

Über die Komponenten des ätherischen Öls aus *Artemisia absinthium* L.

On the Essential Oil Components from *Artemisia absinthium* L.

Otto Vostrowsky, Thorolf Brosche

Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg, Henkestr. 42,
D-8520 Erlangen

und

Helmut Ihm, Robert Zintl und Karl Knobloch

Institut für Botanik und Pharmazeutische Biologie und Aromagarten mit Adalbert-Raps-Garten
der Universität Erlangen-Nürnberg, Schloßgarten 4, D-8520 Erlangen

Z. Naturforsch. **36 c**, 369–377 (1981); eingegangen am 16. Februar 1981

Essential Oil, *Artemisia absinthium* L., Terpenes, CNMR Data, GC-MS Data

By use of ^{13}C NMR, GC and GC-MS analysis, 60 compounds, mainly mono- and sesquiterpenes, were identified structurally from the essential oil of *Artemisia absinthium* L. The specific application of ^{13}C NMR spectroscopy enabled the structure elucidation of the components. Actually for the first time trans-sabinylacetate could be identified in the essential oil from *Artemisia absinthium*; it even represents a main component of the oil.

Einleitung

Wermut, *Artemisia absinthium* L., aus der Familie der Korbblütler, Asteraceae oder Compositae, ist ein 40 bis 80 cm (selten bis 120 cm) hoher Halbstrauch mit stark verästelt, graufilzigem Stiel. Die Blätter sind fiederspaltig und beidseitig graufilzig behaart. Von Juli bis September zeigt der Wermut seine gelben Blütenköbchen, die in Rispen zusammenstehen. Der behaarte Köbchenboden unterscheidet den Wermut von den meisten anderen Artemisiaarten.

Die ganze Pflanze enthält ätherische Öle und Bitterstoffe, welche sie weitgehend vor Schädlingen schützen. Aufgrund der Inhaltsstoffe wird Wermut seit dem Altertum als Kulturpflanze angebaut. Wermut ist daher weit über sein natürliches Areal, die Trockengebiete des gemäßigten Eurasiens, verbreitet. Er gedeiht auf dem gesamten europäischen Festland und wurde nach Irland, Neuseeland und Amerika eingeschleppt [1, 2].

Die Ausbreitungsgeschichte der Pflanze ist wegen der frühzeitigen Kultivierung unbekannt doch wird angenommen, daß sie bereits in der Bronzezeit nach Mittel- und Westeuropa gelangt ist. Hier bevorzugt der Wermut mäßig trockene, lockere, nährstoffreiche Böden, die leicht sauer wie auch basisch sein

können. Er findet sich in Gebüsch, auf beweideten Felshängen und insbesondere an Ruderalstandorten warmer Lagen. Für den Verband des Onopordion ist *Artemisia absinthium* deshalb Charakterart [3, 4].

Zur Gewinnung des ätherischen Öls wird die Pflanze an natürlichen Standorten gesammelt (Mittel- und Osteuropa) oder feldmäßig angebaut (Westeuropa und USA).

Das ätherische Öl aus *Artemisia absinthium* ist in Abhängigkeit von den Destillationsbedingungen von blauer, grüner oder brauner Farbe. Es hat den Geruch der frischen Pflanze und ist von bitterem, kratzendem Geschmack. Neben dem ätherischen Öl werden aus Wermutkraut die Bitterstoffe Absinthin und das hiermit isomere Anabsinthin [5] isoliert. Beide gehören zu den Sesquiterpenlactonen und besitzen eine dimere Guajanolidstruktur. Bei neueren Untersuchungen fand man ein weiteres Diguajanolid, das Anabsin [6]. Der monomere Bitterstoff Artabsin [7], ein Proazulen, ist nur in der frischen Pflanze nachweisbar und geht bei der Destillation in Chamazulen über, das für die intensive Färbung des ätherischen Öls verantwortlich ist. Auch das Absinthin ist ein Azulenbildner und geht bei alkalischer Hydrolyse, Luftzutritt oder Erhitzen in Chamazulen über [5]. Je nach pH-Wert erhält man unterschiedlich gefärbte Destillate, wobei die aus neutralem bzw. schwach saurem Medium destillierten Öle Proazulene enthalten [8].

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. K. Knobloch oder Dr. O. Vostrowsky.

0341-0382/81/0500-0369 \$ 01.00/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

Wermut wird heute noch zur Herstellung von Wermutweinen und Kräuterlikören verwendet. Übermäßiger Genuß von „Absinth“, d. h. von alkoholischen Wermutzubereitungen, kann zu Nerven- und Sehstörungen führen. Das ätherische Öl gilt somit als toxisch. In vielen Ländern ist deshalb die Herstellung oder Einfuhr von Absinth verboten; bei der Herstellung alkoholischer Getränke darf Wermutöl in manchen Ländern nicht mehr verwendet werden [9].

Material und Methoden

Biologisches Material

Ätherisches Öl wurde von der Fa. Caesar & Loretz, D-4010 Hilden, unter der Produktnummer G 404 und der Chargennummer 65951208 bezogen. Dazu wird vom Hersteller, Jules Chiquet, CH-4002 Basel, mitgeteilt, daß die Pflanzen in Ungarn kultiviert wurden. Aus den getrockneten Blättern der blühenden Pflanzen wurde im August/September 1978 mittels Wasserdampfdestillation das ätherische Öl gewonnen.

Frisches Pflanzenmaterial, etwa 80 cm lange, blühende Triebe, wurde in den Monaten August und September 1980 im Aromagarten der Universität Erlangen geerntet; die Blütenstände wurden von den Blättern getrennt und Blütenstände wie Blätter in frischem wie getrocknetem Zustand einer Wasserdampfdestillation unterworfen.

