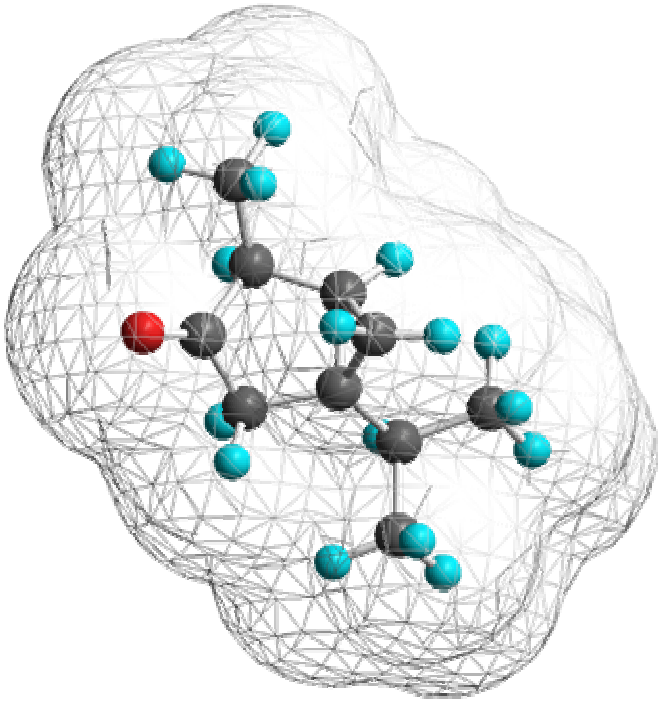
# Extraktion des Naturstoffes Thujon aus Wermutkraut, Thuja und Salbei mit anschließender NMR-spektroskopischer Struktur- und Isomerieaufklärung

Besondere Lernleistung



eingereicht von

Stefan Döge und Igor Kunze

Fachbereich: Chemie

Interner Betreuer:
Frau Evelin Mietschke

Externer Betreuer:
Prof. Dr. Stefan Berger
Institut für Analytische Chemie
Universität Leipzig

Wilhelm-Ostwald-Gymnasium Leipzig, 2005-07

**Bibliografische Beschreibung:**

Döge, Stefan und Kunze, Igor:
Extraktion des Naturstoffes Thujon aus Wermutkraut (*artemisia absinthium*), Thuja (*thuja occidentalis*) und Salbei (*salvia officinalis*) mittels Wasserdampf-destillation, Gaschromatografie, HPLC und Drehbandkolonnendestillation, sowie anschließende Struktur- und α/β-Isomerieaufklärung mithilfe von 400 MHz und 700 MHz NMR-Spektrometern.

45 Seiten und 67 Seiten Anhang

# Inhaltsverzeichnis


| | | |
|---|---|---|
| 1 | Referat, Abstract, Abkürzungsverzeichnis | 4 |
| 2 | Vorwort | 6 |
| 3 | Die Stoffgruppe der Terpene | 7 |
| 3.1 | Thujon | 8 |
| 4 | Verwendete Pflanzen | 10 |
| 4.1 | Wermutkraut (*artemisia absinthium*) | 10 |
| 4.2 | Thuja (*thuja occidentalis*) | 12 |
| 4.3 | Salbei (*salvia officinalis*) | 13 |
| 5 | Destillationsverfahren | 14 |
| 5.1 | Drehbandkolonnendestillation | 14 |
| 5.2 | Wasserdampfdestillation und Nachbearbeitung | 15 |
| 6 | NMR-Spektroskopie | 18 |
| 6.1 | Grundlagen der NMR-Spektroskopie | 18 |
| 6.2 | Grundlagen für die Spektrenauswertung | 23 |
| 6.3 | 2D-Spektrenarten | 25 |
| 7 | Chromatografiemethoden | 28 |
| 7.1 | Dünnschichtchromatografie (DC) | 28 |
| 7.2 | Gaschromatografie (GC) | 30 |
| 7.3 | Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC) | 31 |
| 8 | Extraktion des Thujons | 33 |
| 9 | NMR-Auswertung | 34 |
| 9.1 | Strukturaufklärung des α- und β-Thujons | 34 |
| 9.2 | Isomerieaufklärung | 39 |
| 10 | Fazit | 40 |
| 11 | Quellenverzeichnis | 41 |
| 12 | Anlagenverzeichnis | 43 |
| 13 | Selbstständigkeitserklärung | 44 |
| 14 | Danksagung | 45 |

# 1 Referat, Abstract, Abkürzungsverzeichnis


## Referat

Die Legalisierung der Spirituose Absinth wurde in den vergangenen Jahrzehnten kontrovers diskutiert. Absinth war in den meisten europäischen Ländern nach einem tragischen Vorfall in der Schweiz im Jahr 1905 verboten worden. Dem neurotoxischen Monoterpen-Keton Thujon, als psychoaktive Substanz in der Spirituose enthalten, wurden lange Zeit die negativen Wirkungen des Absinth auf Körper und Geist zugeschrieben. Diese Theorie konnte jedoch in neuen wissenschaftlichen Studien widerlegt werden. Trotzdem dachten wir uns, es sei ein interessanter Stoff für unsere Untersuchung. Deshalb wählten wir es als Thema für unser obligatorisches wissenschaftliches Projekt in der elften Klasse des Wilhelm-Ostwald-Gymnasiums Leipzig. Im Jahr 2007 bringen wir diese Arbeit als „Besondere Lernleistung“ in unser Abitur ein.
Thujon kommt nicht nur im Wermutkraut (*artemisia absinthium*), einem Bitterkraut aus der *Asteraceae* Familie und Hauptzutat im Absinth, vor.
Man kann es auch in C*upressaceae*, wie zum Beispiel der *thuja occidentalis* (bekannter als Thujahecke) und in Salbei (*salvia officinalis*) aus der *Lamiaceae* Familie finden.
Unser Hauptziel war es Thujon aus diesen Pflanzen mittels Wasserdampf-destillation, Gaschromatografie und Hochleistungsflüssigkeitschromatografie zu extrahieren und anschließend seine Struktur mit NMR-Spektroskopie zu untersuchen.
Im Folgenden haben wir die experimentellen Ergebnisse und wissenschaftlichen Schlussfolgerungen dargelegt.

## Abstract

The legalization of the liquor absinthe has been controversely debated during the past decades. Absinthe was prohibited in most European countries following a tragic incident in Switzerland in 1905. The neurotoxic monoterpene-ketone thujone as a psyco-active substance in the liquor has been widely credited with the negative influence of absinthe on the human body and mind. This theory was disproven in recent scientific studies. However, we thought it was an interesting substance to investigate. Thus we chose it as the topic for our mandatory science

project in year 11 at Wilhelm Ostwald High School in Leipzig. In 2007 we will make this work part of our final Abitur grade.

Thujone cannot only be found in wormwood (*artemisia absinthium*), a bitter herb of the *asteraceae* family and a main ingredient in absinthe.

It is also found in *cupressaceae*, such as *thuja occidentalis,* and in sage (*salvia officinalis*) of the *lamiaceae* family.

Our main goal was to extract thujone from these plants by steam distillation, gas-chromatography, and high performance liquid chromatography, and to subsequently investigate its structure and isomers by nuclear magnetic resonance spectroscopy.

The following work is a detailed presentation of our experimental results and scientific reasoning.

**Abkürzungsverzeichnis**

| | |
|---|---|
| APT | **A**ttached **P**roton **T**est |
| BeLL | **Be**sondere **L**ern**l**eistung |
| C | Kohlenstoff |
| CAS | **C**hemical **A**bstracts **S**ervice |
| $CDCl_3$ | deuteriertes Chloroform (Trichlormethan) |
| $CH_2Cl_2$ | Dichlormethan (Methylenchlorid) |
| COSY | **Co**rrelated **S**pectroscop**y** |
| HMBC | **H**eteronuclear **M**ultiple **B**ond **C**orrelation |
| HSQC | **H**eteronuclear **S**ingle **Q**uantum **C**oherence |
| NOESY | **N**uclear **O**verhauser **E**nhancement **S**pectroscop**y** |
| D | Deuterium |
| DC | **D**ünnschicht**c**hromatografie |
| GC | **G**as**c**hromatografie |
| H | Wasserstoff |
| HPLC | engl.: **h**igh **p**erformance **l**iquid **c**hromatography<br>(dt.: Hochleistungsflüssigkeitschromatografie) |
| IUPAC | **I**nternational **U**nion of **P**ure and **A**pplied **C**hemistry<br>(dt.: Internationale Union für reine und angewandte Chemie) |
| MHz | Megahertz |
| NMR | engl.: **n**uclear **m**agnetic **r**esonance (Kernmagnetresonanz) |
| ppm | **p**arts **p**er **m**illion (Millionstel) |
| T | Tritium |
| TMS | **T**etra**m**ethyl**s**ilan |

## 2 Vorwort

Wer kennt ihn nicht, den Absinth, ein Likör, der aus dem Wermutkraut hergestellt wird und von zahlreichen Legenden umgeben ist? Es heißt, wenn man ihn trinkt, wird man von der Grünen Fee geküsst. Künstler wie Vincent van Gogh, Pablo Picasso und Oscar Wilde haben sich dieser Spirituose hingegeben und sind vielleicht auch durch sie zu einem Kunstwerk inspiriert worden. Der Maler Albert Maignan (1845-1908) setzte dem Absinth mit seinem Gemälde „Die Grüne Fee" ein Denkmal, Edouard Manet (1832-83) malte 1859 das Bild „Der Absinthtrinker“.
Doch nach einem tragischen Mord in der Schweiz im Jahr 1905, der auf überhöhten Absinthkonsum zurückgeführt wurde, folgte das Verbot von Absinthherstellung und Absinthimport in fast allen europäischen Ländern und in Nordamerika. Seit 1981 kann man in Deutschland wieder Absinth kaufen, seit 1991 nach EU-Recht auch in den anderen EU-Ländern. Seitdem hat der Absinth auch die Wissenschaft beschäftigt.
Woher kommt die Grüne Fee, die das Getränk so bekannt und beliebt gemacht hatte? Kommt sie aus dem Thujon, das im ätherischen Öl des Wermuts enthalten ist, oder ist sie doch nur eine Erscheinung völliger Trunkenheit?
Neuere Forschungen haben die These, dass Thujon ein Hauptwirkstoff im Absinth ist und abhängig macht, widerlegt. Thujon ist zwar ein Nervengift, aber im Absinth gar nicht in ausreichender Menge enthalten, um Halluzinationen hervorrufen zu können [Roth, 2005].
Wir hatten uns zur Aufgabe gemacht, Wermutöl aus Wermutkraut mithilfe der Wasserdampfdestillation zu extrahieren und zu ergründen, mit welchen wissenschaftlichen Methoden man am besten die übrigen Ölbestandeile abtrennt, um möglichst reines Thujon für die Strukturanalyse zu erhalten.
Besondere Aufmerksamkeit galt der Trennung der beiden Isomere α- und ß-Thujon.
Anschließend analysierten wir die Struktur des gewonnenen Thujons mithilfe der Kernspinresonanzspektroskopie.
Die Beschäftigung mit diesem Thema hat uns nicht nur einer interessanten chemischen Substanz näher gebracht, sondern uns ebenso unfangreiches Wissen über wissenschaftliche Arbeitsmethoden vermittelt und einen Einblick in das Universitätsleben gegeben.

Die Verfasser
Leipzig, den 10. Januar 2007

# 3 Die Stoffgruppe der Terpene

Terpene sind eine Untergruppe der Terpenoide und gehören zu den sekundären Naturstoffen. Sie sind meist pflanzlicher, selten tierischer Herkunft und werden durch Biosynthese gebildet. Es gibt über 2000 Pflanzenarten aus etwa 60 Familien, die Terpene produzieren. Die Stoffgruppe der Terpene ist groß und stark heterogen, bis heute sind etwa 8.000 Terpene und 30.000 Terpenoide bekannt. In der Natur kommen hauptsächlich Alkohol-, Glycosid-, Ether-, Aldehyd-, Keton-, Carbonsäure- und Esterterpene vor, aber auch weitere Stoffgruppen sind unter den Terpenen zu finden. Sie gehören zu den einfachen Lipiden (Lipoiden).

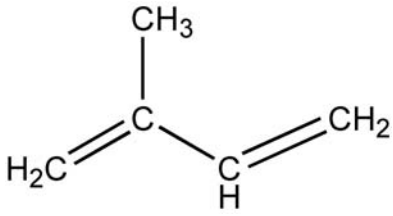


Abb. 7.1 Isopren

Trotz der Vielfalt gibt es gemeinsame Grundmerkmale. Der Grundbaustein der Terpene ist das Isopren (2-Methyl-buta-1,3-dien oder Isopentylen) und die Anzahl der Kohlenstoffatome ist durch fünf teilbar ($C_5$-Regel). Die Terpene lassen sich deshalb formal als Oligomere des Isoprens auffassen.

Terpene kommen in der Natur als Hauptbestandteile der von den Pflanzen produzierten ätherischen Ölen vor. Sie werden zum Beispiel als Geruchs- und Geschmacksstoffe in Kosmetika oder zur umweltfreundlichen Insekten-bekämpfung verwendet. Sie finden ebenfalls Anwendung als Lösungsmittel, Weichmacher und Antioxidantien.

Allerdings geht von manchen Terpenen eine Gesundheitsgefährdung aus.

