

108. Notiz über Ellagitannine und Flavonol-glycoside aus Rosenblüten¹⁾

von Kyosuke Nayeshiro²⁾ und Conrad Hans Eugster*

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

(12. V. 89)

Note on Ellagitannins and Flavonol Glycosides from Rose Petals

Petals from two garden roses proved to be very rich in ellagitannins and flavonol glycosides. Rutin (1), spiraeoside (2), quercitrin (3), isoquercitrin (4), nicotiflorin (5), eugenin (6), rugosin A (7), rugosin D (10), casuarictin (8), and tellimagrandin I (9) were isolated. Spiraeoside, at physiological pH, exerts a pronounced stabilisation of the anthocyanin colour with enhancement of extinction and bathochromic shift of the absorption maximum in the visible range. The abundance of gallic-acid derivatives 6–10 is in contrast to the apparent inability of rose flowers to produce anthocyanins with a trihydroxylated ring B, a prerequisite in breeding true blue-coloured roses.

In den vorangehenden Veröffentlichungen dieser Reihe haben wir vor allem Struktur und Gehalt der Carotinoide in gelben Rosenblüten und in den Hagebutten einer Spezies beschrieben¹⁾. Die vorliegende Arbeit betrifft die Natur der stabilisierenden Begleitstoffe von Anthocyaninen. Bekanntlich gehen reine Anthocyanine im physiologischen Bereich von pH 4–4,5 grösstenteils in farblose Hydrate über. Eine Stabilisation der Anthocyanin-Chromophore findet in Blüten und Früchten auf verschiedene Art und Weise statt³⁾. Bei Rosen scheint nach der einzigen uns bekannten Untersuchung [5] die sogenannte Copigmentation, d. h. eine Komplex-Bildung zwischen einem Anthocyanin (s. z. B. unten, Tab. 2) und einem Flavonol-glycosid der wichtigste Stabilisationsprozess zu sein⁴⁾⁵⁾. Es ist jedoch nicht bekannt, welches von den nachgewiesenen Quercetin- und Kämpferol-glycosiden⁶⁾ das eigentliche Copigment darstellt. Auch ist noch nicht bekannt, ob das Anthocyanin im Komplex als Flavylium-Kation oder als Chinon-methid vorliegt. Da nach älteren Angaben sowohl Gallussäure (= 3,4,5-Trihydroxybenzoesäure) als auch Tannine als Stabilisatoren der Anthocyanin-Chromophore vermutet wurden [9] [10], haben wir die Petalen der dunkelroten Sorte *Papa Meillard* (A. Meillard, 1963) und

¹⁾ 10. Mitt. über Rosenfarbstoffe. 9. Mitt. s. [1], 8. Mitt. s. [2].

²⁾ Mitarbeiter am Organisch-Chemischen Institut 1985–1986, jetzige Adresse *Sunstar Inc.*, Osaka, Japan.

³⁾ Neuere Übersichten s. [3] [4].

⁴⁾ Allgemeines zum Phänomen der Copigmentation s. [3] [5–8].

⁵⁾ In der Sorte '*Better Times*' (J. H. Hill, 1934) wurden nachgewiesen: Kämpferol-glucosid und -xylosid, Quercitrin, ein Quercetin-glucosid, -arabinosid und -glucuronosid [5].

⁶⁾ Flavonol = 3-Hydroxy-2-phenyl-4*H*-1-benzopyran-4-on, Quercetin = 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5,7-trihydroxy-4*H*-1-benzopyran-4-on, Kämpferol = 3,5,7-Trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4*H*-1-benzopyran-4-on, Rutinose = 6-*O*-(6-deoxy- α -L-mannopyranosyl)-D-glucose, L-Rhamnose = 6-Deoxy-L-mannose.

Tab. 1. Messwerte an Petalen

	<i>Veilchenblau</i>	<i>Papa Meilland</i>
Blütenfarbe	violett mit weiss	samtig karminrot mit schwärzlichen Gebieten
Farbmessung ^{a)}	$L^* 30, a^* +34, b^* -17$	$L^* 21, a^* +45, b^* +6^b)$ $L^* 17, a^* +37, b^* +6^c)$
λ_{\max} (Extrakt) ^{d)}	517 nm	517 nm
λ_{\max} (Remission)	540–550, 625 (sh), nm	480–565 nm
Anthocyanin-Gehalt ^{e)}	0,12% frisch	0,3–0,5% frisch
Anthocyanine ^{f)}	Cy-3,5-di-O-Glc (98%) Cy-3-O-Glc (Spur) Cy-5-O-Glc (Spur) Pä-3,5-di-O-Glc (Spur) Pel-3,5-di-O-Glc (Spur)	Cy-3,5-di-O-Glc (98%) Cy-3-O-Glc (Spur) Pä-3,5-di-O-Glc (Spur) Pel-3,5-di-O-Glc (Spur) Unbekannte (Spuren)

a) CIELAB-Farbraum. Messungen am oberen Rand der Petaleninnenseite (= Oberseite) an halboffenen, frischen Blüten, Petalen aus der zweiten Reihe, Mittel aus mehreren Messungen, Messwerte mit *Normlichtart D*.