Gehaltsbestimmung

Zur Extraktion und Gehaltsbestimmung des ätherischen Öls diente ein Destillationskolben mit Destillationsaufsatz nach DAB 7 [10]. Die getrockneten und vom Stengel abgetrennten Blätter bzw. die Blütenstände wurden jeweils mit 300 ml Wasser versetzt und 2 Stunden lang mit Wasserdampf destilliert, wobei das ätherische Öl in einer graduierten Kapillare durch 0,20 ml Xylol aufgefangen wurde.

Gaschromatographische Analyse

Die gaschromatographische Identifizierung der verschiedenen Komponenten des ätherischen Öls von *A. absinthium* erfolgte durch Kochchromatographie mit authentischen Verbindungen auf Glasdünnfilmkapillaren (Carbowax HP, 25 m × 0,25 mm ID, und SE 30, 17 m × 0,25 mm ID). Verwendet wurde der Gaschromatograph Perkin-Elmer Sigma 1

mit Flammenionisationsdetektor, Stickstoff als Trägergas. Probenaufgabe mit Split, Injektor 200 °, Detektor 220 °, 1,5 ml N₂/min, Temp. progr.: 10 min 80 °, 80–240 °, 2 °/min, 240 ° hold.

Kopplung Gaschromatographie-Massenspektroskopie (GC-MS-Kopplung)

Die Analysen mittels GC-MS Kombination erfolgten durch Vergleich der Retentionszeiten und der Spektren mit denen authentischer Proben, durch Vergleich mit Spektren aus der Literatur bzw. aus früheren Arbeiten [11]. Zur Aufnahme diente das Quadrupol-Spektrometer Finnigan 3200E mit Datensystem 6000. Als Trennsäule wurde eine 30 m Glas-WCOT-Kapillare SE 30 (0,25 mm ID) verwendet, 1,1 atm Helium, Probenaufgabe mit Split und splitlos, 70 eV, 2–3 sec/scan.

Mikropräparative Gaschromatographie

Während einer gaschromatographischen Trennung (20% Apiezon L, Stahl 2 m × 1/4") wurden die eluierten Fraktionen nach dem Austritt aus einer Wärmeleitfähigkeitszelle (Fraktometer HP 5750) in auf –78 °C abgekühlten Glaskapillaren kondensiert [12]. Die Kondensate wurden anschließend in geeigneten Lösungsmitteln aufgenommen und für GC-, IR- und NMR-Analysen und chemische Umsetzungen verwendet.

Kernresonanzspektroskopie

Zur Aufnahme der Kernresonanzspektren diente das Spektrometer JEOL PS-100. Von den kondensierten Hauptkomponenten des Öls wurden ¹H-Spektren (100 MHz PFT) in CDCl₃ mit TMS als innerem Standard aufgenommen. Für das Gesamt-¹³C-Kernresonanzspektrum des ätherischen Öls wurde das Wasserdampfdestillat mit C₆D₆ extrahiert und diese Lösung verwendet (TMS-Standard). Dabei handelte es sich um ca. 15000 Akkumulationen breitbandentkoppelter PFT-Spektren mit 2 sec Repetitionszeit und 30 ° Puls, Gesamtspektrenbreite 6250 Hz, Auflösung 0,76 Hz. Die Zuordnung der Banden erfolgte durch separate Aufnahme einzelner authentischer Verbindungen oder durch Vergleich mit Literaturspektren [13–15].

Vergleichssubstanzen

Eine Vielzahl der für Vergleichszwecke benötigten Proben wurde uns von Herrn Dr. R. Hopp, Haar-

mann & Reimer GmbH, Holzminden, Herrn D. de Rijke, Naarden International Holland B. V., Naarden-Bussum, sowie von Herrn E. Ziegler, Aromachemie, Aufseß, zur Verfügung gestellt.

Die Synthese der Acetate erfolgte durch Acetylierung der entsprechenden Alkohole mittels Acetanhydrid/Pyridin, die Hydrolyse der im Ölgemisch vorliegenden Esterkomponenten gelang mittels ethanologischer Natriummethyllat-Lösung. Zur Identifizierung der Terpenketone wurde das ätherische Öl mittels einer ethanologischen Lösung von Girard-T-Reagens behandelt und die entstandenen Hydrazone abgetrennt [16]. Die saure Verseifung lieferte anschließend eine Fraktion, die nur die Carbonylkomponenten enthielt. Die Darstellung von (1 S:4 S)-Thujan-3-on gelang durch Isomerisierung des (1 S:4 R)-Thujan-3-on mittels Natriummethylat in Ethanol [17]. Die LiAlH_4 -Reduktion der beiden im Verhältnis 2:1 entstehenden Thujanone ergab ein Gemisch der isomeren Alkohole, Isothujyl-, Neoisothujyl-, Thujyl- und Neothujylalkohol (vgl. Abb. 1). Zur Darstellung von *trans*-Sabinylacetat wurde *cis*-Sabinol durch Pyridiniumchlorochromat (PCC) in Methylenchlorid zu dem in der Natur nicht vorkommenden „Sabinon“ oxidiert. Dieses ließ sich mit LiAlH_4 wiederum zu Sabinol reduzieren, das aufgrund der nicht stereoselektiven Reduktion als Gemisch von *cis*- und *trans*-Sabinol vorlag (Abb. 2). Die anschließende Acetylierung führte zu einem Acetatgemisch der beiden Alkohole, wie es für GC- und GC-MS Untersuchungen verwendet wurde.

