachrom', das furanoide Umlagerungsprodukt, wurde ebenfalls schon in [2a] erwähnt und später erstmals in 'Valencia'-Orangen nachgewiesen [14]. Dass 10'-Apoviolaxanthinol und 10'-Apoauroxanthinol als Konstitutionen für Sinensiaxan-

¹⁾ 6. Mitteilung, s. [1].

²⁾ Isoliert aus dem Saft von Valencia-Orangen.

³⁾ Saft und Schale von Tangerinen [3], Aprikosen [4], Kaki [5], 'Navel'-Orangen [6], 'Cranberry' und Feigen [7], *Citrus sinensis* [8], Äpfel [9][10] und Süsskirschen [11].

⁴⁾ Name in [12] (S. 101) unter 'unknowns' erwähnt.

thin bzw. Sinensiachrom in Frage kommen, wurde von *Curl* 1967 erwähnt [15]. Weitere Argumente für diese Konstitutionen wurden später in [10][16][17] erbracht.

Lösungen von Sinensiachrom zeigen im langweiligen UV eine schwach gelbe Fluoreszenz⁵⁾.

Da den Sinensioxanthinen und Sinensiachromen offensichtlich Bedeutung im Carotinoid-Metabolismus von reifenden Früchten zukommt, haben wir eine eingehende Untersuchung durchgeführt; über analytische und strukturelle Ergebnisse orientiert die vorliegende, über Synthesen eine spätere Arbeit.

Nach dem im *Exper. Teil* beschriebenen Anreicherungsverfahren stand uns insgesamt ein Gemisch, enthaltend 1,8 mg 'Sinensioxanthin' und 3,7 mg 'Sinensiachrom', zur Verfügung. Dessen HPLC (*Fig. 1*) weist auf ein relativ komplexes Gemisch von ähnlichen Verbindungen hin.

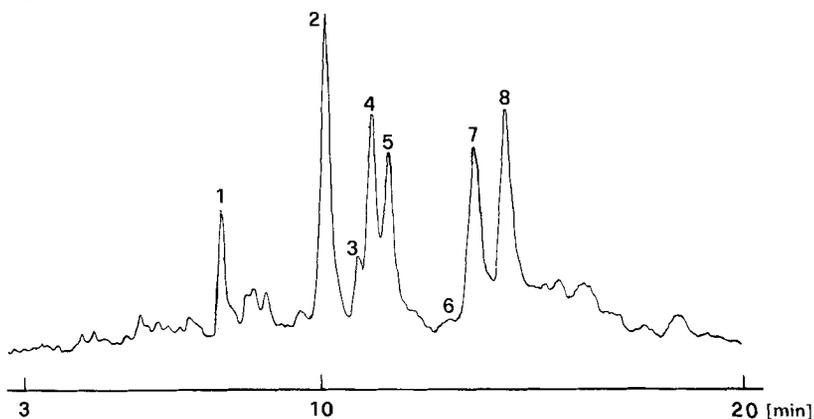


Fig. 1. HPLC-Auftrennung der Sinensioxanthin/Sinensiachrom-Fraktion

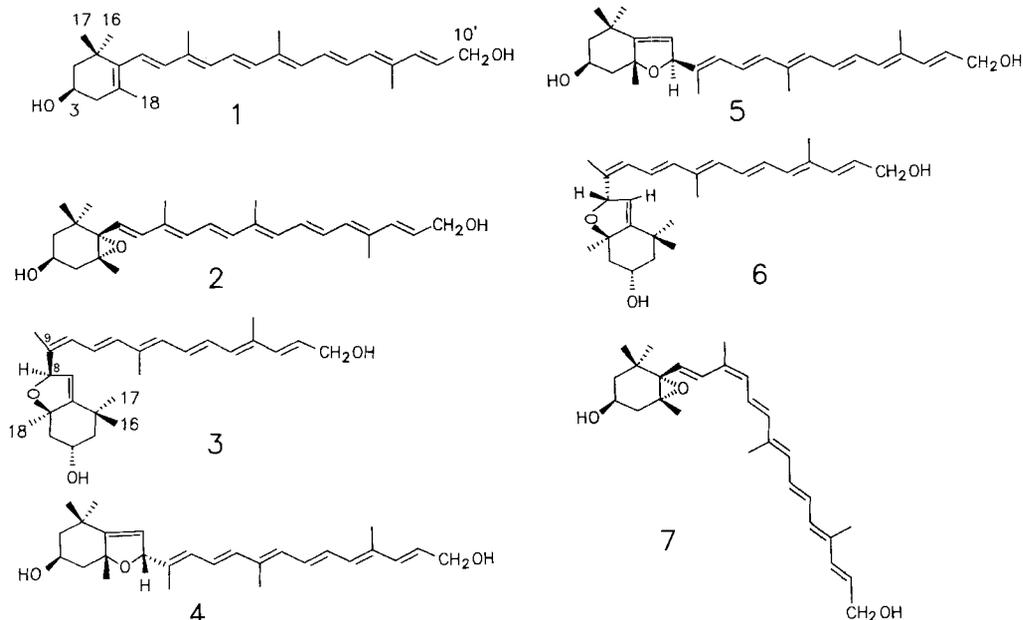
Pik 1. Nach Chromatographie, Cochromatographie und Spektren liegt Galloxanthin (1) vor, dessen Struktur wir in [18] bewiesen haben.