b) Messwerte aus roten Bezirken.

c) Messwerte aus schwärzlich-roten Bezirken von etwas älteren Petalen.

d) Gemessen in MeOH/3% HCOOH-Lsg. 1:1.

e) Gesamtgehalt berechnet mittels $\epsilon = 37000$ am λ_{\max} von Cyanin in MeOH/3% HCOOH-Lsg., 1:1; lokal können noch höhere Konzentrationen auftreten.

f) Im HPLC nachgewiesen, s. *Exper. Teil*. Cy = Cyanidin, Pä = Päonidin, Pel = Pelargonidin, Glc = Glucose.

der violetten *Veilchenblau* (J.C. Schmidt, 1909) auf ihren Gehalt an 'Tanninen' untersucht und sind nebenher auch auf verschiedene Flavonol-glycoside gestossen. Der Farbstoff beider Sorten, erhalten durch Extraktion mit MeOH/HCOOH, erwies sich im HPLC als praktisch reines Cyanin⁷⁾. Die auffallend verschiedenartige Färbung der Blüten ist demnach auf eine noch unbekannte Modifikation des Chromophors zurückzuführen (s. die betreffenden Messwerte der *Tab. 1*).

Flavonol-glycoside. Die Sorte *Papa Meilland* enthält vor allem viel Rutin (= 3-O-(β -Rutinosyl)quercetin⁶⁾; **1**), Spiräosid (= 4'-O-(β -D-Glucosyl)quercetin⁶⁾; **2**), neben weniger Quercitrin (= 3-O-(L-Rhamnosyl)quercetin⁶⁾; **3**), Isoquercitrin (= 3-O-(β -D-Glucosyl)quercetin⁶⁾; **4**) und Nicotiflorin (= 3-O-(β -Rutinosyl)kämpferol⁶⁾; **5**); die Sorte *Veilchenblau* hingegen vor allem **1** und **3**, jedoch kein **2**. Der deutliche Unterschied in der Flavonol-glycosid-Ausstattung kann als erster Fingerzeig dienen, dass die Copigmentierung eine wichtige Rolle bei der Ausbildung der Farbe spielt. Tatsächlich erwies sich das recht seltene und hier erstmals in einer Rose aufgefundene Spiräosid (**2**)⁸⁾ als ausgezeichnetes Copigment, welches sowohl mit Pelargonin als auch mit Cyanin und Päonin deutlich stärkere Copigmentationseffekte als Quercitrin (**3**) und Rutin (**1**) erzeugt, s. *Tab. 2*. Allerdings haben wir keine Bedingungen gefunden, bei denen die langwellige Absorptionsbande des Komplexes bis in den violetten oder gar blauen Spektralbereich verschoben wird. Wenn nicht noch weitere, bisher nicht erkannte Copigmente aufgefunden werden, muss eine andere Erklärung für die violette Blütenfarbe von *Veilchenblau* gefunden werden.

⁷⁾ Cyanin = 2-(3,4-Dihydroxyphenyl)-3,5-bis(β -D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-1-benzopyrylium-Kation, Pelargonin = 3,5-bis(β -D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-1-benzopyrylium-Kation, Päonin = 3,5-bis(β -D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1-benzopyrylium-Kation.

⁸⁾ Erste Isolierung aus *Spiraea ulmaria* [11]; Nachweis als wichtigstes Copigment in *Fuchsia*-hybriden [12].

Tab. 2. Copigmentationsversuche

Anthocyanin/Copigment ^{a)}	pH ^{b)}	λ_{\max} [nm]	Δ nm
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc allein	4,54	515	–
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 1 (1:2)	4,71	530	+15
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 2 (1:2)	4,70	532	+17
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 3 (1:2)	4,70	542	+27
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 3 (1:1)	4,75	533	+18
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 4 (1:2)	4,71	530	+15
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 6 (1:2)	4,71	–	–
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 7 (1:2)	4,70	–	–
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 8 (1:2)	4,75	ca. 520 sh	~
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 9 (1:2)	4,68	ca. 520 sh	~
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 10 (1:2)	4,70	–	–
Cy-3,5-di- <i>O</i> -Glc + Geraniin ^{c)} (1:2)	4,73	522	+7
Pä-3,5-di- <i>O</i> -Glc allein	4,68	515	–
Pä-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 1 (1:2)	4,66	531	+15
Pä-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 2 (1:2)	4,68	533	+18
Pä-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 3 (1:2)	4,65	543	+28
Pel-3,5-di- <i>O</i> -Glc allein	4,72	508	–
Pel-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 1 (1:2)	4,70	519	+11
Pel-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 2 (1:2)	4,70	521	+13
Pel-3,5-di- <i>O</i> -Glc + 3 (1:2)	4,70	531	+21

^{a)} Cy = Cyanidin, Pä = Päonidin, Pel = Pelargonidin, Glc = Glucose.