Benannt wurden die Terpene von August Kekulé nach dem Baumharz Terpentin, seitdem wurde die Bedeutung des Begriffes jedoch stark erweitert.

Die Erforschung der Terpene gestaltete sich schwierig und trotz intensiver Forschungsarbeit waren lange Zeit nur wenige niedere Terpene beschrieben. Der Chemiker Otto Wallach (Nobelpreis für Chemie 1910) stellte 1887 die „Biogenetische Isoprenregel" auf, 1922 machte Leopold (Lavoslav) Stjepan Ružicka (Nobelpreis für Chemie 1939) sie unter ebendiesem Namen bekannt. Die ersten neun Terpene konnten im Jahr 1892 von Wallach eindeutig identifiziert werden.

## 3.1 Thujon

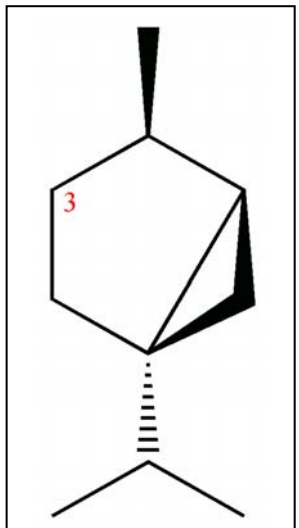


Abb. 8-1 trans-Thuian

Thujon ist ein bicyclisches Monoterpen-Keton. Es leitet sich von der bicyclischen Monoterpenstammverbindung (trans)-Thujan ab. Monoterpene, von denen etwa 900 bekannt sind, bilden zusammen mit den Sesquiterpenen die Hauptbestandteile der ätherischen Öle.
Sie bestehen aus zwei Isopreneinheiten (→ $C_{10}$).
Der Unterschied des Thujons zum (trans)-Thujan besteht darin, dass das C3-Atom nicht zwei Wasserstoffatome trägt, sondern mit einem Sauerstoffatom eine Carbonylgruppe bildet, weshalb es auch als Keton betrachtet werden kann.
Thujon ist eine farblose Flüssigkeit, hat einen mentholartigen Geruch, eine molare Masse von 152,2 $g*mol^{-1}$ und eine Dichte von 0,9109 $g*cm^{-3}$. Es siedet bei 201°C.
Hauptsächlich kommt es in Thuja, Wermutkraut (bei beiden vorrangig ß-Thujon) und Salbei (siehe *4. Verwendete Pflanzen*) vor [Pinto-Scognamiglio, 1967].
Diese drei Pflanzen sind jedoch nicht näher miteinander verwandt. Wermutkraut gehört zur Familie der Korbblütengewächsen, Salbei zu den Lippenblütengewächsen und Thuja ist ein Zypressengewächs.
Das erste Mal wurde es von Otto Wallach im *thuja occidentalis* nachgewiesen und die Struktur wurde 1900 von Friedrich Wilhelm Semmler aus Greifswald aufgeklärt.
Das Thujon hat drei Stereozentren am C1-, C4- und am C5-Atom. Für die Existenz der beiden Isomere ist das C4-Zentrum verantwortlich, denn dieses ändert sich, während die anderen nur in einer Form auftreten.
Die beiden Isomere sind keine Enantiomere, da sie keine Spiegelbilder voneinander darstellen. Selbst wenn man sie dreht oder spiegelt, werden sie nicht deckungsgleich. Vielmehr sind sie Diastereomere und man kann sie sich als cis- und trans-Isomere vorstellen, wobei α-Thujon das cis- und ß-Thujon das trans-Isomer darstellt (vgl. Anhang C, α-/ß-Thujon).

Systematischer (IUPAC) Name für α-Thujon [(-)-Thujon]:
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-on, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1S, *4R*, 5R)
CAS-Nr. 546-80-5

Systematischer (IUPAC) Name für ß-Thujon [(+)-Isothujon]:
Bicyclo[3.1.0]hexan-3-on, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1S, *4S*, 5R)
CAS-Nr. 471-15-8

Die wichtigsten Eigenschaften des Thujons auf einen Blick:

| | |
|---|---|
| **Name** | Thujon |
| **Isomere** | α-Thujon und ß-Thujon |
| **Trivialnamen** | 3-Thujanon, Absinthol |
| **IUPAC Name** | Bicyclo[3.1.0]hexan-3-on, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1S, *4R*, 5R) (α), Bicyclo[3.1.0]hexan-3-on, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (1S, *4S*, 5R) (ß) |
| **Summenformel** | $C_{10}H_{16}O$ |
| **CAS-Nr.** | CAS-Nr. 546-80-5 (α), CAS-Nr. 471-15-8 (ß) |
| **Dichte** | 0,9109 $g*cm^{-3}$ |
| **Siedetemperatur** | 201°C |
| **Molare Masse** | 152,2 $g*mol^{-1}$ |
| **Aggregatzustand bei 25°C** | flüssig |
| **Löslichkeit** | Wasser - nein, Ethanol, Chloroform, Diethylether - gut |
| **Kurzbeschreibung** | farblose, klare Flüssigkeit, riecht mentholartig |

# 4 Verwendete Pflanzen

## 4.1 Wermutkraut

### Vorkommen und Beschreibung

Abb. 10-1 Wermutkraut

Wermut oder Wermutkraut (*artemisia absinthium* L.) ist eine Pflanze der Gattung Artemisia in der Familie der Korbblütengewächse (*Asteraceae* oder *Compositae*).

Man findet es vor allem auf kalkhaltigen und nährstoffreichen Böden in trockenen Lagen. Hauptverbreitungsgebiete der Pflanze sind Südeuropa, Nord- und Südamerika, sowie Asien.
Sie erreicht eine Höhe von bis zu einem Meter und hat weißgraue filzige Blätter. Der Stängel ist silbergrün, gerillt, verzweigt und reich beblättert. Die gelben Blüten befinden sich in kleinen zu Rispen angeordneten Körbchen.
Das Wermutkraut blüht zwischen Juli und September. Es zählt zu den bittersten bekannten Kräutern. Daher rührt auch die Bezeichnung Wermutstropfen, die für Bitterkeit und Trauer steht und rege Verwendung in der Literatur und Poesie findet.
Wermut enthält bis zu 1,5% ätherisches Öl, welches aus ungefähr 8 Zehnteln aus Thujon besteht kann. Beim Wermut überwiegt das β-Thujon, das Isomer α-Thujon ist aber ebenfalls enthalten.

### Geschichte

Das Wermutkraut ist die Pflanze der Göttin altgriechischen Artemis (von ihr leitet sich der lateinische Name der Pflanze ab), die für Morde verantwortlich war. Während der griechisch-römischen Antike wurde Wermut als Gegengift und Abtreibungsmittel verwendet.
Der englische Name für Wermut, *wormwood* (Wurmholz), lässt darauf schließen, dass es vor über einem Jahrtausend auch in der Bekämpfung von Parasiten im Körper zum Einsatz kam.
Im 17. Jahrhundert wurde es als Insektengift eingesetzt.

Der Schweizer Pierre Ordinaire destillierte 1792 in Neuchâtel einen Wermutlikör mit Zusätzen von Anis, Melisse und Kamille.

Im Jahr 1797 eröffneten Henri Louis Pernod und Daniel Henri Dubied die erste Absinthdestille in Couvet. Der Absinth, dessen Hauptzutat das Wermutkraut ist, wurde ein sehr beliebtes und weit verbreitetes Getränk, zuerst und vor allem in Frankreich, später auch in vielen anderen europäischen Ländern. Beim Genuss dieses hochalkoholischen Getränks (damals enthielt es 68-72 Vol.-% Ethanol) soll dem Trinker angeblich die Grüne Fee (frz.: *la fée verte*) erschienen sein und ihn inspiriert haben. Selbst berühmte Künstler wie Vincent van Gogh, Picasso und Oscar Wilde gaben sich dem Wermut hin und wurden von ihm vielleicht sogar angeregt. Fakt ist, dass ein übermäßiger Absinthkonsum zu schweren Vergiftungen führte, was von Émile Zola in „L'Assommoir" (frz. die Schnapsbude) beschrieben wurde. Dies und ein tragischer Mordfall in der Schweiz, der auf überhöhten Absinthkonsum zurückgeführt wurde, waren letztendlich ausschlaggebend für ein völliges Absinthverbot, zuerst in der Schweiz (1910), später in Frankreich (1915), Deutschland (1923) und anderen europäischen Ländern, sowie in Nordamerika. In Frankreich sagte man, dass er [der Absinth] Verrückte und Kriminelle hervorbringt, aus dem Menschen ein Tier macht und unsere Zukunft bedroht (... *qu'elle rend fou et criminel, fait de l'homme une bête et menace l'avenir de notre temps*). Die giftige Wirkung wurde unter anderem dem im Wermut enthaltenen Thujon, einem bicyclischen Monoterpen, zugeschrieben. Thujon ist ein Nervengift, das beim Brennvorgang mit in den Absinth gelangt. Neuere Untersuchungen (u.a. Roth, 2005) zeigen aber, dass man beim hohen Alkoholgehalt des Getränks eher dem Alkoholtod erlegen wäre, als vom Thujon in einen berauschten Zustand versetzt worden zu sein. Die Grüne Fee steckte also nicht im Thujon. Dieser Stoff ist somit auch nicht für die geistigen und körperlichen Aussetzer der Absinthtrinker verantwortlich.

Es muss außerdem in Betracht gezogen werden, dass damals dem Absinth giftige Chemikalien, wie z.B. Kupfer(II)-sulfat ($CuSO_4$), beigemischt wurden, um sein Aussehen zu verbessern.

Mittlerweile kann Absinth in vielen Ländern wieder legal erworben werden, seit Anfang der 1990er Jahre auch wieder in den EU-Ländern.

Allerdings unterscheidet sich der modern Absinth vom Original in der Hinsicht, dass nur noch etwa 40 Vol.-% Alkohol enthalten sind. Strenge Auflagen wurden für den Thujongehalt im Absinth festgesetzt. Die Höchstgrenze für beide Isomere zusammen liegt nun bei 35 mg/l für hochprozentige Spirituosen.

Dieser Grenzwert wird aber laut verschiedenen Untersuchungen nicht annähernd erreicht (u.a. Lachenmeier, 2004).

In der Medizin findet Wermut heute begrenzte Anwendung. Es wird unter anderem zur Anregung der Magenfunktion und zur Einleitung der Geburt verwendet. Wermuttee wird bei Appetitlosigkeit, Magenbeschwerden, Erbrechen und Durchfall verabreicht, wird jedoch besonders bei schwangeren Frauen nicht empfohlen, da er den Fötus schädigen kann.
Wie bereits oben erwähnt, fand der Wermut vermutlich auch Anwendung als Entwurmungsmittel.

## 4.2 Thuja (Lebensbaum)

**Vorkommen und Beschreibung**

Abb. 12-1 Thujaästchen

Lebensbäume (*thuja*) sind eine Gattung in der Familie der Zypressengewächse (*Cupressaceae*) innerhalb der Nadelholzgewächse (*Pinophyta*).
In dieser Gattung gibt es fünf Arten:

- Korea-Lebensbaum (*thuja koraiensis*)
- Abendländischer Lebensbaum (*thuja occidentalis*)
- Riesenlebensbaum (*thuja plicata*)
- Japanischer Lebensbaum (*thuja standishii*)
- Sichuan-Lebensbaum (*thuja sutchuenensis*)

Alle dieser Arten sind allgemein in Kultur, außer der letztgenannten. Vor allem der abendländische Lebensbaum (*thuja occidentalis*) erfreut sich großer Beliebtheit als Heckenpflanze.
Im Lebensbaum *thuja occidentalis* ist das bicyclische Monoterpen Thujon enthalten, welches aus dieser Pflanze erstmals um 1900 von Otto Wallach isoliert werden konnte und auch nach dieser Pflanze benannt ist. Später stellte sich dieses Thujon als Hauptinhaltsstoff einiger *Artemisia* Arten, unter anderem des Wermuts, heraus. Die Struktur dieses Stoffs wurde im Jahr 1900 von Friedrich Wilhelm Semmler aufgeklärt.
Im *thuja occidentalis* überwiegt das β-Isomer des Thujons.

## 4.3 Salbei

### Vorkommen und Beschreibung

Salbei ist eine Gattung in der Familie der Lippenblütengewächse (Lamiaceae), welche zu den Asternähnlichen (Asteridae) gehört. Die Gattung umfasst mehr als zwanzig Arten. Eine davon ist der Echte Salbei (Heilsalbei, Küchensalbei, *salvia officinalis*).

Abb. 13-1 Salbeipflanze

Abb. 13-2 Salbeiblätter

Ursprünglich war der Salbei im Mittelmeerraum beheimatet, wurde allerdings schon früh von vielen Völkern kultiviert und ist in deutschen Gärten weit verbreitet.
Salbeitees und -extrakte werden als Heilmittel u. a. bei Halsschmerzen, Erkältungen und Grippe verabreicht. Die Blattextrakte des Salbei wirken antibakteriell, verdauungsfördernd, menstruationsfördernd, nervenstärkend, krampflösend und anregend. Salbeizubereitungen dürfen aber nicht während der Schwangerschaft verwendet werden.
Die Heilsalbeipflanze wächst 30 bis 80 Zentimeter hoch auf kargem Boden.
Sie ist ein teilweise verholzter Strauch. Ihre Blätter enthalten ätherische Öle wie Thujon, Kampfer, Cineol, ein östrogenähnliches Hormon, sowie Bitter- und Gerbstoffe. Heilsalbei enthält mehr α-Thujon als β-Thujon.

