

Über ein neues Atractyligenin-Glycosid aus grünen Kaffeebohnen

Hartmut Richter und Gerhard Spiteller*

Organisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen,
Tammanstr. 2, D-3400 Göttingen, und

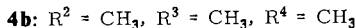
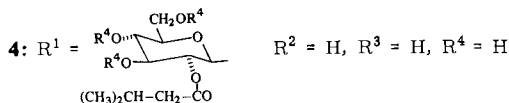
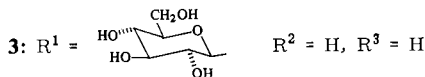
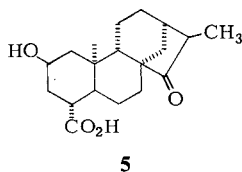
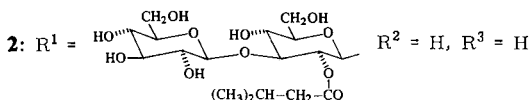
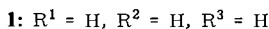
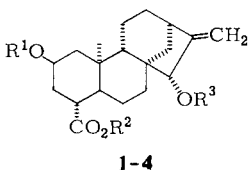
Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth,
Am Birkengut, D-8580 Bayreuth*

Eingegangen am 14. April 1978

A New Atractyligenine Glycoside from Green Coffee-beans

A so far unknown glycoside was isolated from green coffee-beans. Its structure was determined by spectral data and chemical reactions to be 2-O-(2-O-isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenine (4).

Wie wir in früheren Arbeiten^{1,2)} zeigen konnten, enthalten grüne Bohnen von *Coffea-arabica*-Sorten neben den seit längerem bekannten Diterpenen Cafestol und Kahweol sowie dem 1975 beschriebenen 19-Hydroxy-(-)-kaur-16(17)-en³⁾ die Glycoside 2 und 3 des Atractyligenins (1), das im Körper in das 15-Keto-16,17-dihydro-attractyligenin (5) übergeführt¹⁾ wird.



¹⁾ H. Ludwig, H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. **107**, 2409 (1974).

²⁾ H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. **109**, 3450 (1976).

³⁾ J. Wahiberg, C. R. Enzell und J. W. Rowe, Phytochemistry **14**, 1677 (1975).

Bei der Isolierung von **2** und **3** fanden wir Hinweise, die die Anwesenheit weiterer Atractyloside vermuten ließen. Es gelang uns nun, durch dünn-schichtchromatographische Auftrennung der Glycosid-Fraktion²⁾ des Rohkaffees freies Atractyligenin (**1**) und ein bisher unbekanntes Atractylosid **4** zu isolieren.

Das ¹³C-NMR-Spektrum der Verbindung **4** enthält insgesamt 29 Signale. 19 davon entsprechen vollständig den Linien des Atractyligenin-Spektrums, wobei die Verschiebung um 9 ppm zu tieferem Feld des C-Atoms 2 ($\delta = 63.8$ zu 72.8) darauf hinweist, daß die Hydroxylfunktion der Position 2 in der gleichen Weise derivatisiert ist wie bei **2** und **3** (s. Tab. 1 und Lit.⁴⁾).

Tab. 1. ¹³C-NMR-Spektrum von **4** im Vergleich mit **1**, **2** und **3**

	1 ^{a)}	1 ^{b)}	4		1	2	3	4
C-1	49.0	50.6	48.1	C-1	50.6	47.9	48.3	48.1
C-2	63.8	63.8	72.8	C-2	63.8	72.8	72.4	72.8
C-3	37.3	39.0	35.5	C-3	39.0	35.5	35.4	35.5
C-4	43.8	44.7	55.5	C-1'		100.4	102.9	100.3
C-5	49.0	49.5	49.6	C-2'		73.2	75.3	76.8
C-6	25.4	26.5	26.4	C-3'		86.2	78.6	75.0
C-7	34.8	35.8	35.9	C-4'		69.7	71.7	71.8
C-8	47.4	48.2	48.1	C-5'		77.8	78.1	78.2
C-9	51.2	53.5	53.3	C-6'		62.5	62.1	62.3
C-10	40.3	41.0	40.9	C-1''		105.2		
C-11	18.2	18.6	18.4	C-2''		74.4		
C-12	32.4	32.9	32.7	C-3''		78.4		
C-13	42.1	42.7	42.7	C-4''		71.4		
C-14	36.2	36.7	36.6	C-5''		78.2		
C-15	82.5	82.5	82.5	C-6''		62.1		
C-16	159.4	160.7	160.6	C-11,2		22.8		22.8
C-17	108.5	107.7	107.7	C-13		25.6		25.9
C-18	—	—	—	C-14		43.7		43.8
C-19	175.6	177.6	178.4	C-15		171.8		171.9
C-20	16.4	17.2	17.0					

^{a)} Literaturdaten⁸⁾ in CDCl₃.

