

**328. Karl Heinrich Slotta und Klaus Neisser: Zur Chemie des Kaffees, III. Mitteil.: Die Gewinnung von Cafesterol und anderen Verbindungen aus dem Unverseifbaren des Kaffee-Öls.**

[Aus d. Forschungsabteil. d. Kaffee-Institutes S. Paulo, Brasilien, Instituto Butantan.]  
(Eingegangen am 23. August 1938.)

Bei unseren Untersuchungen über das Unverseifbare des Kaffee-Öls, über die wir schon anderen Ortes<sup>1)</sup> im vorigen Jahre berichteten, haben wir inzwischen einige neue Ergebnisse erzielt. Obgleich auch jetzt die endgültige Aufklärung der rein dargestellten Stoffe noch nicht vollständig abgeschlossen ist, wollen wir heute schon das Wesentliche über die beste Art ihrer Gewinnung mitteilen. Dazu veranlaßt uns besonders die Tatsache, daß unsere Weiterarbeit auf diesem Gebiete aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußte.

Wie schon andere<sup>2)</sup> fanden, enthält Roh- wie Röstkaffee etwa 1% Unverseifbares, das sich nach den üblichen Methoden leicht abscheiden läßt. Zur Darstellung größerer Mengen geschieht dies am besten mittels der im Versuchsteil beschriebenen Technik. Man gewinnt so das Unverseifbare in Form eines bräunlich-gelben Öls,<sup>1</sup> das im Eisschrank zum größten Teil krystallin erstarrt.

Das schon früher<sup>2)</sup> daraus isolierte Phytosterin haben wir in sehr reiner Form dargestellt und gefunden, daß es nach Löslichkeits-Eigenschaften, Schmelzpunkt und optischer Drehung als  $\gamma$ -Sitosterin anzusprechen ist. Seine Menge beträgt, bezogen auf Kaffee, etwa 0.01 %.

Als zweiter krystallisierter Stoff wurde von Bengis und Anderson<sup>2)</sup> ein luftempfindlicher, stark links drehender Stoff vom Schmp. 143—143.5° gewonnen, das „Kahweol“. Wir haben diesen Stoff, der die Hauptmenge des Unverseifbaren darstellen soll, trotz sehr gründlichen Suchens nicht gefaßt, wohl aber an seiner Stelle eine Substanz, die 13° höher schmilzt (Schmp. 155—157°) und nicht luftempfindlich ist. Es ist uns sehr wahrscheinlich, daß das „Kahweol“ keine reine Substanz, sondern ein Gemisch von verschiedenen Stoffen gewesen ist, das zu etwa 80% aus dem Stoff vom Schmp. 155—157° bestanden haben dürfte. Wir bezeichnen den reinen Hauptinhaltsstoff des Unverseifbaren, um Verwechslungen mit dem Kahweol zu vermeiden, und weil wir über seine Natur schon weitgehend unterrichtet sind, als Cafesterol. Reines Cafesterol hat den oben genannten Schmelzpunkt und eine spezifische Drehung in Chloroform von —137.9°. Bewahrt man den Stoff längere Zeit auf, so verfärben sich die anfangs rein weißen Krystalle leicht gelblich, der Schmelzpunkt wird unscharf und sinkt, die negative optische Drehung wird größer. Die Zerstörung der Substanz geht im Licht schneller vor sich als im Dunkeln, während die Anwesenheit von Sauerstoff keine Rolle zu spielen scheint.

Cafesterol läßt sich am einfachsten nach der im Versuchsteil ausführlich beschriebenen Methodik sowohl aus Roh- wie aus Röstkaffee in 0.3 bis 0.4% Ausbeute gewinnen. Es besitzt bereits im unreinen Zustand eine außerordentlich große Krystallisationsfreudigkeit, während seine vollständige Reinigung bis zum konstanten Schmelzpunkt garnicht so einfach

<sup>1)</sup> K. H. Slotta u. K. Neisser, *Memorias do Instituto Butantan* **11**, 71 [1937].