# 5 Destillationsverfahren

## 5.1 Drehbandkolonnendestillation

Die Drehbandkolonnendestillation verwendeten wir für die Extraktion von Thujon aus den Pflanzenölen und für die Isomerentrennung.

Die Vorteile dieser Destillationsmethode liegen klar auf der Hand. Durch die lange Säule wird eine gleichmäßige und konstante Durchwärmung des Gas-Flüssigkeitsgemisches in der Kolonne gewährleistet. Dem Wärmeverlust der Kolonne an die Umgebungsluft wird durch die Verspiegelung der Säule entgegengewirkt. Der rotierende Kunststoffstab in der Mitte der Säule sorgt dafür, dass die flüssige Phase und die Gasphase gut durchmischt werden und so ein Gleichgewicht zwischen beiden Phasen hergestellt wird. Der Übergang des zu extrahierenden Thujons in die Gasphase wird auf diese Weise erleichtert. Allerdings befinden sich in der Gasphase auch oft kleinere Mengen höhersiedenderer Substanzen, die unerwünscht sind. Dieses Problem wird dadurch gelöst, dass die Kolonne in der oberen Hälfte einen Kolonnenkopf mit Rücklaufteiler besitzt. Dieser ermöglicht eine Entnahme sehr geringer Mengen des Destillats über einen längeren Zeitraum. Eine trennscharfe Destillation ist so möglich. Ein Nachteil der Drehbandkolonnendestillation ist, dass es vergleichsweise lange dauert, die Säule gleichmäßig zu erwärmen.

Für unsere Destillationen haben wir die Säule evakuiert, um bei niedrigeren Siedetemperaturen arbeiten zu können, da das Thujon unter Standard-bedingungen einen Siedepunkt von etwa 200°C hat.

Abb. 14-1 Kolonnenkopf mit Rücklaufteiler und Probenkolben

Abb. 14-2 Drehbandkolonne mit Vakuum-pumpe

## 5.2 Wasserdampfdestillation und Nachbearbeitung

Die Wasserdampfdestillation ist ein wichtiges und häufig angewandtes Reinigungs- bzw. Trennungsverfahren im Labor und in der chemischen Großindustrie. Das Prinzip der Wasserdampfdestillation beruht darauf, dass hochsiedende, mit Wasser nur wenig oder nicht mischbare bzw. in Wasser unlösliche Stoffe, durch Wasserdampf verflüchtigt werden können. Die Dampfdrücke zweier solcher Substanzen beeinflussen sich nicht, im Gegensatz zu ineinander löslichen Stoffen. Der Gesamtdampfdruck $p_{ges}$ ist demnach gleich der Summe der Partialdrücke $p_1$ und $p_2$ der reinen Komponenten. Er ist unabhängig vom Mischungsverhältnis der Partner. Der Siedepunkt des heterogenen Gemisches, der dann erreicht ist, wenn die Summe der Einzeldampfdrücke gleich dem Atmosphärendruck geworden ist, liegt demnach stets tiefer als der Siedepunkt der niedrigst siedenden Komponente und bleibt konstant, solange die beiden Phasen koexistieren. Da Wasser bei dieser Methode die niedrigste Siedetemperatur aller beteiligten Stoffe hat, steigt der Siedepunkt des Gemisches nie über 373,15 K. Das Stoffmengenverhältnis im Destillat, entspricht dann den Verhältnissen der Partialdrücke von Wasserdampf und dem Partialdruck des zu destillierenden Stoffes bei der Destillations-temperatur.

Die Wasserdampfdestillation ist ein sehr schonendes Trennverfahren, da die zu reinigende Substanz nie über 100°C erhitzt wird.

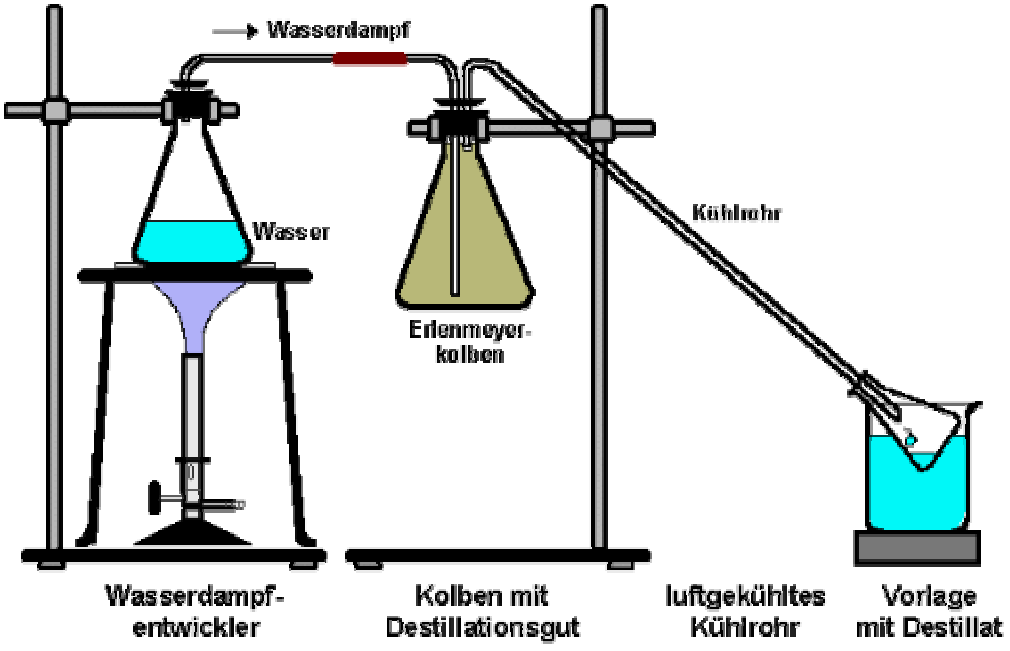



Abb. 15-1 Klassische Wasserdampfdestillationsapparatur

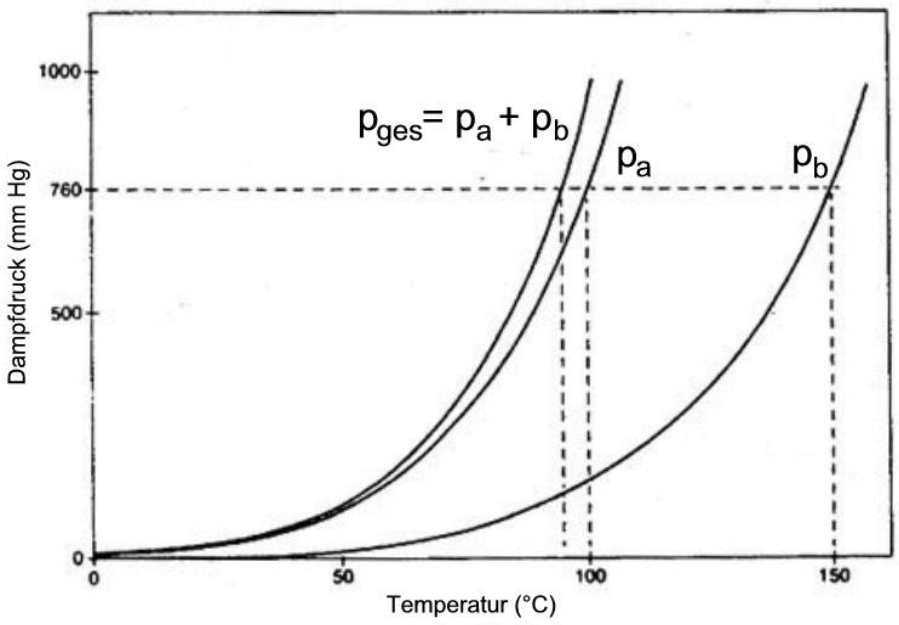



Abb. 16-1 Darstellung der Partialdrücke $p_a$ (Wasserdampf) und $p_b$ (zu extrahierender Stoff), sowie des Gesamtdrucks $p_{ges}$ bei der Wasserdampfdestillation

Für unsere Zwecke war es dienlich, eine modifizierte Apparatur zu verwenden. Die Wirkungsweise beruht darauf, dass nicht immer neues Wasser in das System gegeben werden muss, wie beim herkömmlichen Verfahren, sondern dass das Wasser unter Ausnutzung der verschiedenen Dichten von Wasser und Destillat abgetrennt wird und wieder in den Dampferzeugerkolben gelangt. Diese Apparatur wurde extra für diesen Zweck angefertigt und fand schon einige Zeit Anwendung an der Universität Leipzig. Sie geht zurück auf eine Idee von Gujarathi und Ilay, 1993.

**Wirkungsweise**

Der rechte Rundkolben wird mit zerkleinerten Blättern oder anderen Pflanzenteilen bestückt und mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Der Kolben sitzt in einem Heizelement. In den linken Kolben wird das Lösungsmittel (z.B. Dichlormethan) eingefüllt. Dieser Kolben hängt oberhalb des Heizelements, da das Lösungsmittel sonst zu schnell und vor allem zu heftig sieden würde. Außerdem werden in diesen Kolben Siedesteine zugegeben. Die beiden Kolben sind über ein senkrechtes Glasrohr miteinander verbunden. Um die Destillation in Gang zu setzen, müssen die Flüssigkeiten in beiden Kolben zum Sieden gebracht werden. Der Wasserdampf mischt sich im oberen Teil des Verbindungsrohres, bzw. im Kühler mit der gasförmigen Dichlormethanphase und übergibt die ätherischen Öle an dieses Lösungsmittel. Anschließend kühlen die

Gase ab, kondensieren und sammeln sich im unteren Teil des Verbindungsrohres. Aufgrund der größeren Dichte der Dichlormethanphase befindet sich diese unten und das Wasser darüber. Ist eine gewisse Füllhöhe im Sammelrohr erreicht, läuft das Dichlormethan über ein Rückführrohr in den linken Kolben. Das oben aufliegende Wasser läuft über das leicht geneigte Verbindungsstück zurück in den Wasserkolben auf der rechten Seite. Die Destillation kann man drei bis vier Stunden laufen lassen. Anschließend wird das restliche Dichlormethan und Wasser in den linken Kolben gegeben. Vom Inhalt des linken Kolbens wird im weitern Verfahren die wässrige Phase abgetrennt und der Rest über Natriumsulfat getrocknet.

Abb. 17-1 Modifizierte Destillationsapparatur, Kolben mit Wasser und Pflanzenteilen rechts, Destillatkolben links, Sammelbehälter mit Seitenabflüssen in der Mitte, Liebig-Kühler oben drauf

# 6 NMR-Spektroskopie

## 6.1 Grundlagen der NMR-Spektroskopie

### Allgemein

Die NMR-Spektroskopie (engl.: nuclear magnetic resonance) ist eine der am häufigsten in der organischen Chemie eingesetzten spektroskopischen Methoden zur Strukturaufklärung von Molekülen. Dieses Verfahren liefert Informationen über die Struktur in der Umgebung bestimmter Atomkerne, insbesondere von Wasserstoff- und Kohlenstoffatomen, und ist unbestritten das leistungsfähigste Verfahren zur Konstitutionsaufklärung von Molekülen.

Abb. 18-1 700 MHz NMR-Spektrometer an der Universität Leipzig

### Funktionsweise

Ähnlich wie die Elektronen besitzen Atomkerne einen Spin, welchen man sich als eine Rotation um die eigene Achse vorstellen kann. Mit dieser Rotation ist eine Bewegung elektrischer Ladung verbunden, was ein magnetisches Moment verursacht. Abhängig von der Nukleonenzahl des Atomkerns kann der Kerndrehimpuls (Kernspin) I, der sich aus den Protonenspins und Neutronenspins addiert, einen ganzzahligen oder halbzahligen Wert annehmen. Allerdings sind Kerne mit einem Spin von Null nicht NMR-aktiv (siehe Tab. 18-1).

| Kern | Spinquantenzahl I | Natürliche Häufigkeit des Isotops in % |
|---|---|---|
| $^{1}H$ | 1/2 | 99,958 |
| $^{2}H$ (D) | 1 | 0,015 |
| $^{3}H$ (T) | 1/2 | 0 |
| $^{10}B$ | 3 | 19,58 |
| $^{11}B$ | 3/2 | 80,42 |
| $^{12}C$ | 0 | 98,89 |
| $^{13}C$ | 1/2 | 1,108 |

| | | |
|---|---|---|
| $^{14}N$ | 1 | 99,63 |
| $^{15}N$ | 1/2 | 0,365 |
| $^{16}O$ | 0 | 99,759 |
| $^{17}O$ | 5/2 | 0,037 |
| $^{18}O$ | 0 | 0,204 |
| $^{19}F$ | 1/2 | 100 |
| $^{31}P$ | 1/2 | 100 |
| $^{33}S$ | 3/2 | 0,76 |

Tab 18-1 diverse Atomkerne, ihre Spins und Vorkommen

In der folgenden Tabelle ist der Zusammenhang zwischen Spinquantenzahl I, Protonenanzahl Z und Neutronenanzahl N in den Kernen dargestellt:

| Z | N | I | NMR-Tauglichkeit | Beispiele |
|---|---|---|---|---|
| gerade | gerade | 0 | nein | $^{12}C$, $^{16}O$, $^{28}Si$, $^{32}S$ |
| ungerade | ungerade | 1, 2, 3, … | ja | $^{2}H$ (D), $^{6}Li$, $^{10}B$, $^{14}N$ |
| gerade | ungerade | 1/2, 3/2, 5/2, ... | ja | $^{13}C$, $^{17}O$ |
| ungerade | gerade | 1/2, 3/2, 5/2, ... | ja | $^{11}B$, $^{15}N$, $^{19}F$ |

Tab. 19-1 NMR-Tauglichkeit ausgewählter Kerne

Man kann die Atomkerne vereinfacht als kleine Stabmagneten betrachten, die sich frei bewegen. Durch die bewegte Ladung wird ein magnetisches Moment $\mu_0$ hervorgerufen.