Ergebnisse und Diskussion

Der Gehalt an ätherischem Öl

Die während der Vegetationsperiode 1980 durchgeführten Gehaltsbestimmungen ergaben, daß der Gehalt an wasserdampf-flüchtigem Öl in den getrockneten Blütenständen Mitte Juni mit 11,4 µl je 1 g Trockengewicht den höchsten Wert aufwies und dann bis Mitte September eine kontinuierliche Abnahme auf 2,7 µl pro 1 g erfolgte. Der Ölgehalt der getrockneten Blätter dagegen schwankte wiederholt zwischen ca. 0,7 µl und 11 µl je 1 g Trockengewicht.

Eine Optimumskurve für den Gehalt an ätherischem Öl, wie sie für *Artemisia absinthium* beschrieben und mit der Blühperiode in zeitliche Übereinstimmung gebracht wurde [18], konnten wir in der vergangenen Vegetationsperiode nicht feststellen.

Die Hauptkomponenten (1 S:4 S)-Thujan-3-on und *trans*-Sabinylacetat

Das von uns untersuchte Wermutöl der Fa. Caesar & Loretz bestand, wie das Gaschromatogramm (Abb. 3) zeigt, vornehmlich aus zwei Hauptkomponenten, deren Anteil am Gesamtgehalt 46,44 bzw. 27,78% betrug (FID-Werte). Die flüchtigere Verbindung **23** (s. Tab. I) besaß das Molekulargewicht (massenspektrometrisch) 152, die chemische Zusammensetzung $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$ und ein Massenspektrum, das sehr gut vergleichbar mit dem von authentischem (1 S:4 R)-Thujan-3-on war. Die auf Kapillarsäulen bestimmte Retentionszeit, die nicht mit der authentischen (1 S:4 R)-Probe übereinstimmte, und die Charakteristik des Spektrums sprach für das Vorliegen von (1 S:4 S)-Thujan-3-on, das bereits in *Artemisia*-Ölen nachgewiesen wurde [19] und das mit der geänderten Ligandenanordnung an C-4 ein diastereomeres Isomeres mit unterschiedlicher Ringgeometrie darstellt (Abb. 1).

Zur Absicherung der Stereochemie des Thujanons wurde das Öl mit Girard-T-Reagens behandelt und damit die Carbonylverbindungen als Hydrazone von dem Gemisch abgetrennt. Die saure Hydrolyse ergab zwei Terpenketone im Verhältnis ca. 1:10 (Verbindungen **21** und **23** im Gesamtöl, Abb. 3), von denen die mit nur 2,76% im Wermutöl vorkommende Verbindung **21** nunmehr mit (1 S:4 R)-Thujan-3-on sowohl identische Retentionszeit besaß als auch das gleiche Massenspektrum ergab. Zur Geometriebestätigung der isomeren Hauptmenge **23** wurde dieses Ketongemisch mit Natriummethylat isomerisiert. Dabei entstand das literaturbekannte 1:2-Gemisch von (1 S:4 R)- und (1 S:4 S)-Thujanon [17]; da die zu einem Drittel vorliegende Verbindung mit Substanz **21** und einer authentischen (1 S:4 R)-Probe übereinstimmte, mußte es sich bei **23** um das isomere (1 S:4 S)-Thujan-3-on handeln. Zu einer weiteren, indirekten Strukturbestimmung von **23** wurden die beiden isomerisierten Ketone gemeinsam mit LiAlH_4 reduziert. Dabei sollte, wie Abb. 1 zeigt, aus **21** Thujylalkohol und Neothujylalkohol, aus **23** hingegen Isothujylalkohol und Neoisothujylalkohol entstehen. Auch hier konnten die beiden ersten Alkohole durch Kochromatographie mit den Reduktionsprodukten von authentischem (1 S:4 R)-Thujanon identifiziert werden; die beiden Isoalkohole besaßen ähnliche Retentionszeiten und identische Massenspektren.

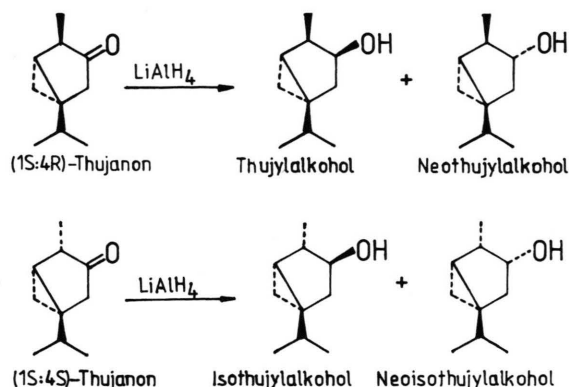


Abb. 1. Reduktion von Thujanon.

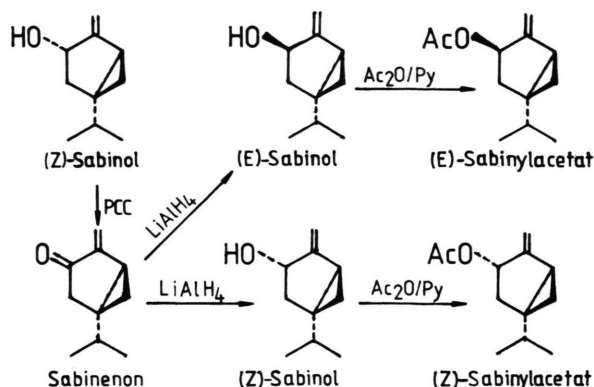


Abb. 2. Darstellung der Sabinylacetate.