^{b)} Puffer und experimentelle Ausführung s. *Exper. Teil*.

^{c)} Ein in Rosenpetalen bisher nicht nachgewiesenes Ellagitannin, Struktur s. [13].

Ellagitannine. Aus der Sorte *Papa Meillard* wurden isoliert: Eugenin (**6**)⁹⁾, Rugosin A (**7**)¹⁰⁾, Casuarictin (**8**)¹¹⁾, Tellimagrandin I (**9**)¹²⁾, Rugosin D (**10**)¹⁰⁾ und Ellagsäure (**11**). Aus *Veilchenblau* konnte bisher nur **9** isoliert werden. Die Identifikation der Ellagitannine erfolgte mittels spektroskopischer Daten sowie durch direkten Vergleich mit authentischen Proben.

Die in den Formeln **6–10** angegebene absolute Konfiguration der atropisomeren (–)-4,4',5,5',6,6'-Hexahydroxy[1,1'-biphenyl]-2,2'-dicarbonsäure (HHBP) und der (–)-Valoneasäure (= 4-(6-Carboxy-2,3,4-trihydroxyphenoxy)-4',5,5',6,6'-pentahydroxy[1,1'-biphenyl]-2,2'-dicarbonsäure) ist früher festgelegt worden [19]. Sie liess sich an den von uns isolierten Ellagitanninen durch CD-Messungen [16] [20] bestimmen und überdies durch Isolierung der permethylierten, optisch-aktiven Octa-*O*-methylvaloneasäure im Sinn der angegebenen absoluten Konfiguration bestätigen¹³⁾.

Bei den Verbindungen **6–10** handelt es sich um die ersten in Rosenblüten nachgewiesenen Ellagitannine¹⁴⁾. Eigene HPLC-Analysen an weiteren Rosen (Spezies und Kultur-

⁹⁾ Erstmals aus *Eugenia caryophyllata* (Gewürznelken) isoliert [14].

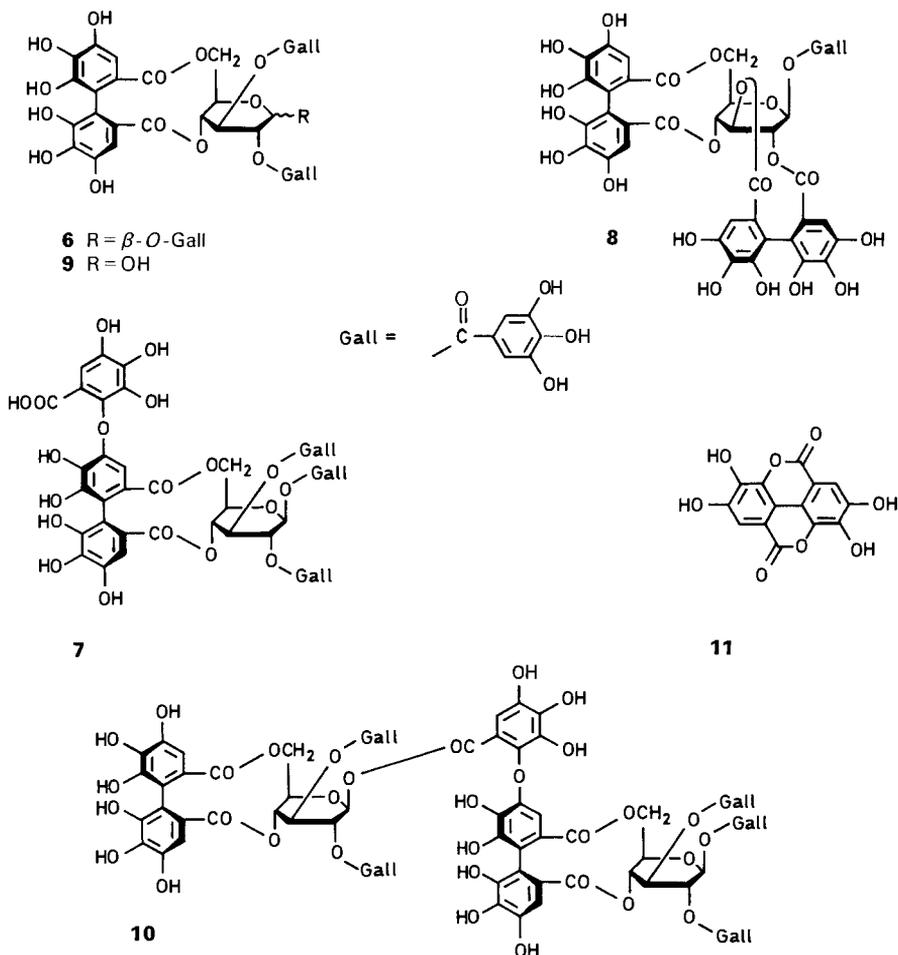
¹⁰⁾ Erstmals aus Hagebutten der *Rosa rugosa* isoliert [15].