Wird der Kern einem äußeren Magnetfeld $B_0$ ausgesetzt, dann kann es eine von zwei unterschiedlichen Orientierungen annehmen. Die energieärmere Orientierung ist die zum Magnetfeld parallele, was einem Kernspin von ½ entspricht, während die zum Magnetfeld antiparallele Orientierung energetisch weniger vorteilhaft ist. Der Kernspin beträgt hier - ½. Zwischenstellungen sind quantenmechanisch nicht möglich.

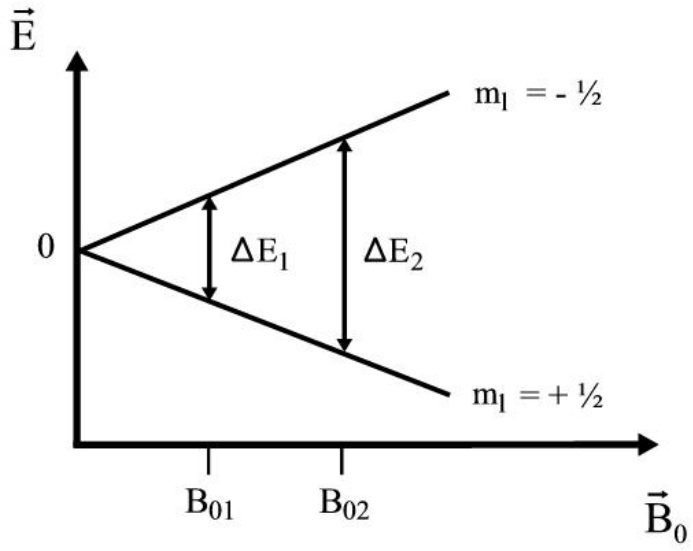



Abb. 20-1 Energiedifferenz ΔE zweier benachbarter Energieniveaus in Abhängigkeit der stärke des Magnetfeldes. Die Energiedifferenz ΔE ist direkt proportional zu $B_0$.

Der Übergang vom energieärmeren in den energiereicheren Zustand kann durch die Zufuhr einer spezifischen Menge an elektromagnetischer Strahlung im Radiofrequenzbereich vollzogen werden, was dann spektroskopisch gemessen werden kann. Es tritt erst dann eine Resonanz auf, wenn zum Übergang von einem energieärmeren in einen energiereicheren Zustand eines Systems genau die Strahlung absorbiert wird, deren Frequenz dem zu überbrückenden Energieunterschied entspricht. Nach der Anregung fallen die Spins wieder in den energieärmeren Zustand zurück, dabei kommt es zur Abgabe der absorbierten Energie in Form von Wärme an die Umgebung. Diese Rückkehr in den energieärmeren Zustand wird als Relaxation bezeichnet. Anregung und Relaxation finden unter Resonanzbedingungen kontinuierlich statt.
Der Energieunterschied ΔE zwischen den Spinzuständen hängt direkt mit der Stärke $B_0$ des externen Magnetfeldes zusammen.

$$\Delta E = h \cdot v$$

h = Plancksches Wirkungsquantum (6,626 * $10^{34}$ Js)

Deshalb ist die Frequenz v der absorbierten Strahlung, auch als Larmor-Frequenz bezeichnet, direkt proportional zum äußeren Magnetfeld $\mu_0$. Der Proportionalitätsfaktor γ ist eine Konstante, welche je nach Art des betrachteten Atomkerns variiert.

$$v = \frac{\gamma B_0}{2\pi}$$

Aufgrund der Tatsache, dass eine Vielfalt an Atomkernen vorhanden ist, teilen sich die Spins gleicher Kerne im homogenen Feld $B_0$ auf die jeweiligen Energiestufen auf.
Die relative Population der Energieniveaus wird durch das Boltzmannsche Gesetz beschrieben:

$$\frac{N_\alpha}{N_\beta} = \mathrm{e}^{\frac{-\Delta E}{kT}} = \mathrm{e}^{\frac{-(E_1 - E_2)}{kT}}$$

$N_\alpha$ – Kernspin im energiereicheren Niveau $E_1$
$N_\beta$ – Kernspin im energieärmeren Niveau $E_2$
T – Temperatur in Kelvin
k – Boltzmann-Konstante

$$k = \frac{R}{N_L} = \frac{8{,}314 J \cdot mol}{6{,}023 \cdot 10^{23} mol \cdot K} = 1{,}38 \cdot 10^{-23} \frac{J}{K}$$

R – universelle Gaskonstante
$N_L$ – Loschmidt-Konstante

Im Normalfall befinden sich etwas mehr als die Hälfte aller Kernspins im energieärmeren Zustand.

**Die chemische Verschiebung**

Bei Kernen gleicher Sorte können unterschiedliche NMR-Signale beobachtet werden. Als Ursache ist die unterschiedliche elektronische Umgebung der jeweiligen Atomkerne auszumachen, denn die Kerne chemisch gebundener Wasserstoffatome sind von Elektronenwolken umgeben, deren Elektronendichte je nach Polarität der Bindung, der Hybridisierung der benachbarten Atome und der An- oder Abwesenheit elektronenziehender Gruppen variiert. Wird ein von Elektronen umgebener Atomkern einem äußeren Magnetfeld $B_0$ ausgesetzt, so entsteht ein lokales Magnetfeld $B_{lokal}$, welches dem Magnetfeld $B_0$ entgegen gerichtet ist. Deshalb ist eine geringere effektive Feldstärke in der Umgebung des Wasserstoff-Atomkerns zu verzeichnen, weil er durch die Elektronenwolke vom äußeren Magnetfeld $B_0$ abgeschirmt wird.

Wird nun ein Spektrum bei konstanter Feldstärke $B_0$ aufgenommen, so ist das am Atomkern wirksame Magnetfeld zu $B_0 - B_{lokal}$ vermindert, was eine Verminderung der zu Kernresonanz erforderlichen Frequenz bedeutet. NMR-Spektren werden mit von rechts nach links ansteigender Frequenz aufgezeichnet.

Eine Verschiebung eines Signals nach einer höheren Frequenz bedeutet also, das dass Signal im Spektrum nach links verschoben wird. Dementsprechend hat jeder Kern je nach seiner elektronischen Umgebung eine bestimmte Resonanzfrequenz.

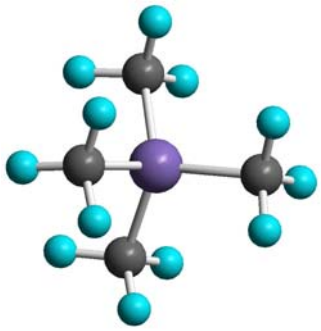


Abb. 22-1 Tetramethylsilan

Die Frequenzunterschiede werden in der Praxis relativ zu einer Standardsubstanz gemessen.

In der NMR-Spektroskopie wird ausschließlich Tetramethylsilan (TMS, $(CH_3)_4Si$) als Referenzsubstanz verwendet, weil es sehr reaktionsträge ist aufgrund der geringen Elektronegativitätsunterschiede von Kohlenstoff, Silizium und Wasserstoff. TMS wird der zu untersuchenden Probe zugesetzt (ca. 0,1 %). Die NMR-Signale einer Substanz werden dann als Frequenzunterschied (in Hz) zum Signal von TMS angegeben.

Um eine von $B_0$ unabhängige Größe zu erhalten, wird der Quotient aus dem Frequenzunterschied zum Signal des Tetramethylsilans und der Messfrequenz des jeweiligen Spektrometers gebildet. Die chemische Verschiebung δ wird folgendermaßen definiert:

$$\delta = \frac{\upsilon_{Probe} - \upsilon_{TMS}}{\upsilon_{TMS}} \cdot 10^6 ppm$$

Da die chemische Verschiebung δ in der Größenordnung von $10^{-6}$ liegt, wird ihr Wert in Millionsteln (ppm, parts per million) angegeben. Dieser Wert ist dimensionslos.

Für Tetramethylsilan $(CH_3)_4Si$ ist δ definitionsgemäß 0,00 ppm.

In der folgenden Tabelle sind die Beziehungen von Frequenz und Verschiebung, die die relative Lage des Signals im Spektrum charakterisieren, dargestellt:

| | |
|---|---|
| Abschirmung<br>Kleinere Frequenz ($B_0$ = konstant) | δ nimmt ab<br>(Verschiebung nach rechts) |
| Entschirmung<br>Größere Frequenz ($B_0$ = konstant) | δ nimmt zu<br>(Verschiebung nach links) |

Tab. 22-1 Zusammenhang zwischen Abschirmung, Entschirmung und chemischer Verschiebung

Als Lösungsmittel werden in der NMR-Spektroskopie meist deuterierte Verbindungen verwendet, weil sie kein Wasserstoff enthalten. Häufig findet deuteriertes Chloroform $CDCl_3$ Anwendung. Verunreinigungen sind aber trotzdem vorhanden, weil der Deuterierungsgrad knapp unter 100% liegt. Die Deuteriumkerne sind zwar H-NMR-aktiv, aber nicht im relevanten Frequenzbereich, sodass diese Signale keine Rolle spielen.

## 6.2 Grundlagen für die Spektrenauswertung

### Isochronie

Die gleiche chemische Umgebung der Kerne führt auch zu gleicher chemischer Verschiebung. Symmetrische Eigenschaften des Moleküls, wie Rotations- und Spiegelsymmetrie und andere Phänomene können dazu führen, dass die Signale von mehreren Kernen zusammenfallen. Allerdings kann es auch vorkommen, dass die Signale von Kernen in unterschiedlicher chemischer Umgebung zufälligerweise große Ähnlichkeit haben.
Jedes Spektrometer hat nur ein begrenztes Auflösungsvermögen, so dass Signale zweier Kerne mit an sich unterschiedlicher chemischer Verschiebung rein zufälligerweise zusammenfallen können. Bei Verbesserung des Auflösungsvermögens können die Signale allenfalls wieder getrennt werden.
Man bezeichnet Kerne als isochron, wenn sie unter den verwendeten Untersuchungsbedingungen keinen messbaren Unterschied in der chemischen Verschiebung aufweisen.
Es gibt Kerne, die aufgrund ihrer äquivalenten chemischen Umgebung notwendigerweise isochron sind. Andere Kerne sind nur zufälligerweise isochron, wobei sie bei veränderten Untersuchungsbedingungen anisochron werden können.

### Integration

Die Integration zeigt die relative Anzahl der Wasserstoffatome, die ein NMR-Signal verursachen. Die relative Signalintensität (Peakfläche) ist im Fall der $^1$H-NMR-Spektroskopie abhängig von der Anzahl Kerne, die für das Signal verantwortlich sind. Konkret ist die Peakfläche direkt proportional zur Anzahl der Protonen, die für das Signal verantwortlich sind. Durch den Vergleich der Peakflächen werden quantitative Abschätzungen über die Anzahl der jeweiligen

Wasserstoffatome im Molekül möglich. Die relativen Signalintensitäten werden durch eine Kurve über dem NMR-Spektrum aufgezeichnet, die der Stammfunktion, also dem Integral des Spektrums entspricht. Durch Ausmessen der Differenz zwischen Anfang und Ende der Stammfunktion können die Integrale einfach erhalten werden.

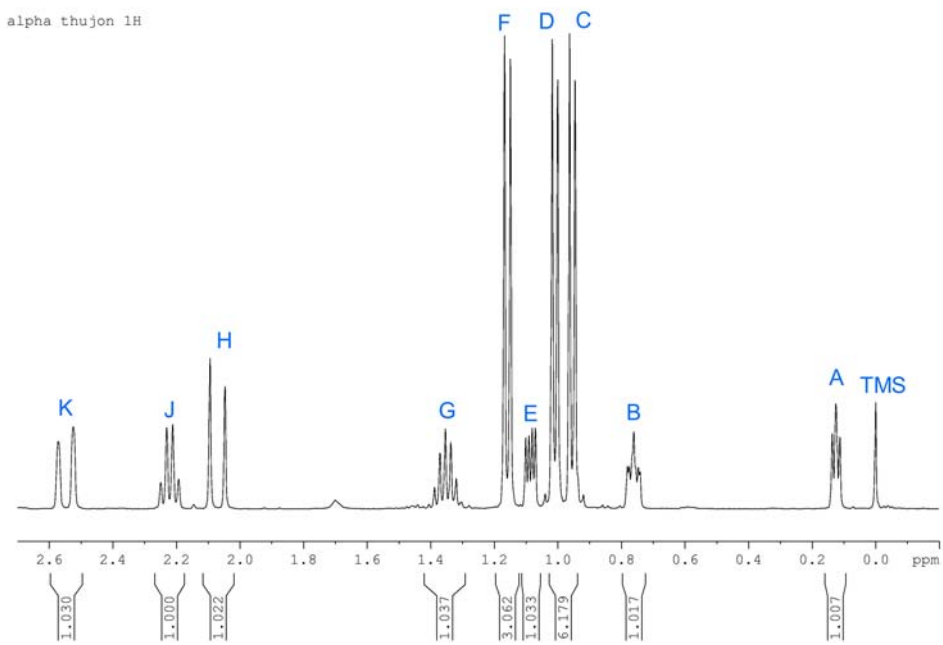



Abb. 24-1 $^{1}$H-Spektrum des α-Thujons mit Integralen

Bei der $^{13}$C-NMR-Spektroskopie haben die Integrale keinerlei Relevanz, denn sie sind im Allgemeinen nicht proportional zur Anzahl der $^{13}$C-Kerne, welche das Signal verursachen.