Außer dieser GC-MS Beweisführung wurde die Strukturbestätigung für **23** mittels Kernresonanzspektroskopie durchgeführt. So zeigte das 100 MHz- ^1H -Spektrum (PFT) der gaschromatographisch isolierten Hauptkomponente **23** das für diese Dreiringprotonen typische Resonanzsignal bei -0.3 ppm. Bei der Interpretation des ^{13}C -Kernresonanzspektrums, wobei das Wermutöl direkt aufgenommen wurde (Abb. 4), fanden wir in der Literatur Unklarheiten bezüglich eines korrekten Thujanonspektrums. So referieren z. B. Abraham *et al.* [13] das ^{13}C -Spektrum für „Isothujon“ [(1S:4S)-Thujanon] mit der Lage des Carbonylkohlenstoffs bei 180,7 ppm. Dies kann nicht zutreffen, da nur für konjugiert-ungesättigte C=O-Funktionen in cyclischen Monoterpenketonen die Lage dieser Bande zwischen 180 und 203 ppm ist, während sie für nicht-konjugierte wie z. B. **23** immer zwischen 211 und 223 ppm beschrieben wird. Das von Bohlmann *et al.* [14] publizierte ^{13}C -NMR-Spektrum des „Thujons“ läßt die Lage der Carbonyl-C-Bande überhaupt vermissen, stimmt jedoch sonst weitestgehend mit dem von Abraham *et al.* [13] für „Isothujon“ angegebenen Daten überein. Ein von uns aufgenommenes Spektrum von authentischem (1S:4R)-Thujan-3-on zeigte die gleichen übrigen Bandenpositionen, die C=O-Resonanzbande lag jedoch, wie erwartet, bei 218,00 ppm.

Das im Wermutöl als Hauptmenge vorhandene Keton **23** zeigte die entsprechende Absorption bei 215,30 ppm, und unterschied sich deutlich (vgl. Abb. 4) in den übrigen Resonanzlagen. Das Spektrum war jedoch identisch mit einer durch Isomerisierung und mikropäparative Gaschromatographie gewonnenen (1S:4S)-Probe.

Das Massenspektrum der zweiten, mit 27,78% vorliegenden Hauptkomponente **39** enthielt 134^+ als Ion mit der höchsten Massenzahl. Aufgrund der für Verbindungen mit Molgewicht 134 zu langen Retentionszeit (vgl. Abb. 3), des großen Ions 43^+ (CH_3CO^+) und der kleinen Ionen 60^+ und 61^+ (CH_3COOH^+ und $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$) mußte ein Acetat der Zusammensetzung $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{OCOCH}_3$ angenommen werden; Abspaltung von Essigsäure ($\text{M}^+ - 60$) führt zur Entstehung des „quasi-Moleküliions“ mit $m/e = 134$. Das ^1H -Kernresonanzspektrum einer kondensierten Fraktion ergab dann auch das für CH_3COO charakteristische Singulett bei 2,00 ppm und die Signale für die Exomethylenprotonen und das Proton in 3-Position mit 5,10 bzw. 5,45 ppm. Das Protonenbreitbandenkoppelte ^{13}C -Spektrum zeigte eine Resonanzlinie bei 169,40 ppm, wie sie dem Carbonylkohlenstoff von Acetaten entspricht, sowie bei 109,80 und 152,50 ppm die Signale des Exomethylen- und des Olefinkohlenstoffatoms (vgl. Abb. 4).

Zur weiteren Strukturbestimmung des Esters **39** wurde das ätherische Öl hydrolysiert. Dabei verschwand das Signal **39** im Chromatogramm unter Entstehung eines neuen Signals, das das gleiche Retentionsverhalten wie Verbindung **26** in der Alkoholfraktion besaß. Das Massenspektrum dieser Verbindung war identisch mit dem von authentischem *cis*-Sabinol, die Retentionszeit jedoch verschieden. Nun wurde *cis*-Sabinol acetyliert und das Massenspektrum des Acetats mit dem der Ölkomponente **39** verglichen. Da die beiden identisch, die Retentionszeiten jedoch geringfügig verschieden waren, konnte für **39** die Struktur eines isomeren Sabinylacetats

angenommen werden. Mangels Vergleichsmaterial wurde *cis*-Sabinol gemäß Abb. 2 mit Pyridiniumchlorochromat (PCC) zu „Sabinen-3-on“ oxidiert und anschließend mit LiAlH_4 wiederum zu einem Isomerengemisch von *cis*- und *trans*-Sabinol reduziert. Das dabei neu entstandene *trans*-Sabinol war in Bezug auf die Retentionsdaten und das Massenspektrum identisch mit dem Hydrolyseprodukt **26** aus dem Wermutöl. Durch Acetylierung stellten wir daraus ein Gemisch von *cis*- und *trans*-Sabinylnacetat her, von dem die zweite Komponente mit Spektrum und Retentionszeit identisch war mit der zweiten Hauptkomponente **39** des ätherischen Öls.

Mit der Identifizierung dieser zweiten Hauptkomponente **39** steht unsere Analyse des Wermutöls im Gegensatz zu allen früheren Arbeiten, in denen neben Thujanon stets nur Thujylalkohole bzw. deren

Ester als weitere Hauptkomponenten gefunden wurden [19]. Dabei soll sich das Verhältnis Thujon zu Thujylalkohol mit der Vegetationsperiode ändern [20]; Öle aus getrocknetem Wermut besitzen einen höheren Estergehalt (bis 35% Thujylacetat) als solche nicht getrockneter Pflanzen [18]. Selbst in vielen anderen *Artemisia*-Arten wurden erhebliche Mengen freier oder veresterter Thujylalkohole identifiziert [19]. Bei der von uns gefundenen Hauptmenge handelt es sich jedoch eindeutig um *trans*-Sabinylnacetat, das sonst hauptsächlich im Sadebaumöl (aus *Juniperus sabina*) vorkommt [21, 22], und damit erstmals aus *Artemisia* isoliert wurde.

