

Isolierung von Sesquiterpenoiden aus *Matricaria chamomilla* durch Kombination chromatographischer Methoden

Benedikt Slavik^a, Simon Roehrer^b, Helene M. Loos^{a,c}, Mirjana Minceva^b und Andrea Buettner^{*a,c}

^a Lehrstuhl für Aroma- und Geruchsforschung, Department Chemie und Pharmazie, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg (FAU), Henkestraße 9, 91054 Erlangen
^b Biothermodynamik, Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt, Technische Universität München, Maximus-von-Imhof-Forum 2, 85354 Freising
^c Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung (IVV), Giggenhauser Str. 35, 85354 Freising

Einleitung

Im Bereich der Aroma- und Geruchsforschung, ebenso bei physiologischen oder (bio-)chemischen Untersuchungen, ist es von essentieller Bedeutung, die zu untersuchenden Substanzen in möglichst hoher Reinheit vorliegen zu haben, da potente Stoffe die Messergebnisse bereits in niedrigsten Konzentrationen verändern können. Naturstoffe, deren Synthese teils sehr hohe Anforderungen stellt, können durch Top-down-Prozesse gewonnen werden, wobei eine Möglichkeit in der Isolierung der Zielsubstanzen durch Kombination verschiedener chromatographischer Methoden besteht. Sesquiterpene, eine aus drei Isopren-Einheiten aufgebaute Naturstoffklasse, stellen aufgrund ihrer komplexen und vielfältigen Struktur eine besondere Herausforderung in der Isolierung dar. In der volatilen Fraktion der Echten Kamille (*Matricaria chamomilla*) findet sich ein hoher Anteil dieser Stoffe wieder, weshalb diese Pflanze als Grundlage für die Entwicklung einer Methode zur Isolierung von Sesquiterpenoiden diente.



Material und Methoden

Getrocknete Kamillenblüten, welche auch in Teezubereitungen verwendet werden, wurden homogenisiert und mit Dichlormethan (DCM) extrahiert. Mit Hilfe von Solvent Assisted Flavor Evaporation (SAFE)¹ wurden die flüchtigen Bestandteile von der Matrix getrennt und anschließend mit einer GC-MS-Analyse untersucht.

Für die Countercurrent Chromatography (CCC), zu deutsch Gegenstromverteilungschromatographie, wurden Simulationen zur Optimierung des Lösungsmittelsystem durchgeführt.² Die Trennung der Komponenten wurde dann zunächst im Labormaßstab durchgeführt, wobei eine GC-MS Offline-Analyse zur Erstellung des Elutionsprofils der Zielkomponenten diente.

Die Ergebnisse dienten als Grundlage für ein Scale-up auf ein semipreparatives Centrifugal Partition Chromatography (CPC) System. Co-eluierende Substanzen wurden für die Silikagel- als auch durch Gel-Permeations-Chromatographie (GPC) eingesetzt. Eine Übersicht der Methoden ist in Schema 1 dargestellt.

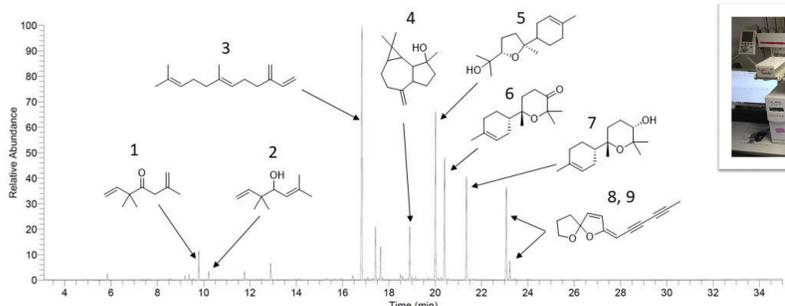


Abbildung 1: GC-Chromatogramm des Kamillen-Destillates, welches nach der SAFE erhalten wurde. Messparameter: DB-5 Säule, 2 µL Injektion im split modus (5:1), 40 °C für 1 min, 8 °C/min bis 300 °C, hold time 3 min, Elektronenstoßionisation (EI), 70 eV; 1 = Artemisia ketone, 2 = Artemisia alcohol, 3 = (E)-β-Farnesen, 4 = Spathulenol, 5 = α-Bisabololoxid B, 6 = α-Bisabololoxid A, 7 = α-Bisabololoxid A, 8/9 = (Z/E)-en-yn-dicycloether.