**Die Spin-Spin-Kopplung**

Wenn zwei nicht äquivalente Kerne in direkter Nachbarschaft zueinander stehen, führt das zu komplizierten Spektren, da es dann zur Spin-Spin-Kopplung oder Spin-Spin-Aufspaltung kommt. Die Art der Spin-Spin-Aufspaltung (Multiplizitäten) in solchen Spektren gibt Auskunft über die Art und die Anzahl der Kerne, die dem zum Signal gehörenden Kern (bzw. Kerne) benachbart sind.
Der Frequenzunterschied der Linien eines Signals wird als Kopplungskonstante J bezeichnet, die unabhängig von der Stärke des externen Magnetfeldes ist. In Verbindung mit den anderen Größen des NMR-Spektrums (chemische

Verschiebung, Integral) ermöglicht die Analyse der Kopplungen oft die vollständige Konstitutionsaufklärung einer unbekannten Verbindung.
Hat ein Kern N äquivalente Nachbarkerne, so folgt in vielen Fällen die Spin-Spin-Aufspaltung der (N+1)-Regel. Die relativen Intensitätsverhältnisse folgen dem Pascalschen Dreieck:

| Anzahl N der Nachbarkerne | Anzahl der Linien (N+1) | Aufspaltungsmuster | Integriertes Intensitätsverhältnis der Einzellinien |
|---|---|---|---|
| 0 | 1 | Singulett | 1 |
| 1 | 2 | Dublett | 1:1 |
| 2 | 3 | Triplett | 1:2:1 |
| 3 | 4 | Quartett | 1:3:3:1 |
| 4 | 5 | Quintett | 1:4:6:4:1 |
| 5 | 6 | Sextett | 1:5:10:10:5:1 |
| 6 | 7 | Septett | 1:6:15:20:15:6:1 |

Tab. 25-1 Aufspaltung der Peaks bei einer bestimmten Anzahl von Nachbarkernen

Wenn Wasserstoffatome mit zwei Sätzen nicht äquivalenter Nachbarn koppeln, können komplizierte Aufspaltungsmuster entstehen. Aufgrund unterschiedlicher Kopplungskonstanten ist die (N+1)-Regel dann nicht direkt anwendbar.

## 6.3 2D-Spektrenarten

Zweidimensionale Spektren dienen der graphischen Auswertung der Spin-Spin-Kopplungen und somit zur Konstitutionsbestimmung von Verbindungen.
Bei dieser Methode werden zwei Spektren des Moleküls auf der horizontalen und der vertikalen Achse dargestellt und gegenseitige Kopplungssignale sind erkennbar als „Flecken“ oder als korrelierende Peaks auf der x-y-Darstellung.
Zweidimensionale Spektren sind genauer betrachtet dreidimensional: Die dritte Dimension ist nämlich die Intensität der Signale. Entsprechend sind die herkömmlichen eindimensionalen Spektren zweidimensional. Bei der Darstellung auf dem Papier muss man die 2D-NMR-Spektren um eine Dimension reduzieren. Entweder wird das Spektrum perspektivisch dargestellt oder die Intensitätsdimension wird weitgehend eliminiert und die dadurch verlorene

Information durch Wiedergabe von Höhenlinien, wie in einer topologischen Landkarte teilweise wieder eingeführt.

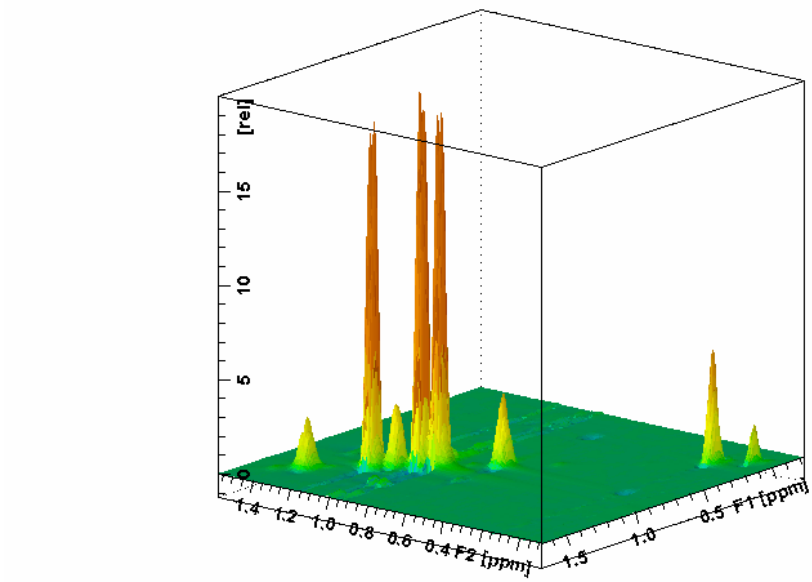



Abb. 26-1 Ausschnitt aus einem NOESY des α-Thujons (dreidimensional)

**Correlated Spectroscopy (H,H-COSY)**

Das COSY-Experiment gehört zu den für die strukturanalytische Praxis wichtigsten zweidimensionalen Messtechniken. Beide Frequenzachsen entsprechen dem gewöhnlichen $^{1}$H-NMR-Spektrum. In den H,H-COSY-Spektren werden zwei Typen von Signalen unterschieden. Diejenigen, die auf der Diagonale liegen, repräsentieren das eigentliche NMR-Spektrum, so wie man es auch im eindimensionalen Fall erhält. Daneben existieren die sogenannten Kreuz- und Korrelationssignale (engl.: cross peaks), die die Existenz von Spin-Spin-Kopplungen zwischen einzelnen Kernen (hier: Protonen) anzeigen. Die Kopplungspartner lassen sich finden, indem man vom Kreuzsignal ausgehend waagerechte und senkrechte Linien bis zur Diagonalen zieht. Dort befinden sich die Signale der koppelnden Protonen. Solche Protonen sind im Allgemeinen nicht weiter als drei Bindungen voneinander entfernt. Das bedeutet, dass die entsprechenden Kohlenstoffatome, an die sie gebunden sind, direkt miteinander verbunden sind.

Wegen der Symmetrie der Spektren ist es gleichgültig, ob man die Prozedur im linken oberen oder im rechten unteren Dreieck durchführt.

Im weiteren soll man daran denken, dass kleine Kopplungen, die im eindimensionalen Spektrum normalerweise nicht gesehen werden, im COSY-Spektrum zu Kreuzsignalen führen können. Kopplungen über bis zu fünf Bindungen sind recht häufig detektierbar. Anderseits können Signale unter Umständen fehlen, wenn schnell relaxierende Kerne an der Kopplung beteiligt sind. Schließlich kann die so genannte Symmetrisierung zu Artefakten führen und dabei eine Kopplung anzeigen, wo keine vorhanden ist.

**Heteronuclear Single Quantum Coherence (HSQC)**

Die HSQC-Spektren sind häufig recht übersichtlich, da nur Signale von direkt gebundenen C-H-Paaren erscheinen. Die horizontale Achse des zweidimensionalen Spektrums entspricht dem $^{1}$H-NMR-Spektrum, die vertikale dem $^{13}$C-NMR-Spektrum. Die Signale des HSQC-Spektrums zeigen die chemischen Verschiebungen direkt gebundener Atompaare an.

**Heteronuclear Multiple Bond Correlation (HMBC)**

Das HMBC-Spektrum ist mit dem HSQC-Spektrum verwandt. Die horizontale Achse des zweidimensionalen Spektrums entspricht dem $^{1}$H-NMR-Spektrum, die vertikale dem $^{13}$C-NMR-Spektrum. Allerdings zeigen die Signale des HMBC-Spektrums die chemischen Verschiebungen von Atompaaren an, zwischen denen zwei oder drei Bindungen liegen.

**Nuclear Overhauser Enhancement Spectroscopy (NOESY)**

Der Unterschied zu den anderen 2D-Verfahren (COSY, HSQC, HMBC) besteht darin, dass im NOESY-Experiment keine Beziehungen zwischen Kernen, die über Bindungen miteinander in Wechselwirkung treten, sichtbar gemacht werden. Es werden vielmehr Wechselwirkungen zwischen koppelnden Kerndipolen, die direkt über den Raum übertragen werden, sichtbar. Der Transfer über den Raum erfolgt über den Kern-Overhauser-Effekt. Das NOESY ist sehr dienlich zur Aufklärung der Stereochemie des untersuchten Stoffes.

# 7 Chromatografiemethoden

## 7.1 Dünnschichtchromatografie (DC)

### Einleitung

Die Dünnschichtchromatografie ist ein physikalisch-chemisches Trennverfahren. Sie wird bei der Untersuchung kleiner Substanzmengen, die in Lösung vorliegen, verwendet. Die DC hat den enormen Vorteil, dass man sie ohne großen Aufwand durchführen kann und schnell Analyseergebnisse erhält. Zusätzlich ist sie sehr preiswert. Wir haben die DC nur zur qualitativen Analyse eingesetzt, um zu bestimmen, ob überhaupt Thujon in unseren destillierten Ölen enthalten war. Dazu haben wir reines α-Thujon als Vergleichssubstanz verwendet.

### Wirkungsweise

Zuerst wird die zu untersuchende Substanz in einem Lösungsmittel gelöst, da mithilfe der DC nur Lösungen und flüssige Substanzen untersucht werden können. Danach wird auf der DC-Platte ein horizontaler Bleistiftstrich gezogen, damit die einzelnen Lösungen auf gleicher Höhe aufgebracht werden können. Dies erfolgt mithilfe einer Kapillare. Die zu trennende Substanz wird auf die stationäre Phase (auch Trennschicht genannt) aufgetragen. Diese stationäre Phase besteht aus sehr feinkörnigem Material (z. B. Kieselgel, Aluminiumoxid oder Cellulose) und ist auf eine Trägerplatte oder -folie aus Kunststoff, Aluminiumblech oder Glas aufgebracht, in unserem Fall war es Aluminiumoxid. Die präparierte Platte wird dann in ein Gefäß mit geeignetem Fließmittel (Laufmittel), der mobilen Phase, gestellt. Die Platte taucht aber nur einige Millimeter in diese Flüssigkeit ein. Das Fließmittel steigt daraufhin aufgrund der Kapillarkräfte langsam in der stationären Phase auf und nimmt die einzelnen Bestandteile der Lösungen unterschiedlich weit mit, je nachdem welche Wechselwirkungen die Komponenten der aufgetragenen Lösungen mit dem Fließmittel eingehen. Dabei gilt es zu beachten, dass ein großer Teil der erfolgreichen Durchführung von der Wahl des Fließmittels abhängt. Polare Fließmittel trennen die Proben stärker auf als unpolare. Deshalb gilt es, eine vorteilhafte Mischung verschiedener Fließmittel zu finden oder ein bestimmtes, das nicht zu polar und nicht zu unpolar ist. Bei unserer zweiten Dünnschichtchromatografie am 28. Oktober 2005 haben wir Dichlormethan

$CH_2Cl_2$ als Lösungsmittel verwendet, weil wir diesen Stoff bereits als Lösungsmittel für die Wasserdampfdestillation derselben Öle verwendet haben.
Um zu verhindern, dass die Durchführung der DC durch eine Verdampfung des Fließmittels gestört wird, muss man für eine mit dem Fließmittel gesättigte Atmosphäre sorgen, indem man das Gefäß abdeckt.

