

Zusammensetzung und Akkumulation des ätherischen Öls in *Matricariae Radix* (2. Mitteilung)

Composition and Accumulation of Essential Oil in *Matricariae Radix*
(2. Communication)

Jürgen Reichling, Walter Bisson und Hans Becker

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 364,
D-6900 Heidelberg 1

Gerhard Schilling

Organisch-chemisches Institut der Universität Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 270, D-6900
Heidelberg

Z. Naturforsch. **38c**, 159–164 (1983); received October 13, 1982

Matricaria chamomilla, Radix, Essential Oil, Terpenes, Chamomillöl

The essential oil of *Matricaria chamomilla* roots has been investigated. Besides the known compounds for this plant organ *trans*- β -farnesene, *trans*- α -farnesene, chamomillaester I and II, we found the two spiroether only described for the aerial parts. β -caryophyllene, *cis*-caryophyllene and caryophyllenepoxid are found for the first time in *Matricaria chamomilla*. One of the main constituents is a hitherto unknown sesquiterpene-alkohol with muurolene-structure. With the aid of spectroscopical data ($^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, MS) we determined its structure. We propose the name chamomillöl for the new compound.

Besides the known resin ducts longitudinally orientated we found resin ducts transversally orientated and oil cells.

Einleitung

Dioskurides empfahl für medizinische Anwendungen neben Kraut und Blüten auch die Wurzel der Kamille [1]. Heute werden nur noch in der Homöopathie neben den therapeutisch bedeutsamen Blütenköpfchen auch das Kraut und die Wurzeln (ganze frische, blühende Pflanze) verwendet [2].

Die meisten Untersuchungen befaßten sich in der Vergangenheit mit der Lokalisation, Bildung und Zusammensetzung des ätherischen Öls in den Blütenköpfchen. Weniger ist dagegen über das ätherische Öl in Kraut und Wurzel bekannt [3, 4].

In einer kurzen Mitteilung [5] berichteten wir erstmals über das ätherische Öl der Wurzel, wobei wir *trans*- β -Farnesen, *trans*- α -Farnesen sowie einen nicht näher charakterisierten Sesquiterpenalkohol identifizieren konnten.

Im folgenden wird über weitere Bestandteile des ätherischen Öls sowie über die Lokalisation des Öls in der Wurzel berichtet.

Ferner wird über die Strukturaufklärung des bisher unbekannten Sesquiterpenalkohols berichtet.

Material und Methode

Pflanzliches Material

Das für die Untersuchungen verwendete Wurzelmaterial entstammte einem Wildbestand bei Heidelberg. Um mögliche qualitative und quantitative Unterschiede in der Zusammensetzung des ätherischen Öls erfassen zu können, ernteten wir einen Teil der Kamillenwurzeln zu unterschiedlichen Entwicklungsstadien der Pflanzen. Die Wurzelernte umfaßte den Zeitraum vom 14. 6. 1982 bis 16. 8. 1982; geerntet wurde im Abstand von 8 Tagen. Das Vorliegen der identifizierten Bestandteile im ätherischen Öl der Wurzel wurde an weiteren Kamillenherkünften (Wildbestände und angebaute Varietäten) überprüft.

Lokalisation des ätherischen Öls in der Wurzel

a) Herstellung von Mikrotomschnitten nach der Paraffinmethode. Die Durchführung der Arbeiten richtete sich nach Angaben von Gerlach [6].

b) Histochemische Reagenzien auf ätherisches Öl. Brom-Chloroformlösung (1 ml Brom wurden in 10 ml Chloroform gelöst); durch die Einwirkung von Bromdämpfen auf lebendes Gewebe (Handschnitte) waren ätherische und fette Öle gut zu unterscheiden [7]. Brom färbt das ätherische Öl braun, dagegen

nicht fette Öle. Chloralhydratlösung (2 Teile Chloralhydrat wurden in 1 Teil Wasser gelöst) und 50-prozentige Essigsäurelösung; mit einer Chloralhydratlösung bzw. mit einer 50-prozentigen Essigsäurelösung ließ sich ätherisches Öl aus dem Gewebe herauslösen, fettes Öl dagegen nicht.