Pik 2. Die UV/VIS-Daten (Et₂O/Isopentanol/EtOH 5:5:2 (= EPA)) mit λ_{\max} bei 355 (sh), 373, 393 und 418 nm belegen einen Heptaen-Chromophor⁶⁾. Im ¹H-NMR-Spektrum ist die weitgehende Übereinstimmung mit der Antheraxanthin-Endgruppe [19] ersichtlich. Mit Sicherheit kann eine *cis*-Stellung von OH und Epoxid ausgeschlossen werden. Neu ist das Signal bei 4,22 ppm (*d*, *J* = 6 Hz), welches wir in Übereinstimmung mit 1 [18] der CH₂(10')-Gruppe zuordnen (s. *Tab. 1*). Die Chiralität an C(6) folgt aus dem CD-Vergleich der Cotton-Effekte im VIS mit Antheraxanthin (s. *Fig. 2*). Im UV/VIS- und ¹H-NMR-Spektrum sind keine Hinweise auf das Vorliegen einer (*Z*)-Doppelbindung zu finden. Somit ist dieses Sinensioxanthin-Isomer als (3*S*,5*R*,6*S*)-5,6-Epoxy-5,6-dihydro-10'-apo- β -carotin-3,10'-diol (2) zu bezeichnen.

Pik 3. Aus dem UV (EPA) mit λ_{\max} bei 335 (sh), 351, 370 und 392 nm kann auf einen Hexaen-Chromophor geschlossen werden. Die Vermutung, dass demnach eine furanoide Verbindung vorliege, liess sich durch ¹H-NMR-Daten belegen: die Tieffeld-Verschiebung aller CH₃-Gruppen am Cyclohexan-Ring und die Hochfeld-Verschiebung von H-C(8)

⁵⁾ Angaben in [16][17] erwähnen ebenfalls eine gelbe Fluoreszenz.

⁶⁾ Quantitative Daten werden später im Zusammenhang mit der Synthese von 2 publiziert.

Tab. 1. ¹H-NMR-Daten (400 MHz, CDCl₃)

