

Pflanzliche Insektizide II [1]. Das ätherische Öl aus Blättern des Balsamkrautes, *Chrysanthemum balsamita* L. Insektizide Wirkung und Zusammensetzung

Herbal Insecticides II [1]. The Essential Oil from Leaves of *Chrysanthemum balsamita* L.. Insecticidal Activity and Composition

Hans Jürgen Bestmann, Beate Claßen, Uwe Kobold, Otto Vostrowsky

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

Fred Klingauf

Institut für Biologische Schädlingsbekämpfung der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Heinrichstr. 243, D-6100 Darmstadt

Harald Strobel und K. Knobloch

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

Z. Naturforsch. **39c**, 543–547 (1984); received February 16, 1984

Chrysanthemum balsamita L., Essential Oil, Herbal Insecticides, Phytotoxicity, Terpenes

The essential oil from leaves of *Chrysanthemum balsamita* L. was analyzed by GC and GCMS techniques. About 30 components have been identified. The oil revealed insecticidal properties against aphids. Very little phytotoxicity was observed. The insecticidal activity could not be attributed to one of the single main constituents of the oil.

Im Rahmen systematischer Untersuchungen zur Wirkung von Pflanzeninhaltsstoffen auf Insekten wurden Extrakte von über 150 Pflanzen aus verschiedenen Familien [2] sowie Öle aus Pflanzen auf insektizide und abschreckende Eigenschaften geprüft. Wir berichten im folgenden über die Inhaltsstoffe und die insektizide Wirksamkeit des Balsamkrautes *Chrysanthemum balsamita* L. (Asteraceae).

Das Balsamkraut, *C. balsamita*, war bis ins 16. Jahrhundert hinein eine gebräuchliche Gewürz- und Heilpflanze. Das 60 bis 120 cm hohe Kraut hat einen flauigen, behaarten Stengel, ist im oberen Teil ästig und besitzt lederartige, ungeteilte Laubblätter [3]. Diese Blätter wurden wegen ihres Geruchs früher in Backwaren und als Würze dem Bier und Wein zugesetzt [3]. Das Balsamkraut ähnelt im Geruch der Krauseminze (*Mentha undulata* Willd. = *M. spicata* L. var. *crispata* Schrad.), es ist im Geschmack zunächst süßlich und scharf-aromatisch und wird von einem bitteren Nachgeschmack überdeckt. Vom Balsamita-Öl sind, ent-

sprechend den Hauptkomponenten, drei Chemosysteme, nämlich ein Carvontyp, ein Campher-Thujontyp und ein Camphertyp bekannt [4, 5].

Vorläufige pharmakologische Untersuchungen polnischer Autoren [6] zeigten, daß das Öl von *C. balsamita* stimulierende Wirkung auf das Zentralnervensystem von Tieren ausübt. Wäßrige und methanolische Extrakte erhöhten die Gallensekretion und hatten eine mäßige diuretische Wirkung.

Es zeigte sich nun, daß das durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl aus frisch geernteten Blättern des Balsamkrautes vom Carvon-Chemosystem interessante insektizide Eigenschaften hat. Es wirkte toxisch auf die Bleiche Getreideblattlaus, *Metopolophium dirhodum* (Walk.), und die Grüne Erbsenblattlaus, *Acyrtosiphon pisum* (Harris).

In Balsamita-Ölen wurden bisher Campher, Thujon, Isothujon, α -Pinen, Camphen, 1.8-Cinneol, Limonen, *p*-Cymol, Bornylacetat, Isobornylacetat, Isoborneol und Carvon [4–6] sowie die Sesquiterpenlaktone Erivanin, Isoerivanin und Dehydroerivanin nachgewiesen [7]. Die oben erwähnte insektizide Wirkung des Balsamitaöls veranlaßte uns, das Wasserdampfdestillat der Blätter dieser Pflanze eingehender zu analysieren. Die ersten Ergebnisse seien hier mitgeteilt.

Sonderdruckanforderungen an Prof. Dr. H. J. Bestmann.