Ölgewinnung und Gehaltsbestimmung

Die Gewinnung des ätherischen Öls und die quantitative Bestimmung des Ölgehaltes erfolgte wie schon früher beschrieben [5, 8]. Um zu überprüfen, ob die im Wasserdampfdestillat gefundenen Substanzen auch im ätherischen Öl der Wurzel genuin vorliegen, wurde vom Wurzelgewebe zusätzlich ein Dichlormethanauszug hergestellt.

Gaschromatographische Bestimmung

Die qualitative und quantitative Erfassung der Ölbestandteile sowie die GC-MS-Kopplungen wurden mit einem Gaschromatographen der Firma Varian (Varian 2700), FID, durchgeführt:

Säule: OV-101 Kapillarsäule (fused silica), 25 m Länge; Injektortemperatur: 230 °C; Detektortemperatur: 250 °C; Temperaturprogramm: 140 °C, 5 min. isotherm, dann 4 °C/min.; Trägergas: N₂; Druck: 1,5 bar. Die quantitative gaschromatographische Bestimmung einzelner Ölbestandteile wurde mit Guajazulen als inneren Standard durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit Hilfe des Varian CDS 111 on line-systems.

Massenspektroskopie, IR- und ¹H- und ¹³C-NMR-Spektroskopie

Die massenspektroskopischen Aufnahmen erfolgten mit Hilfe einer GC-MS-Kopplung; Gerät: Varian Mat 311; die IR-Spektren wurden mit einem Perkin-Elmer 283 aufgenommen. Die Aufnahmen der ¹H- und ¹³C-NMR-Spektren erfolgte mit einem 250 MHz bzw. mit einem 500 MHz Gerät der Firma Bruker, Rheinstetten-Forchheim.

Bestimmung metastabiler Massenfragmente

Die Bestimmung wurde mit einem VG-Micromass ZAB-2F durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Exkretionsgewebe in der Wurzel

Serienschnitte quer und längs zur Wurzelachse zeigen, daß im Bastteil schizogene Ölgänge vorliegen, die parallel zur Längsachse verlaufen. Neben diesen schon von Triebel [3] beschriebenen Ölgängen konnten zusätzlich weitere Exkretäume festgestellt werden:

- quer zur Längsachse verlaufende schizogene Ölbehälter,
- einzelne im Bast liegende Ölzellen.

Bisher war das Vorkommen von Ölzellen in der Kamille nicht bekannt. Wie die Prüfung der gesamten Pflanze zeigt, finden sich die Ölzellen ausschließlich in der Wurzelrinde.

Zusammensetzung des ätherischen Öls in der Wurzel

Im ätherischen Öl der Wurzel konnten mit Hilfe der GC-MS-Kopplung und Vergleich mit Literaturdaten bzw. authentischen Substanzen die Verbindungen **I** bis **X** identifiziert werden (vgl. Tab. I). **I** ist Bestandteil vieler ätherischer Öle; es stellt in der Wurzel die Hauptkomponente dar. Dagegen kommt **II** in der Natur viel seltener vor. Erstmals konnten wir im ätherischen Öl der Kamillenwurzel auch den Nachweis für die Verbindungen **III**, **IV**, **V** führen. An Polyinen liegen die beiden *cis/trans*-Spiroether sowie zwei isomere Chamomillaester (**VI–IX**) vor. Als eine der Hauptkomponenten liegt der bisher noch nicht bekannte Sesquiterpenalkohol C₁₅H₂₆O (**IX**) vor. Einige weitere Sesquiterpenkohlenwasserstoffe, die in Spuren vorliegen, konnten bisher noch nicht näher identifiziert werden.

Vergleich der ätherischen Öle aus Blütenköpfchen und Wurzel

Im Gegensatz zur Wurzel ist die Zusammensetzung des ätherischen Öls der Blütenköpfchen schon seit längerem bekannt. Es besteht hauptsächlich aus *trans-β*-Farnesen (**I**), Spathulenol, Chamazulen (bzw. Matricin), (–)- α -Bisabolol, (–)- α -Bisabololoxide A + B, (–)- α -Bisabolonoxid A und den *cis/trans*-EN-IN-Dicycloethern (**VII**) [11].

