

Kurze Mitteilung

Nichtflüchtige Inhaltsstoffe von *Artemisia afra*

Elisabeth Silbernagel [1], Helmut Spreitzer und Gerhard Buchbauer*

Institut für Pharmazeutische Chemie, Universität Wien, A-1090 Wien, Österreich

Non-Volatile Constituents of *Artemisia afra* (Short Commun.)

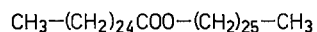
Summary. From the pentane extract of the dried leaves of *Artemisia afra* JACQ, an Asteraceae native in Southern Africa, the following non volatile constituents have been isolated: Cerylycerotinate, a wax ester, the hydrocarbon nonacosane and the triterpenes friedelin, α - and β -amyrin. The relative high content of cerylycerotinate in this plant (0.25%) is noteworthy.

Keywords. α -Amyrin; β -Amyrin; Cerylycerotinate; Friedelin; Nonacosane; Triterpenes; Wax ester.

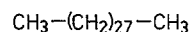
Vor einigen Jahren erschien auf dem internationalen Markt für etherische Öle ein markant camphrig riechendes, bitter-scharf schmeckendes und auffällig blaugrün gefärbtes, als "Lanyana" bezeichnetes etherisches Öl, dem ein großer Stellenwert auf dem Riechstoffsektor zuerkannt wurde [2, 3]. Damit verbunden erwachte auch allgemein ein größeres Interesse an der Stammpflanze *Artemisia afra* JACQ, dem südafrikanischen Wermut [4]. Es erschien nun naheliegend, etwas mehr Kenntnis auch über die nichtflüchtigen Inhaltsstoffe dieser im südlichen Afrika von der einheimischen Bevölkerung in vielfacher Hinsicht als Heilpflanze [siehe Lit. 4] verwendeten Asteraceae zu erlangen. Die getrocknete und zerkleinerte Blattdroge von *Artemisia afra* JACQ wurde mit verschiedenen Lösungsmitteln gemäß einer eluotropen Reihe (wobei wir uns in dieser Mitteilung allerdings nur auf *n*-Pentan beschränken) durch Mazeration extrahiert. Im Verlauf der Arbeiten hat es sich jedoch als günstiger erwiesen, vor der Lösungsmittlextraktion mit Wasserdampf zu destillieren und so die flüchtigen Stoffe (= das etherische Öl) vorher abzutrennen.

Aus dem Pentanextrakt konnte zunächst eine weiße, kristalline Substanz abgetrennt werden, die, mehrmals aus Ether umkristallisiert, sich in Form von weißen Nadeln oder wachsartig glänzenden Plättchen mit scharfem Schmelzpunkt präsentierte. Durch Felddesorptionsmassenspektrometrie, sowie durch ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie gelang es, diese Substanz als Cerylycerotinat (1), einen Wachsester, dessen Vorkommen in dieser Pflanze zwar schon 1922 von Goodson [5] vermutet wurde, aber bislang noch nicht nachgewiesen werden konnte, zu identifizieren. Guantai et al. [6] dagegen isolierten jüngst ein Gemisch von drei langkettigen Fettsäureestern mit den Molmassen 649, 676 und 704, nicht aber den

Wachsester Cerylcerotinat ($C_{25}H_{51}COOC_{26}H_{53}$ mit der Molmasse 760). Ebenfalls aus diesem Pentanextrakt wurde der Kohlenwasserstoff *n*-Nonacosan (**2**) gewonnen und durch seinen Schmelzpunkt und spektroskopische Daten charakterisiert. Die Isolierung von reinem **2** gelang zunächst durch Ausfrieren einer etherischen Lösung der ersten Fraktion des nach Abtrennung von **1** über eine Säule chromatographierten und in 17 Fraktionen aufgetrennten Pentanextraktes und dann durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Ethylacetat. *n*-Nonacosan (**2**) ist ein weit verbreiteter, gesättigter aliphatischer Kohlenwasserstoff und kommt nicht nur in Artemisiaarten sondern auch in zahlreichen anderen Pflanzen z. B. als wachsartiger Überzug von Blättern und Früchten vor [7, 8].