0341-0382/84/0600-0543 \$ 01.30/0

Material und Methoden

Analysenmethoden

Die Strukturaufklärung einzelner Ölkomponenten erfolgte gaschromatographisch und massenspektrometrisch. Die Identifizierung der Komponenten gelang durch Kochromatographie, Bestimmung der Retentionsindizes und Vergleich der Retentionsdaten und Massenspektren mit authentischen Proben und Werten aus der Literatur [8–13] bzw. aus früheren Arbeiten [14].

a) Perkin Elmer Sigma 1, FID, 50 m fused silica Kapillare SE54, Split 1:100, temperaturprogrammiert 4 min 60 °C, 3 °/min bis 260 °C, Inj. 220 °C, Det. 260 °C, Trägergas N₂, 22 cm/s.

b) GCMS-Kombination Finnigan 3200E, 25 m fused silica Kapillare SE 30, Direktkopplung, temperaturprogrammiert, Trägergas He, 70 eV EI-Spektrum, 2–4 s/scan.

Metopolophium dirhodum (Walk.) wurde auf ca. 1 Woche alten Weizenpflanzen (wöchentliche Aussaat in Blumentöpfen, 8 × 8 cm) gezüchtet; Beleuchtung 16 h/Tag, Raumtemperatur. Die Töpfe standen in Glas/Saran-Netz Käfigen.

Acyrtosiphon pisum (Harris) wurde auf ca. 2–3 Wochen alten Dicken Bohnen (*Vicia faba*, wöchentliche Aussaat in Blumentöpfen) gezogen, 16 h Beleuchtung/Tag, Raumtemperatur.

Chrysanthemum balsamita L. wurde im Freiland (Aromagarten der Universität Erlangen-Nürnberg) beetmäßig angebaut. Die Blätter wurden von den Pflanzen abgeerntet und frisch zur Destillation verwendet.

Ätherisches Öl aus C. balsamita: 100 g Blätter wurden mit 1000 ml destilliertem Wasser in einer Destillationsapparatur, variiert nach Sprecher [15], 6 Stunden erhitzt und das mit dem Wasserdampf übergetriebene ätherische Öl in 1 ml Pentan aufgefangen. Das Lösungsmittel wurde anschließend mit Stickstoff verblasen und die Ölausbeute gravimetrisch bestimmt (1,3 mg/g Frischgewicht für die Erntemonate Mai und Juni).

Testverfahren: Zur Prüfung der Insektizidwirkung der Pflanzeninhaltsstoffe gegen Blattläuse wurden jeweils zwei bis vier Weizenhalme (12–15 cm hoch, ca. 100 Läuse) bzw. eine Bohnenpflanze (20–25 cm, 200–300 Läuse) abgeschnitten, das Schnittende mit Watte umwickelt und in ein wassergefülltes Präparategläschchen gesteckt. Die Blattläuse wurden gezählt und anschließend 1 ml Versuchslösung mittels

Parfümzerstäuber über die Pflanzen versprüht. Nach 16 h wurden die überlebenden Tiere gezählt und die Mortalitätsrate bestimmt.

Bestimmung der Pflanzenschädigungen: Nach Beendigung der Behandlung (16 h Versuchsdauer) wurden die einzelnen Halme bzw. Blätter kontrolliert. Auftretende schwarze Flecken, Verätzungsmerkmale, Knicken, Einrollen und ähnliche Pflanzenschädigungen wurden festgestellt und durch Auszählen der Flecken bzw. Abschätzen der Schadensfläche quantifiziert.

Ergebnisse und Diskussion

Wir konnten in dem von uns untersuchten Öl gaschromatographisch etwa 70 verschiedene Komponenten nachweisen, von denen wir inzwischen für die Hälfte die chemische Struktur bzw. den Strukturtyp angeben können. Dabei wurden noch Verbindungen mit einem Prozentanteil von unter 0,1 analysiert (Abb. 1 zeigt das Gaschromatogramm, Tab. I die Zusammensetzung des Balsamita-Öls).

Insgesamt fanden wir neun Monoterpenkohlenwasserstoffe C₁₀H₁₆, von denen Fenchlen (3), Sabinen (4), β -Pinen (5), Δ^3 -Caren (8), γ -Terpinen (12) und Terpinolen (14) erstmals in *C. balsamita* nachgewiesen wurden. Außerdem ist zusätzlich zu dem aromatischen Terpenoid *p*-Cymol (9) noch eine zweite, kurz vorher eluierte Verbindung 7 der isomeren Zusammensetzung C₁₀H₁₄ vorhanden.

