

Über ein neues Furokauran-glycosid aus grünen Kaffeebohnen

Hartmut Richter und Gerhard Spittler*

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

Lehrstuhl für Organische Chemie der Universität Bayreuth,*
Universitätsstr. 30, D-8580 Bayreuth

Eingegangen am 2. Juni 1978

Grüne Kaffeebohnen enthalten neben Cafestol (**4**) und Kahweol ein weiteres, allerdings glycosidisch gebundenes Furokauran, dessen Konstitution als die eines 11-O-(β -D-Glucopyranosyl)-cafestol-2-ons (**1**) aufgeklärt wurde.

A New Furokaurane Glycoside from Green Coffee-beans

Green coffee-beans contain besides cafestol (**4**) and kahweol another furokaurane, in this case combined as glycoside. Its structure was determined to be 11-O-(β -D-glucopyranosyl)cafestol-2-one (**1**).

Aus der Glycosidfraktion^{1,2)} grüner Kaffeebohnen isolierten wir durch Säulen- und Dünnschichtchromatographie eine bisher unbekannte Verbindung **1** vom Schmelzpunkt 140–145°C.

Da im Elektronenstoßmassenspektrometer nur ein Zersetzungsspektrum erhalten wird, mußte die Molmassebestimmung durch FD-MS vorgenommen werden, die einen Wert von 509 (entsprechend $M^+ + H$)³⁾ ergab. Durch Permethylierung mit CH_3I/Ag_2O ⁴⁾ erhält man aus **1** ein Produkt **1a** mit der Bruttoformel $C_{31}H_{46}O_{10}$ (Molmasse 578).

Ein Vergleich der ¹H-NMR-Spektren zeigt, daß **1a** fünf Methylgruppen mehr enthält als **1**. Berücksichtigt man einen Massenzuwachs um 70 Masseneinheiten durch diese Methylgruppen, so wird die für **1** ermittelte Molmasse bestätigt und die Bruttozusammensetzung ergibt sich zu $C_{26}H_{36}O_{10}$.

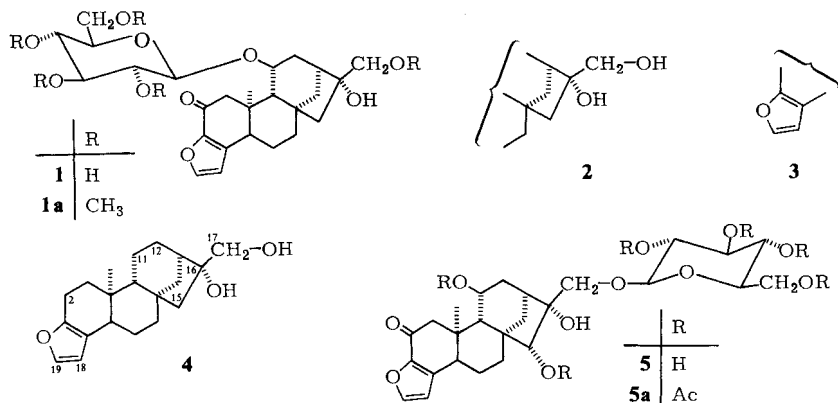
In Übereinstimmung damit zeigt das ¹³C-NMR-Spektrum von **1** 26 Kohlenstoffsignale bei vollständiger Entkopplung (Tab. 1). Sechs dieser Signale entsprechen in ihrer chemischen Verschiebung den typischen Resonanzfrequenzen einer D-Glucopyranose, die β -glycosidisch mit einem sekundären Alkohol verknüpft ist (Tab. 1)^{2,5)}.

Der Versuch, die Zuckereinheit abzuspalten, gelang weder unter basischer noch unter enzymatischer Katalyse. Lediglich im sauren Medium erfolgte Hydrolyse. Allerdings zeigt die GC/MS-Analyse des trimethylsilylierten Produktgemisches, daß dabei das Aglycon angegriffen wird: Neben dem Methyl-2,3,4,6-tetrakis-O-trimethylsilyl- β -D-glucopyranosid und seinem α -Anomeren entsteht eine Vielzahl von Umlagerungsprodukten des Aglycons.