<sup>2)</sup> R. O. Bengis u. R. J. Anderson, *Journ. biol. Chem.* **47**, 99 [1932].

gelingt. Am besten krystallisiert man es durch Extraktion aus der Hülse mittels Ligroins um, wobei man es oft in zentimeterlangen weißen Nadeln gewinnt.

Die kennzeichnendste Eigenschaft des Cafesterols ist seine Empfindlichkeit gegen Säuren. Während starke Alkalien selbst in der Bombe bei 120° keinerlei Einwirkungen haben, wird es schon in der Kälte von verdünnten Säuren zerstört. Auf dieser Empfindlichkeit beruht auch die schöne und anscheinend recht spezifische Farbreaktion des Cafesterols, die wir beobachteten: löst man ein wenig Cafesterol in Alkohol und setzt einen Tropfen konz. Säure zu, so sieht man, u. U. nach Erwärmen, zunächst eine Rosafärbung, die schnell in Rot, dann Violett, Blau und schließlich in Grünblau übergeht.

Die Bruttozusammensetzung des Cafesterols ist  $C_{20}H_{28}O_3$ . Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen ließen auch noch andere, ähnliche Formeln offen. Die Analysen und Molekulargewichtsbestimmungen des Cafesterolmonoacetates beseitigten aber jeden Zweifel an der angegebenen Zusammensetzung. Über das Acetat und weitere Derivate des Cafesterols, die diese Formel noch erhärten, sowie über seine chemische Konstitution werden wir demnächst berichten.

Es interessierte uns weiter, ob das Cafesterol, das nach seiner Bruttozusammensetzung den Sexualhormonen nahesteht, irgendeine physiologische Wirksamkeit besitzt. Während es auf männliche, kastrierte Ratten selbst in Mengen von 300 mg keinerlei Einfluß hat, erzeugte es in Dosen von etwa 2.5 mg bei der weiblichen kastrierten Maus Vollöstrus (Allen-Doisy-Test); höhere Dosen töteten die Tiere.

Außer dem Cafesterol und dem Sitosterin lassen sich aus dem Unverseifbaren des Kaffees noch weiter mindestens vier Substanzen in krystallisierter Form darstellen, deren Menge jedoch weit hinter der des Cafesterols zurücksteht. Wir nennen die von uns vorläufig erhaltenen Substanzen A, C, I und S. Der Gehalt des Kaffees ist noch am größten an Stoff A, der sich zu etwa 0.03 % aus dem hiesigen Kaffee gewinnen läßt. Die anderen drei Substanzen dürften etwa in der Größenordnung von 0.001% im Kaffee vorhanden sein; wir haben sie nur aus Ansätzen von 10 und mehr kg Kaffee fassen können.

Alle diese Substanzen lassen sich vom Cafesterol auf Grund ihrer guten Löslichkeit in viel kaltem Petroläther trennen. Aus der so erhaltenen Fraktion ist nach Abdampfen des Lösungsmittels zunächst durch Anreiben mit wenig Alkohol ein Krystallisat zu gewinnen, das aus Sitosterin, Stoff I und Stoff S besteht. Die Mutterlauge dieses Gemisches enthält ein Harz, das sich durch Zugabe von viel Alkohol, in dem es unlöslich ist, abscheiden läßt. Von dessen Untersuchung haben wir vorläufig Abstand genommen. Die dekantierte Lösung enthält die Stoffe A und C, die sich durch Krystallisation aus wenig Petroläther, aus Aceton und aus Essigester trennen lassen. Aus dem zuerst erhaltenen Krystallisat, bestehend aus Sitosterin, Stoff I und Stoff S läßt sich zunächst das Sitosterin durch wiederholte Krystallisation aus Alkohol rein darstellen. Aus den Mutterlauen kann man die Stoffe I und S auf Grund ihrer verschiedenen Löslichkeit in Methanol trennen und durch wiederholte Krystallisation, z. B. aus Aceton, rein gewinnen.