Vergleicht man das ätherische Öl der Wurzel mit dem ätherischen Öl der Blütenköpfchen, so zeigt sich, daß die für das „Blütenöl“ typischen und zum

Tab. I. Identifizierte Sesquiterpene im ätherischen Öl der Kamillenwurzel; die analysierte Probe bezieht sich auf den Entwicklungszustand IV der Pflanze

Verbindung	Molmasse (M ⁺)	mg/100 g Drog.	Nachweismethode	Literatur
<i>trans</i> - β -Farnesen (I)	204	8,7	GC/MS	[9]
<i>trans</i> - α -Farnesen (II)	204	0,3	GC/MS	[9], [10]
β -Caryophyllen (III)	204	0,2	GC/MS	[12]
<i>cis</i> -Caryophyllen (IV)	204	0,6	GC/MS	[13]
Caryophyllenepoxid (V)	220	1,7	GC/MS	[12], [14]
<i>trans</i> -EN-IN-Dicycloether (VI)	200	0,9	GC/MS, UV, IR	[15], [17]
<i>cis</i> -EN-IN-Dicycloether (VII)	200	1,2	GC/MS, UV, IR	[15], [17]
Chamomillaester I (VIII)	228	1,0	GC/MS	[15], [17]
Chamomillaester II (IX)	228	0,2	GC/MS	[15], [17]
Chamomillol (X)	222	8,7	MS, ¹ H- u. ¹³ C-NMR	—

Teil therapeutisch wertvollen Substanzen wie Chamazulen (bzw. Matricin), Spathulenol und die Bisaboloide im Wurzelöl fehlen; dagegen konnten wir bisher *trans*- α -Farnesen, die isomeren Chamomillaester und die Verbindung X nur in der Wurzel nachweisen.

Strukturaufklärung eines neuen Sesquiterpenalkohols

Außer den in Tab. I genannten Verbindungen enthält das Wurzelöl eine weitere Substanz (X), die nach Adsorptions- und Verteilungschromatographie rein anfällt. X besitzt den R_f -Wert von 0,5 (Kieselgel; Laufmittel: Dichlormethan: Ethylacetat, 98:2) und ergibt beim Besprühen mit Anisaldehyd/H₂SO₄ eine stark blauviolette Färbung, die später wieder verblaßt.

Das Massenspektrum (vgl. Abb. 1) zeigt den Molpeak bei $m/z = 222$ (ber. 222, 1984; gem. 222, 2006). Durch Peak-matching ergibt sich die Summenformel C₁₅H₂₆O, aus der sich 3 Doppelbindungsäquivalente errechnen lassen. Im übrigen zeigt das Massenspektrum ein für Sesquiterpenalkohole charakteristisches Zerfallsmuster [18].

Das ¹³C-NMR-Spektrum bestätigt die massenspektroskopisch ermittelte Anzahl der Kohlenstoffatome (vgl. Tab. II). Bei $\delta = 135,4$ absorbiert ein quartäres und bei $\delta = 121,6$ ein tertiäres C-Atom. Mit diesem Befund ist die Anwesenheit einer Doppelbindung im Molekül nachgewiesen. Die beiden restlichen aus der Summenformel berechneten Doppelbindungsäquivalente können damit nur noch mit der Anwesenheit von zwei Ringen erklärt werden. Das bei $\delta = 74,5$ absorbierende quartäre C-Atom

trägt aufgrund seiner Lage offensichtlich eine Sauerstofffunktion. Im hochfeldigen Bereich können schließlich 4 CH₃-, 4 CH₂- und 4 CH-Kohlenstoffe identifiziert werden.