Nach Subtraktion einer Glucose-Einheit ergibt sich für das Aglycon von **1** die Bruttozusammensetzung $C_{20}H_{26}O_5$. Unter den 20 Signalen im ¹³C-NMR-Spektrum lassen sich zwei charakteristische Gruppen erkennen, die bereits bekannten Strukturelementen zuzuordnen sind:

Ein Carbinol-C-Singulett bei $\delta = 83.0$ und ein Carbinol-C-Triplett bei $\delta = 67.3$ sowie Linien bei $\delta = 23.1$ (t, C-6), 41.0 (t, C-7), 44.2 (s, C-8), 45.5 (d, C-13), 37.8 (t, C-14) und 53.9 (t, C-15) zeigen die Teilstruktur **2** an (Tab. 1)^{2, 6)}.

Vier Resonanzfrequenzen von $\delta = 147.5$ (s), 143.6 (s), 111.0 (d) und 149.7 (d) sowie die den Dubletts entsprechenden Signale im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum bei $\delta = 6.56$ und 7.80 ⁷⁾ sprechen für das Vorliegen der Teilstruktur **3**.



Beide Teilstrukturen weisen auf eine Verwandtschaft zwischen dem Aglycon von **1** und Diterpenen mit dem Kohlenstoffskelett des Kahweols oder des Cafestols (**4**) hin. Aus der Bruttoformel des Aglycons ($\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{O}_3$) folgt jedoch, daß es ein Doppelbindungsäquivalent und zwei Sauerstoffatome mehr enthält als Cafestol (**4**, $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{O}_3$)⁸⁾.

Ein höher substituiertes Furokauran-glycosid, das Mascarosid (**5**), wurde 1974 von *Hamonniere* aus Früchten der wilden Kaffeeart *Coffea viamneyi* L. isoliert⁹⁾. Es enthält in seinem Aglycon, wie durch Röntgenstrukturanalyse gezeigt werden konnte¹⁰⁾, neben den Partialstrukturen **2** und **3** eine Ketofunktion in der Stellung 2 sowie zwei sekundäre Alkoholgruppen an den Kohlenstoffatomen 11 und 15.

Da das UV-Spektrum und die entsprechenden IR- und $^1\text{H-NMR}$ -Daten von **1** und **5** (Tab. 2) gut übereinstimmen, muß das Aglycon von **1** die gleiche A-Ring-Struktur wie das des Mascarosids aufweisen. Damit im Einklang steht das Auftreten eines Singulett im $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum bei $\delta = 186.6$, das einer stark konjugierten Ketofunktion zuzuordnen ist.

Ein weiteres Kohlenstoffdublett bei $\delta = 73.4$ zeigt an, daß das verbleibende Sauerstoffatom als sekundäre Alkoholfunktion vorliegt. Da weder im Strukturteil **2** noch am A-Ring eine Hydroxylgruppe vorhanden ist, muß der C-Ring am Kohlenstoffatom 11 oder 12 den Substituenten tragen. Weiterhin folgt, daß nur diese Sauerstoff-Funktion mit der Glucose-Einheit des Moleküls verknüpft sein kann, da die Alkoholgruppen an C-16 und C-17 unterderivatisiert vorliegen (s. $^{13}\text{C-NMR}$ -Daten).

Das C-Atom 11 als Ort der Substitution ergibt sich aus einer Analyse von $^{13}\text{C-NMR}$ -Vergleichsdaten: Für C-11 wurde in vergleichbaren Verbindungen eine chemische Verschiebung von etwa $\delta = 65.3$ bestimmt^{6, 11)}. Entsprechend einer Differenz der δ -Werte von ca. 7 ppm⁶⁾ für die unsubstituierten Kohlenstoffatome sollte ein Carbinol-C-12 bei $\delta = 72$ in Resonanz treten. Berücksichtigt man die zusätzliche Verschiebung, die eine

glycosidische Verknüpfung verursacht⁵⁾, werden δ -Werte von ca. 73 bzw. über 78 berechnet. Die für **1** gemessene Verschiebung von $\delta = 73.4$ beweist damit die Substitution an C-11. Damit im Einklang stehen die Resonanzfrequenzen der Nachbar-C-Atome.

Über die Konfiguration an diesem Zentrum lassen sich aus den vorliegenden Daten keine Angaben machen. Da jedoch für die Mehrzahl der in der Natur vorkommenden 11-Hydroxykaurane und insbesondere auch für das Mascarosid (**5**) die 11 β -Konfiguration der Hydroxylgruppe bewiesen wurde, ist für **1** die gleiche Stereochemie anzunehmen.

