

Tab. 2: $^1\text{H-NMR}$ -Daten

Sub- stanz	Meßfre- quenz	Lösungs- mittel	δ (ppm), J (Hz), s = Singulett, d = Dublett, t = Triplett, q = Quartett
2b	100	$\text{CDCl}_3/\text{CCl}_4$ (1 : 1)	1,33 t (2 CH_3 , J = 7,1); 1,48 d (C- CH_3 , $J_{\text{PH}} = 16,4$); 3,34 s (O- CH_3); 3,75 s (COOCH_3); 3,55 dd (CH_B , J = 8,7, $J_{\text{PH}} = 8,5$); 3,90 dd (CH_A , J = 8,7, $J_{\text{PH}} = 8,7$); 4,12 qd (O- CH_2 , J = 7,1, $J_{\text{PH}} = 8,3$); 4,15 qd (O- CH_2 , J = 7,1, $J_{\text{PH}} = 8,3$).
3b	100	$\text{CCl}_4/\text{C}_6\text{D}_6$ (1 : 1)	1,12 t (CH_3 , J = 7,1); 1,14 t (CH_3 , J = 7,1); 1,66 d (C- CH_3 , $J_{\text{PH}} = 15,1$); 1,92 d (S- CH_3 , $J_{\text{PH}} = 0,7$); 2,84 dd (S- CH_B , J = 13,2, $J_{\text{PH}} = 6,5$); 3,50 dd (S- CH_A , J = 13,2, $J_{\text{PH}} = 7,0$); 3,518 s (COOCH_3); 3,521 s (COOCH_3); 3,97 qd (CH_2 , J = 7,1, $J_{\text{PH}} =$ 8,5); 4,03 qd (CH_2 , J = 7,1, $J_{\text{PH}} = 8,5$).

Literatur

- 1 H. Böhme, R. Lauer und R. Matusch, Arch. Pharm. (Weinheim) 312, 49 (1979)
- 2 H. Böhme, H. Fischer und R. Frank, Justus Liebigs Ann. Chem. 563, 54 (1949).

[Ph 962]

Arch. Pharm. (Weinheim) 312, 65–68 (1979)

2-Methylbuttersäure- und 3-Methylbuttersäure-thymylester im ätherischen Öl der unterirdischen Organe von *Arnica alpina* (L.) Olin.

Roswitha Schmitz, Gerhard Schaden und Horst Kating*

Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn, Nußallee 6, 5300 Bonn 1 und
 Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie der Philipps-Universität Marburg,
 Marbacher Weg 6, 3550 Marburg.
 Eingegangen am 13. Februar 1978

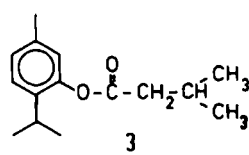
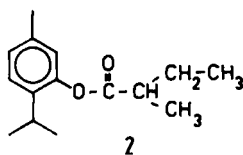
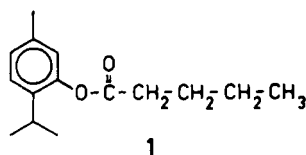
In der Phenolesterfraktion der ätherischen Öle der unterirdischen Organe von *Arnica alpina* (L.) Olin, subsp. *Sornborgeri* (Fernald) Maguire und *A. alpina* (L.) Olin, subsp. *genuina* Maguire wurden mittels gaschromatographisch-massenspektrometrischer Analyse 2-Methylbuttersäure- und 3-Methylbuttersäure-thymylester (2 u. 3) erstmals als Pflanzeninhaltsstoffe nachgewiesen. Beide Ester haben zusammen etwa 20 % Anteil am Gesamtöl der Droge.

Thymyl Esters of 2-Methylbutyric and 3-Methylbutyric Acids in the Essential Oils from Subterranean Parts of *Arnica alpina* (L.) Olin.

Thymyl 2-methylbutyrat (2) und thymyl 3-methylbutyrat (3) were identified in the phenol ester fraction of the essential oils of the rhizomes and roots of *Arnica alpina* (L.) Olin, subsp. *Sornborgeri* (Fernald) Maguire and *A. alpina* (L.) Olin, subsp. *genuina* Maguire by gas chromatography and mass spectrometry. The amount of these esters is about 20 % of the essential oil.