¹¹⁾ Erstmals aus *Casuarina stricta* und weiteren Myrtaceen [16] sowie aus Hagebutten der *Rosa roxburghii* isoliert [17].

¹²⁾ Erstmals aus *Tellima grandis* isoliert [18].

¹³⁾ Die angegebenen absoluten Konfigurationen stimmen mit der Regel von *Schmidt et al.* [21] überein, wonach die D-Glucopyranose durch (–)-(*S*)-HHBP bzw. (–)-(*S*)-Valoneasäure immer an den Positionen C(2)/C(3) oder/und C(4)/C(6) verestert wird.

¹⁴⁾ Bemerkenswert erscheint nun auch der früher geleistete Nachweis von **6**, **8**, anomerem **8**, **9** sowie von 2,3:4,6-Bis[(*S*)-HHBP]glucopyranose in Laubblättern der *R. canina* [22].



sorten) haben gezeigt, dass die Blüten allgemein reich an Ellagitanninen sind und dass diese teilweise erstaunlich hohe Konzentrationen erreichen. Das trifft auch für die Petalen der klassischen *R. gallica officinalis*, der sog. 'Apothekerrose' zu, die seit dem 13. Jahrhundert in Provins bei Paris in grossem Umfang kultiviert wurde. Damit ist erstmals eine rationale Erklärung für die frühere, extensive medizinische Verwendung ihrer getrockneten Petalen zur Stillung von Durchfall, Blutungen und Entzündungen aller Art [23] [24] gegeben, da bekannt ist, dass Ellagitannine starke Adstringentien sind [26] [27].

Die hohe Konzentration von Gallussäure und Gallussäure-Derivaten in Rosenpetalen ist noch deswegen bemerkenswert, weil die analoge dreifache Hydroxylierung von Ring B bei Anthocyaninen aus Rosen bisher trotz allen Suchens [28] [29] nicht hat aufgefunden werden können¹⁵⁾. Diese wäre die strukturelle Voraussetzung für das Auftre-

¹⁵⁾ HPLC-Untersuchungen an Anthocyaninen aus ca. 150 Rosenblüten (Spezies und Sorten) haben in keinem Fall die Anwesenheit von Delphinidin-Derivaten erkennen lassen (Delphinidin = 3,5-bis(β -D-glucopyranosyloxy)-7-hydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-1-benzopyrylium-Kation).

ten von blauen Rosenblüten mit Delphinidin als Chromophor. Die Erklärung für diese Diskrepanz ist in den unterschiedlichen Biogenesewegen für Gallussäure einerseits und für Delphinidin andererseits zu suchen¹⁶⁾.

Die Fähigkeit der isolierten Ellagitannine **6–10** zur Copigmentierung mit Pelargonin, Cyanin und Päonin erwies sich in unseren Versuchen als unerwartet gering (s. *Tab. 2*). Zwar blieben die Anthocyanin-Lösungen farbig, sie verloren jedoch die sonst ausgeprägten Absorptionsmaxima im Sichtbaren. Einzige Ausnahme bildete Geraniin, das aber kein Inhaltsstoff von Rosenpetalen ist.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für einen Beitrag an die Kosten dieser Arbeit, der *Direktion der Sunstar Inc.*, Osaka, Japan, für die Gewährung eines Urlaubs an *K. N.*, den Herren Prof. Dr. *Takuo Okuda*, Okayama University, Tsushima, Japan, sowie Herrn Prof. Dr. *H. Geiger*, Universität Hohenheim, Stuttgart, für Vergleichssubstanzen und Herrn PD Dr. *P. Rüedi* für Hilfe bei HPLC-Analysen.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines*. S. [31]. Zusätzlich: HPLC-Analysen: an *NC-Nucleosil C18*, 10 μ 250 \times 4,6 mm (*K. Bischoff*, D-7250 Leonberg) mit H₂O/HCOOH 19:1 (= *A*) und MeOH (= *B*), vgl. [32] [33]; *Milton Roy CM 4000* multiple solvent delivery system; *Hewlett-Packard-1040-A*-Detektionssystem ('multiarray') mit Programmierereinheiten *HP-85* bzw. *HP-85 B*, Integrator *KP 3396 A*, Temperaturprogrammer *DuPont*. Farbmessungen: *Minolta-Chromameter II Reflectance* mit Datenverarbeiter *DP-100*, Messöffnung 8 mm, Normlichtart *D*. UV/VIS: Spektrometer *Perkin-Elmer 552*. CD: Spektropolarimeter *Jasco J-500 A* mit *Epson-QX-10*-Computer. NMR: *Bruker-Spectrospin WM-400 FT* mit *Aspect-2000*-Computer.

