

117. Eine weitere, diesmal erfolgreiche Suche nach 3'-Epilutein in Pflanzen¹⁾

von Edith Märki-Fischer und Conrad Hans Eugster*

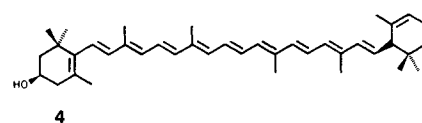
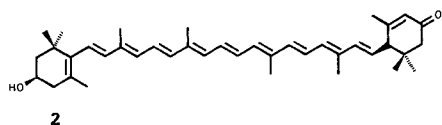
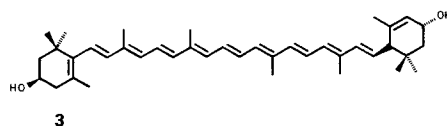
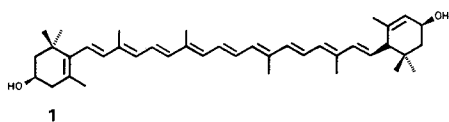
Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(2. V. 90)

A Further, Now Successful Search for 3'-Epilutein in Plants

The 3'-epilutein, an extremely rare carotenoid, found till now in only one plant, was detected in anthers of flowers of several roses and in those of peonies.

Das 3'-Epilutein (**1**) ist im Pflanzenreich bisher erst in Blüten von *Caltha palustris* (Sumpfdotterblume) entdeckt worden [2] [3]. Es wird dort begleitet von 3',*O*-Didehydro-lutein (**2**) und Lutein (**3**) [4], was darauf hinweist, dass seine Bildung auf einen Dehydrierungs- und (nicht-stereospezifischen) Reduktionsprozess am allylischen OH–C(3) zurückzuführen ist. Im Tierreich ist **1** erstmals im Goldfisch (*Carassius auratus*) aufgefunden worden [5]. Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass **1** und weitere Stereoisomere in Tieren weitverbreitet vorkommen [6].



Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die Struktur und Zusammensetzung der Carotinoide in Rosenblüten [7] interessierte uns auch eine Analyse der in Antheren enthaltenen Carotinoide. Wir haben nämlich vor kurzem zeigen können, dass erhebliche qualitative und quantitative Unterschiede unter den Carotinoiden der Petalen und Antheren bestehen [8]. Unsere Wahl fiel zunächst auf die klassische *Rosa gallica* 'officinalis' THORY²⁾. Sie besitzt karminrote Petalen und ein auffälliges Büschel von gelben Antheren. Die Petalen enthalten mit Ausnahme der gelblichen Basis ('Nagel')

¹⁾ 11. Mitt. über Rosenfarbstoffe; 10. Mitt., s. [1].

²⁾ 'Apothekerrose', auch als 'Red Rose of Lancaster' bekannt, nachweislich seit dem 12. oder 13. Jahrhundert in Frankreich in Kultur. Sie ist eine Kulturform oder Hybride der für die Entstehung der älteren europäischen Gartenrosen so wichtigen *R. gallica*. Nähere Kennzeichnung der von uns verwendeten Rosenblüten, s. *Exper. Teil*.

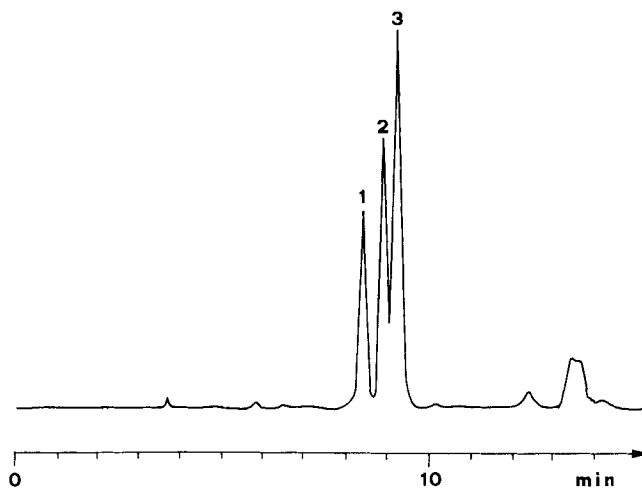


Fig. 1. HPLC der Dihydroxycarotinoide aus Antheren von *R. gallica* 'officinalis'. 1 = Lutein, 2 = 3'-Epilutein, 3 = Zeaxanthin.