Neben den Monoterpenkohlenwasserstoffen enthält das Öl Carvon (25, 51,5%) als Hauptkomponente sowie vier weitere Monoterpenketone C₁₀H₁₄O, nämlich Isothujon (16, 0,19%), Thujon (17, 8,78%), die bisher nicht aufgeklärte Verbindung 19 (2,60%) und Perillaaldehyd 27 (0,43%).

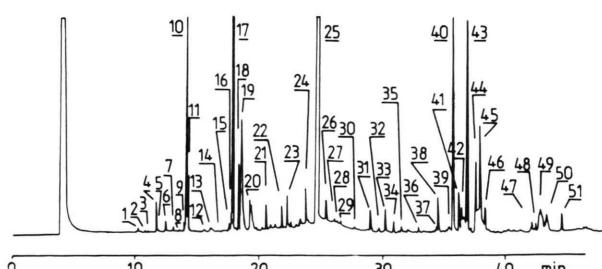


Abb. 1. Gaschromatogramm des ätherischen Öls aus Blätter von *Chrysanthemum balsamita* L. (Die Nummern der Signale entsprechen Tab. I, GC-Bedingungen siehe Material und Methoden.)

Tab. I. Komponenten des Blattöls aus *Chrysanthemum balsamita* L., Retentionsindizes (SE54), Prozentanteile (FID-Werte) und Identifizierungsmethode. (Die Nummern der Verbindungen entsprechen den GC-Signalen in Abb. I.)

Nr.	Substanz	RI (SE54)	Gehalt %	ident. durch
1	α -Pinen	933	0,04	a, b
2	Camphen	948	0,01	a
3	Fenchen	954	0,02	a
4	Sabinen	973	0,24	a, b
5	β -Pinen	977	0,03	a
7	$C_{10}H_{14}$	1006	0,05	b
8	Δ^3 -Caren	1013	0,01	a
9	<i>p</i> -Cymol	1025	0,11	a, b
10	Limonen	1029	2,57	a, b
11	1,8-Cineol	1032	0,63	a, b
12	γ -Terpinen	1059	0,05	a, b
14	Terpinolen	1091	0,05	a, b
15	<i>n</i> -Undekan	1100	0,12	a
16	Isothujon	1105	0,19	b
17	Thujon	1108	8,78	a, b
19	$C_{10}H_{14}O$	1120	2,60	b
20	$C_{10}H_{14}$	1137	1,09	b
23	<i>n</i> -Dodekan	1200	0,50	a
25	Carvon	1251	51,51	a, b
27	Perillaaldehyd	1278	0,43	a
29	Bornylacetat	1289	0,46	a
31	$C_{10}H_{16}O$	1340	0,29	b
33	<i>cis</i> -Carveol	1365	0,36	b
34	α -Copaen	1380	0,15	a, b
35	$C_{15}H_{24}$	1394	0,15	b
37	$C_{15}H_{24}$	1455	0,07	b
38	<i>trans</i> - β -Farnesen	1459	0,39	b
39	$C_{15}H_{24}$	1478	0,18	b
40	β -Cubeben	1489	4,72	b
41	Zingiberen	1497	0,49	a
42	<i>n</i> -Pentadekan	1500	0,36	a, b
43	$C_{15}H_{24}$	1513	5,55	b
44	$C_{15}H_{26}O$	1528	1,03	b
45	$C_{15}H_{28}O$	1536	2,78	b
47	$C_{15}H_{26}O$	1636	0,27	b
48	$C_{15}H_{26}O$	1643	0,16	b
49	$C_{15}H_{26}O$	1654	1,23	b
50	$C_{15}H_{26}O$	1667	0,69	b

^a Kochromatographie und Retentionsindex.

^b Massenspektroskopie.

Von den zwei aufgefundenen Monoterpenalkoholen **31** und **33** konnte letzterem die Struktur des *cis*-Carveols zugeschrieben werden, **29** ist der Monoterpenester Bornylacetat.