**Nachweis**

Wenn das Fließmittel kurz vor dem oberen Rand der DC-Platte angekommen ist (nach ca. 10-15 Minuten), wird die Platte aus dem Gefäß entfernt. Die Fließmittelgrenze wird mit einem Bleistiftstrich kenntlich gemacht. Anschließend lässt man die DC-Platte trocknen, d.h. das Fließmittel an der Luft verdampfen. Danach untersucht man, wie weit die einzelnen Komponenten der zu trennenden Substanzen transportiert wurden. Das kann erfolgen, indem man die Platte mit einer spezifischen Reagenz besprüht, die die einzelnen Stoffe sichtbar macht, oder durch Betrachtung unter UV-Licht. Die Ränder der einzeln sichtbaren Stoffflecken werden mit einem Bleistift nachgezogen, sodass man sie auch unter normalen Lichtverhältnissen sehen kann.
Zur weiteren Analyse misst man die Laufstrecken der einzelnen Substanzen.
Um die charakteristische Kenngröße der Stoffe, den $R_f$ -Wert, zu erhalten, wird die Laufstrecke der Substanz ($x_{Substanz}$) durch die des Fließmittels ($x_{FM}$) geteilt:

$$R_f = \frac{x_{Substanz}}{x_{FM}}$$

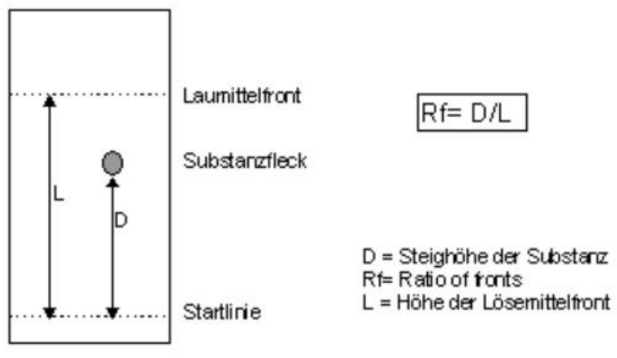



Abb. 29-1 Wirkungsweise der Dünnschichtchromatografie

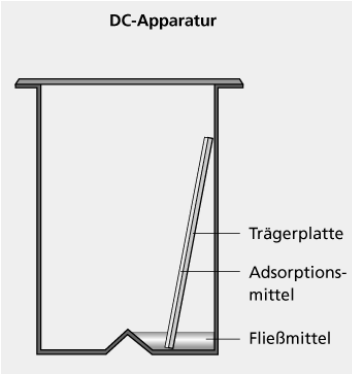



Abb. 29-2 DC-Apparatur

## 7.2 Gaschromatografie (GC)

Die Gaschromatografie dient insbesondere zur Trennung von verdampfbaren Flüssigkeiten und Feststoffen, sowie von Gasen. Bei der mobilen Phase handelt es sich immer um ein Gas, die stationäre Phase kann entweder ein Feststoff oder eine Flüssigkeit sein. Eine geringe Menge des zu untersuchenden Probematerials wird in den Strom eines Trägergases (wie Wasserstoff, Helium, Stickstoff, Argon) injiziert. Das Gas trägt die verdampfte Substanz in die Trennsäule, die eine geeignete stationäre Phase enthält. Die stationäre Phase ist in der Lage, den Strom der einzelnen Komponenten durch die Säule in unterschiedlichem Maße zu verzögern. Die getrennten Komponenten verlassen dann die Säule in bestimmten Zeitabständen und passieren einen Detektor.
Unterschiede in der Verteilung oder in der Adsorption in der Säule sind die Ursache für die Trennung. Partialladungen und Wechselwirkungen der Probe mit der stationären Phase spielen eine große Rolle.

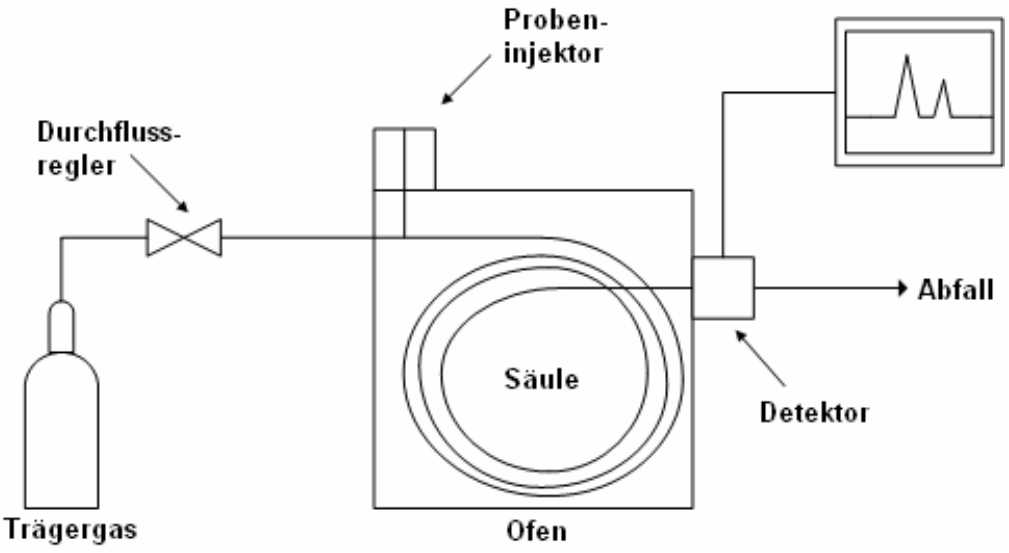



Abb. 30-1 Schema eines Gaschromatografen

## 7.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatografie (HPLC)

Die HPLC (engl.: high performance liquid chromatography ) ist ein Verfahren der Säulenflüssigkeitschromatografie. Es ist ein Trennverfahren, bei dem die Probenflüssigkeit mittels einer mobilen (flüssigen) Phase (Eluent) unter hohem Druck über die stationäre Phase (Trennsäule, Absorbersäule) transportiert wird. Die zu untersuchende Substanz muss in einem Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch gelöst sein.

Wenn ein Bestandteil der zu untersuchenden Substanz stark mit der stationären Phase in Wechselwirkung tritt, so verbleibt dieser relativ lange in der Säule. Ist die Wechselwirkung mit der stationären Phase aber hingegen schwach, verlässt er die Säule früher. Je nach Stärke dieser Wechselwirkungen erscheinen die Bestandteile der Substanz zu verschiedenen Zeiten, die als Retentionszeiten bezeichnet werden, am Ende der Trennsäule, wo sie dann mit einem geeigneten Detektor nachgewiesen werden können.

Die beiden wichtigsten Methoden sind die „Normal Phase“ (NP)-Chromatografie und „Reversed Phase“ (RP)-Chromatografie. In der Normalphasenverteilungs-chromatografie ist die stationäre Phase polarer als die mobile Phase. Die Stärke der Elutionskraft der mobilen Phase ist dabei abhängig von der Polarität. Je polarer eine mobile Phase ist, desto schneller wird eine Substanz eluiert. Dadurch werden polare Moleküle auf der Säule länger zurückgehalten als unpolare Moleküle und verlassen deshalb später die Säule.

In der Reversed-Phase (RP-Umkehrphase)-Chromatografie ist die mobile Phase polarer als die stationäre Phase und die Elutionskraft sinkt mit steigender Polarität. Die RP-HPLC wird vorwiegend bei unpolaren oder wenig polaren Substanzen angewendet.

Die Darstellung des Ergebnisses der Stofftrennung erfolgt in Form eines Chromatogramms, einer Elutionskurve. Sie stellt die Abhängigkeit für die Menge (Konzentration) der eluierten Substanzen von der Zeit dar. Die einzelnen Stoffe haben unterschiedliche Retentionszeiten. Die Gesamtretentionszeit $t_R$ setzt sich aus der Nettoretentionszeit $t_S$ (Aufenthalt in der stationären Phase) und der Durchflusszeit der mobilen Phase (ohne Retention) $t_m$ zusammen.

Um zwei verschiedene Stoffe zu trennen, muss man die jeweiligen Retentionszeiten vergleichen, welche unterschiedlich sein müssen, um zum richtigen Zeitpunkt die zu trennende Substanz aufzufangen.

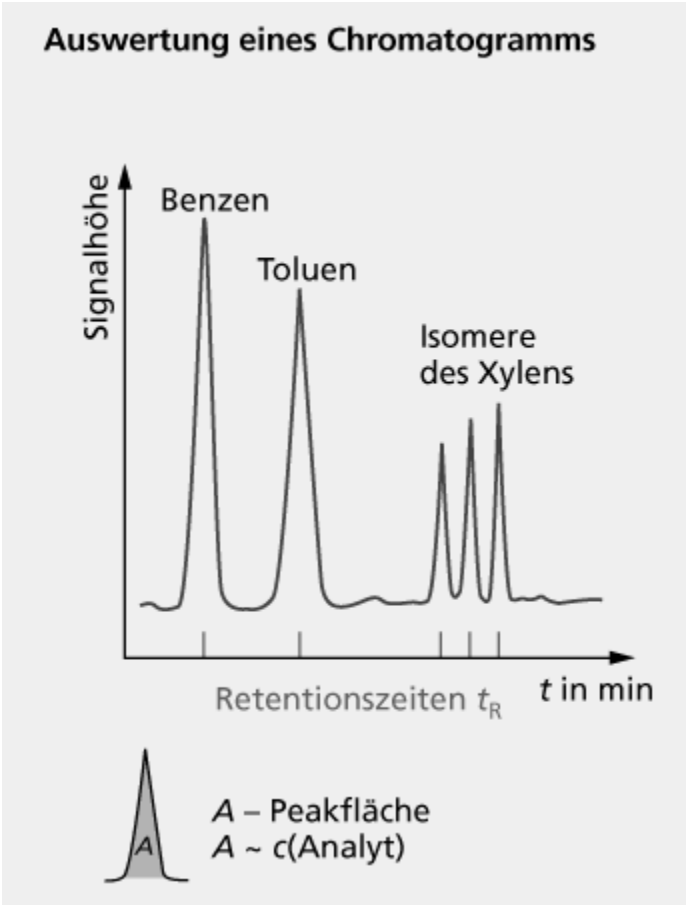



Abb. 32-1 Beispiel für einen HPLC-Graphen

Ein HPLC-Gerät besteht aus 4 Hauptteilen: Pumpe, Einspritzsystem, Trennsäule und Detektor mit Auswertsystem.

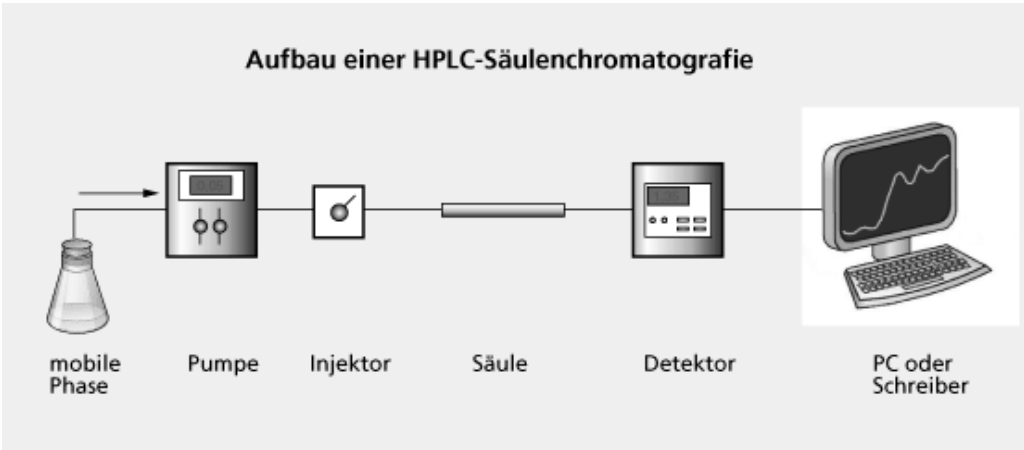



Abb. 32-2 Schema einer HPLC-Apparatur

# 8 Extraktion des Thujons

Zuerst wurden die Pflanzenteile (Wermutkrautblätter bzw. kleine Thujaästchen), die die Grundlage bildeten, zerkleinert und in den rechten Kolben der Apparatur, die unter *5.2 Wasserdampfdestillation* beschrieben ist, eingefüllt. In diesen Kolben wurde destilliertes Wasser gegeben, bis alle Pflanzenteile bedeckt waren. Anschließend wurde der Destillatkolben mit Dichlormethan, dem Lösungsmittel, befüllt. Die beiden Kolben wurden angeschlossen, der Kühler aufgesetzt und gestartet, sowie die Heizplatten angeschaltet.

Die Destillation dauerte zwischen drei und fünf Stunden. Details sind in den Arbeitsprotokollen im *Anhang A* beschrieben. Nach dem Abschalten der Destillationsapparatur ließen wir das Destillat erkalten und füllten es in einen Scheidetrichter um. Damit wurde es uns möglich, das im Dichlormethan gelöste Wermut- bzw. Thujaöl von destilliertem Wasser, was während der Destillation in den Kolben gelangt war, zu trennen. Danach gaben wir das gelöste Destillat in ein Becherglas mit etwas entwässertem Natriumsulfat zum Trocknen. Das Becherglas platzierten wir auf einem Magnetrührer und ließen es etwa zehn Minuten lang stehen. Anschließend wurde das Salz abfiltriert und das getrocknete Destillat im Rotationsverdampfer einrotiert.

Mit der Gaschromatografie konnten wir leider keine weitere Thujonreinigung erzielen. Wegen der geringen Destillatmenge aus der Wasserdampfdestillation griffen wir auf herkömmliches Wermutöl zurück und destillierten es in der Drehbandkolonne (*5.1 Drehbandkolonnendestillation*).

Das Wermutöldestillat aus der Drehbandkolonne konnten wir als β-Thujon für die NMR-spektroskopische Analyse verwenden.

Zusätzlich führten wir die Drehbandkolonnendestillation mit gekauftem Salbeiöl durch. Die erreichte Reinheit von 96,7 % α-Thujon (Verunreinigung mit 3,3% β-Thujon) erstaunte uns und zeigte, dass die Drehbandkolonnendestillation für die Isomerentrennung geeignet ist. Allerdings ist die Genauigkeit sehr von der Kolonnengröße und der gleichmäßigen Erwärmung der Probe abhängig.

Das zur Strukturaufklärung herangezogene α-Thujon stammte von der Firma Fluka und hatte eine Reinheit von ~96%.

# 9 NMR-Auswertung

## 9.1 Strukturaufklärung des α- und β-Thujons

Obwohl das α-Thujon für die NMR-Analyse gekauft wurde und man von nahezu perfekter Reinheit ausgehen musste, stellten wir im $^{1}$H-Spektrum einen Anteil von etwa 4 % Fremdsubstanzen fest.