Da Sabinol und Sabinylnacetat als Dehydroprodukte von Thujylalkohol bzw. -acetat angesehen werden können, besitzen sie ein um jeweils zwei Masseneinheiten kleineres Molgewicht als letztere

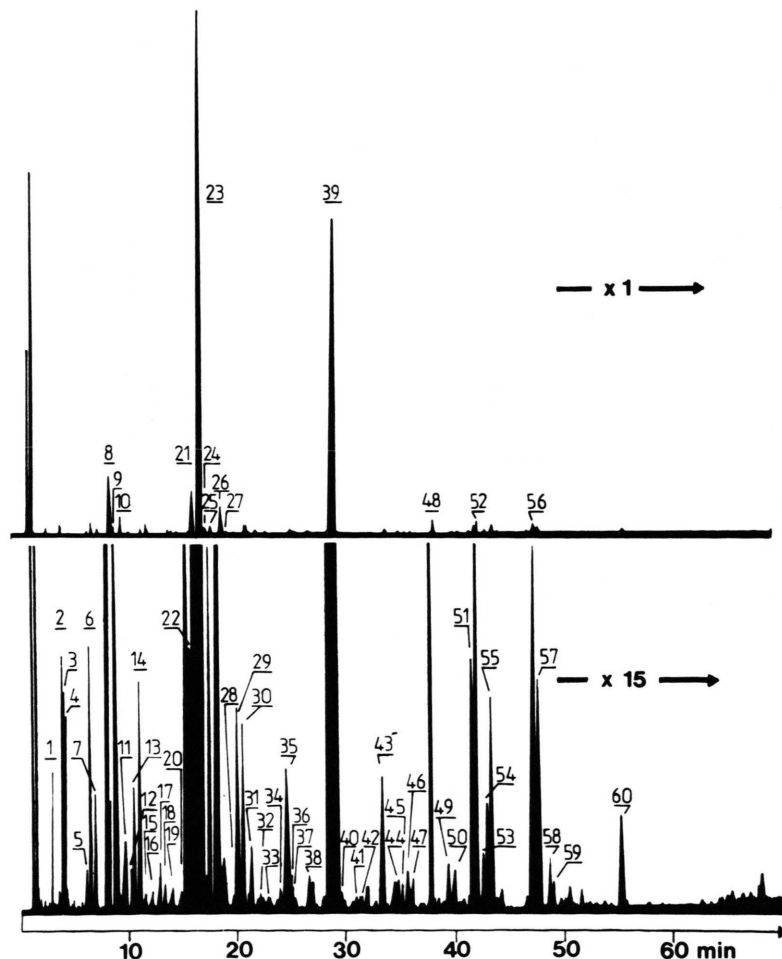


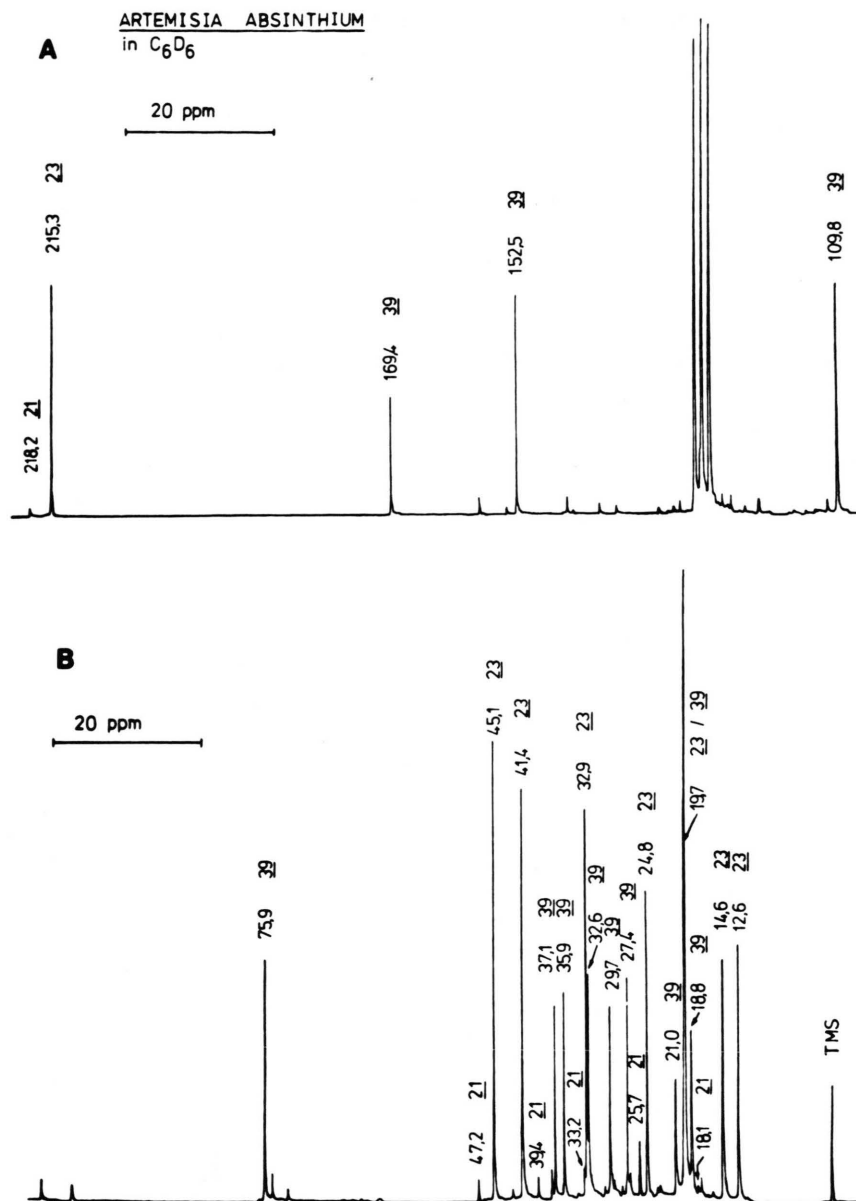
Abb. 3. Gaschromatogramm des ätherischen Öls aus *Artemisia absinthium*. Zuordnungsnummern entsprechen Tab. I, GC-Bedingungen siehe Text.