In der Sesquiterpenfraktion des Gaschromatogramms (Abb. I) wiesen wir insgesamt sieben Sesquiterpenkohlenwasserstoffe $C_{15}H_{24}$ und sechs Sesquiterpen-Sauerstoffverbindungen nach. Unter den erstenen wurde α -Copaen (**34**) identifiziert, für (*E*)- β -Farnesen (**38**) sprach die Übereinstimmung des Spektrums als auch der Retentionszeit mit

Literaturwerten. Die beiden Hauptkomponenten **40** und **43** konnten nicht eindeutig identifiziert werden. Das Massenspektrum von **40** ist identisch mit dem Literaturspektrum von β -Cubeben, das uns nicht als Vergleichssubstanz zur Verfügung stand. Die Verbindung **43** besitzt ein Spektrum, welches dem von β -Bisabolen sehr ähnlich ist; β -Bisabolen besitzt jedoch auf der von uns verwendeten Trennsäule einen anderen Retentionsindex. **41** wurde durch Kochromatographie als Zingiberen identifiziert. Die im Anschluß an **43** eluierten Verbindungen sind Sesquiterpen-Sauerstoffverbindungen der Zusammensetzung $C_{15}H_{26}O$ (**44**, **47**–**50**) bzw. $C_{15}H_{28}O$ (**45**), deren Strukturen durch massenspektroskopische Analyse alleine nicht bestimmt werden können.

Die *n*-Kohlenwasserstoffe Undecan (**15**), Dodecan (**23**) und Pentadecan (**42**) sind vermutlich Bestandteile cuticularer Blattwachse und nicht ätherische Ölkomponenten, die unter den gewählten Destillationsbedingungen mit dem Wasserdampf übergetrieben werden; Verbindungen dieser Art werden oft in ätherischen Ölen gefunden [16].

Aus Pflanzen isolierte ätherische Öle, die Terpene enthalten, besitzen oft insektizide Eigenschaften und Repellent-Wirkung gegenüber Insekten und können Wechselwirkungen zwischen Pflanzen und Insekten regulieren [17]. Von Carvon (**25**) ist bekannt, daß es insektizide Wirkung besitzt [18] und, beigemengt zum Futter von *Spodoptera littoralis* Larven (Lepidoptera, Noctuidae), als Fraßhemmstoff wirkt sowie die Larvenentwicklung und Verpuppung hemmt bzw. einen Anstieg der Larvenmortalität bewirkt [19].

α -Pinen (**1**), ebenfalls im Balsamita-Öl enthalten, wirkt als Repellent gegenüber dem Borkenkäfer *Dendroctonus pseudotsugae* (Coleoptera, Scolytidae), während β -Pinen (**5**) eine schwach attraktive Wirkung auf den gleichen Käfer ausübt [20]. Δ^3 -Caren (**8**), Myrcen und Limonen (**10**) sind toxisch für den Kiefernschädling *Dendroctonus brevicomis* (Coleoptera, Scolytidae) [21] und sind u.a. verantwortlich für die Widerstandsfähigkeit von Bäumen gegenüber Borkenkäferbefall [22].

Thujon (**17**), u.a. Hauptbestandteil des Wermuthöls [23], wirkt als Nervengift und bedingt daher in manchen Ländern Restriktionen zur Herstellung und Einfuhr von Absinth bzw. zur Verwendung von Wermuthöl [24]. Das von uns untersuchte Blattöl wirkte in geringeren Konzentrationen

Tab. II. Insektizide Wirkung des Blattöls von *Chrysanthemum balsamita* L. und einiger Ölkomponenten auf Blattläuse und aufgetretene Pflanzenschädigungen.

Nr.	Testlösung (Konzentration) [mg/ml Pentan]	Mortalität [%]		Pflanzenschädigungen	
		<i>M. dirhodum</i>	<i>A. pisum</i>	Weizen	Bohnen
	<i>C. balsamita</i> Öl (1,5%)	100	97	1 Fleckchen	3 Fleckchen
	<i>C. balsamita</i> Öl (1,1%)	98	95	1 Fleckchen	—
	<i>C. balsamita</i> Öl (0,15%)	86	72	—	—
	<i>C. balsamita</i> Öl (0,015%)	41	20	—	1 Fleckchen
	<i>C. balsamita</i> Öl (0,0015)	24	25	—	—
1	α -Pinen (2%)	7	29	1 Fleckchen	1 Fleckchen
4	Sabinen (2%)	20	33	2 Fleckchen	—
10	Limonen (2%)	49	27	Blattränder eingerollt	2 Fleckchen
11	1,8-Cinneol (2%)	17	24	—	—
17	Thujon (2%)	50	27	Blattränder eingerollt, Halme geknickt, ca. 50% Schädigungen	3 kleine Flecken
25	Carvon (2%)	66	38	Halme geknickt, ca. 50% Schaden	10 kleine Flecken
	Campher (2%)	15	26	2 Flecken	—
	β -Bisabolen (2%)	70	35	Ränder eingerollt	8 kleine Flecken
	Pentan (Lösungsmittel)	22	15	—	—