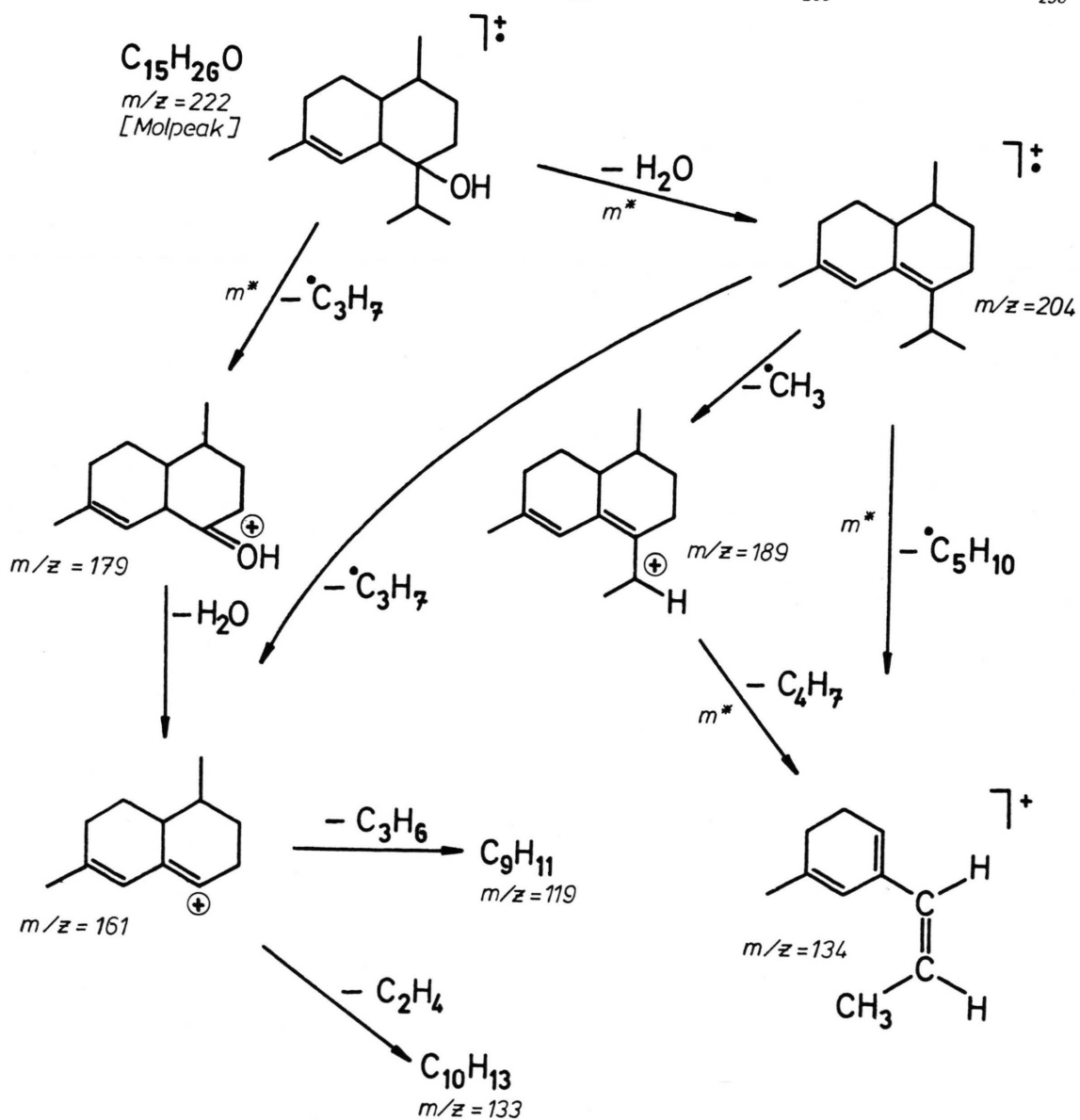
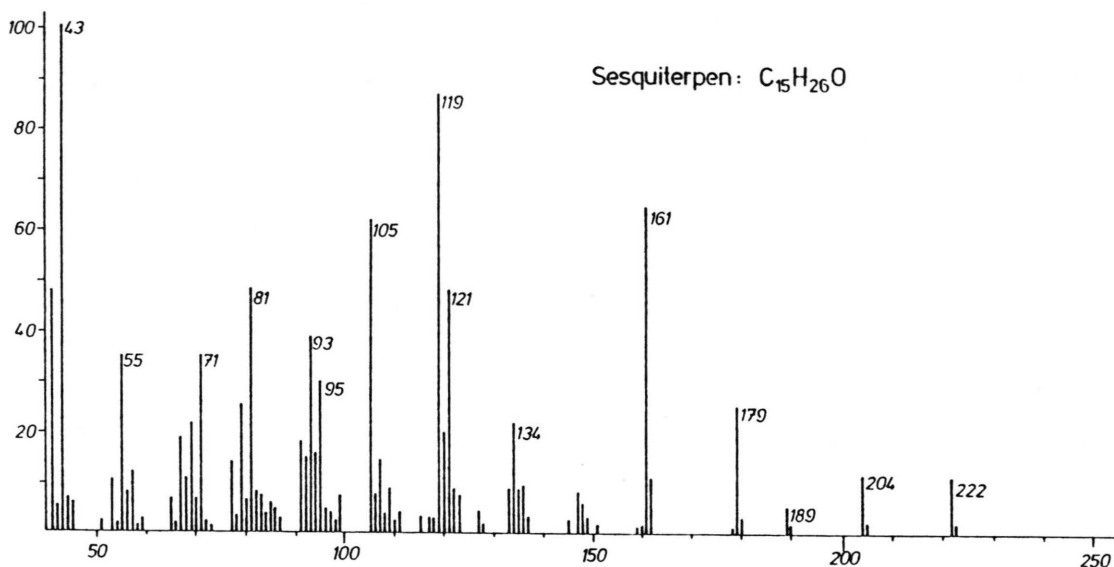
Das IR-Spektrum (KBr) zeigt bei 3500 cm⁻¹ eine breite Absorption; in verdünnter Chloroformlösung tritt anstelle der breiten Bande bei 3500 cm⁻¹ bei