1



2

Durch mehrmaliges Einengen der 7. Fraktion des Pentanextraktes konnte eine geringe Menge an farblosen Nadeln angereichert werden, die schließlich mittels präparativer DC nach dreifacher Entwicklung mit Ligroin: Ethylacetat (14:1) als Fließmittel 3.5 mg eines reinen Produktes ergaben, das durch seine analytischen und spektroskopischen Daten als Friedelin, ein in verschiedenen Pflanzenfamilien weit verbreitetes Triterpen [7, 9], identifiziert wurde.

Besondere Trennschwierigkeiten bereitete die 10. Fraktion des oben beschriebenen Pentanextraktes. Aus Aceton wurden zunächst weiße Kristalle erhalten, die innerhalb eines sehr großen Schmelzbereiches schmolzen. Kombination verschiedener Chromatographie-Verfahren (SC, DC, Flash-Chromatographie und HPLC) und Sublimation im Hochvakuum bei 170 °C/0.3 Torr lieferten schließlich, feine weiße Nadeln mit einem konstanten Schmp. von 183 °C. Spektroskopische Analysen – vor allem ein hochauflösendes MS (Molekülionenpeak: $m/z = 426.386$) und 1H - und ^{13}C -NMR-Spektren (60 Signale!) – in Kombination mit einer computerunterstützten MS-Spektrensuche ließen den Verdacht auf das Vorliegen einer Mischung von α - und β -Amyrin entstehen. Ein Kapillar-GC auf einer DB-5 Säule [10, 11] mit einem speziellen Temperaturprogramm bestätigte schließlich diese Vermutung: Es liegen beide Amyrine im Verhältnis von etwa 76%:24% = α -Amyrin: β -Amyrin vor.

Alle anderen Fraktionen des Pentanextraktes wurden wegen zu geringer Substanzmengen und/oder zu großer Komplexizität der Mischung nicht weiter bearbeitet. Bemerkenswert ist allerdings die relativ große Menge an Cerylcerotinat (**1**) (0.25% bezogen auf das Trockengewicht). Dies läßt *Artemisia afra* für die Gewinnung des möglicherweise pharmazeutisch und kosmetisch interessanten Wachsesters **1** bedeutsam erscheinen, nicht zuletzt, da die weiter oben erwähnte Mischung der drei langkettigen Fettsäureester [6] den Blutzuckerspiegel deutlich (–27% nach 24 h) zu senken vermochte.

Dank

Herrn Prof. Dr. E. H. Graven, Universität Fort Hare, Alice, Republic of Ciskei (South Africa), Leiter des "Centoil"-Projektes, verdanken wir das Pflanzenmaterial und anregende Diskussionen. Den Herren Doz. Dr. W. Robien und Dr. W. Silhan sowie Doz. Dr. A. Nikiforov (alle Institut für Organische Chemie der Universität Wien) danken wir für die Aufnahmen der NMR- sowie der MS-

Spektren, Herrn Mag. Dr. W. Jäger danken wir für die HPLC-Trennungen und den Herren Mag. Dr. R. Kupferschmid (Chemisches Labor der Psychiatrischen Universitätsklinik, Wien) und G. Zinsberger für die GC-Analysen. Die Mikroanalysen wurden am Institut für Physikalische Chemie der Universität Wien im Laboratorium von Herrn Dr. J. Zak durchgeführt. Der Firma Dragoco (Holzminden, BRD) und ihrer Tochterfirma in Wien danken wir für ihr Interesse an dieser Untersuchung.

Experimenteller Teil

Allgemeines und Geräte: siehe [12]. SC: Kieselgel 60, Merck-Artikel-Nr. 7734; Flash-Chromatographie: Kieselgel 60, Merck-Artikel-Nr. 9385. Präp. DC: Kieselgel 60, Merck-Artikel-Nr. 5715 und 13793. GC-Trennung der Amyrine: Gaschromatograph 5710 GC/HP, DB-5 Säule 20 m, 0.25 mm i.D., 1 µm Schichtdicke. SC des Pentanextraktes: Stufensäule: $l = 67$ cm, i.D. = 4 cm; Fließmittel: zunächst CH_2Cl_2 , dann CHCl_3 : $\text{MeOH} = 1:1$, Flußrate: 10 gtt/30 s.