Tab. I. Identifizierte Inhaltsstoffe des ätherischen Öls aus *Artemisia absinthium*. Signalnummern aus Abb. 3; Angabe der prozentualen Anteile und Nachweismethode.

Sign. No.	Verbindung	Menge [%]	Identifizierung durch
1	1-Octen	0,20	GC-MS ^a
2	<i>cis</i> -3-Hexen-1-ol + C ₉ H ₁₆	0,70	GC-MS ^a
3	Nonanol	0,06	GC-MS ^a
4	Xylol	0,13	GC-MS ^{a,b}
5	α -Thujen	0,05	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
6	α -Pinen	0,43	GC-MS ^{a,b} , GC ^d
7	Camphen	0,20	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
8	Sabinen	2,71	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
9	β -Pinen	0,06	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
10	Myrcen	1,15	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
11	α -Phellandren	0,15	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
12	α -Terpinen	< 0,01	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
13	<i>p</i> -Cymol	0,34	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
14	1,8-Cinneol	0,71	GC-MS ^{a,b} , GC ^c
15	(E)-Ocimen	0,02	GC ^{c,d}
16	C ₁₀ H ₁₆	0,04	GC-MS
17	γ -Terpinen	0,14	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
18	<i>trans</i> -Sabinenhydrat	0,06	GC-MS ^b , GC ^{c,d}
19	C ₁₀ H ₁₈ O	0,08	GC-MS
20	Terpinolen	0,05	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
21	(1S:4R)-Thujan-3-on	2,76	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d} , NMR
22	Linalool	0,07	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
23	(1S:4S)-Thujan-3-on	46,44	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d} , NMR
24	C ₁₀ H ₁₆ O	0,01	GC-MS
25	C ₁₀ H ₁₈ O	0,67	GC-MS
26	<i>trans</i> -Sabinol	3,21	GC-MS ^{a,b} , GC ^c
27	Isothujylalkohol oder Neoisothujylalkohol	0,05	GC-MS ^a , GC ^c
28	Borneol	0,04	GC ^c
29	Lavandulol	0,50	GC-MS ^a , GC ^{c,d}
30	Terpinen-4-ol	0,44	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
31	α -Terpineol	0,16	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
32	<i>trans</i> -Piperitol	0,05	GC-MS ^a , GC ^{c,d}
33	<i>cis</i> -Piperitol	0,05	GC ^{c,d}
34	Pulegon	0,09	GC ^{c,d}
35	Nerolisomeres	0,63	GC-MS ^a
36	Nerol	0,01	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
37	Carvon	< 0,01	GC-MS ^a
38	Geraniol	0,22	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
39	<i>trans</i> -Sabinylacetat + Lavandulylacetat	27,78	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d} , NMR, Hydrolyse
40	<i>cis</i> -Sabinylacetat	0,1	GC ^c , Hydrolyse
41	<i>trans</i> -Piperitolacetat	0,01	GC-MS ^{a,b} , GC ^c , Hydrolyse
42	<i>cis</i> -Piperitolacetat	0,04	GC ^{c,d} , Hydrolyse
43	Nerylacetat	0,06	GC ^{c,d} , Hydrolyse
44	Geranylacetat	0,33	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d} , Hydrolyse
45	α -Copaen	0,18	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d} , Hydrolyse
46	C ₁₅ H ₂₄	0,07	GC-MS ^a
47	C ₁₅ H ₂₄	0,08	GC-MS
48	Caryophyllen	0,06	GC-MS
49	Geranylpropionat	1,43	GC-MS ^{a,b} , GC ^{c,d}
50	Humulen	0,12	GC-MS ^a , Hydrolyse
51	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₃ H ₇	0,11	GC-MS ^a , GC ^{c,d}
52	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₃ H ₇	0,75	GC-MS, Hydrolyse
53	C ₁₅ H ₂₄	1,61	GC-MS ^a , Hydrolyse
54	C ₁₅ H ₂₄	0,17	GC-MS
55	γ -Cadinen	0,32	GC-MS
56	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₄ H ₉	0,72	GC-MS ^a , GC ^{c,d}
57	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₄ H ₉	1,30	GC-MS, Hydrolyse
58	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₄ H ₉	0,44	GC-MS, Hydrolyse
59	C ₁₀ H ₁₇ O – COC ₄ H ₉	0,18	GC-MS, Hydrolyse
60	C ₁₅ H ₂₄	0,13	GC-MS, Hydrolyse
		0,27	GC-MS

^a Literaturspektren aus [23], ^b Spektren authentischer Verbindungen, ^c SE 30 WCOT-Glaskapillare, ^d Carbowax HP WCOT-Glaskapillare.

Abb. 4. Breitbandenkoppeltes PFT- ^{13}C -Kernresonanzspektrum des ätherischen Öls aus *Artemisia absinthium* in C_6D_6 ; Angabe der chemischen Verschiebung der Resonanzlinien von (1S:4R)-Thujan-3-on (21), (1S:4S)-Thujan-3-on (23) und *trans*-Sabinylacetat (39) in ppm. Aufnahmebereich A: 220–108 ppm, B: 108–0 ppm.



und können daher massenspektrometrisch mit diesen keinesfalls verwechselt werden. Da wohl angenommen werden kann, daß es sich bei den vielen gleichlautenden Angaben der *Artemisia*-Inhaltsstoffe wirklich um Thujylalkohole bzw. Ester gehandelt hat, muß dies wohl bedeuten, daß Wermut-Öle stark abweichender Zusammensetzung und Aromen vorkommen.