	2	7 ^{a)}	4 ^{a)}	5 ^{a)}	3 ^{a)}
H-C(3)	3,89 (<i>m</i>)	3,91	4,25	4,25	4,25 (br. <i>s</i>)
H-C(7)	5,88 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15)	5,93	5,25 (<i>d</i> , <i>J</i> = 1)	5,30 (<i>d</i> , <i>J</i> = 2)	5,85 (br. <i>s</i>)
H-C(8)	6,29 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15)	6,84	5,16 (br. <i>s</i>)	5,07 (br. <i>s</i>)	5,20 (br. <i>s</i>)
H-C(10)	6,19 (<i>d</i> , <i>J</i> = 11)	6,07	6,19	6,19	6,08
H-C(10')	4,22 (<i>d</i> , <i>J</i> = 6)	4,22	4,22	4,22	4,22
H-C(11)	6,60 (<i>dd</i> , <i>J</i> = 15, 11)	6,76	6,49	6,49	6,09
H-C(11')	5,86 (<i>dt</i> , <i>J</i> = 15,5, 6)	5,87	5,87	5,87	5,87
H-C(12)	6,37 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15)	6,29	6,31	6,31	6,31
H-C(12')	6,33 (<i>d</i> , <i>J</i> = 15,5)	6,33	6,34	6,34	6,34
H-C(14)	6,22 (<i>m</i>)	6,22	6,20	6,20	6,20
H-C(14')	6,22 (<i>m</i>)	6,22	6,22	6,20	6,20
H-C(15)	6,62 (<i>m</i>)	6,61	6,60	6,60	6,60
H-C(15')	6,62 (<i>m</i>)	6,61	6,60	6,60	6,60
CH ₃ (16)	0,98 (<i>s</i>)	1,00	1,17	1,19	1,16
CH ₃ (17)	1,15 (<i>s</i>)	1,15	1,32	1,34	1,32
CH ₃ (18)	1,19 (<i>s</i>)	1,19	1,61	1,68	1,61
CH ₃ (19)	1,93 (<i>s</i>)	1,93	1,72	1,80	1,73
CH ₃ (20)	1,96 (<i>s</i>)	1,96	1,93	1,93	1,93
CH ₃ (20')	1,91 (<i>s</i>)	1,91	1,90	1,90	1,90

^{a)} Wenn keine Angaben, Multiplizitäten und Kopplungskonstanten wie bei 1.

im Vergleich zu den Daten eines 5,6-Epoxids sind charakteristisch [20][21]. Aus dem üblichen Bereich fallen aber Signale, die wir H-C(10) und H-C(11) zuordnen, woraus wir in Analogie zu einem Auroxanthin-Isomeren⁷⁾ auf eine (9*Z*)-Konfiguration schlies-

⁷⁾ Verbindung 12 in [23a].

sen. Die *trans*-Stellung von CH₃(18) und C(9) wird wahrscheinlich gemacht aus dem *s*-Charakter von H–C(7) und der Lage von H–C(8) (vgl. [20] und *Tab. 1*); CD-Kurve von **3**, s. *Fig. 3*. Ein ganz eindeutiger Strukturbeweis wäre durch eingehenden Vergleich mit dem C(8)-Epimeren von **3** möglich. Leider standen von dieser Substanz (s. **6**) unzureichende Mengen zur Verfügung. Auf die absolute Konfiguration im Sinn von **3** gelangen wir vorläufig nur aufgrund biogenetischer Zusammenhänge. Wir schreiben also dieser Komponente die Struktur eines (9*Z*,3*S*,5*R*,8*R*)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-10'-apo-carotin-3,10'-diols zu.

Pik 4. Nach UV-Daten (EPA) mit λ_{\max} bei 335 (sh), 351, 370 und 392 nm und ¹H-NMR-Daten liegt ein Sinensiachrom vor. Aus Lage und Aufspaltungsmuster von H–C(7) und H–C(8) ergibt sich die *trans*-Stellung von CH₃(18) und C(9) (sogenannte Flavoxanthin-Stellung, vgl. [20]). Unerwartet aufgrund bisheriger Erfahrung ist allerdings, dass H–C(7) hier nicht als breites *s*, sondern als *d* mit $J \approx 1$ Hz auftritt. Eine Verwechslung von **4** mit der Chrysanthemaxanthin-Konfiguration kann aufgrund der CD-Kurve im UV und dem Vergleich mit den Daten von **5** ausgeschlossen werden. Spektroskopische Hinweise auf eine vorhandene (*Z*)-Doppelbindung fehlen. Die (all-*E*)-Konfiguration liess sich schliesslich durch Vergleich mit einem synthetischen Präparat beweisen⁶⁾. Die *Cotton*-Effekte im VIS sind so schwach, dass sich keine Schlüsse auf die Chiralität an C(8) ziehen lassen (s. *Fig. 3*). Die absolute Konfiguration von **4** wurde aber mit einem Synthesepreparat⁶⁾ gesichert; die Verbindung aus *Pik 4* hat also die Struktur des (3*S*,5*R*,8*R*)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-10'-apo- β -carotin-3,10'-diols, d. h. des (8*R*)-Sinensiachroms.