Hauptkomponente des ätherischen Öles der *Arnica chamissonis*-Gruppe (mit 50–60 % Anteil am Gesamtöl) und anderer *Arnica*-Arten ist Isobuttersäure-thymylester¹. Es war zu vermuten, daß weitere Ester von Phenolen in *Arnica*-Arten vorkommen. Aus diesem Grunde untersuchten wir das ätherische Öl der unterirdischen Organe von *A. alpina* subsp. *Sornborgeri*, die im Botanischen Garten der Universität Marburg und im Garten des Institutes für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn kultiviert worden war und die auf einer Sammelexkursion nach Norwegen im Juli 1977 am natürlichen Wuchsort geerntete *A. alpina* subsp. *genuina* auf den Gehalt an Thymolestern.

Das durch Wasserdampfdestillation gewonnene ätherische Öl wurde nach dem bereits früher beschriebenen Trennungsgang²) aufgearbeitet. Nach Entfernung der Fettsäuren, Phenole und Kohlenwasserstoffe wurde die Restfraktion, die vor allem Phenolester und Phenolether enthält, gaschromatographisch-massenspektrometrisch analysiert. Dabei trat neben der Bande des Isobuttersäure-thymylesters, dem Hauptbestandteil des ätherischen Öles, eine weitere Bande auf, deren Massenspektrum die Mollmasse 234 zeigte.



Eine weitere Spitze trat bei 150 auf, wie sie auch beim Isobuttersäure-thymylester gefunden wurde. Dies ließ auf das Vorhandensein eines Thymylesters schließen, was durch ein weiteres Signal bei 135 bestätigt wurde. Das Ion bei der Massenzahl 57 spricht für das Vorkommen einer C₄-Gruppe im Molekül. Aus diesen Daten ergibt sich die Struktur eines Valeriansäurethymyl- oder -carvacrylesters. Bei der alkalischen Verseifung und Aufarbeitung des ätherischen Öles konnte jedoch nur Thymol und kein Carvacrol gefunden werden. Somit konnte ein Carvacrolerivat ausgeschlossen werden. Es blieben als mögliche Verbindungen n-Valeriansäure-thymylester (1), 2-Methylbuttersäure-thymylester (2) und 3-Methylbuttersäure-thymylester (3) übrig. Zur Unterscheidung zwischen diesen drei Möglichkeiten wurden die Verbindungen synthetisiert und die obengenannte Restfraktion des ätherischen Öles unter Zumischen von 1, 2 und 3 gaschromatographisch untersucht. Dabei konnte das Vorkommen von 1 auf-

grund der längeren Retentionszeit ausgeschlossen werden. 2 und 3 trennten sich jedoch auf der mit OV 17 belegten Glaskapillarsäule nicht, besaßen aber dieselbe Retentionszeit wie der zu identifizierende Ester. Eine Trennung von 2 und 3 wurde auf einer XE-60-Säule erreicht. Durch diese Säule wurden auch die Esterfraktionen der beiden *A. alpina*-Unterarten gegeben, wobei im Bereich des unbekannten Esters an Stelle von einer nun zwei Banden auftraten. Diese konnten durch Zumischen von 2 und 3 und aufgrund der Massenspektren als 2-Methylbuttersäure-thymylester (2) und 3-Methylbuttersäure-thymylester (3) identifiziert werden, und zwar bei der Unterart *Sornborgeri* in einem Verhältnis von ca. 9:1. Ob es sich bei der als Esterkomponente auftretenden 2-Methylbuttersäure, die optisch aktiv ist, um die D- oder L-Form, oder um ein Gemisch der beiden handelt, die alle in Pflanzen nachgewiesen wurden³⁾, bedarf noch einer weiteren Überprüfung.

Der Anteil der beiden Methylbuttersäure-thymylester beträgt bei den sofort nach der Trocknung destillierten unterirdischen Organen von *A. alpina* subsp. *Sornborgeri* ca. 20 % vom Gesamtölgehalt (äther. Ölgehalt = 1,4 %). Neben Isobuttersäure-thymylester (ca. 70 % Anteil am Gesamtöl) gehören die beiden beschriebenen Ester zu den Hauptkomponenten des ätherischen Öles der unterirdischen Organe von *A. alpina*. Nach einjähriger Lagerzeit verringert sich der ätherische Ölgehalt auf 0,7 %. Gleichzeitig sinkt mit fortschreitender Lagerdauer der Gehalt an Thymolestern bei gleichzeitigem Anstieg des Thymolgehaltes⁴⁾. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei *A. alpina* subsp. *genuina*, deren ätherischer Ölgehalt nach halbjähriger Lagerung von 1,4 auf 0,9 % sinkt. In Mengen bis zu 1 % konnten die neuen Thymolester auch bei *A. amplexicaulis*, *A. chamissonis*, *A. montana* und *A. sachalinensis* nachgewiesen werden.