Tab. II. ¹³C-NMR- und ¹H-NMR-Daten^a.

A) ¹³ C-NMR-Spektrum		B) ¹ H-NMR-Spektrum	
C-Atome	Chemische Verschiebung: δ [ppm]	Protonen	Chemische Verschiebung: δ [ppm]
C-1	33,3 (d)	H-1	1,95
C-2/C-8	32,1 (t)	H-2e/H-3e	1,79/1,87
C-3/C-9	26,6 (t)	H-2a/H-3a	1,48/1,45
C-4	135,4 (s)	H-5	5,17
C-5	121,6 (d)	H-6	2,31
C-6	44,6 (d)	H-8a	1,13
C-7	74,5 (s)	H-8e/H-9e	1,66
C-8/C-2	30,6 (t)	H-9a	1,29
C-9/C-3	25,7 (t)	H-10	1,41
C-10	27,5 (d)	H-12	1,85
C-11	24,1 (q)	C ¹¹ -H ₃	1,62
C-12	36,9 (d)	C ¹⁴ -H ₃ /C ¹³ -H ₃	0,92/0,89
C-13/C-14	16,3 (q)	C ¹⁵ -H ₃	0,88
C-14/C-13	15,9 (q)	OH-	1,42
C-15	19,8 (q)		

Die Aufnahme des Spektrums für Chamomillol erfolgte für die ¹³C-chemische Verschiebung in C₆D₆ bei 125,72 MHz und für die ¹H-chemische Verschiebung in CDCl₃ bei 500 MHz. Als interner Standard diente in beiden Fällen TMS.

^a Für die Aufnahmen der ¹H-NMR- und ¹³C-NMR-Spektren bedanken wir uns bei Herrn Dr. Formacek, Firma Bruker, Rheinstetten-Forchheim



3620 cm^{-1} eine scharfe Absorptionsbande auf. Damit ist zusammen mit dem ^{13}C -NMR-Befund die Natur der Sauerstofffunktion als tertiäre Hydroxylgruppe erkannt. Weitere funktionelle Gruppen liegen nicht vor.

Ein Vergleich der Massenspektren von T-Cadinol [18] und T-Muurolol [18] mit dem von **X** (Abb. 1) zeigt, daß offensichtlich auch bei der Verbindung **X** ein ähnliches Sesquiterpengerüst vorliegt.

Die Frage nach der Stellung der funktionellen Gruppen und der Stereochemie konnte erst mit Hilfe eines ^1H -NMR-Spektrums bei 500 MHz (vgl. Tab. II) und Doppelresonanzexperimenten geklärt werden. Bei $\delta = 5,17$ absorbiert ein olefinisches Proton, das lediglich kleine allylische Kopplungen zeigt. Von diesem konnte die Kopplung $\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}-\text{H}$ mit Sicherheit nachgewiesen werden. Im Molekül (vgl. Abb. 2) wurden außerdem zwei CH_2-CH_2 -Elemente festgestellt. Damit kann die Doppelbindung nur noch in der Position $^4\text{C} = ^5\text{C}$ vorliegen (Abb. 2).