Pik 5. Die spektroskopischen Daten zeigen, dass das C(8)-Epimere von **4** vorliegt (s. *Tab. 1* und *Fig. 3*). Klar ersichtlich ist das Aufspaltungsmuster und die chemische Verschiebung von H–C(7) und H–C(8), das zur Bestätigung der Chrysanthemaxanthin-Konfiguration [20] führt; somit ist **5** das (8*S*)-Sinensiachrom (= (3*S*,5*R*,8*S*)-5,8-Epoxy-5,8-dihydro-10'-apo- β -carotin-3,10'-diol). CD-Spektrum, s. *Fig. 3*.

Pik 6. Die zur Verfügung stehende Menge genügte nur für ein qualitatives UV, das deckungsgleich mit dem von **3**, **4** und **5** war. Wir nehmen deshalb an, dass das C(8)-Epimere von **3** vorliegt.

Pik 7. Nach UV/VIS- und ¹H-NMR-Daten liegt ein Heptaen-Chromophor mit Antheraxanthin-Endgruppe vor. Die charakteristischen Verschiebungen von H–C(7), H–C(8), H–C(10) und H–C(11) zeigen klar die (9*Z*)-Konfiguration; vgl. [19][22]. In Übereinstimmung damit liegen die UV/VIS-Maxima gegenüber **2** um ca. 5 nm kürzerwellig. In *Fig. 4* sind die CD-Spektren von **7** und (9*Z*)-Antheraxanthin [19] einander gegenübergestellt. Während das positive Bandensystem im VIS mit **2** übereinstimmt, ist die Inversion der kürzerwelligen Banden im UV im Vergleich mit **2** sehr deutlich. Alle Daten stimmen mit der Struktur des (9*Z*)-Sinensiachroms überein (= (9*Z*,3*S*,5*R*,6*S*)-5,6-Epoxy-5,6-dihydro-10'-apo- β -carotin-3,10'-diol).

Pik 8. Die Verbindung wurde als (9*Z*)-Violaxanthin identifiziert; vgl. [21].

Eine vorläufige Untersuchung von Apocarotinolen aus Äpfeln und Orangen hat ergeben⁸⁾, dass 'Sinensiachrom' und 'Sinensiachrom' ebenfalls Gemische sind: Äpfel *cv.* 'Golden Delicious': 2/7/3/4/5 = 10:90:1:5:4; Saft von 'Shamouti'-Orangen: 2/7/3/4/

⁸⁾ Vorläufige Bestimmungen in Zusammenarbeit mit Dr. J. Gross, Tel-Aviv, Israel, im Frühjahr 1985; s. *Fussnote* in [25].

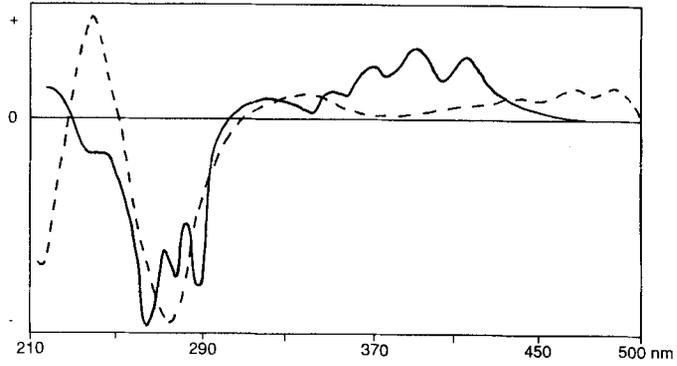


Fig. 2. CD-Spektrum (qual. in EPA) von **2** (—) und Antheraxanthin (-----)

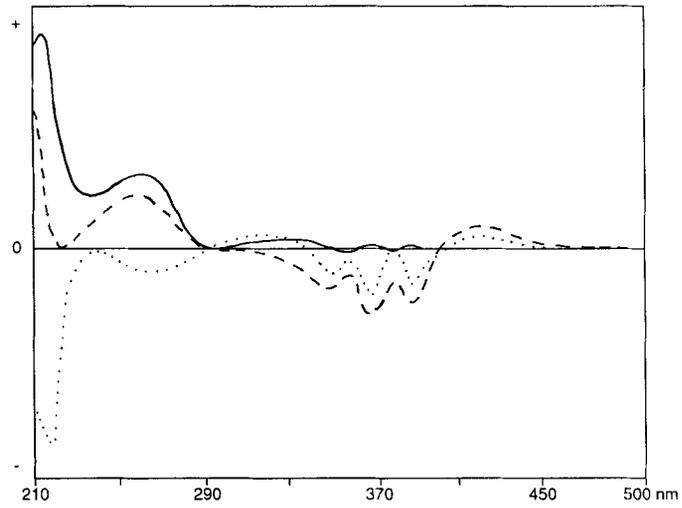


Fig. 3. CD-Spektrum (qual. in EPA) von **3** (---), **4** (—) und **5** (.....)