Stoff A schmilzt bei 114—116°, Stoff C bei 128—129°, Stoff I bei 88—89° und Stoff S bei 62—64°. Die Tatsache, daß die Schmelzpunkte verhältnismäßig weit voneinander entfernt liegen, hat uns die Reindarstellung erheblich erleichtert. Über die Konstitution dieser neuen Stoffe hoffen wir, bald an dieser Stelle Näheres berichten zu können.

### Beschreibung der Versuche.

#### Isolierung des Unverseifbaren aus Rohkaffee.

Man trocknet Rohkaffee bis auf einen Wassergehalt von nicht mehr als etwa 5% und zerkleinert ihn dann möglichst weitgehend, am besten in einer Schlagkreuzmühle. Das Material wird nun in einem größeren Durchlaufextraktor 24—36 Stdn. mit Äther extrahiert und der Extrakt abgedampft. Zu dem Fettrückstand wird auf je 500 g etwa 1 l Petroläther gegeben und die Lösung über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Die ausgeschiedenen, bräunlich gefärbten Coffeinkristalle (in der Regel etwa 0.25% des Kaffees) werden abgesaugt und gewaschen. Die Lösung nebst Waschlösungen wird, zuletzt im Vakuum, eingedampft. Das noch warme Fett wird in eine gut gerührte 10-proz. wäßrige Lösung von techn. Ätznatron gegeben, von der man 1 l auf je 8 kg Kaffee anwendet. Man rührt nun 6—12 Stdn., gibt dann zu der Mischung auf je 8 kg Kaffee weitere 2 l Wasser und 1.5 l 95-proz. Alkohol und rührt weiter, bis man eine fast klare Lösung erhält. Die Lösung wird dann in einem Flüssigkeitsextraktor sehr gründlich, u. U. 3 Tage lang, mit Äther extrahiert. Sollte die Trennung der Schichten im Anfang Schwierigkeiten bereiten, so gibt man eine kleine Menge niedrigsiedenden Petroläthers zu. Die Ätherlösung wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und abgedampft, und man erhält so das Unverseifbare in Form eines gelbbraunen Öles, das im Eisschrank alsbald kristallin erstarrt. Die Ausbeute beträgt im Durchschnitt 1% des Kaffees.

#### Aufteilung des Unverseifbaren.

Man zerlegt zunächst das Unverseifbare in eine in Petroläther lösliche Fraktion (I) und eine darin unlösliche Fraktion (II), die das Cafesterol enthält. Dies kann auf 2 Weisen erreicht werden.

1) Das möglichst trockne Unverseifbare wird mit einem inerten Träger, z. B. wasserfreiem Natriumsulfat, im Mörser verrieben, bis man ein feinkörniges Pulver erhält. Dieses wird nun in einer Stöpselflasche auf der Schüttelmaschine mehrfach mit Petroläther ausgezogen, bis das Lösungsmittel farblos bleibt. Die zurückbleibende Fraktion II im Gemisch mit Natriumsulfat wird in eine Hülse gegeben und mindestens 24 Stdn. mittels Benzins vom Sdp. 70—90° im Durchlaufextraktor ausgezogen. Die Lösung scheidet schon in der Hitze schöne Krystalle von Cafesterol aus, die durch 2-maliges Umkrystallisieren aus Ligroin (unter Abtrennung der zuerst krystallisierenden gefärbten Substanz) ganz rein und in schneeweißen Nadeln erhalten werden können.

2) Einfacher noch läßt sich die Zerlegung in Fraktion I und II durchführen, wenn man die Ätherlösung des Unverseifbaren nicht vollständig eindampft, sondern nur weitgehend konzentriert und dann überschüssigen Petroläther zugibt. Man erhält so das rohe Cafesterol bereits in schönen Krystallen und mit derselben Ausbeute wie bei dem ersten Verfahren,

d. h. 0.3—0.4 % des Kaffees. Die Reinigung kann in der gleichen Weise wie oben erfolgen.