2. *Rosa cv. Veilchenblau*. Es wurden 200 g frische Petalen in 2 l Aceton/H₂O 1:1 eingelegt. Nach 24 h bei RT. wurde die Lsg. abfiltriert, der Filtrerrückstand mit einer weiteren Portion Lsgm. extrahiert, der vereinigte Auszug im Teilvakuum bis auf ca. 1 l eingedampft und die erhaltene trübe Lösung durch *Celite* filtriert. Darauf wurde sie 4mal mit je 1,5 l AcOEt (= *AcOEt-Extrakt*) und darauf 4mal mit je 0,5 l BuOH (= *BuOH-Extrakt*) extrahiert. Während dieser Extraktion kristallisierte *Rutin* (**1**); nach Umkristallisation aus MeOH/H₂O 90 mg) aus. Die nach der BuOH-Extraktion zurückbleibende wässr. Lsg. wurde i. V. eingedampft (= *H₂O-Rückstand*).

Der *AcOEt-Extrakt* (5,1 g) wurde an *Sephadex-LH 20* aufgezogen und dann der Reihe nach mit 2 l EtOH, 2 l EtOH/H₂O 1:1, 2 l EtOH/H₂O/Aceton 9:6:5 und 2 l EtOH/H₂O/Aceton 3:2:5 eluiert. Die EtOH/H₂O/Aceton-Eluate wurden zusammengenommen (0,47 g) und an einer 2,5 \times 21-cm-Cellulosesäule (*Serva Typ PH*) mit H₂O chromatographiert: 102 mg *Tellimagrandin I* (**9**) als Anomerengemisch.

Der *BuOH-Extrakt* (10,9 g), aufgezogen auf einer Säule (7,3 \times 27 cm) *Sephadex-LH 20*, wurde mit 2 l EtOH, dann mit 2 l EtOH/H₂O 1:1 und mit 1 l AcOH/H₂O 1:9 eluiert. Die intensiv violette EtOH-Fraktion (543 mg) wurde nach Lösen in H₂O an *Sephadex G-15* (Säule 3,5 \times 34 cm) rasch chromatographiert (50-ml-Fractionen). Aus den *Fr. 1–8* erhielten wir 25 mg *Rutin* (**1**), aus den *Fr. 9–14* 40 mg *Nicotiflorin* (**5**)¹⁷⁾.

Der *H₂O-Rückstand* wurde im Vakuum eingedampft, in wenig Pyridin gelöst und mit Ac₂O acetyliert. Nach DC auf Kieselgel mit Benzol/AcOEt 4:1 erhielten wir nochmals 30 mg *Rutin-decaacetat* und 10 mg *Isoquercitrin-nonaacetat*.

Neben den durch präp. Chromatographie nachgewiesenen **1**, *Isoquercitrin* (**4**) und **5** liess sich durch HPLC, noch *Quercitrin* (**3**) nachweisen (s. *Fig. 1*).

¹⁶⁾ Zur Biogenese von Gallussäure in höheren Pflanzen vgl. [30] und darin zit. Lit.

¹⁷⁾ In verschiedenen Extrakten und Fraktionen traten immer wieder violette oder blaue Farbstoffe auf, deren Untersuchung (MS, HPLC, UV/VIS, CD, Verbrennungsanalysen, Hydrolysen, ICP-Multiquant-Analysen) zeigten, das es sich um Metallkomplexe der Cyanin-Anhydrobase mit Fe-, Al- und möglicherweise auch Ca-Ionen handelt. Ihr genuines Vorkommen in den Petalen ist nicht auszuschliessen, möglich ist aber auch ihre Bildung bei den Aufarbeitungen.

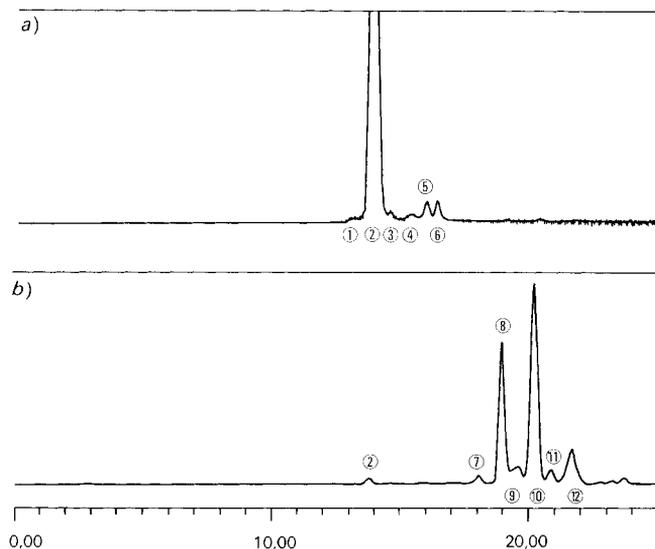


Fig. 1. HPLC eines Extraktes von frischen Petalen von 'Veilchenblau', hergestellt bei RT. mit 3% wässr. $CF_3COOH/MeOH$ 1:1. Konvexer Gradient mit $A/B = 93:7 \rightarrow 0:100$ innert 35 min, Fluss 2,5 ml/min. Detektion: a) 520 nm, b) 350 nm. ① unbekannt; ② Cyanin; ③ Pelargonin; ④ Päonin; ⑤ Cy-3-O-Glc; ⑥ Cy-5-O-Glc; ⑦, ⑧, ⑩, ⑫, unbekannt; ⑨ Rutin (1); ⑪ Nicotiflorin (5) und Quercitrin (3).