Tab. 1. Carotinoide in Antheren von *R. gallica* 'officinalis'

Phytoin	4,5%	3'-Epilutein	3,8%
Phytofluin	1,5%	Zeaxanthin	4,5%
ζ-Carotin	< 0,1%	zwei (8 <i>R</i> , <i>S</i>)-Mutatoxanthine	1,5%
β,ψ-Carotin	< 0,1%	drei (8 <i>R</i> , <i>S</i> ,8' <i>R</i> , <i>S</i>)-Auroxanthine	3,2%
β,β-Carotin	60%	(9 <i>Z</i>)-Antheraxanthin	0,5%
α-Kryptoxanthin	14%	zwei (8' <i>R</i> , <i>S</i> ,9 <i>Z</i>)-Luteoxanthine	1%
Rubixanthin	1%	Rosafluin	< 0,1%
Lutein	2,4%	zwei (8' <i>R</i> , <i>S</i>)-Neochrome	1,7%

keine Carotinoide. Ihr Farbstoff ist praktisch reines Cyanin. Die Antheren hingegen sind mit einem Gehalt von 0,09% bezogen auf ihr Frischgewicht sehr reich an Carotinoiden³⁾. Die genaue Analyse (s. Tab. 1) zeigt, dass die Kohlenwasserstoffe mit sehr viel β,β-Carotin überwiegen. Unter den Monohydroxycarotinoiden ist das relativ seltene α-Kryptoxanthin (4) mit 14% Anteil am Gesamtgehalt bemerkenswert. Die Dihydroxycarotinoide (insgesamt 10,7%) erweisen sich im HPLC als Gemisch von Lutein, 3'-Epilutein und Zeaxanthin; s. Fig. 1. Der Gehalt der Antheren an Epoxiden ist mit 7,9% unerwartet gering⁴⁾.

Unter den Kohlenwasserstoffen lässt sich Rosafluin [10] eindeutig, wenn auch nur in Spuren, nachweisen. Die Identifizierung des 3'-Epiluteins erfolgt durch HPLC und Co-chromatographie mit einem authentischen Präparat [5] sowie durch das CD-Spektrum. Dabei weisen 1 und 4 nahezu deckungsgleiche CD-Kurven auf (Fig. 2), während Lutein (3) im kurzwelligen Bereich davon deutlich abweicht. Das betrifft vor allem auch das

³⁾ Bisher gefundener höchster Gehalt an Carotinoiden in Petalen gelber Rosen ist 0,15% bezüglich Trockengewicht.

⁴⁾ So enthalten beispielsweise die Petalen der *R. foetida* insgesamt 87% Epoxycarotinoide [9].

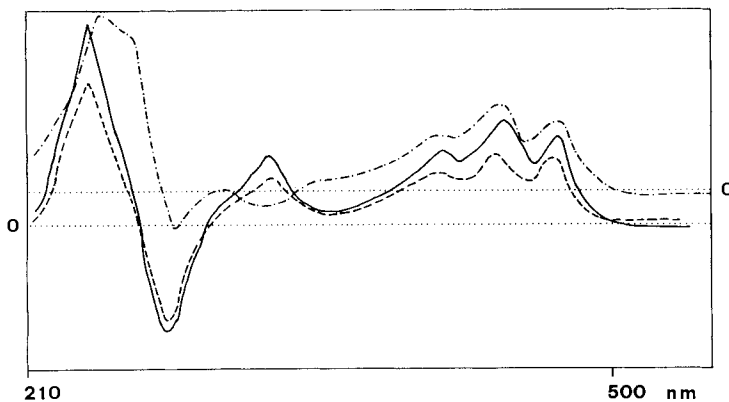


Fig. 2. CD (qual., RT., Et₂O/Isopentanol/EtOH 5:5:2 (EPA)) von 3'-Epilutein (**1**; —, Null-Linie links) und α -Kryptoxanthin (**4**; ----, Null-Linie links) sowie von Lutein (**3**; - · - · -, Null-Linie rechts)