Hexacosansäurehexacosylester (Cerylcerotinat) (1)

$\text{C}_{52}\text{H}_{104}\text{O}_2$ (761.35). Ber.: C 82.03, H 13.77; gef.: C 82.10, H 13.77. Schmp. 77 °C. IR (KBr): 1735 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.88$ (t, 6H, $^3J = 6$ Hz, CH_3), 2.29 (t, 2H, $^3J = 8$ Hz, CH_2-CO), 4.05 (t, 2H, $^3J = 7$ Hz, CH_2-O). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62 MHz): 173.9 (CO-O), 64.4 (CH_2-O), 34.5 (CH_2-CO), 14.1 (CH_3). MS (m/z ; r.I.): 761 (M^+ , 0.12); 396 (2); 382 (1); 381 (3); 351 (1); 337 (2); 323 (1); 309 (2); 295 (1); 281 (0.2); 267 (0.2); 253 (0.2); 239 (0.4); 225 (0.2); 211 (0.5); 197 (1); 183 (1); 169 (2); 155 (2); 141 (3); 127 (4); 113 (6); 99 (9); 85 (31); 71 (49); 57 (97); 43 (100).

Nonacosan (2)

$\text{C}_{29}\text{H}_{60}$ (408.77). Ber.: C 85.72, H 14.27; gef.: C 84.99, H 13.92. Schmp. 63 °C. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3): $\delta = 0.88$ (t, 6H, CH_3). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62 MHz): 14.1 (CH_3), 22.7 ($\alpha\text{-CH}_2$), 31.9 ($\beta\text{-CH}_2$), 29.4 ($\gamma\text{-CH}_2$). MS (m/z ; r.I.): 409 ($M^+ + 1$, 2); 408 (M^+ , 6.4); 380 (0.4); 365 (0.4); 351 (1); 337 (1); 323 (1); 309 (1); 295 (1); 281 (1); 267 (1); 253 (2); 239 (2); 225 (2); 211 (3); 197 (3); 183 (4); 169 (4); 155 (5); 141 (7); 127 (10); 113 (13); 99 (21); 85 (52); 71 (69); 57 (100); 43 (63).

Friedelin (Friedo-olean-3-on) (3)

$\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{O}$ (426.70). $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3 , 62 MHz): $\delta = 6.8, 14.7, 17.9, 18.3, 18.7, 20.3, 22.3, 30.1, 30.6, 31.8, 32.1, 32.5, 32.9, 35.0, 35.4, 35.7, 36.2, 38.4, 39.3, 41.4, 41.6, 53.2, 58.3, 59.6$.

Literatur

- [1] Silbernagel E. (1988) Dissertation, Univ. Wien
- [2] Murset J. C., Nicollier G., Tabacchi R. (1981) *Perf. & Flavorist* **6**: 46
- [3] Koenen E. (1978) *Heil- und Giftpflanzen in Südwestafrika*, 1. Aufl., S. 54, Akademie-Verlag, Stuttgart Windhoek
- [4] Buchbauer G., Silbernagel E. (1989) *Dtsch. Apoth.-Ztg.* **129**: 2173 und weitere dortselbst zitierte Literatur
- [5] Goodson J. A. (1922) *Biochem. J.* **16**: 429
- [6] Guantai A. N., Addae-Mensah I., Muriuki G. (1989) *Planta Med.* **55**: 94
- [7] Karrer W. (1958) *Konstitution und Vorkommen der Organischen Pflanzenstoffe*. Birkhäuser; Karrer W., Cherbuliez E., Eugster C. H. (1977) *Konstitution und Vorkommen der Organischen Pflanzenstoffe, Ergänzungsband I*. Birkhäuser, Basel Stuttgart
- [8] Bachelor F. W., Paralikar A. B., Telang S. A. (1972) *Phytochemistry* **11**: 442

- [9] Weizman A., Mazur Y. (1958) *J. Org. Chem.* **23**: 832
[10] Zweig G., Sherma J., Coscia C. J. (1984) *Handbook of Chromatography, Terpenoids, Vol. I.* CRC Press
[11] Baas W. J. (1978) *J. Chromatogr.* **153**: 263
[12] Spreitzer H., Buchbauer G. (1984) *Helv. Chim. Acta* **67**: 1112

Eingegangen 12. Oktober 1989. Angenommen 30. Januar 1990