3. Rosa cv. *Papa Meiland*. Bei RT. wurden 200 g lufttrockene Petalen 4mal mit je 2 l Aceton/ H_2O 7:3 extrahiert und die vereinigten Extrakte hierauf im Vakuum auf ca. 1 l eingedampft. Nach Ausschütteln mit 4 Portionen zu 0,5 l Et_2O (= *Et_2O-Extrakt*) wurde die wässr. Phase zuerst 8mal mit je 1 l $AcOEt$ (= *AcOEt-Extrakt*) und dann 4mal mit je 0,5 l $BuOH$ (= *BuOH-Extrakt*) extrahiert.

Der *Et_2O-Extrakt* gab nach Eindampfen 1,6 g gelben Rückstand aus dem durch Lösen in $MeOH$ 0,3 g hellgelbe Nadeln von *Ellagsäure* (11) anfielen.

Aus dem *AcOEt-Extrakt* (15,4 g) wurden durch Chromatographie an *Sephadex LH-20* (Säule 5×50 cm) mit 2 l $EtOH$ und 1 l Aceton/ H_2O 7:3 7,1 bzw. 8,1 g Substanzgemisch gewonnen. Weitere Auftrennung der $EtOH$ -Fraktion (7,1 g) erfolgte an *Sephadex LH-20* ($3,2 \times 25$ cm) mit $EtOH/H_2O$ 7:3 (Fraktionen zu 15 ml). Aus den Fraktionen 5–7 wurde 4,1 g gelbliche Substanz erhalten, welche nach Umkristallisation aus $MeOH/H_2O$ 3:2 g *Spiräosid* (2) gab. Aus der Mutterlauge wurde durch eine Gradientenelution mit $EtOH$ und H_2O an *Sephadex LH-20* schliesslich 20 mg reines *Quercitrin* (3) gewonnen. Die Aceton/ H_2O -Fraktion (8,1 g) erwies sich als kompliziertes Gemisch. Es wurde nach folgendem Schema weiter fraktioniert: Nach dem Aufziehen auf *Sephadex LH-20* (Säule 5×50 cm) ergab Eluieren mit je 1 l $EtOH/H_2O$ 9:1, 7:3 und 3:2 zusammen 0,25 g *Fr. 1*, mit 2 l $EtOH/H_2O$ /Aceton 54:36:10 1,1 g *Fr. 2*, mit 1 l $EtOH/H_2O$ /Aceton 48:32:20 0,4 g *Fr. 3*, mit $EtOH/H_2O$ /Aceton 42:28:30 1,1 g *Fr. 4* und schliesslich mit $EtOH/H_2O$ /Aceton 36:24:40 1,1 g *Fr. 5*. Da die einzelnen Fraktionen immer noch nicht rein waren, wurden sie wie folgt weiter fraktioniert: *Fr. 1* nicht untersucht. *Fr. 2* wurde an *Sephadex LH-20* ($2,5 \times 18$ cm) aufgezogen, dann mit 0,5 l $EtOH$ ausgewaschen (erhaltene Substanz verworfen), hierauf mit 1,5 l $EtOH/H_2O$ 7:3 eluiert (Einzelfraktionen zu 15 ml). Aus den Einzelfraktionen 5–13 erhielt man so 400 mg *Eugenin* (6)/*Rugosin A* (7), welche durch präp. HPLC an *Nucleosil C₁₈* (10μ $2,5 \times 25$ cm, Gradient $MeOH \rightarrow 5\%$ $HCOOH$) getrennt wurden. Aus *Fr. 3* wurde durch mehrfach wiederholte Chromatographie an Cellulose (*Serva*, Typ *PH*) mit 1% $AcOH$ reines *Casuarictin* (8) erhalten. Mit *Fr. 4* wurde ähnlich dem Vorgehen bei *Fr. 3* vorgegangen: zuerst Feinfraktionierung an *Sephadex LH-20* ($3,8 \times 36$ cm) mit 450 ml $EtOH/H_2O$ 3:2 (alle Fraktionen verworfen), dann mit 350 ml $EtOH/H_2O$ /Aceton 54:32:20 (Einzelfraktionen zu 15 ml). Aus den Einzelfraktionen 14–17 erhielten wir 606 mg Gemisch, aus dem sich schliesslich durch eine weitere Chromatographie an Cellulose ($2,5 \times 21$ cm) mit 1% $AcOH$ 65 mg *Rugosin D* (10) und 32 mg *Tellimagrandin I* (9) gewinnen liessen.