Vorzeichen der Bande bei 330 nm⁵). Die insgesamt deutlichen Unterschiede bedürfen eines kurzen Kommentars. Nach unserer Auffassung bringen sie den Einfluss der unterschiedlichen Konformationsgleichgewichte der ϵ -Endgruppen in **1** und **3** deutlich zum Ausdruck; denn in der *trans*-3,6-disubstituierten ϵ -Endgruppe von **3** liegt bevorzugt ein Halbsessel mit *P*-Helix und ψ -äquatorialem OH-C(3) und ψ -äquatorialer Polyen-Seitenkette, im *cis*-3,6-disubstituierten Fall von **1** jedoch ein Halbsessel mit *P*-Helix und ψ -äquatorialem OH-C(3) und ψ -axialer Seitenkette vor [11–13]. Dies hat zur Folge, dass bei 3'-Epilutein eine wesentlich stärkere Überlappung der π -Orbitale von der Doppelbindung im Ring mit denjenigen der Polyen-Seitenkette eintritt; vgl. [14–17]. Überraschend ist, dass sich diese Interaktion vor allem im UV-Bereich auswirkt.

Im Zusammenhang mit der vorliegenden Untersuchung der Carotinoide von *R. gallica* 'officinalis' haben wir auch die Antheren einiger weiterer Blütenpflanzen auf das Vorkommen von **1** überprüft. Die Ergebnisse (s. Tab. 2) zeigen, dass die Wahrscheinlichkeit, weitere Vorkommen von 3'-Epilutein zu entdecken, ziemlich gross ist und dass ausser Rosen auch andere Blütenpflanzen fähig sind, den eingangs erwähnten Redox-Vorgang auszuüben.

Es ist hier noch auf eine frühere, von englischen Autoren ausgeführte Analyse der Carotinoide aus Antheren von *R. canina* und der Gartenhybriden 'Allgold', 'Tradition' und 'Goldkrone' hinzuweisen [18], die aber im Gegensatz zu unserer Untersuchung weder die Anwesenheit von 3'-Epilutein noch von Lutein ergeben hat. Auch in anderer Hinsicht stimmen unsere Resultate weder in qualitativer noch in quantitativer Hinsicht mit den Ergebnissen von [18] überein.

Da die früheren Untersuchungen an *C. palustris* [1–3] ohne Differenzierung zwischen Petalen einerseits und Antheren andererseits ausgeführt worden sind, haben wir dies an frischen Blüten nachgeholt und dabei zu unserer Überraschung festgestellt, dass sowohl 3',O-Didehydrolutein (**2**) als auch 3'-Epilutein (**1**) in beiden Organen vorkommen und

⁵) In der früher veröffentlichten CD-Kurve von **3** [5] ist die Bande um 330 nm sehr schwach positiv. Die Abweichung von Fig. 2 ist vermutlich auf Mess-ungenauigkeiten zurückzuführen.

Tab. 2. Vorkommen von 1 und weiteren Carotinoiden in Antheren

	Frischgewicht der Antheren [g]	Carotinoid- Fraktion [mg]	1/3/Zeaxanthin	Hauptcarotinoid
<i>R. gallica</i> 'officinalis'	3,5	3	8:5:10	β , β -Carotin
<i>E. spinosissima</i> 'pimpinellifolia' ^{a)}	1,5	0,5	1:1:1	Dihydroxycarotinoide
<i>R. sweginzowii</i> 'macrocarpa' ^{b)}	1,2	0,3	0:1:2	β , β -Carotin
<i>R. canina</i>	3,1	0,03	0:0:(+)	β , β -Carotin
<i>R. x odorata pseudindica</i> (Lindley) REHDER (= 'Fortunes Double Yellow' ^{c)})	1,1	0,6	1:3:10	Rubixanthin
'Lawrence Johnston' (Pernet-Ducher 1923) ^{d)}	1,8	1	0:1:10	Zeaxanthin
'Elina' (Peaudouce, P. Dickson 1985) ^{e)}	4	2,8	0:1:6	Rubixanthin
<i>Paeonia officinalis</i>	4	3,5	1:3:5	Zeaxanthin
<i>Ranunculus acer</i>	qual.	qual.	0:5:1	Lutein
<i>Eranthis hiemalis</i>	qual.	qual.	0:1:1	(all- <i>E</i>)-Neoxanthin
<i>Lilium tigrinum</i> cv. ^{f)}	7	15	0:1:10	(9 <i>E</i>)-Antheraxanthin
<i>C. palustris</i> , Antheren	20,8	9,3	5:3:(+)	3'-Eplutein
<i>C. palustris</i> , Petalen	34	37,5	5:3:(+)	3'-Eplutein

^{a)} Weissblühende Kulturform.

^{b)} Rosa blühende Kulturform der aus NW-China stammenden Spezies.

^{c)} Ursprünglich aus China stammende Gartenhybride, 1845 in Europa eingeführt.