Tab. 1. ¹³C-NMR-Daten von 11-O-(β -D-Glucopyranosyl)cafestol-2-on (**1**) (in CD₃OD) und Cafestol (**4**) (in C₅D₅N), TMS als innerer Standard

	1	4		1	4
C-1	51.4 t	35.8 t	C-14	37.8 t	38.5 t
C-2	186.6 s	20.9 t	C-15	53.9 t	53.9 t
C-3	147.5 s	148.6 s	C-16	83.0 s	81.5 s
C-4	143.6 s	120.5 s	C-17	67.3 t	66.2 t
C-5	45.3 d	44.5 d	C-18	111.0 d	108.7 d
C-6	23.1 t	23.4 t	C-19	149.7 d	140.8 d
C-7	41.0 t	41.3 t	C-20	15.9 q	13.4 q
C-8	44.2 s	44.6 s	C-1'	102.2	
C-9	58.3 d	52.4 d	C-2'	75.0	
C-10	43.5 s	38.7 s	C-3'	78.0	
C-11	73.4 d	14.3 t	C-4'	71.5	
C-12	34.9 t	26.4 t	C-5'	77.6	
C-13	45.5 d	45.8 d	C-6'	62.6	

Tab. 2. UV-, IR- und ¹H-NMR-Daten von 11-O-(β -D-Glucopyranosyl)cafestol-2-on (**1**) und von Mascarosid⁹⁾ (**5**), dessen Hexaacetat **5a**⁹⁾ und Cafamarin^{12, 13)} zum Vergleich

	1	5	5a	Cafamarin ^{12, 13)}
UV	$\lambda = 276$ nm (lg $\epsilon = 3.95$)	$\lambda = 278$ nm (lg $\epsilon = 4.13$)	$\lambda = 278$ nm (lg $\epsilon = 4.15$)	$\lambda = 276$ nm (lg $\epsilon = 4.10$)
NMR	(100 MHz, CD ₃ OD) $\delta = 6.56, 7.80$ (je 1 H, d, $J = 1.5$ Hz)	$\delta = 6.48, 7.68$ (je 1 H, d, $J = 1.5$ Hz)	(60 MHz, CDCl ₃) $\delta = 6.4, 7.58$ (je 1 H, d, $J = 1.5$ Hz) $\delta = 1.95 - 2.15$ (18 H, 5s)	(60 MHz, [D ₆]DMSO) $\delta = 6.6, 7.9$ (je 1 H, d, $J = 1.5$ Hz)
IR	(KBr) 3400 (breit) 1660 1590 1435 1035 895 705 cm ⁻¹	(KBr) 3400 (breit) 1650 cm ⁻¹	(KBr) 3500 1750 1670 1230 1040 cm ⁻¹	(Film auf NaCl) 3350 1670 1440 1090 1020 895 cm ⁻¹

⁹⁾ Zur Ergänzung der unvollständigen Mascarosid-Daten wurden die des Hexaacetyl-Derivates mit aufgenommen.

Bereits vor der Strukturaufklärung des Mascarosids berichteten *de Rostolan* et al.¹²⁾ über die Isolierung einer bitterschmeckenden Verbindung, die aus Früchten einer ebenfalls wilden Kaffeeart

(*Coffea buxifolia*) gewonnen worden war. Die Struktur dieser „Cafamarin“ genannten Verbindung wurde nicht aufgeklärt. Ihre spektroskopischen Daten sind denen des Mascarosids (5) sehr ähnlich (Tab. 2). Die Verbindung enthält ein Sauerstoffatom weniger als 5 und hat damit die gleiche Summenformel wie 1. Aus den zum Teil unvollständig mitgeteilten physikalischen Daten des Cafamarins (Tab. 2)^{1,2} erscheint die Identität mit 1 möglich, ist aber nicht schlüssig zu belegen, zumal die Autoren Cafamarin in Bohnen von Kultursorten von *Coffea arabica* nicht nachweisen konnten^{1,3}.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie sowie der Robert Pflieger-Stiftung danken wir für die Unterstützung der Arbeit durch Sachbeihilfen. Herrn Dr. O. G. Vitzthum, Kaffee-HAG, Bremen, danken wir für die Überlassung des Rohkaffees. Die Bestimmung der Molmasse durch Felddesorptions-Massenspektrometrie verdanken wir Herrn Dr. B. Stock, Universität Ulm.