Die übrigen Inhaltsstoffe des Öls aus *A. absinthium*

Die flüchtigen Komponenten des ätherischen Öls aus *A. absinthium* wurden gaschromatographisch aufgetrennt (Abb. 3) und durch Vergleich der Retentionszeiten mit authentischem Material bzw. durch Aufnahme GC-kombinierter Massenspektren identifiziert; mittels ^{13}C -Kernresonanzspektroskopie

wurden Aufnahmen der Gesamtprobe hergestellt und die einzelnen Resonanzbanden zugeordnet (Abb. 4).

Abb. 3 zeigt das Gaschromatogramm des Wermutöls, Tab. I die Zuordnung der einzelnen Komponenten mit den Prozentanteilen und der Angabe der Identifizierungsmethode. Neben **23** und **39** identifizierten wir mit 2,76% vom Gesamtanteil (1S:4R)-Thujan-3-on **21**, also das eigentliche Thujon oder α -Thujon. Dabei konnte festgestellt werden, daß beim Aufbewahren des Öls der Gehalt von **21** gegenüber **23** stetig zunahm. Diese Tatsache und der relativ kleine Anteil gegenüber der (1S:4S)-Verbindung bedeuten sicherlich, daß ursprünglich das Isomere **23** allein aus der pflanzlichen Biosynthese stammt, und nur die unterschiedliche Gewinnung, Alterung bzw. Lagerung des Öls für die Bildung von Isomergemischen aus **21** und **23** verantwortlich ist.

An Monoterpenkohlenwasserstoffen enthielt das Wermutöl u. a. α - und β -Pinen, α -Thujen, Camphen, Sabinen, Myrcen, α -Phellandren, α -Terpinen, (E)-Ocimen, γ -Terpinen, Terpinolen und als aromatischen Vertreter dieser Verbindungsklasse *p*-Cymol, wobei Thujen, (E)-Ocimen, α - und γ -Terpinen und Terpinolen erstmals in diesem Öl gefunden wurden. Neben den beiden Thujanonen konnten u. a. 1.8-Cinneol, Borneol, *trans*-Sabinenhydrat, *trans*-Sabinol, Isothujylalkohol, Linalool, Terpinen-4-ol, *cis*- und *trans*-Piperitol, Lavandulol, Pulegon, Carvon, α -Terpineol, Nerol, Geraniol, *cis*- und *trans*-Sabinylacetat, Lavandulylacetat, Piperitolacetate, Nerylacetat und Geranylacetat als Sauerstoff-Monoterpene bzw. Ester mit ihrer Struktur aufgeklärt werden. Aus dieser Verbindungsklasse waren bisher nur Thujylalkohol (den wir nur in Spuren finden) bzw. dessen Ester, Nerol und die beiden Thujanone im ätherischen Öl von *Artemisia absinthium* bekannt [19].

In der Sesquiterpenfraktion fanden wir α -Copaen, Caryophyllen, Humulen und γ -Cadinen, sowie ein Propionat, zwei Butyrat und vier Valerianate von Nerol oder Geraniol, bzw. dazu isomeren Monoterpenalkoholen (Abb. 3 und Tab. I).

Zur Biosynthese der Wermut-Inhaltsstoffe

Mit der erstmaligen Isolierung und Identifizierung von *trans*-Sabinylacetat **39** aus dem ätherischen Öl von *Artemisia absinthium* interessierte der Ort der Biosynthese bzw. der Akkumulation dieser Verbindung in der Pflanze [24]. Hierzu wurde das ätherische Öl der Pflanzen, die im Aromagarten geerntet

wurden, untersucht. Dabei zeigte sich, daß das aus dem frisch geernteten Kraut stammende Öl im Vergleich zum Thujanon **23** (16%) bedeutend mehr Sabinylacetat **39** (67%) enthielt als das aus den Blütenständen (26% **39** gegenüber 44% **23**) stammende. Dies muß wohl bedeuten, daß die Thujanon-Genese vornehmlich in den Blüten stattfindet, während die Sabinylacetat produzierenden Organe mehr in den krautigen Pflanzenteilen zu finden sind.

Die Analysen der Öle aus den getrockneten Blütenständen ergaben einen höheren Anteil an Myrcen (3,1%), Sabinen (10,4%) und 1.8-Cinneol (2,2%) als die aus den frischen Pflanzen. Die Abnahme des Gehalts der Hauptkomponente **39** (16,7%) geht keineswegs auf hydrolytische Prozesse zurück, wie der konstante Wert des *trans*-Sabinols belegt [24].

Auffällig war, daß mit Thujen, Sabinen, den Thujanonen, Thujylalkoholen, Sabinenhydrat, Sabinol und Sabinylacetat insgesamt über 82% der Verbindungen das Bicyclo[3.1.0]hexangerüst besitzen (Abb. 5). Aus Labelling-Versuchen mit [2-¹⁴C]-Mevalonsäure, mit der Thuja-, Tanacetum- und Juniperusarten behandelt wurden, weiß man, daß bei der Biosynthese sowohl der Thujanon- als auch der Sabinenderivate der Großteil der ¹⁴C-Aktivität in C-3 zu finden war und der Skeletteil C-2, -3, -4 und -10 aus markiertem Isopentenylpyrophosphat stammte [25]. Damit konnte außerdem Ruzicka's