Herrn Dr. H. Heltmann, Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Bonn, danken wir für die Leitung der Exkursion nach Nord-Norwegen zur Beschaffung des *Arnica alpina*-Materials sowie für die Anzucht eines großen Teiles des Untersuchungsmaterials.

Experimenteller Teil

Zur Untersuchung gelangten die getrockneten unterirdischen Organe von *Arnica alpina* (L.) Olin, subsp. *genuina* Maguire⁵⁾ = *Arnica angustifolia* Vahl, subsp. *alpina* (L.) I.K. Ferguson⁶⁾, die im Juli 1977 am natürlichen Wuchsort in Kvaenangen am Corrovarre in Norwegen gesammelt wurden. Die unterirdischen Organe von kultivierter *A. alpina* (L.) Olin, subsp. *Sornborgeri* (Fernald) Maguire wurden im Spätsommer 1975 im Botanischen Garten Marburg sowie im Juli 1977 im Garten des Institutes für Pharmazeutische Biologie in Bonn geerntet. Sie wurden bei 35° im Umlufttrockenschrank 10 Std. getrocknet und dann in pergamentierten Papiertüten bei 15° gelagert. Zur Gewinnung des ätherischen Öles wurden 100 g Trockenmaterial fein gemahlen, in einem 6 l-Schliffkolben mit 3 l Wasser übergossen und mit Hilfe der Karlsruher Apparatur nach Stahl 6 Std. in eine Pentanvorlage destilliert. GC: Carlo Erba Gaschromatograph Fraktovap 2400 T mit Flammenionisationsdetektor. Gc-ms: Varian MAT 111. Säulen: 1: Glaskapillarsäule 50 m x 0,25 mm, mit OV 17 belegt. Temp.: 15 min. bei 100° isotherm, pro 1 min. je 5° ansteigend bis 220°, 30 min. bei 220° isotherm. 2: 4 m x 1/8 Zoll, 2,5 % OV 17 auf Chromosorb® G-AW-DMCS 80–100 mesh. Temp.: 15 min bei 60° isotherm, pro min. je 2° ansteigend bis 250°. Auf diesen

Säulen erfolgte die Auftrennung der Phenolesterfraktion sowie die Trennung von Thymol und Carvacrol. 3: 5 m x 1/8 Zoll, 2,5 % XE auf Chromosorb® G-AW-DMCS 80–100 mesh. Temp.: 115° isotherm. Mit dieser Säule konnten 2 und 3 getrennt werden. MS von 2 und 3: m/e: 234 (2): 150 (43), 135 (62), 57 (100) (%). MS von Isobuttersäure-thymylester: m/e: 220 (4): 150 (42), 135 (73), 43 (100) (%). DC: Kieselgel HF 254 Fertigplatten (Merck); Fließmittel: Petrolether 40–60°/Ether = 90/10; Laufzeit: ca. 60 min.; Detektion: Vanillin/Schwefelsäure. Isobuttersäure-thymylester und 2- bzw. 3-Methylbuttersäure-thymylester besitzen die Rf-Werte 0,77 bzw. 0,84.

Synthese von 1, 2 und 3

Zu einer Lösung von 0,1 mol Thymol, gelöst in 50 ml Benzol, wurden unter Rühren und Feuchtigkeitsausschluß 0,125 mol Säurechlorid zugetropft und das Gemisch 6 Std. unter Rückfluß und weiterem Rühren erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde die Reaktionslösung dreimal mit jeweils 30 ml 2proz. Natronlauge und zweimal mit je 30 ml Wasser ausgeschüttelt, über Na₂SO₄ getrocknet, i. Vak. eingedampft und destilliert. 1: Sdp.₁₅: 154–155°; 2: Sdp.₁₅: 147°; 3: Sdp.₁₅: 148–149°.

Literatur

- 1 W. Rinn, *Planta Med.* 18, 147 (1970).
- 2 H. Kating, W. Rinn und F. Seidel: *Abhandlungen der Marburger Gelehrten Gesellschaft* 1971, Nr. 4, Wilhelm Fink Verlag, München 1973.
- 3 E. Gildemeister und Fr. Hoffmann: *Die ätherischen Öle*, hrsg. von W. Treibs, Band III d, S. 78, Akademie Verlag, Berlin 1966.
- 4 R. Schmitz und H. Kating: *Planta Med.* 31, 311 (1977).
- 5 B. Maguire; *Brittonia* 4, 407 (1943).
- 6 I.K. Ferguson, *Flora Europaea* 4, 189 (1976).

[Ph 963]