(15 mg/ml Testlösung) unter vergleichbaren Versuchsbedingungen stärker toxisch als andere Pflanzenöle [1] auf die Testinsekten. Im Gegensatz zu anderen getesteten Ölen zeigte es jedoch kaum Phytotoxizität. (Die Ergebnisse der biologischen Tests und Untersuchungen der Pflanzenschädigungen sind in Tab. II zusammengefaßt.) Die Getreideblattlaus scheint ganz allgemein etwas empfindlicher gegenüber Ölen und terpenoiden Verbindungen zu reagieren als die Erbsenblattlaus. Bei beiden Arten fielen zahlreiche Tiere sofort nach dem Einsprühen von den Pflanzen ab. Nur wenige Insekten schienen abgewandert zu sein, da sehr viele nach den 16 h Versuchsdauer tot unter den Pflanzen aufgefunden wurden.

Vergleicht man die Wirksamkeit des Öls mit der drei Monoterpenhauptkomponenten Limonen (10 in Abb. 1 und Tab. I), Thujon (17) und Carvon (25), so findet man, daß die Verbindungen zwar durchwegs toxisch auf die Läuse wirkten (Tab. II), jedoch nicht die Wirksamkeit der ursprünglichen Öltestlösung erreichten, in der sie nur in Konzentrationen zu ca. 0,04, 0,1 bzw. 0,8% enthalten waren (berechnet aus Tab. I). Zusätzlich wurden α -Pinen (1), Sabinen (4), 1,8-Cinneol (11) und Campher getestet. Letzterer ist in unserem Öl höchstens in Spuren enthalten, wurde jedoch mit geprüft, da, wie bereits eingangs erwähnt, von *C. balsamita* auch ein Campher-Chemotyp existiert.

Tabelle II zeigt ferner, daß die terpenoiden Testverbindungen im Vergleich zum Öl deutlich phytotoxischer wirkten. Während z.B. bei der Behandlung der Pflanzen mit dem Balsamita-Öl nur einzeln kleine Flecken auftraten, fanden wir zum Teil erhebliche Pflanzenschäden bei den Tests mit den Einzelkomponenten.

Verbindung 43 war mit 5,55% eine Hauptkomponente in der Sesquiterpenfraktion des Öls. Die Substanz erschien im Spektrum als ein Kohlenwasserstoff $C_{15}H_{24}$ vom Bisabolentyp, so daß wir das einzige uns zugängliche β -Bisabolen, das jedoch von 43 verschieden ist, auf Insektizidwirkung prüften (Tab. II). β -Bisabolen erreichte jedoch auch nur die Toxizität der anderen geprüften Terpene und bewirkte auch vergleichbare Pflanzenschäden.

Unsere Versuche zeigten, daß keine der geprüften Verbindungen alleine für die Insektizid-Wirksamkeit verantwortlich sein kann. Prinzipiell wäre es möglich, daß ein synergistisches Zusammenspiel dieser oder anderer Substanzen die hohe Toxizität der Ölprobe hervorruft. Die insektizide Wirkung könnte jedoch auch einer der in geringeren Konzentrationen vorhandenen, noch nicht geprüften oder identifizierten Komponenten zukommen. In diesem Fall kann man leicht abschätzen, daß z.B. die Verbindung 43 mit ca. 5% Anteil am gesamten Öl in der zum Test verwendeten Lösung noch bei einer Konzentration von weniger als 0,005% Wirksamkeit

besitzen müßte. Wir gehen zur Zeit dieser Fragestellung nach.