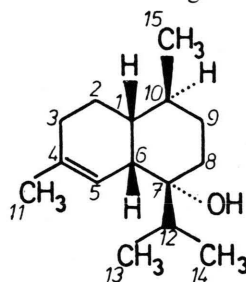
Aus der kleinen Kopplung $J_{\text{H}5-\text{H}6} < 1 \text{ Hz}$ folgt ein Winkel gegen 90° zwischen den beiden Protonen. Dieser Wert ist bei einer *cis*-Verknüpfung der beiden Ringe zu erwarten, wie am Dreidingmodell leicht zu erkennen ist. Weitere Informationen zur Verknüpfung liefern die Kopplungskonstanten von H1 und H6. H1 wird noch teilweise von den Absorptionen der äquatorialen Protonen H2e und H3e überlagert, so daß nur das Proton H6 bei $\delta = 2,3$ ausgewertet werden kann. Für das Proton H6 sollte man lediglich ein Dublett von Dubletts erwarten; das hochaufgelöste Spektrum zeigt jedoch in erster Näherung eindeutig 9 Linien. Offensichtlich wird dieses Proton durch zusätzliche Fernkopplungen weiter aufgespalten. Solche Fernkopplungen sind in starren Cyclohexanringssystemen bekannt. Trotzdem kann aus der Halbwertsbreite des Signals geschlossen werden, daß dieses Proton wahrscheinlich keine *trans*-Kopplungen enthält, denn dann müßte eine wesentlich höhere Halbwertsbreite auftreten. Aus diesem Befund kann geschlossen werden, daß die beiden Ringe eine *cis*-Verknüpfung aufweisen. Dieses Ergebnis stimmt mit den in der Literatur [18] bisher angegebenen stereochemischen Aussagen bezüglich des Muurologrundgerüsts überein.

Die seitenständige Isopropylgruppe zeigt, wie zu erwarten, für die beiden Methylgruppen jeweils ein Dublett, und für das nachbarständige Methinproton eindeutig nur ein Septett. Dies kann durch Doppelresonanzexperimente nachgewiesen werden. Eine gleichzeitige Entkopplung der beiden Methylgruppen liefert für das Methinproton ein Singulett. Damit ist die Sequenz $(\text{CH}_3)_2-\text{CH}-\text{R}'-\text{R}$ bewiesen und gleichzeitig die Stellung der OH-Gruppe an C-7 sichergestellt.

Keinerlei Aussagen liefert das ^1H -NMR-Spektrum bezüglich der stereochemischen Anordnung der Isopropyl- und OH-Gruppe.

Die Protonen H1 und H10 sind selbst im 500 MHz-Spektrometer nicht getrennt zu beobachten. Das an das Proton H10 gekoppelte axiale Proton H9a ist jedoch eindeutig zu charakterisieren. Es zeigt außer der geminalen Kopplung zu H9e zwei weitere große Kopplungen; diese Kopplungen können nur zwischen dem axialen H8a und dem axialen H10 auftreten ($J_{\text{H}9\text{a}/\text{H}9\text{e}} \approx J_{\text{H}9\text{a}/\text{H}8\text{a}} \approx J_{\text{H}9\text{a}/\text{H}10} \approx 13,5 \text{ Hz}$). Damit ist die relative Stereochemie an C-10 festgelegt: die CH_3 -Gruppe steht äquatorial.

Bis auf die Ungenauigkeit der stereochemischen Anordnung der Isopropyl- und OH-Gruppe schlagen wir daher folgende Struktur vor bei der die absolute Stereochemie ungeklärt bleibt:



Muurolo-4-en-7-ol [ein Enantiomer]

Da dieser Sesquiterpenalkohol bisher in der Literatur noch nicht beschrieben wurde, schlagen wir den Trivialnamen „Chamomillol“ vor.

Ölzusammensetzung und Ontogenese

Um möglichst qualitative und quantitative Unterschiede in der Zusammensetzung des Wurzelöls in

Abb. 1. Die Abbildung 1 zeigt das Massenspektrum und das mögliche Zerfallsmuster des isolierten Sesquiterpenalkohols Chamomillol; m*: metastabile Übergänge.