Über präparative Trennungsmethoden gelang es uns leider nicht, das β-Thujon ähnlich rein wie das α-Thujon zu erhalten. Dennoch sind die Spektren relativ gut zu interpretieren.

Zur besseren Sichtbarkeit und Grundstrukturaufklärung haben wir mit der Interpretation der α-Thujon Spektren begonnen.

Erstellt und zur Auswertung herangezogen wurden $^{1}$H-, H,H-COSY-, HMBC-Spektren, sowie ein HSQC- Spektrum und ein APT. Dazu wurde ein 400 MHz-Spektrometer verwendet. Für das NOESY benutzten wir ein 700 MHz-Spektrometer, um von der höheren Auflösung zu profitieren.

Um die Peaks (Scheitel-, Spitzenwerte) eindeutig identifizieren zu können, haben wir die für die Auswertung relevanten Peaks beim $^{1}$H-Spektrum nach dem Alphabet mit Großbuchstaben und beim $^{13}$C-Spektrum mit Kleinbuchstaben bezeichnet. Die Bezeichnung startet bei dem Peak, der am weitesten rechts ist, der Tetramethylsilan (TMS)-Peak bei Null wurde nicht nummeriert.

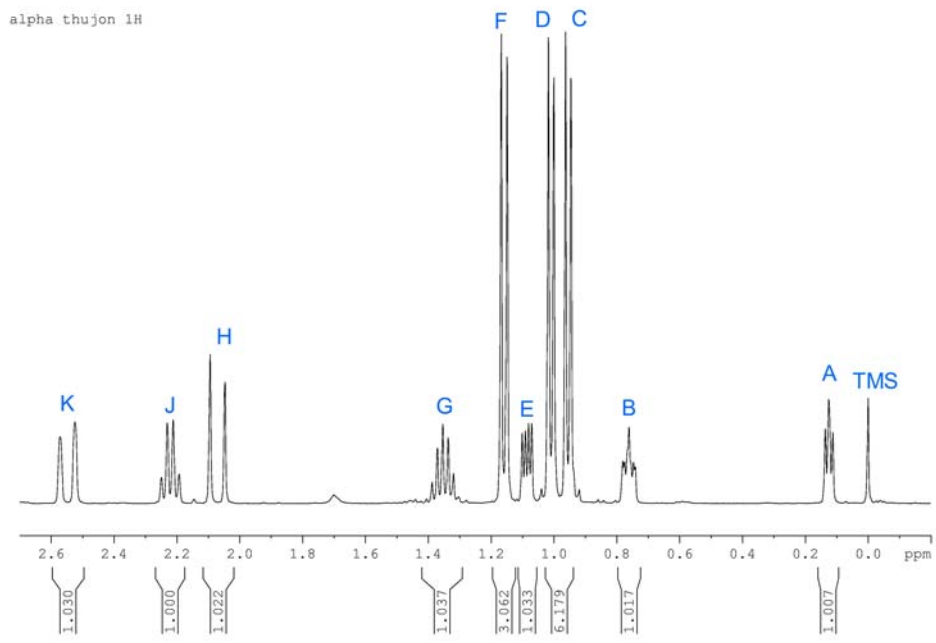



Abb. 34-1 $^{1}$H-Übersichtsspektrum von α-Thujon von 0 bis 2,6 ppm

Die C-Atome des Thujons wurden nach IUPAC-Vorschrift nummeriert, die benachbarten H-Atome dann jeweils mit der Nummer des C-Atoms, sowie den Kleinbuchstaben a-c (Methylgruppen), bzw. a und e für „axial“ und „equatorial“ (Protonen 2a und 2e) und i „über der Isopropylgruppe“ bzw. f „über dem Fünfring“ (Protonen 6i und 6f).

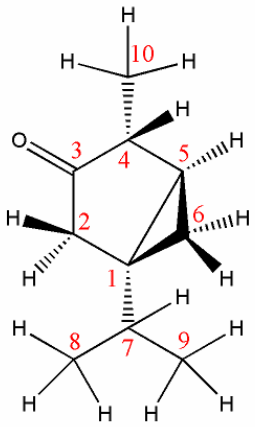



Abb. 35-1 α-Thujon, Nummerierung nach IUPAC

Danach wurden die Peaks mit ihrer chemischen Verschiebung, ihrem Integralwert und den Kopplungen in allen aufgenommenen Spektren in Tabellen eingetragen (siehe Tab. 35-1, 35-2).

| Peak | Verschiebung in ppm | Integral | COSY | HSQC | H -Atom | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 0,13 | 1 | B, E | b | 6f | s. NOESY |
| B | 0,76 | 1 | A, E, K | b | 6i | s. NOESY |
| C | 0,96 | 3 | G | d | 9a-c | 8a-c ?, Methyl |
| D | 1,01 | 3 | G | c | 8a-c | 9a-c ?, Methyl |
| E | 1,09 | 1 | A, B | e | 5a | |
| F | 1,16 | 3 | J | a | 10a-c | Methyl |
| G | 1,35 | 1 | C, D | g | 7a | |
| H | 2,07 | 1 | K | h | 2a | |
| J | 2,22 | 1 | F | j | 4a | |
| K | 2,55 | 1 | B, H | h | 2e | s. COSY, L-R-K |

Tab. 35-1 $^{1}$H-Peakübersicht des α-Thujons

| Peak | Verschiebung in ppm | APT (gerade/ ungerade) | HSQC | Anzahl p+ | C-Atom | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 18,19 | u | F | 3 | 10 | Methyl |
| b | 18,71 | g | A, B | 2 | 6 | |
| c | 19,71 | u | D | 3 | 9 | C8 ?, Methyl |
| d | 19,99 | u | C | 3 | 8 | C9 ?, Methyl |
| e | 25,52 | u | E | 1 | 5 | |
| f | 29,63 | g | - | 0 | 1 | kein H |
| g | 32,91 | u | G | 1 | 7 | |
| h | 39,69 | g | H, K | 2 | 2 | |
| j | 47,36 | u | J | 1 | 4 | |
| k | 77,03 | g | - | 0 | $CDCl_3$ | kein H |
| l | 221,36 | g | - | 0 | 3 | C=O |

Tab. 35-2 $^{13}$C-Peakübersicht des α-Thujons

Die Peaks C, D und F haben alle einen Integralwert von 3 und binden je an ein C-Atom. Daraus lässt sich schließen, dass es sich um die drei Methylgruppen des Thujons handelt.

Dabei kann man über C und D aussagen, dass diese die beiden Methylgruppen der Isopropylgruppe sind, weil sie, wie im COSY ersichtlich, mit dem G-Peak korrelieren, also das Methylenproton der Isopropylgruppe sehen. G sieht über das COSY kein weiteres Proton, weil es an ein C-Atom, welches kein Proton trägt, bindet.

Darüber hinaus kann man im HSQC feststellen, dass es zwei C-Atome gibt, die je zwei Protonen tragen. Dabei handelt es sich um b (A, B) und h (H, K). H und K weisen eine größere chemische Verschiebung auf, als A und B. Das heißt, sie müssen näher an einem negativen Ladungsschwerpunkt liegen, was sich mit der Nähe zur Carbonylgruppe erklären lässt. Das Carbonyl-C-Atom ist das, welches im aufgenommenen $^{13}$C-NMR-Spektrum die größte chemische Verschiebung aufweist und deshalb beträchtlich von den Peaks der anderen C-Atome entfernt liegt. Zum Carbonyl-C gehört also der Peak l (kleines L). Dieser Umstand wird durch den APT unterstützt. Da es kein Proton trägt, zeigt der APT-Peak bei unsere Einstellung nach unten, was eine gerade Anzahl von Protonen bzw. keine Protonen bedeutet. Die große chemische Verschiebung ist auf die $sp^2$-Hybridisierung des Atoms und die hohe Elektronegativität des Sauerstoffs zurückzuführen.

Es gibt im HSQC insgesamt drei C-Atome, die kein Proton aufweisen. Eines ist das Carbonyl-C, die anderen beiden sind das C1-Atom und das C-Atom des Lösungsmittels $CDCl_3$ (deuteriertes Trichlormethan). Zum $CDCl_3$ gehört der Peak k, der dreigeteilt ist. Dieser Sachverhalt lässt sich mit den Wechselwirkungen zwischen dem C-Atom und dem Deuterium erklären, zudem ist das $CDCl_3$ meist an dieser Stelle zu finden. Zum C1-Atom gehört der Peak f, weil er im Verschiebungsbereich der anderen C-Atome liegt und nicht soweit verschoben ist, wie das C-Atom des Lösungsmittels.

Von den drei identifizierten Methylgruppen ist F diejenige, die am C4-Atom hängt. Diese Tatsache wurde oben durch das Ausschlussverfahren festgestellt.

Die Methylgruppe F sieht im COSY das Proton J, bei welchem es sich um das Proton, das ebenfalls am C4-Atom hängt, handelt. Im COSY ist allerdings keine Kopplung zwischen J und E, welche aufgrund der Molekülstruktur erwartet wurde, erkennbar. Das liegt daran, dass beide in einem rechten Winkel zueinander stehen. E ist das Proton, welches übrig bleibt und demzufolge am C5-Atom hängt. Erwartungsgemäß korreliert es im COSY mit A und B des benachbarten C-Atoms.

Weiterhin trat eine unerwartete Kopplung zwischen B und K, also 6i und 2e auf. Diese beiden Protonen liegen vier Bindungen weit entfernt.

Die zwischen ihnen bestehende Wechselwirkung ist ein Phänomen aus der organischen Chemie und wird als Long-Range-Kopplung bezeichnet. Sie tritt auf, weil die vier Bindungen zwischen 6i und 2e wie in einem großen W (s. Abb. 37-1) angeordnet sind. Damit ist die grundsätzliche Struktur des Thujons aufgeklärt.

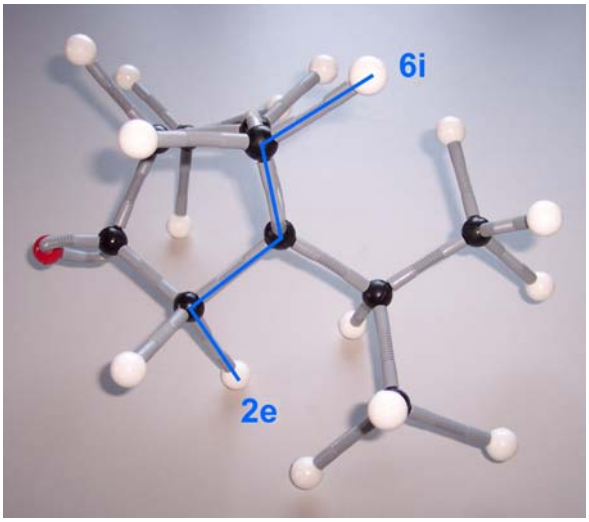


Abb. 37-1 α-Thujon mit Long-Range-Kopplung

Nun gilt es, die Unterschiede der beiden Isomere α- und β-Thujon mit Kernmagnetresonanzspektroskopie nachzuweisen. Dazu haben wir zunächst die Spektren des β-Thujons interpretiert.

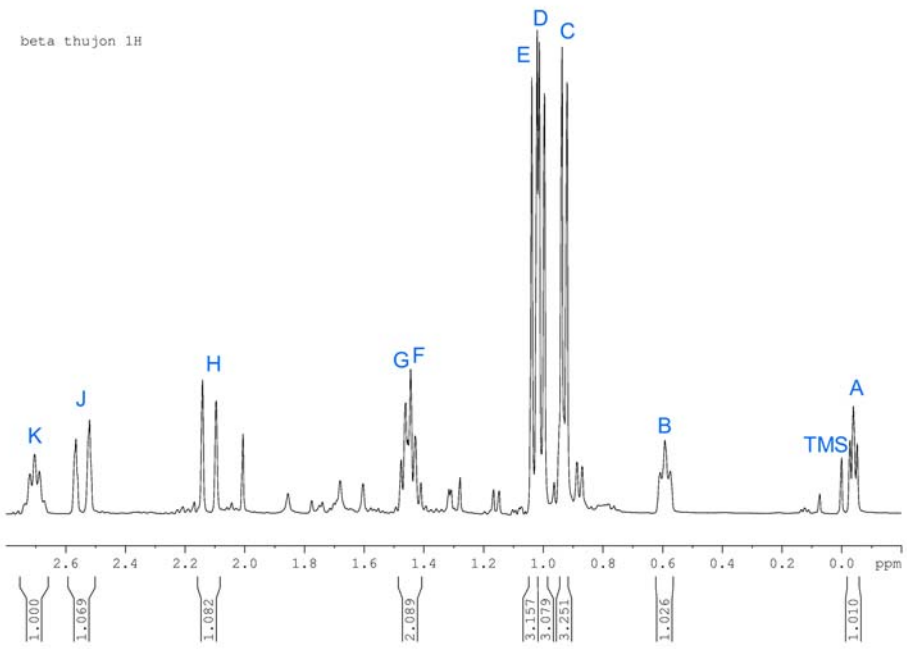


Abb. 37-2 $^{1}$H-Übersichtsspektrum von β-Thujon von 0 bis 2,6 ppm

Am Protonenspektrum sieht man deutliche Ähnlichkeiten mit dem α-Thujon Spektrum. Deshalb haben wir hier auf eine erneute detaillierte Aufschlüsselung der COSY- und HSQC-Spektren verzichtet.