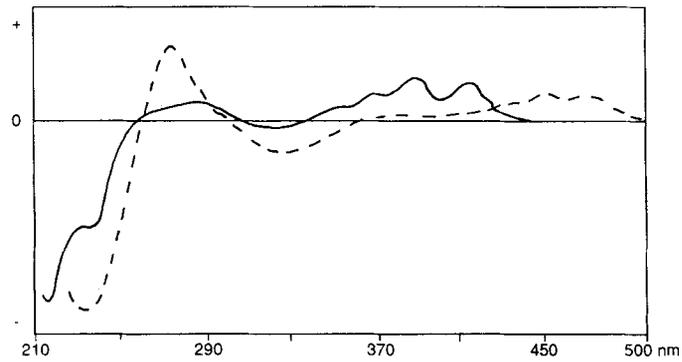


Fig. 4. CD-Spektrum (qual. in EPA) von **7** (—) und (9Z)-Antheraxanthin (-----)

5 = 83:17:1:5:4. Die Sinensiaxanthine und die Sinensiachrome sind demzufolge die reduzierten Produkte einer nicht-zentralen Spaltung (= 'excentric C–C cleavage' im Sinne von Olson [24]) von Antheraxanthin bzw. Violaxanthin und Mutatoxanthin oder Auroxanthin in C₂₇- und C₁₃-Verbindungen. Natürlich können sich die Sinensiachrome auch durch säurekatalysierte Umlagerung aus Sinensiaxanthinen bilden. Möglicherweise liegt hier der Schlüssel zum Verständnis der zahlreichen Duftstoffe mit Carotinoid-Ursprung in Rosenölen.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit und den analytischen Abteilungen unseres Hauses für Spektren.

Experimenteller Teil

1. Allgemeines. S. [23a].

2. *Extraktion, Vortrennungen.* Frische Petalen von 'François Juranville', Ernte Juni/Juli 1984, wurden unter Zusatz von feingepulvertem CaCO₃ mit Aceton/MeOH 17:3 bei RT. extrahiert. Der Extrakt wurde mit 10% KOH in MeOH verseift: 7 mg Rohcarotinoide, d.h. 10 mg/100 g trockene Petalen. Die Vortrennung erfolgte an Kieselgel (1,5 × 16 cm) mit Hexan + 0,05% Et(i-Pr)₂N/Aceton 9:1→5:5. *Fraktion 1:* 2,3 mg (37%) Kohlenwasserstoffe; *Fraktion 2:* 0,7 mg (11%) Monohydroxy-Fraktion; *Fraktion 3:* 0,6 mg (10%) Dihydroxy-Verbindungen; *Fraktion 4:* 1,5 mg (22%) Epoxide; *Fraktion 5:* 0,8 mg (12%) Epoxide; *Fraktion 6:* 0,5 mg (7%) polare Epoxide.

Die Sinensiaxanthine und Sinensiachrome waren auf die *Fraktionen 4* und *5* verteilt. Weitere Trennungen wurden an deaktivierten Kieselgel-Platten (*Merck*, 0,25 und/oder 0,5 mm Schichtdicke) ausgeführt. Damit war eine weitgehende Trennung in Sinensiaxanthine und Sinensiachrome möglich. Insgesamt standen uns, isoliert aus verschiedenen Quellen, 1,8 mg 'Sinensiaxanthin' und 3,7 mg 'Sinensiachrom' zur Verfügung. Die anschliessenden Trennungen wurden mit präp. HPLC durchgeführt. Alle Arbeiten mussten wegen hoher Oxydationsempfindlichkeit der Sinensiachrome möglichst rasch erfolgen. UV/VIS und CD: s. *Tab. 2*.