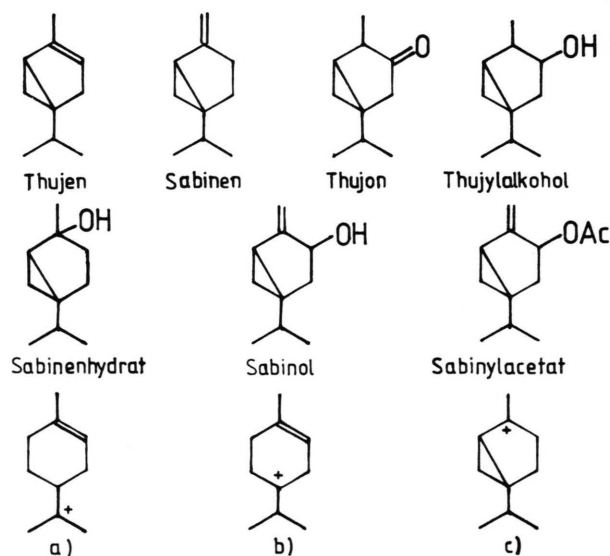


Abb. 5. Komponenten des ätherischen Öls aus *A. absinthium* mit dem Bicyclo[3.1.0]hexangerüst.

Isoprenregel und Mechanismus zur Terpen-Biogenese [26] bestätigt werden.

Dies bedeutet für die Terpengenese im Wermut, daß den zyklischen Ionenstrukturen **a**, **b** und **c** (Abb. 5), wie sie aus Geraniol, aber ebenso aus Linalool oder Myrcen entstehen können, hier besonderes Gewicht zukommt. Denn fast alle nach diesem Mechanismus postulierten Folgeprodukte wie α - und β -Pinen, Borneol, Thujonderivate, Sabinenderivate, α - und γ -Terpinen und α -Terpineol [26] finden sich im Artemisia-Öl wieder (vgl. Tab. I). Bemerkenswert

war jedoch, daß die in der Lit. [25] untersuchten Pflanzen jeweils entweder nur Thujonderivate oder nur Sabinenderivate synthetisierten, während in dem von uns untersuchten Fall die Biosynthesen beider Verbindungsklassen nebeneinander ablaufen.

Danksagung

Diese Arbeit wurde mit finanzieller Unterstützung aus der Adalbert-Raps-Stiftung durchgeführt.

- [1] E. Hess, E. Landolt und R. Hirzel, Flora der Schweiz und angrenzender Gebiete, Bd. 3, S. 584, Birkhäuser Verlag, Basel 1967.
- [2] T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters und D. A. Wegg, Flora Europaea, Bd. 4, S. 180, Cambridge University Press, Cambridge 1976.
- [3] G. Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, Bd. 6 (2), S. 626, 651, J. F. Lehmanns Verlag, München 1929.
- [4] E. Oberdorfer, Pflanzensoziologische Exkursionsflora, S. 907, Ulmer Verlag, Stuttgart 1980.
- [5] V. Herout, L. Novotny und F. Sorm, Coll. czech. chem. Commun. 21, 1494 (1956); F. Sorm und V. Herout, Chem. Ind. 1955, 569.
- [6] Sh. Z. Kasymov, N. D. Abdullaev, G. P. Sidyakin und M. R. Yagudaev, Khim. Prirod. Soedin. (Tashk) 1979 (4), 495.
- [7] V. Herout, L. Dolejs und F. Sorm, Coll. czech. chem. Commun. 21, 477 (1956).
- [8] E. Stahl, Naturwissenschaften 39, 571 (1952).
- [9] H. Kreitmaier, Pharmazie 6, 27 (1951).
- [10] H. Böhme und K. Hartke, Deutsches Arzneibuch, 7. Ausgabe 1968, Kommentar; Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Govi-Verlag GmbH, Frankfurt 1971.
- [11] T. Brosche, O. Vostrowsky, F. Gemeinhardt, U. Asmus und K. Knobloch, Z. Naturforsch. 36 c, 23 (1981).
- [12] T. Brosche, Dissertation Universität Erlangen-Nürnberg 1981.
- [13] R. J. Abraham, C. M. Holden, P. Loftus und T. Whittacker, Org. Magn. Resonance 6, 184 (1974).
- [14] F. Bohlmann, R. Zeisberg und E. Klein, Org. Magn. Resonance 7, 426 (1975).
- [15] W. Bremser, L. Ernst und B. Franke, Carbon-13 Spectral Data, Verlag Chemie, Weinheim 1978.
- [16] O. H. Wheeler, Chem. Rev. 62, 205 (1962).
- [17] A. G. Short und J. Read, J. Chem. Soc. (London) 1938, 2016.
- [18] F. Rabak, J. ind. Engng. Chem. 13, 536 (1921).
- [19] E. Gildemeister und F. Hoffmann, „Die ätherischen Öle“ (W. Treibs und K. Bournot, Hrsgb.), 4. Auflage, Bd. 3 c, S. 270, Bd. 7, S. 696; Akademie Verlag, Berlin 1963; 1961.
- [20] E. Charabot, C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. 130, 923 (1900); Bull. Soc. Chim. Fr. 23, 474 (1900).
- [21] F. Elze, Chemiker-Ztg. 34, 767 (1910).
- [22] A. B. Booth, Amer. Perfumer 69, No. 3, 45 (1957).
- [23] A. F. Thomas und B. Willhalm, Helv. Chim. Acta 47, 475 (1964); E. Stenhagen, S. Abrahamsson und F. W. McLafferty, Registry of Mass Spectral Data, J. Wiley & Sons, New York 1974.
- [24] In Vorbereitung (1981).
- [25] D. V. Banthorpe, J. Mann und K. W. Turnbull, J. Chem. Soc. (London) 1970, 2689.
- [26] L. Ruzicka, Experientia 9, 357 (1953).