^{d)} Gartenhybride der *R. foetida persiana*.

^{e)} Moderne Gartenhybride.

^{f)} Vgl. unsere frühere Analyse in [8].

dass sich die Verhältnisse kaum unterscheiden. Epilutein liegt in beiden Organen vor allem als Ester vor. Das Verhältnis 3/1 betrug vor der Verseifung 5:2 und nach der Verseifung 3:5.

Wir danken dem *Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung* für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines*. S. [1] [8] [19]. HPLC-Laufmittel A/B = 9:2, Fluss 1,5 ml/min.

2. *R. gallica* 'officinalis'. Farbcharakteristik im CIELAB-Farbraum, Petaleninnenseite: L* 42–46, a* 62–59, b* –4 bis –5; Petalenaussenseite L* 55–61, a* 48–39, b* –7 bis –8. Anthocyane nach Extraktion mit MeOH/HCl und HPLC analog [1]: praktisch reines Cyanin (= Cy-3,5-di-O-Glc) + Spuren von Cy-3-O-Glc und Cy-5-O-Glc; Copigmente: Rutin, Quercitrin, Isoquercitrin und möglicherweise Spiräosid.

3. *Extraktion*. Frische Petalen wurden mit Aceton/MeOH 4:1 bei RT. extrahiert und der erhaltene Extrakt nach Eindampfen mit 10% KOH/MeOH unter N₂ verseift, sofern das DC des Rohextrakts die Anwesenheit von Estern erkennen liess. Der nach üblicher Aufarbeitung erhaltene Carotinoid-Rohextrakt wurde zunächst an Kieselgelplatten Merck 0,25 oder 0,5 mm Schichtdicke mit Hexan/Aceton/MeOH 30:20:1 getrennt. Die erhaltenen Hauptzonen wurden sodann im HPLC weiter getrennt und identifiziert.

3'-Epilutein (1): UV/VIS (im HPLC-Lsgm.): 420, 444, 472. CD (qual., EPA, RT.): 215 (0), 240 (+), 266 (0), 280 (–), 302 (0), 329 (+), 364 (0), 416 (+), 445 (+), 472 (+); s. Fig. 2.

α-Kryptoxanthin (4): UV/VIS (HPLC-Lsgm.): 420, 444, 472. CD (qual., EPA, RT.): 215 (0), 240 (+), 266 (0), 280 (–), 302 (0), 330 (+), 415 (+), 443 (+), 471 (+).

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] K. Nayeshiro, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1989**, 72, 985.
- [2] A. G. Dabbagh, K. Egger, *Z. Pflanzenphysiol.* **1974**, 72, 177.
- [3] A. G. Dabbagh, 'Zur Struktur einiger Xanthophylle aus Blütenpflanzen und Grünalgen', Dissertation, Universität Heidelberg, 1970.
- [4] R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1979**, 62, 2817.
- [5] R. Buchecker, C. H. Eugster, A. Weber, *Helv. Chim. Acta* **1978**, 61, 1962.
- [6] T. Matsuno, T. Maoka, M. Katsuyama, T. Hirono, Y. Ikuno, M. Shimizu, T. Komori, *Comp. Biochem. Physiol. B* **1986**, 85, 77.
- [7] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1491.
- [8] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1985**, 68, 1708.
- [9] E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1984**, 67, 2143.
- [10] E. Märki-Fischer, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1491.
- [11] R. Buchecker, P. Hamm, C. H. Eugster, *Chimia* **1971**, 25, 192.
- [12] R. Buchecker, P. Hamm, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1974**, 57, 631.
- [13] C. H. Eugster, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Eds. G. Britton und T. W. Goodwin, Pergamon Press, Oxford, 1982.
- [14] H. Labhart, G. Wagnière, *Helv. Chim. Acta* **1959**, 42, 2219.
- [15] A. Moscowitz, K. Mislow, M. A. W. Glass, C. Djerassi, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 1945.
- [16] G. Ohloff, E. Otto, V. Rautenstrauch, G. Snatzke, *Helv. Chim. Acta* **1973**, 56, 1874.
- [17] R. Buschor, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1990**, 73, 1002.
- [18] L. R. G. Valadon, R. S. Mummery, *Ann. Bot.* **1969**, 33, 671.
- [19] P. Uebelhart, C. H. Eugster, *Helv. Chim. Acta* **1988**, 71, 1983.