Tab. 2. UV/VIS- und CD-Daten (qual., Et₂O/Isopentan/EtOH 5:5:2 (= EPA))

	UV/VIS [nm]	CD (s. <i>Fig. 2-4</i>)
2	225, 355 (sh), 373, 393, 418	220 (+), 230 (○), 268 (-), 278 (-), 290 (-), 300 (○), 325 (+), 345 (○), 374 (+), 393 (+), 418 (+), 435 (○)
3	335 (sh), 351, 370, 392	210 (+), 223 (○), 260 (+), 305 (○), 351 (-), 370 (-), 391 (-), 404 (○)
4	335 (sh), 351, 370, 392	212 (+), 236 (+), 258 (+), 285 (○), 290-354 (±), 354 (○)
5	335 (sh), 351, 370, 392	216 (-), 242 (○), 270 (-), 290 (○), 314 (+), 345 (○), 350 (○), 370 (-), 391 (-), 402 (○)
6	335 (sh), 351, 370, 392	
7	225, 288, 350 (sh), 368, 388, 413	215 (-), 240 (-), 265 (○), 280 (+), 302 (○), 320 (-), 330 (○), 370 (+), 390 (+), 414 (+), 430 (○)

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Märki-Fischer, P. Uebelhart, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1994.
- [2] a) A. L. Curl, G. F. Bailey, *Agric. Food Chem.* **1954**, *2*, 685; b) *ibid.* **1956**, *4*, 156.
- [3] A. L. Curl, G. F. Bailey, *Agric. Food. Chem.* **1957**, *5*, 605.
- [4] A. L. Curl, *Food Res.* **1960**, *25*, 190.
- [5] A. L. Curl, *Food Res.* **1960**, *25*, 670.
- [6] A. L. Curl, G. F. Bailey, *J. Food Sci.* **1961**, *26*, 442.
- [7] A. L. Curl, *J. Food Sci.* **1964**, *29*, 241.

- [8] J. Gross, M. Gabai, A. Lifshitz, *Phytochemistry* **1972**, *11*, 303.
- [9] J. Gross, A. Zahariae, F. Lenz, G. Eckhardt, *Z. Pflanzenphysiol.* **1978**, *89*, 321.
- [10] J. Gross, G. Eckhardt, *Phytochemistry* **1978**, *17*, 1803.
- [11] J. Gross, *Gartenbauwissenschaft* **1985**, *50*, 88.
- [12] O. Straub, 'Key to Carotenoids', Birkhäuser, Basel, 1976.
- [13] H. Pfander, O. Straub, 'Key to Carotenoids', Birkhäuser, Basel, 1987.
- [14] A. L. Curl, G. F. Bailey, *Food Technol.* **1959**, *13*, 394.
- [15] A. L. Curl, *J. Food Sci.* **1967**, *32*, 141.
- [16] J. Gross, M. Gabai, A. Lifshitz, B. Sklarz, *Phytochemistry* **1974**, *13*, 1917.
- [17] J. Gross, M. Carmon, A. Lifshitz, B. Sklarz, *Phytochemistry* **1975**, *14*, 249.
- [18] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1987**, *70*, 1988.
- [19] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, G. Englert, K. Noack, M. Vecchi, *Helv. Chim. Acta* **1982**, *65*, 2198.
- [20] H. Cadosch, U. Vögeli, P. Rüedi, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1978**, *61*, 783.
- [21] D. Goodfellow, G. P. Moss, J. Szabolcs, Gy. Tóth, B. C. L. Weedon, *Tetrahedron Lett.* **1973**, 3925.
- [22] W. Vetter, G. Englert, N. Rigassi, U. Schwieter, 'Spectroscopic Methods', 'Carotenoids', Eds. O. Isler, H. Gutmann und U. Solms, Birkhäuser, Basel, 1971.
- [23] a) E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 2143; b) C. H. Eugster, *Pure Appl. Chem.* **1985**, *57*, 639.
- [24] J. A. Olson, 'Formation and Function of Vitamin A', in 'Biosynthesis of Isoprenoid Compounds', Ed. J. W. Porter und S. L. Spurgeon, J. Wiley, New York, 1983, Vol. 2, S. 371.
- [25] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1985**, *68*, 1704.