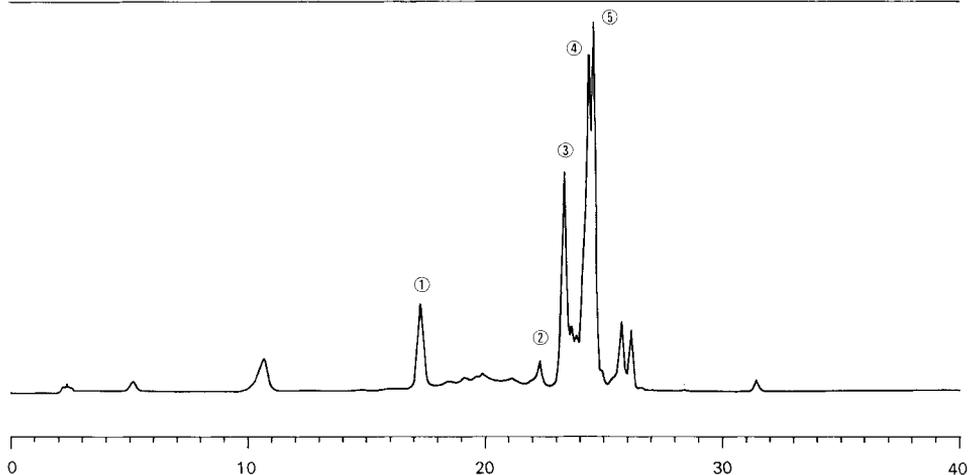


Fig. 2. HPLC eines Extraktes aus 'Papa Meillard', hergestellt und getrennt wie bei Fig. 1. ① Cyanin; ② Isoquercitrin (4); ③ Rutin (1); ④ Spiräosid (2); ⑤ Quercitrin (3). Es wurden relativ bedeutende Unterschiede festgestellt, je nachdem ob frische oder getrocknete Petalen extrahiert wurden.

Der *BuOH*-Extrakt (9,1 g) wurde in 6 Teilen zu 1,5 g an *Sephadex LH-20* (5×50) mit EtOH fraktioniert (Fraktionen zu 15 ml). Trotz wiederholter chromatographischer Trennoperationen konnten ausser verschiedenen violetten oder blauen Cyanin-Komplexen¹⁷⁾ keine weiteren Verbindungen identifiziert werden.

Der Nachweis von 1–4 erfolgte wie oben auch im HPLC (s. Fig. 2).

4. Identifikation der isolierten Verbindungen.

Rutin (1) und *Quercitrin* (3): Cochromatographie. UV. IR. Deca-*O*-acetyl-1: UV und ¹H-NMR.

Spiräosid (2): Cochromatographie mit einem aus *flos spiraeae* (*Siegfried*) nach [11] isolierten Präparat. Schmp. 221–223° (MeOH/H₂O). UV (MeOH): 253 (15000), 266 (sh), 364 (15200). ¹H-NMR. ¹³C-NMR: in guter Übereinstimmung mit [34].

Isoquercitrin (4): ¹H-NMR des Octa-*O*-acetyl-4.

Nicotiflorin (5): Cochromatographie. Hydrolyse. ¹H-NMR von Octa-*O*-acetyl-5.

Eugeniin (6): ¹H-NMR übereinstimmend mit [14].

Rugosin A (7): ¹H-NMR übereinstimmend mit [15].

Casuarictin (8): Cochromatographie. ¹H-NMR übereinstimmend mit [16]. ¹H-NMR von Pentadeca-*O*-methyl-8.

Tellimagrandin-I (9): ¹H-NMR (s. auch [18]). ¹H-NMR von Trideca-*O*-methyl-9. CD (MeOH): 241,2 ($\Delta\epsilon$ +28,1), 265,2 (–9,1), 287,6 (12,5).