Cafesterol ist leicht löslich in Äther, Methanol, Äthanol, Chloroform, Aceton, Essigester, Eisessig, Acetanhydrid und Pyridin, etwas weniger löslich in Benzol, wenig löslich in Cyclohexan und unlöslich in Wasser. Außer aus Ligroin kann man es aus Mischungen von Äther, Aceton oder Essigester mit viel Petroläther krystallisieren, ferner aus Mischungen von Alkohol, Methanol, Aceton oder Eisessig mit Wasser. Schmp. 155—157°.

$$[\alpha]_D^{20} = (100 \times -2.94^{\circ}) / (1 \times 2.132) = -137.9^{\circ} \text{ (in Chloroform).}$$

5.203, 4.125, 4.927, 4.732 mg Sbst.: 14.480, 11.510, 13.615, 13.140 mg CO<sub>2</sub>, 3.960, 3.170, 3.860, 3.710 mg H<sub>2</sub>O. — 0.217, 0.232 mg Sbst. in 4.543, 3.442 mg Campher: Δ = 5.7°, 8.4°.

C <sub>20</sub> H <sub>28</sub> O <sub>3</sub> .	Ber. C 75.95,	H 8.86,	Mol.-Gew. 316.
	Gef. „ 75.90, 76.10,	„ 8.53, 8.60,	„ 335, 322.
	75.66, 75.73.	8.80, 8.77.	

#### Aufteilung der in Petroläther löslichen Fraktion I.

Die Lösung, die neben harzigen und anderen Bestandteilen das Sitosterin und die Substanzen A, C, I und S enthält, wird im Vakuum zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit etwa dem gleichen Volumen 95-proz. Alkohol heiß verrieben, wobei er vollständig in Lösung geht. Beim Stehenlassen der Lösung im Eisschrank über Nacht scheidet sich das Sitosterin ab. Die Krystalle werden auf der Nutsche gründlich mit Alkohol gewaschen, wobei sie schon fast farblos werden. Man krystallisiert sie dann aus Alkohol unter Zusatz von Tierkohle um und erhält so reines Sitosterin vom Schmp. 134—135°.

1.251 mg Sbst.: 3.865 mg CO<sub>2</sub>, 1.340 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O. Ber. C 84.06, H 12.08. Gef. C 84.26, H 11.98.

Die alkohol. Mutterlaugen des Sitosterins werden abgedampft und der Rückstand mehrmals mit Methanol ausgekocht. Die Methanol-Lösungen enthalten die Substanz S, die man daraus durch Einengen und mehrfaches Umkrystallisieren aus Aceton rein gewinnen kann. Sie ist nur in sehr geringer Menge vorhanden und schmilzt bei 62—64°. — Der in Methanol unlösliche Rückstand besteht im wesentlichen aus Substanz I, die sich durch Umkrystallisieren aus Aceton, Acetanhydrid und wieder Aceton in schneeweißen Nadelchen vom Schmp. 88—89° gewinnen läßt.

In der oben erhaltenen alkohol. Mutterlauge befinden sich noch die Substanzen A und C. Zu ihrer Gewinnung fällt man zunächst durch Zugabe eines großen Alkohol-Überschusses eine dunkel gefärbte, ölige Substanz aus, von der nach einigem Stehenlassen im Eisschrank dekantiert wird. Nach Entfernung des Lösungsmittels wird der Rückstand aus nicht zu viel Petroläther umgelöst. Man erhält so die Substanz A in fast farblosen Krystallen, die nach nochmaligem Umlösen aus Petroläther den konstanten Schmp. 114—116° haben.

4.050, 3.829 mg Sbst.: 11.885, 11.225 mg CO<sub>2</sub>, 3.750, 3.580 mg H<sub>2</sub>O.

C<sub>22</sub>H<sub>34</sub>O<sub>2</sub>. Ber. C 80.00, H 10.31. Gef. C 80.03, 79.95, H 10.36, 10.46.

Die Mutterlauge von Substanz A wird eingedampft und mit Aceton oder Essigester angerieben, wobei Substanz C auskrystallisiert. Durch Umkrystallisieren aus den gleichen Lösungsmitteln erhält man sie rein mit dem Schmp. 128—129°. — Man kann auch zuerst die Substanz C krystallisieren und dann aus ihrer Mutterlauge nach Abdampfen des Lösungsmittels und Behandeln mit Petroläther die Substanz A gewinnen.