

Atractyligenin — ein wesentlicher Bestandteil gerösteter Kaffeebohnen

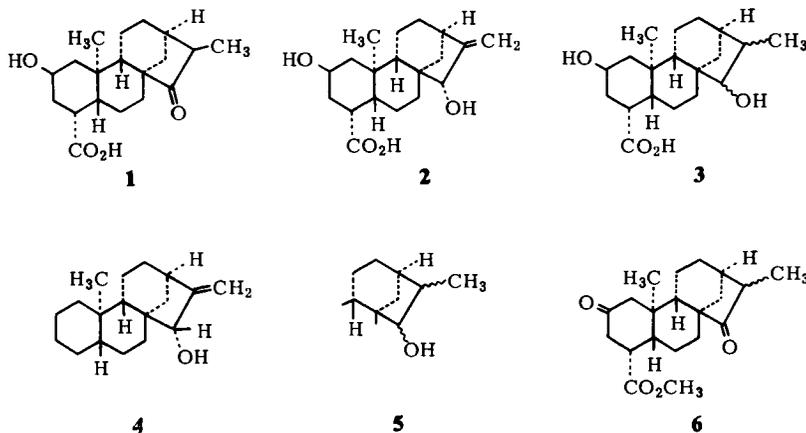
Helga Ludwig, Hugo Obermann und Gerhard Spiteller*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen,
D-3400 Göttingen, Windausweg 2

Eingegangen am 15. Februar 1974

Wir beschrieben kürzlich die Isolierung der 2 β -Hydroxy-15-oxoatractylan-4 α -carbonsäure (**1**) aus Menschenharn¹⁾. Diätversuche ergaben, daß **1** nicht im Körper produziert wird, sondern ein Stoffwechselprodukt einer im Kaffee enthaltenen Verbindung sein muß, da sie nur im Harn von Kaffeetrinkern enthalten ist.

Bei der Aufarbeitung des wäßrigen Extraktes gebrannter Bohnen von *Coffea arabica* isolierten wir nach enzymatischer Spaltung mit β -Glucuronidase/Arylsulfatase Atractyligenin (**2**). **2** liegt in der Kaffeebohne als Glycosid vor. Dieses ist sowohl sauer als auch alkalisch schwer verseifbar; offenbar ist dies der Grund dafür, daß **2** bisher noch nicht als Bestandteil gerösteter Kaffeebohnen aufgefunden wurde. Atractyligenin (**2**), das sich vom Diterpenoid Kauran ableitet²⁾, ist das Aglycon des Atractylosids³⁾, das wegen seiner hemmenden Wirkung auf die mitochondriale Nucleotidtranslocase größeres Interesse erweckte⁴⁾.



Der Gehalt an **2**, bezogen auf handelsüblichen Röstkaffee, beträgt etwa 0.1%. Im menschlichen Körper wird das Glycosid von **2** zum größten Teil zu einem Glycosid von **1** umgewandelt.

1) H. Obermann, G. Spiteller und G.-A. Hoyer, Chem. Ber. 106, 3506 (1973).

2) F. Piozzi, A. Quilico, R. Mondelli, T. Ajello, V. Sprio und A. Meleru, Tetrahedron 22 (IV), 515 (1966).

3) M. Lefrane, J. Pharm. Chim. 4, 9, 81 (1869).

4) P. V. Vignais, E. D. Duee, P. M. Vignais und J. Huet, Biochim. Biophys. Acta 118, 465 (1966).

Die naheliegende Annahme, daß **2** zu **1** durch saure Katalyse im Magen umgelagert wird, ist auszuschließen: Wie *Barnes* und *MacMillan*⁵⁾ zeigen konnten, sind nämlich Δ^{16} -ent-Kaurene mit einer 15α -ständigen OH-Gruppe (**4**)⁵⁾ im Gegensatz zum 15β -Isomeren nicht durch saure Katalyse in 16-Methyl-15-oxo-Verbindungen überführbar.

Zusätzlich werden etwa 7–14% Atractyligenin (**2**) unverändert und die gleiche Menge als Dihydroderivat von **2** ausgeschieden. Die Metaboliten von **2** erscheinen erst 24 Stunden nach Kaffeegeuß im Harn und sind nach 48 Stunden noch nicht vollständig ausgeschieden.

Das Vorliegen des Dihydroattractyligenins (**3**) konnte durch das Massenspektrum an Ionen bei $M - 59$ und $M - (59 + 18)$, die für das Strukturelement **5** charakteristisch sind¹⁾, erkannt werden. Zur Absicherung der Struktur wurde **3** in den Methylester übergeführt und dann mit $\text{CrO}_3/\text{Eisessig}$ zu **6** oxidiert. Das Massenspektrum dieses Oxidationsproduktes **6** ist identisch mit dem MS des Oxidationsproduktes des Methylesters von **1**.