Ein problematischer Sachverhalt macht die Zuordnung zu einer Herausforderung: die Protonen an den C-Atomen 5 und 7 überlagern sich. Das sieht man am Integral, welcher den Wert zwei hat und am HSQC-Spektrum.

Durch einen Vergleich des β-Thujon HSQC mit dem des α-Thujons kann die Zuordnung vorgenommen werden (siehe Tab. 38-1).

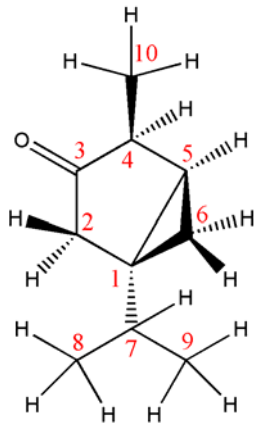



Abb. 38-1 β-Thujon, Nummerierung nach IUPAC

| Peak | Verschiebung in ppm | Integral | COSY | HSQC | H Atom | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| J | 2,54 | 1 | | | 2e | s. COSY, L-R-K |
| H | 2,12 | 1 | | | 2a | |
| K | 2,7 | 1 | | | 4a | |
| G | 1,45 | 1 | | | 5a | auf 7a |
| B | 0,6 | 1 | | | 6i | s. NOESY |
| A | -0,04 | 1 | | | 6f | s. NOESY |
| F | 1,44 | 1 | | | 7a | auf 5a |
| D | 1,01 | 3 | | | 8a-c | 9a-c ? |
| C | 0,93 | 3 | | | 9a-c | 8a-c ? |
| E | 1,03 | 3 | | | 10a-c | |

Tab. 38-1 $^{1}$H-Peakübersicht des β-Thujons

| Peak | Verschiebung in ppm | APT (gerade/ ungerade) | HSQC | Anzahl p+ | C Atom | Bemerkung |
|---|---|---|---|---|---|---|
| a | 12,43 | ungerade | | 3 | 10 | Methyl |
| b | 14,65 | gerade | | 2 | 6 | |
| c | 19,66 | ungerade | | 3 | 9 | C8 ?, Methyl |
| d | 19,74 | ungerade | | 3 | 8 | C9 ?, Methyl |
| e | 24,57 | ungerade | | 1 | 5 | |
| f | 27,36 | gerade | | 0 | 1 | kein H |
| g | 32,6 | ungerade | | 1 | 7 | |
| h | 41,68 | gerade | | 2 | 2 | |
| j | 45,35 | ungerade | | 1 | 4 | |
| k | 77,06 | gerade | | 0 | $CDCl_3$ | kein H |
| l | 218,34 | gerade | | 0 | 3 | C=O |

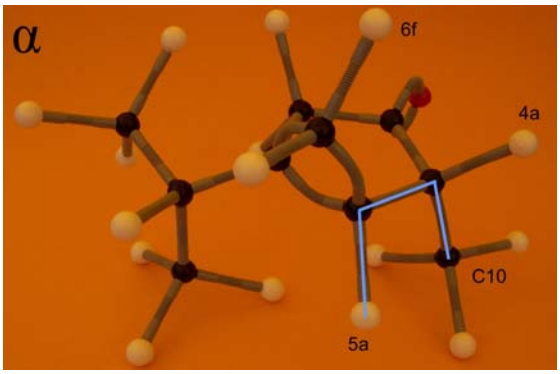
Tab. 38-2 $^{13}$C-Peakübersicht des α-Thujons

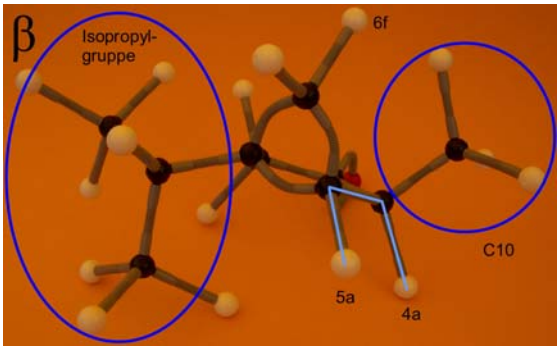
## 9.2 Isomerieaufklärung

Vergleich zwischen den α- und β-Thujon $^{1}$H-Spektren:

- 4a rutscht von 2,22 ppm auf 2,7 ppm, weil es sich in der Ebene der Carbonylgruppe befindet, daraus resultiert Entschirmung (Verschiebung vom TMS-Signal weg)
- 2e (α) bei 2,55 ppm; 2e (β) bei 2,54 ppm
- die Methylgruppe C10 rutscht von 1,16 ppm (α) auf 1,03 ppm (β)
- die beiden Methylgruppen der Isopropylgruppe bleiben praktisch gleich
- 5a rutscht von 1,09 ppm auf 1,45 ppm
- die beiden geminalen Dreiringprotonen 6i und 6f rutschen jeweils beide um etwa 0,2 ppm in Richtung Abschirmung (zum TMS-Signal hin)

Die Zuordnung der geminalen Protonen am Dreiring ist zugleich die Bestimmung, ob es sich um α- oder β-Thujon handelt.
Im α-Thujon NOESY hat das geminale Dreiringproton, welches nahe am TMS Signal ist (6f), Kontakt zu seinem Zwilling, zum axialen 2a Proton und zu 4a.
Das heißt, dass das 6f Proton jenes ist, welches über den Fünfring ragt, und dass 4a nach vorn gerichtet ist, während die C10-Methylgruppe nach hinten ragt. Deshalb handelt es sich hier eindeutig um das cis-Thujon, das α -Thujon.
Das 6i Proton bei 0,76 ppm (0,6 ppm bei β-Thujon) hat einen NOE Kontakt zum 7a, d.h. zum CH der Isopropylgruppe. Weiterhin gibt es eine Korrelation zwischen 5a und der C10 Methylgruppe.
Im β-Thujon NOESY fehlt der 6f und 4a Kontakt, stattdessen sieht das 6f die C10-Methylgruppe und das 5a Proton korreliert mit dem 4a Proton, was die trans-Situation deutlich macht.




Eindeutige Isomeriezuordnung:
**α - cis:** 6f sieht 4a, 5a sieht C10-Methylgruppe im α-Thujon NOESY
**β - trans:** 6f sieht C10-Methylgruppe, 5a sieht 4a im β-Thujon NOESY

# 10 Fazit

Die Arbeit an unserer Besonderen Lernleistung hat uns enorm vorangebracht und unseren Wissenshorizont stark erweitert. Wir haben Labortechniken kennengelernt und mit Geräten gearbeitet, die Schülern normalerweise für Experimente nicht zur Verfügung stehen. So durften wir selbstständig mit HPLC und Gaschromatografen arbeiten und Wasserdampf- sowie Drehbandkolonnen-destillationen durchführen. Es wurde uns ebenfalls ermöglicht, bei den Messungen mit dem Kernmagnetresonanzspektrometer anwesend zu sein und einen Einblick in diese Technik zu erhalten.

Als Ergebnis der Extraktion von Thujon können wir verbuchen, dass es uns gelungen ist, Wermutöl und Thujaöl aus den jeweiligen Pflanzen mittels Wasserdampfdestillation zu extrahieren. Weiterhin war es uns möglich die Isomere des Naturstoffs Thujon, α-Thujon und β-Thujon, eindeutig zuzuordnen und ihre Struktur durch NMR-Spektroskopie aufzuklären.

Wir extrahierten β-Thujon aus gekauftem Wermutöl und α-Thujon aus gekauftem Salbeiöl mithilfe der Drehbandkolonnendestillation. Das β-Thujon war nicht analysenrein, aber für die NMR-Untersuchung zu gebrauchen. Das extrahierte α-Thujon aus dem Salbeiöl hatte eine Reinheit von 96,7% und steht deshalb dem gekauften α-Thujon mit einer Reinheit von ~96% in nichts nach. Zum Zeitpunkt der Extraktion des α-Thujons aus Salbeiöl, hatten wir bereits die Isomerenzuordnung unter Verwendung des NMR-Spektrums des gekauften α-Thujons vorgenommen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass wir unser Ziel, Thujon zu extrahieren, dessen Struktur aufzuklären und die Isomere zu unterscheiden, erreicht haben.

# 11 Quellenverzeichnis

### Literatur


[1] P.W. Atkins, 1996: Physikalische Chemie, 2. Auflage, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim

[2] W. N. Arnold, 1992: Vincent van Gogh: Chemicals, Crisis and Creativity, Birkhäuser Verlag, Boston, Basel, Berlin

[3] H. Duddeck, W. Dietrich, 1988: Strukturaufklärung mit moderner NMR-Spektroskopie, Steinkopff Verlag, Darmstadt

[4] E. Glaum, Dr. R. Wolff, 1991: Chemie für die Sekundarstufe II, Ferdinand Dümmler Verlag, Bonn

[5] D. B. Gujarathi, N. T. Ilay, 1993: Continuous Water Circulation Destillation: A Modification of Steam Distillation. Journal of Chemical Education, **70(1)**, S. 86

[6] Manfred Jäckel, Dr. Karl T. Risch, 1988: Chemie heute – Sekundarbereich II, Schroedel Schulbuchverlag GmbH, Hannover

[7] Ph. Julve, 1998 ff. – Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version: 23. April 2004 (http://perso.wanadoo.fr/philippe.julve/catminat.htm)

[8] Prof. Dr. Erhard Kemnitz, Dr. Rüdiger Simon, 2004: Basiswissen Schule, Chemie Abitur, 1. Auflage, Bibliographisches Institut & F. A. Brockhaus AG, Mannheim und PAETEC Gesellschaft für Bildung und Technik mbH, Berlin

[9] D.W. Lachenmeier [Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Karlsruhe, D], J. Emmert, G. Sartor [Fluka Production GmbH, Buchs, CH] , 2004: Authentifizierung von Absinth

[10] Anne McIntyre, 1993: Heilkräuter bei Beschwerden, Mosaik Verlag, München

[11] K. Peter, C. Vollhardt, Neil E. Shore, 2005: Organische Chemie, 4. Auflage, WILEY-VCH, Weinheim

[12] W. Pinto-Scognamiglio, 1967: Connaissances actuelles sur l'activité pharmacodynamique de la thuyone aromatisant naturel d'un emploi etendu. *Boll. Chim. Farm.*, **106**, S. 292-300

[13] Prof. Klaus Roth, Freie Universität Berlin, 2005: Der Zauber der Grünen Fee. *Chem. Unserer Zeit*, **39**, S. 130-136

[14] Georg Schwedt, 1996: Taschenatlas der Analytik; Georg Thieme Verlag, Stuttgart

**Netzpräsenzen**

[1] http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/nmr_spek/zweidimensionale_nmr.vlu/Page/vsc/de/ch/3/anc/nmr_spek/m_50/nmr_10_3/zweidcosy_m50te0903.vscml.html; 27. Juni 2006
[2] www.analytik.ethz.ch/vorlesungen/biopharm/2004/NMR.pdf; 2. Juni 2006
[3] http://www.experimentalchemie.de/03-b-11.htm, 27. Juni 2006
[4] http://www.falk-schuch.de/protokolle/ocscript/node48.html, 27. Juni 2006
[5] http://www.giftpflanzen.com/artemisia_absinthium.html; 25. September 2005
[6] http://www.mplus-gmbh.de/html/grundlagen_der_gaschromatograp.html; 29. Juni 2006
[7] http://www.mplus-gmbh.de/html/grundlagen_der_hplc.html; 29. Juni 2006
[8] http://www2.chemie.uni-erlangen.de/projects/vsc/chemie-mediziner-neu/phasen/trennen1.html; 30. Oktober 2005
[9] http://www.uni-ulm.de/uni/fak/natwis/anachem/Lehrveranstaltungen/analyt_chem_hauptstud/FP-Analytische%20Chemie/FP-HPLC_SkriptSS04neu.pdf; 28. Juni 2006
[10] http://www.spectroscopynow.com/coi/cda/detail.cda?id=10171&type=EducationFeature&chId=5&page=1; 28. Juni 2006
[11] http://www.umweltanalytik.com/lexikon/ing35.htm; 17.12.2006
[12] http://www.chemie.uni-erlangen.de/oc/vostrowsky/natstoff/05Terpene.pdf; 17.12.2006

# 12 Anlagenverzeichnis

Anhang A Arbeitsprotokolle

Anhang B NMR-Spektren und GC-Diagramme

Anhang C Relevante Strukturformeln

## 13 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit erklären wir, Stefan Döge und Igor Kunze, die vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe und nur unter Verwendung der im Literaturverzeichnis angegebenen Quellen im Zeitraum von September 2005 bis Januar 2007 erarbeitet zu haben.

Leipzig, den 10. Januar 2007

---------- ----------

Stefan Döge Igor Kunze

# 14 Danksagung

Wir bedanken uns recht herzlich bei allen, die uns bei der Erstellung der „Besonderen Lernleistung“ unterstützt haben. Insbesondere bei Prof. Dr. Stefan Berger, Leiter des Instituts für Analytische Chemie der Universität Leipzig, für seine wissenschaftliche und inhaltliche Hilfestellung, sowie bei Frau Katrin Maywald für die Betreuung im Labor. Die erfahrene Unterstützung hat uns geholfen, unsere Arbeit zu einem guten Abschluss zu bringen und einen Einblick in das Universitäts- und Forschungsleben zu gewinnen.
Ein besonderer Dank gebührt natürlich auch unserer schulinternen Betreuerin Frau Evelin Mietschke für das kritische Lesen der Arbeit und hilfreiche Anmerkungen.