Experimenteller Teil

GC/MS-Analysen wurden mit einem Varian MAT CH 7-Massenspektrometer, kombiniert mit einem Varian 1700-Gaschromatographen vorgenommen: 1.80-m-Glassäule (Innendurchmesser 2 mm, 2% SE 30 auf Chromosorb WAW-DMCS, 80–100 mesh), Injektortemp. 270°C, Säulentemp. von 100–300°C mit 10°/min programmiert, Trägergas Helium, 20 ml/min, Temperatur des Separators (Biemann-Watson-Typ) und der GC/MS-Verbindungs-kapillare 240°C. Als GC-Detektor diente die Totalionenstromanzeige des Massenspektrometers.

Massenspektren und hochaufgelöste Massen: Varian CH 7-Massenspektrometer und Varian MAT 731-Massenspektrometer. NMR-Spektren: Varian HA 100 und Varian XL 100, TMS als interner Standard. – IR-Spektren: Perkin-Elmer PE 621. – Optische Drehung: Perkin-Elmer 141-Polarimeter, in Ethanol (Mikroküvette) bei 20°C. – Schmelzpunkt (unkorrigiert): Kofler-Apparatur.

Die Isolierung erfolgte durch Dünnschichtchromatographie einer Sammelfraktion, in der alle Fraktionen mit einem R_F -Wert unter 0.35 (Chloroform/Butanol 50:50) vereinigt worden waren, die bei der Auftrennung der Fraktionen 30–36, 37–39 und 40–47 (isoliert aus 5 kg Rohkaffee der Sorte Columbia)^{1, 2}) angefallen waren.

1) Sammelfraktion (ca. 650 mg) auf 6 DC-Platten (20 × 20 cm, Kieselgel HR, Schichtdicke 1 mm), zweimaliges Entwickeln in Chloroform/Methanol/Wasser (65:30:5). Eluiert wurde eine Rohfraktion von 233 mg.

2) Rohfraktion (233 mg) auf 2 DC-Platten (s. o.), gleiches Laufmittel wie bei 1). Eluiert wurden 69 mg.

3) Weitere DC-Reinigung von 38 mg auf 3 DC-Fertigfolien (20 × 20 cm, Schichtdicke 0.25 mm, „Polygram sil G/UV₂₅₄“), zweimaliges Entwickeln in Chloroform/Methanol (80:20). Es wurden 24 mg reines 11-O-(β-D-Glucopyranosyl)cafestol-2-on (1) eluiert.

11-O-(β-D-Glucopyranosyl)cafestol-2-on (1): R_F -Wert (Kieselgel, zweimaliges Entwickeln in $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 80:20): 0.33, Schmp. 140–145°C (Methanol), $[\alpha]_D^{20} = -97.9^\circ$ ($c = 2.37$ mg/ml, Ethanol). – UV (Methanol): $\lambda_{\text{max}} = 276$ nm ($\lg \epsilon = 3.95$). – IR (KBr): 3400 breit (OH); 1660 (C=O, konjugiert); 1590, 1435 (Furanring); 1035 (COH); 895; 705 cm^{-1} . – ¹H-NMR (CD_3OD): $\delta = 0.84$ (3H, s, 10α-CH₃); 1.93 (2H, s, CH₂-1); 3.20–4.10 (m, darunter 6-CH₂OH und C-11(H)–OR); 6.56 und 7.80 (je 1H, d, $J = 1.5$ Hz, C-18(H)=R und C-19(H)=R). – ¹³C-NMR: s. Tab. 1. – Molmasse 508 (FD-MS).

17-O-Methyl-11-O-(2,3,4,6-tetra-O-methyl-β-D-glucopyranosyl)cafestol-2-on (1a): 15 mg 1 löste man in 1 ml Dimethylformamid und rührte nach Zugabe von 0.3 ml Methyljodid und 300 mg frisch gefälltem Silberoxid 2 Tage bei Raumtemp. Die Reaktionsmischung verdünnte man mit 50 ml