Abschließend sei erwähnt, daß ausgeschlossen werden konnte, daß es sich bei dem Insektizid aus *C. balsamita* Öl um ein Pyrethroiderivat handelt, wie es bei der Gattung *Chrysanthemum* nicht über-

- raschend wäre. Die Spektren der Ölkomponenten wurden speziell auf die Anwesenheit von Pyrethrin I und II, Jasmolin I und II, und Cinerin I und II [25] untersucht, wie sie aus Blütenköpfen der Insektenpulverpflanze *Chrysanthemum cinerariaefolium* Trev. und *C. coccineum* Willd. extrahiert wurden [26].
- [1] I. Mitt.: F. Klingauf, H. J. Bestmann, O. Vostrowsky u. K. Michaelis, Mitt. dtsch. Ges. allg. angew. Entomol. **4**, 123–126 (1983).
 [2] F. Klingauf, H. J. Bestmann u. O. Vostrowsky, XVII International Congress of Entomology, Hamburg, August (1984).
 [3] G. Hegi, Illustrierte Flora von Mitteleuropa, J. F. Lehmanns-Verlag, München (1906–1908).
 [4] M. Wolbis, Acta Pol. Pharm. **36**, 707 (1979).
 [5] G. Jukneviciene, A. Morkunas, N. Stankeviciene, Polez. Rast. Priblat. Respub. Beloruss., Mater. Nauch. Konf., 2nd 1973, S. 299–303 (Publ. 1973).
 [6] R. Zielińska-Sowicka u. M. Wolbis, Herba Polonica, **16**, 286–295 (1970).
 [7] Z. Samek, M. Holub, V. Herout, E. Błoszyk u. B. Drozdz, Coll. Czech. Chem. Commun. **44**, 1468 (1979).
 [8] N. H. Andersen u. M. S. Falcone, J. Chromatogr. **44**, 52–59 (1969).
 [9] R. Ter Heide, J. Chromatogr. **139**, 143 (1976).
 [10] M. H. Klouwen u. R. Ter Heide, J. Chromatogr. **7**, 297–310 (1962).
 [11] W. Jennings u. T. Shibamoto, Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Capillary Gas Chromatography, Academic Press, New York 1980.
 [12] E. Stenhammar, S. Abrahamsson u. W. F. McLafferty, Registry of Mass Spectral Data, J. Wiley & Sons, New York 1974.
 [13] Y. Masada, Analysis of Essential Oils by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, J. Wiley & Sons, New York 1967.
 [14] K. Knobloch, H. Paulini, C. Eley, J. H. Eley, E. Ziegler, H. Brandauer, K. Michaelis u. O. Vostrowsky, Z. Naturforsch. **37c**, 565 (1982).
 [15] E. Sprecher, Deutsche Apotheker Zeitung, Deutscher Apotheker-Verlag, Stuttgart, **103**, 213 (1963).
 [16] A. Nahrstedt, U. Vetter u. F. J. Hammerschmidt, Planta Med. **42**, 313 (1981).
 [17] J. M. Wallace u. R. M. Mansell (eds.), in Recent Advances in Phytochemistry: Biochemical Interaction between Plants and Insects. Plenum Press, New York 1975.
 [18] E. P. Lichtenstein, T. L. Liang, K. R. Schultz, H. K. Schnoes u. G. T. Carter, J. Agric. Food Chem., **11**, 410 (1974).
 [19] J. Meisner, A. Fleischer u. C. Eizick, J. Econ. Entomol. **75**, 462 (1982).
 [20] H. J. Heikkenen u. B. T. Hrutfiord, Science **150**, 1457 (1965).
 [21] R. H. Smith, J. Econ. Entomol. **58**, 509 (1965).
 [22] R. Z. Callaham, in Breeding Pest Resistant Trees (H. D. Gerhold, ed.), p. 197, Pergamon Press, New York 1966.
 [23] O. Vostrowsky, T. Brosche, H. Ihm, R. Zintl u. K. Knobloch, Z. Naturforsch. **36c**, 369 (1981).
 [24] H. Kreimaier, Pharmazie **6**, 27 (1951).
 [25] G. Pattenden, L. Crombie u. P. Hennesley, Org. Mass Spectr. **7**, 719 (1973).
 [26] Pyrethrum Post **7**, 41 (1964); W. Mitchel, Chem. and Ind. **1960**, 356.