^{b)} Authentische Probe von **1**, wie **4** in C₅D₅N; bei allen TMS als innerer Standard.

Drei weitere Signale bei $\delta = 22.8$, 25.9 und 43.8 sowie die Carboxyl-Linie bei $\delta = 171.9$ stimmen in ihrer chemischen Verschiebung vollständig mit entsprechenden Signalen im Spektrum von **2** überein. Da diese der Isovaleriansäureinheit zugeordnet sind, muß auch **4** eine solche Teilstruktur enthalten (das Signal bei $\delta = 22.8$ entspricht zwei Methylkohlenstoffatomen).

Die verbleibenden sechs Resonanzfrequenzen zwischen $\delta = 60$ und 105 deuten auf das Vorliegen eines C₆-Zuckers hin.

Die saure Hydrolyse mit methanolischer Salzsäure ergibt Atractyligenin-methylester und D-Glucose, die nach Trimethylsilylierung in der Kombination GC/MS identifiziert wurden. Da der bei der sauren Hydrolyse ebenfalls entstehende Isovaleriansäure-methylester leicht flüchtig ist, und bei der Aufarbeitung entweicht, spaltete man eine Probe von **4** alkalisch und wies die erhaltene Isovaleriansäure massenspektrometrisch nach.

⁴⁾ K. Tori, S. Seo, Y. Yoshimura, H. Arita und Y. Tomita, Tetrahedron Lett. 1977, 179.

Unter Berücksichtigung dieser Befunde lassen sich aus den Resonanzfrequenzen der sechs Zucker-C-Signale und ihrer teilweisen Übereinstimmung mit denen der Glucoselinien von **2** und **3** Ort und Konfiguration der Bindungen zur Isovaleriansäure und zum Atractyligenin bestimmen:

Das Auftreten eines Signals bei $\delta = 100.3$ (C-1' in **2**: $\delta = 100.4$) beweist die β -glycosidische Bindung an C-2 des Atractyligenins und das Vorhandensein eines Substituenten an C-2' der Glucose. Die Übereinstimmung von drei Signalen ($\delta = 71.8$ (C-4'), 78.2 (C-5'), 62.3 (C-6')) mit entsprechenden Linien der Glucose G' in **3** und der Glucose G'' in **2** zeigt, daß sich an diesen drei C-Atomen des Zuckers kein Substituent befindet.

Eine Bestätigung dafür, daß die Glucose-Einheit von **4** an der Position 1 mit dem Atractyligenin und in Stellung 2 mit der Isovaleriansäure verknüpft ist, liefern folgende Befunde:

– Bei der sauren Hydrolyse der permethylierten Verbindung **4** (**4b**) entstehen das Methyl-3,4,6-tri-*O*-methyl- β -D-glucopyranosid und sein α -Anomeres⁵⁾.

– Bei der alkalischen Verseifung von **4** wird neben der Isovaleriansäure das Atractylisid **3** erhalten.

Damit ist die Konstitution von **4** als die eines 2-*O*-(2-*O*-Isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenins bewiesen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen. Herrn Dr. O. G. Vitzthum, Kaffee-Hag, Bremen, danken wir für die Überlassung des Rohkaffees.

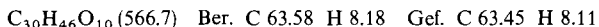
Experimenteller Teil

Zur Ermittlung der spektroskopischen und physikalischen Daten sowie zur Herstellung der Derivate wurden die bereits beschriebenen Geräte und Methoden benutzt^{2, 6)}.

Isolierung: Die bei der Auftrennung der Sephadex-LH-20-Eluate an einer Kieselgelsäule gewonnenen Fraktionen 20–24²⁾ wurden vereinigt und zwei dünn-schichtchromatographischen Trennschritten unterworfen:

Die vereinigten Fraktionen 20–24 (870 mg) auf 8 DC-Platten (20 × 20 cm, Kieselgel HR, Schichtdicke 1 mm) aufgetragen, lieferten nach zweimaligem Laufenlassen in CHCl₃/CH₃OH (90:10) eine Rohfraktion von 153 mg, aus der durch DC an 2 Platten und zweimaliges Laufenlassen in CHCl₃/CH₃OH (90:10) 84 mg der reinen Verbindung **4** gewonnen wurden.

2-*O*-(2-*O*-Isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenin (**4**): R_F -Wert (Kieselgel, CHCl₃/CH₃OH 85:15): 0.37; farbloses Glas; $[\alpha]_D^{25} = -62.7 \pm 2^\circ$ ($c = 7.9$ mg/ml, Ethanol p. a.). – IR (KBr): 3420 breit (OH, CO₂H); 3060, 1630 (C=CH₂); 1725 (CO₂R); 1660 (CO₂H); 1070, 1030, 1010 cm⁻¹ (COH). – ¹H-NMR (C₅D₅N): $\delta = 0.99$ (6H, dd, $J = 1.5$ Hz, CH(CH₃)₂); 1.06 (3H, s, 10 α -CH₃); 2.35 (2H, d, CH₂–CO₂R); 3.60–4.50 (m, CH–OH); 5.13 und 5.42 (je 1H, s, C=CH₂). – ¹³C-NMR (C₅D₅N, TMS): s. Tab. 1.