Chloroform und filtrierte ab. Nach Eindampfen und Trocknen i. Vak. wurden 13 mg Rohprodukt erhalten. Anschließende Reinigung auf zwei DC-Fertigfolien (s. o.) im Laufmittelgemisch Benzol/Methanol (90:10) lieferte 6 mg reines **1a**, das jedoch nicht kristallisierte. R_F -Wert (Kieselgel, Benzol/CH₃OH 90:10): 0.53. — ¹H-NMR (CDCl₃): δ = 0.88 (3H, s, 10 α -CH₃); 3.10–4.30 (m, darunter 3.42 (6H, s, 17-OCH₃ und 6'-OCH₃), 3.56, 3.60 und 3.66 (je 3H, s, 2'-, 3'-, 4'-OCH₃)); 6.42 und 7.60 (je 1H, d, J = 1.5 Hz, C-18(H)=R und C-19(H)=R). — MS (Varian MAT CH 7, Ionenquellentemp. 150 °C, Probenverdampfungstemp. 200 °C): m/e 578 (2%, M⁺), 560 (3, – H₂O), 546 (1, – CH₃OH), 477 (2, – 101¹), 403 (2, – 175¹), 343 (31, – 235/C₁₀H₁₉O₆), 325 (35, 343 – H₂O), 311 (4, 343 – CH₃OH), 293 (19, 343 – (H₂O + CH₃OH)), 255 (11, C₁₇H₁₉O₂), 187 (37), 161 (27, C₁₀H₉O₂), 147 (38), 101 (100), 88 (57), 71 (42), 45 (59).

C₃₁H₄₆O₁₀ Ber. 578.30911 Gef. 578.30925

Saure Spaltung: 5 mg **1** in 5 ml 5proz. methanolischer Salzsäure erwärmte man ca. 2 h im geschlossenen Kolben auf 90 °C. Nach dem Abkühlen neutralisierte man an einem stark sauren Ionenaustauscher (Amberlite-Amberlyst A 26, mit Na⁺ beladen), silylierte mit *N*-Methyl-*N*-(trimethylsilyl)trifluoroacetamid und analysierte die Produkte in der Kopplung GC/MS. Das Gaschromatogramm enthält neben den Peaks des Methyl-2,3,4,6-tetrakis-*O*-trimethylsilyl- β -D-glucopyranosids und seines α -Anomeren, die anhand ihrer Massenspektren identifiziert wurden, eine Reihe von Peaks, die Umlagerungsprodukten des Aglycons entsprechen. Diesen Befund belegen charakteristische Bruchstücke, die auf eine A-Ringstruktur wie in **1** hinweisen (m/e 161, 253). Das Verhältnis der verschiedenen Umlagerungsprodukte schwankte von Ansatz zu Ansatz.

Enzymatische Spaltung: Weder mit β -Glucosidase (aus Süßmandeln, Fa. Boehringer) noch mit Glucuronidase/Arylsulfatase (Rohenzym aus *Helix pomatia*, Fa. Boehringer) oder Cellulase (aus *Aspergillus niger*, Serva Feinbiochemica) konnte eine Spaltung erzielt werden.

Literatur

- ¹⁾ H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. **109**, 3450 (1976).
- ²⁾ H. Richter, H. Obermann und G. Spiteller, Chem. Ber. **110**, 1963 (1977).
- ³⁾ U. Rapp und K. H. Maurer, Application note No. 15, Varian MAT GmbH.
- ⁴⁾ R. Kuhn, J. Löw und H. Trischmann, Chem. Ber. **90**, 203 (1957).
- ⁵⁾ K. Tori, S. Seo, Y. Yoshimura, H. Arita und Y. Tomita, Tetrahedron Lett. **1977**, 179.
- ⁶⁾ K. Yamasaki, H. Kohda, T. Kobayashi, R. Kasai und O. Tanaka, Tetrahedron Lett. **1976**, 1005.
- ⁷⁾ C. Djerassi, M. Cais und L. A. Mitscher, J. Am. Chem. Soc. **81**, 2386 (1959).
- ⁸⁾ C. Djerassi, M. Cais und L. A. Mitscher, J. Am. Chem. Soc. **81**, 2386 (1959), und vorausgehende Arbeiten über Cafestol (4).
- ⁹⁾ M. Hamonniere, Cafe, Cacao, The **1974**, 18, 277.
- ¹⁰⁾ A. Ducruix, C. Pascard-Billy, M. Hamonniere und J. Poisson, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1975**, 396.
- ¹¹⁾ J. R. Hanson, G. Savona und M. Sivers, J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 **1974**, 2001.
- ¹²⁾ J. de Rostolan und J. Poisson, Vortrag auf dem 4. Kolloquium der ASIC, Amsterdam 1969.
- ¹³⁾ J. de Rostolan, Vortrag auf dem 5. Kolloquium der ASIC, Lissabon 1971.