Rugosin D (10): Cochromatographie. ¹H-NMR übereinstimmend mit [15]. UV. CD. ¹H-NMR von Nonacosa-*O*-methyl-10. Hydrolyse zu Octa-*O*-methylvaloneasäure, dann Veresterung zum Trimethylester (davon UV (MeOH): 216 (4,76), 254 (sh, 4,39), 300 (3,94); CD (MeOH): 218,4 ($\Delta\epsilon$ +39,9), 249,6 (–16,8), 279,2 (+1,8), 293,6 (–0,2), 311 (+3,8); ¹H-NMR).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, *71*, 1491.
- [2] C. H. Eugster, 'Rosenfarbstoffe aus der Sicht eines Chemikers', in *Rosa Helvetica* (Jahresblatt Ges. Schweiz. Rosenfreunde, CH-8212 Neuhausen) **1988/89**, 9–81.
- [3] T. Goto, 'Structure, Stability, and Color Variation of Natural Anthocyanins', in '*Progr. Chem. Org. Nat. Prod.*' **1987**, *52*, 113.
- [4] R. Brouillard, *Phytochemistry* **1983**, *22*, 1311.
- [5] S. Asen, K. H. Norris, R. N. Stewart, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* **1971**, *96*, 770.
- [6] Y. Osawa, 'Copigmentation of Anthocyanins', in 'Anthocyanins as Food Colors', Ed. P. Markakis, Academic Press, New York, 1982.
- [7] S. Asen, R. N. Stewart, K. H. Norris, *Phytochemistry* **1971**, *10*, 171; *ibid.* **1972**, *11*, 1139.
- [8] P. Schefféldt, G. Hrazdina, *J. Food Sci.* **1978**, *43*, 517.
- [9] R. Willstätter, E. H. Zollinger, *Liebigs Ann. Chem.* **1916**, *412*, 195.
- [10] G. M. Robinson, R. Robinson, *Biochem. J.* **1931**, *25*, 1687.
- [11] E. Steinegger, P. Casparis, *Pharm. Acta Helv.* **1945**, *20*, 154, 174.
- [12] Y. Yasaki, *Botanical Magazin (Tokyo)* **1976**, *89*, 45.
- [13] T. Okuda, H. Nayeshiro, K. Seno, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 4421; T. Okuda, T. Yoshida, H. Nayeshiro, *Chem. Pharm. Bull.* **1977**, *25*, 1862.
- [14] G.-I. Nonaka, M. Harada, I. Nishioka, *Chem. Pharm. Bull.* **1980**, *28*, 685.
- [15] T. Okuda, T. Hatano, K. Yazaki, N. Ogawa, *Chem. Pharm. Bull.* **1982**, *30*, 4230; T. Okuda, T. Hatano, N. Ogawa, *ibid.* **1982**, *30*, 4234.
- [16] T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano, K. Yazaki, M. Ashida, *Phytochemistry* **1982**, *21*, 2871; T. Okuda, T. Yoshida, M. Ashida, K. Yazaki, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1983**, 1765.
- [17] T. Yoshida, X.-M. Chen, T. Hatano, M. Fukushima, T. Okuda, *Chem. Pharm. Bull.* **1987**, *35*, 1817.
- [18] C. K. Wilkins, B. A. Bohm, *Phytochemistry* **1976**, *15*, 211.
- [19] T. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano, *Tetrahedron Lett.* **1980**, 2561.
- [20] E. Haslam, 'Vegetable Tannins', in 'Recent Adv. Phytochemistry', Ed. T. Swain, J. B. Harborne und C. F. van Sumere, Plenum, New York, 1979, Vol. 12, S. 475; E. Haslam, *Progr. Chem. Org. Nat. Prod.* **1982**, *41*, 1.
- [21] O. Th. Schmidt, L. Würtele, H. Harréus, *Liebigs Ann. Chem.* **1965**, *690*, 150.
- [22] E. A. Haddock, R. K. Gupta, S. M. K. Al-Shafi, K. Layden, E. Haslam, D. Magnolato, *Phytochemistry* **1982**, *21*, 1049.
- [23] Mia Touw, 'Roses in the Middle Ages', *Econ. Bot.* **1982**, *36*, 71.
- [24] M. Boitard, 'Manuel complet de l'amateur de roses', Roret, Paris, 1836, S. 50ff.
- [25] J.-L.-A. Loiseleur Deslongchamps, 'La Rose, son histoire, sa culture, sa poésie', Audot, Paris, 1844, S. 103ff.
- [26] T. Okuda, Y. Yoshida, K. Mori, T. Hatano, *Heterocycles* **1981**, *15*, 1323.
- [27] E. Steinegger, R. Hänsel, 'Lehrbuch der Pharmakognosie', Springer, Berlin, 1988.
- [28] J. B. Harborne, *Experientia* **1961**, *17*, 72; J. B. Harborne, G. Rowley, *The Rose Annual (England)* **1959**, 147.
- [29] M. C. Jain, T. R. Seshadri, R. K. Trikha, *J. Scient. Industr. Res. (India)* **1971**, *30*, 77.
- [30] D. Cornthwaite, E. Haslam, *J. Chem. Soc.* **1965**, 3008.
- [31] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, *67*, 2143.
- [32] K. Vande Castele, H. Geiger, R. De Loose, Ch. F. Van Sumere, *J. Chromatogr.* **1983**, *259*, 291.
- [33] D. Strack, N. Akavia, H. Reznik, *Z. Naturforsch., C* **1980**, *35*, 533.
- [34] K. R. Markham, B. Ternai, R. Stanley, H. Geiger, T. J. Mabry, *Tetrahedron* **1978**, *34*, 1389; K. R. Markham, B. Ternai, *ibid.* **1976**, *32*, 2607.