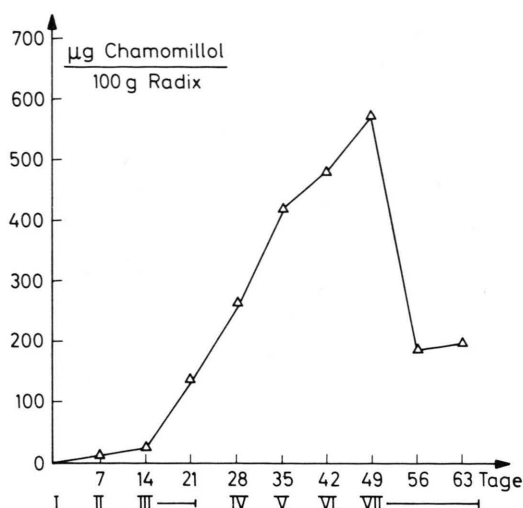


Abb. 3. Die Abbildung 3 zeigt die Bildung von Chamomillol (vom 14. 6. – 16. 8. 1982) im ätherischen Öl der Wurzel in Abhängigkeit verschiedener Entwicklungsstadien der ganzen Pflanze; I: junge Pflanzen; II: Pflanzen beginnen zu blühen; III: Pflanzen sind voll erblüht; IV: Pflanzen beginnen abzublühen; V: Beginn der Fruchtbildung, Pflanzen sind stark abgeblüht; VI: Pflanzen sind abgeblüht, die Infloreszenz welkt.

Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Pflanze erkennen zu können, wurden die Kamillenwurzeln in den Monaten Juni bis August in wöchentlichen Abständen geerntet; im Wasserdampfdestillat wurden dann anschließend die Ölbestandteile qualitativ und quantitativ erfaßt.

Die meisten Substanzen zeigten hierbei große Schwankungen im Gehalt; bei einigen war eine eindeutige Korrelation zwischen deren Gehalt im Wurzelöl und dem Alter der Pflanzen festzustellen. So nahm z. B. die Menge an Polyinen im Öl (EN-IN-Dicycloether und Chamomillaester) mit zunehmendem Alter der Pflanzen beträchtlich ab. Recht deutliche Verhältnisse herrschten bei dem neu entdeckten Sesquiterpenalkohol, Chamomillol, vor (vgl. Abb. 3). Wie aus der Abb. 3 zu ersehen ist konnten wir in jungen Pflanzen (I) keine meßbaren Mengen an Chamomillol im ätherischen Öl der Wurzeln nachweisen. Mit zunehmendem Alter der Pflanzen nimmt der Chamomillolgehalt im Öl deutlich zu und erreicht nach dem Abblühen der Blütenköpfchen (V – VI) den höchsten Wert.

- [1] G. Madaus, Lehrbuch der Biologischen Heilmittel, Band I, Georg Olms Verlag, Hildesheim-New York 1975 (Nachdruck).
- [2] Homöopathisches Arzneibuch, 3. Auflage, Verlag Dr. Willmar-Schwabe, Berlin W15 1953.
- [3] R. Triebel, Nova Acta der Ksl. Leop. Carol. Dtsch. Akad. d. Naturforscher, Bd. L, Halle 1885.
- [4] G. Marczał u. G. Verzá-Petri, Herba Hungarica **18**, 325 (1979).
- [5] J. Reichling u. H. Becker, Z. Naturforsch. **33c**, 589 (1978).
- [6] D. Gerlach, Botanische Mikrotechnik, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969.
- [7] M. S. Karawya, K. E. Awaad, J. Svab u. T. Fahmy, Planta Med. **16**, 166 (1968).
- [8] J. Reichling, H. Becker u. A. Vömel, Planta Med. **32**, 235 (1977).
- [9] K. Murray, Aust. J. Chem. **22**, 197 (1969).
- [10] G. Cavill, P. Williams u. F. Whitfield, Tetrahedron Lett. **23**, 2201 (1967).
- [11] H. Schilcher, in Ätherische Öle, Analytik, Physiologie, Zusammensetzung, (Hrg. K. H. Kubeczka), p. 105 Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York 1982.
- [12] A. Dinga, F. Braut-Boucher, M. Paris u. J. Mercier, Herba Hungarica **18**, 139 (1979).
- [13] E. Stenhagen, S. Abrahamsson u. F. W. McLafferty, Registry of MS Spectral Data, Vol. 2, John Wiley & Sons, New York 1974.
- [14] M. Hurabielle, M. Bastart-Malsot, E. Rougeot u. M. Paris, Planta Med. **44**, 47 (1982).
- [15] F. Bohlmann, P. Herbst, Ch. Arndt, H. Schönowsky u. H. Gleinig, Chem. Ber. **94**, 3193 (1961).
- [16] F. Bohlmann, H. Mönch u. P. Blaschiewicz, Chem. Ber. **100**, 611 (1967).
- [17] F. Bohlmann, H. Bornowsky u. P. Herbst, Chem. Ber. **93**, 1931 (1960).
- [18] A. Borg-Karlson u. T. Norin, Tetrahedron **37**, 425 (1981).