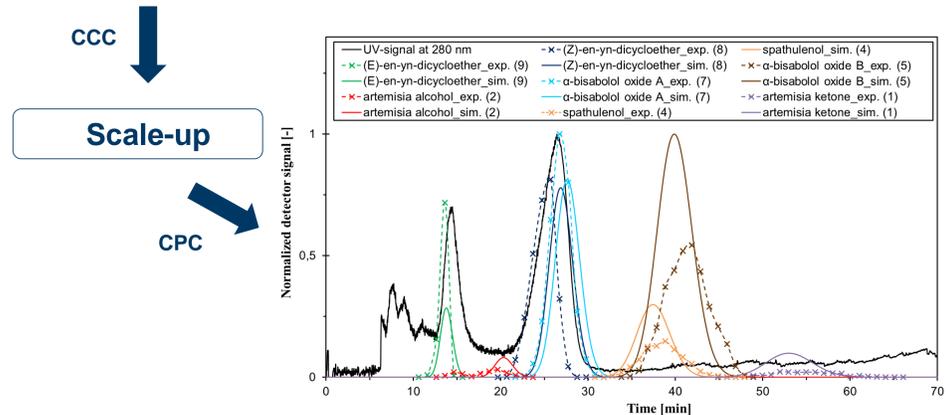
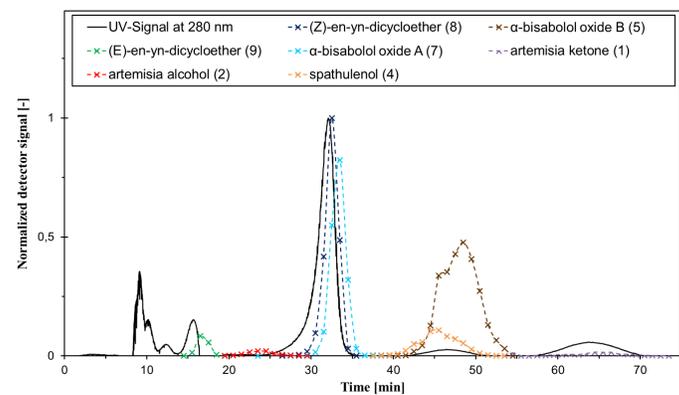
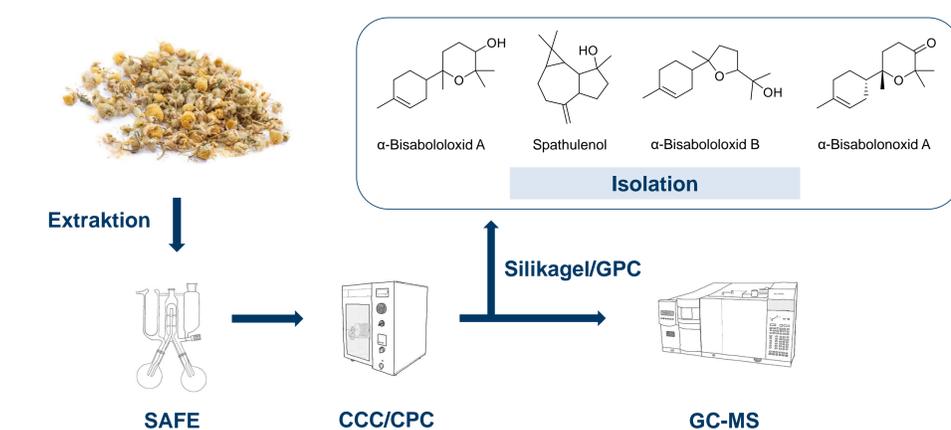


Abbildung 2: Offline-Chromatogramme aus der CCC- (links oben) und CPC- (rechts unten), Trennung des Kamillenextrakt-Destillates mit dem Lösungsmittel-System Arizona S (*n*-Heptan/Ethylacetat/Methanol/Wasser 5/2/5/2 v/v/v/v) bei einer Wellenlänge von 280 nm (schwarze Linie), einschließlich der GC-MS Offline-Analyse der gesammelten Fraktionen (gestrichelte farbige Linien) und das simulierte Chromatogramm (durchgezogene farbige Linien), Säulenvolumen CCC = 19 mL, CPC = 250 mL.



Schema 1: Die Aufarbeitung beinhaltete eine Homogenisierung und Extraktion der Kamillenblüten mit DCM, sowie anschließend eine Isolierung der volatilen Bestandteile durch SAFE. Das Destillat wurde durch GC-MS genauer charakterisiert (Abbildung 1). Durch CCC/CPC konnte eine Auftrennung der Zielkomponenten erreicht werden, die Analyse der Fraktionen geschah ebenfalls mit Hilfe von GC-MS (Abbildung 2). Anschließend erfolgte eine weitere Trennung der co-eluierenden Stoffe mit Silikagel-Chromatographie und GPC.

Ergebnisse und Diskussion

Das Destillat, welches nach der SAFE gewonnen wurde, enthielt zu großen Anteilen Sesquiterpene und Sesquiterpenoide (Abbildung 1).

Ein Scale-up von einem CCC- auf ein CPC-System lieferte identische Ergebnisse in der Auftrennung der Komponenten (Abbildung 2). Die co-eluierenden Substanzen konnten erfolgreich mit Silikagel- und Gel-Permeations-Chromatographie getrennt werden.

Die isolierten Sesquiterpenoide dienen als Grundlage für weitergehende physiologische Untersuchungen.

Literatur und Danksagung

- Engel, W.; Bahr, W.; Schieberle, P. *Eur Food Res Technol* **1999**, 209 (3-4), 237-241.
- Ito, Y. *J Chromatogr A* **2005**, 1065 (2), 145-68.

Die Studie wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) finanziert (BU 1351/17-1).