Herrn Prof. Dr. E. Gerhards, Schering AG, Berlin, danken wir für die Prüfung von **1** auf biologische Wirksamkeit.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen.

Experimenteller Teil

Atractyligenin aus Kaffee: 250 g feingemahlener Röstkaffee wurden mit 1 Liter heißem Wasser übergossen und 5–10 min stehengelassen. Nach dem Abfiltrieren wurde der Filterrückstand mit 1 Liter heißem Wasser gewaschen. Die vereinigten Filtrate brachte man durch Zusatz von 82 g Natriumacetat (wasserfrei) und 60 ml Eisessig auf pH 4.8 und inkubierte 48 h bei 37°C mit 8 ml β -Glucuronidase/Arylsulfatase-Gemisch (Boehringer, Aktivität 4.5 U/ml Glucuronidase, 2.6 U/ml Arylsulfatase).

Nach dreimaliger Extraktion mit je 500 ml Essigester wurden die vereinigten Essigesterextrakte mit 200 ml 10proz. Schwefelsäure und mit Wasser gewaschen. Die Säuren wurden mit 500 ml eiskalter 1 N NaOH herausgeschüttelt; der Natronlauge-Auszug wurde mit Eisessig angesäuert und mit 500 ml Essigester extrahiert. Eindampfen im Rotationsverdampfer und Trocknen i. Vak. ergab 0.93 g öligen Rückstand. Zur Reinigung wurde an 10 DC-Platten (Kieselgel HR, Merck; Plattengröße 20 × 20 cm, Schichtdicke 1 mm) chromatographiert. Die Trennung erfolgte durch mehrfaches Entwickeln mit den folgenden Laufmitteln: 1. $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 5\%$ Aceton; 2. $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 10\%$ Aceton; 3. $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 20\%$ Aceton; 4. $\text{CH}_2\text{Cl}_2 + 40\%$ Aceton. Als Sprühreagens diente eine 0.5proz. J_2 -Lösung in CHCl_3 (4 Zonen). Zone 3 enthielt 250 mg Atractyligenin (**2**), Schmp. 150–154°C, nach Umkristallisation aus Essigester 189–198°C (Kofler).

Methylester von 2: 25 mg **2** wurden in 5 ml Äthanol gelöst und mit äther. Diazomethanlösung bis zur bleibenden Gelbfärbung behandelt; der Eindampfrückstand lieferte aus Essigester/Cyclohexan 20 mg glasiges Material, Schmp. 89–90°C (Kofler). *Piozzi et al.*²⁾ berichten von einem Schmp. von 158–159°C, den wir aber nicht finden konnten. Alle anderen Daten (MS, NMR, opt. Drehung) stimmen jedoch mit den Literaturangaben überein.

Dihydroderivat von Atractyligenin im Urin, Dihydroattractyligenin (3): **3** wurde, wie bei **1** beschrieben, aus Urin isoliert¹⁾. Die DC-Zone **5**¹⁾ (polarer als **1**) wurde eluiert und die Methylester einer GC-MS-Analyse unterworfen (Varian MAT CH 7 mit GC-Kopplung; GC: Varian 1700, 1.50 m Glassäule; Innendurchmesser 2 mm, 3% OV 17 auf Chromosorb W, AW, DMCS (80–100 mesh), Injektortemp.: 270°C, Säulentemp.: 290°C, Trägergas: Helium,

⁵⁾ M. F. Barnes und J. MacMillan, J. Chem. Soc. C 1967, 361.

20 ml/min). Das GC zeigt zwei Peaks, die 1. Verbindung konnte anhand des Massenspektrums als Atractyligenin-methylester identifiziert werden; Peak 2 zeigt das MS des Dihydroattractyligenin-methylesters:

MS:70 eV (Ionenquellentemp.: 150°C)

<i>m/e</i>	336	321	318	303	300	277	259
rel. Intensität in %	31	9	75	19	14	8	100

Oxidation des Dihydroattractyligenins (3): Das aus dem Harn isolierte Gemisch von Atractyligenin und Dihydroattractyligenin oxidierte man mit CrO₃ in Eisessig (Ausführung wie beschrieben¹⁾) und analysierte die Methylester in der Kombination GC-MS: Das GC zeigte zwei Verbindungen an: Die 1. Verbindung war nach dem MS mit dem Diketoattractyligenin-methylester (MG 330) identisch, die 2. Verbindung (6) zeigte ein Massenspektrum, das mit dem Oxidationsprodukt des Methylesters von 1^D identisch ist (MG 332).

[52/74]