2-*O*-(2-*O*-Isovaleryl- β -D-glucopyranosyl)attractyligenin-methylester (**4a**): R_F -Wert (Kieselgel, CHCl₃/CH₃OH 95:5): 0.4; Schmp. 108–111°C (Methanol), Lit.⁷⁾ 112–114°C. – IR (KBr): 3400 breit (OH); 1725 verbreitert (2 CO₂R); 1635 (C=CH₂); 1015 cm⁻¹ (COH). – ¹H-NMR (C₅D₅N): $\delta = 0.93$ (3H, s, 10 α -CH₃); 1.04 (6H, breites s, CH(CH₃)₂); 2.44 (2H, d, CH₂–CO₂R); 3.61 (3H, s, CO₂CH₃); 3.70–4.50 (m, CH–OH); 5.15 und 5.48 (je 1H, s, C=CH₂).

⁵⁾ N. K. Kochetkov, N. S. Wulfson, O. S. Chizhov und B. M. Zolotarev, Tetrahedron **19**, 2209 (1963).

⁶⁾ H. Richter, H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. **110**, 1963 (1977).

⁷⁾ F. Piozzi, G. Savona und M. L. Marino, Gazz. Chim. Ital. **103**, 211 (1973), und vorausgehende Arbeiten zum Atractyligenin.

⁸⁾ J. R. Hanson, M. Siversn, F. Piozzi und G. Savona, J. Chem. Soc., Perkin Trans. **1** **1976**, 114.

2-*O*-(2-*O*-Isovaleryl-3,4,6-tri-*O*-methyl- β -D-glucopyranosyl)-15-*O*-methylattractyligenin-methylester (**4b**): R_f -Wert (Kieselgel, C₆H₆/CH₃OH 90:10): 0.62. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.92 (6H, dd, J = 1.5 Hz, CH(CH₃)₂); 1.03 (3H, s, 10 α -CH₃); 2.22 (2H, d, J = 2 Hz, CH₂-CO₂R); 3.44 (6H, s, 15-OCH₃ und 6'-OCH₃); 3.54 und 3.56 (je 3H, s, 3'-OCH₃ und 4'-OCH₃); 3.69 (3H, s, CO₂CH₃); 5.08 und 5.15 (je 1H, s, C=CH₂).

Molmasse hochaufgelöst: (C₃₃H₃₆O₁₀) Ber. 636.3873 Gef. 636.3867

Saure Spaltung von 4: 5 mg **4** in 5 ml 5proz. methanolischer Salzsäure erwärmte man ca. 5 h im geschlossenen Kolben auf 90°C. Nach dem Abkühlen wurde neutralisiert (stark saurer Ionenaustauscher Amberlit-Amberlyst A 26, mit Na⁺ beladen) und i. Vak. das Lösungsmittel abgedampft. Den Rückstand silylierte man mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoracetamid und analysierte die Produkte in der Kopplung GC/MS. Das Gaschromatogramm zeigte drei Peaks (mit zunehmender Retentionszeit): Methyl-2,3,4,6-tetrakis-*O*-trimethylsilyl- β -D-glucopyranosid, Methyl-2,3,4,6-tetrakis-*O*-trimethylsilyl- α -D-glucopyranosid und 2,15-Bis-*O*-(trimethylsilyl)attractyligenin-methylester, begleitet von Umlagerungsprodukten.

Saure Spaltung von 4b: Nach Anwendung der beschriebenen Hydrolyse-Bedingungen auf 5 mg **4b** wurde in gleicher Weise neutralisiert und das Lösungsmittel entfernt. Die GC/MS-Analyse des Rückstandes lieferte ein Gaschromatogramm mit folgender Zuordnung (mit zunehmender Retentionszeit): Methyl-3,4,6-tri-*O*-methyl- α/β -D-glucopyranosid⁵⁾; 15-*O*-Methylattractyligenin-methylester.

Alkalische Spaltung von 4: 10 mg **4** in 5 ml Methanol wurden mit 1 ml *N* NaOH versetzt. Nach 24 h bei Raumtemp. neutralisierte man mit Essigsäure, verdünnte mit 20 ml Wasser und schüttelte dreimal mit Ether aus. Nach dem Trocknen über Natriumsulfat und vorsichtigem Eindampfen auf dem Wasserbad wurde der ölige Rückstand im Massenspektrometer als Isovaleriansäure identifiziert.

Beim Eindampfen der wäßrigen Phase i. Vak. erhielt man ebenfalls einen öligen Rückstand, der, wie ein DC-Vergleich mit einer authentischen Probe zeigte, überwiegend aus 2-*O*-(β -D-Glucopyranosyl)attractyligenin (**3**) bestand.