

## 65. Zur Konstitution des Cafestols<sup>1)</sup>.

von A. Wettstein und K. Miescher.

(12. II. 43.)

### V. Cafestol und Kahweol.

In unserer 1. Mitteilung „Zur Konstitution des Cafesterols“<sup>2)</sup> wurde über die weitgehende Reinigung dieser im Unverseifbaren des Kaffeeöls enthaltenen Substanz berichtet. Sie war früher von *K. H. Slotta* und *K. Neisser*<sup>3)</sup> in Form eines Gemisches gefasst und von diesen Autoren, in der Annahme, dass es sich um ein Steroid handle, mit obiger Bezeichnung versehen worden. Wir haben sie bisher beibehalten, um nicht durch eine Vielzahl von Namen unnötige Verwirrung zu schaffen. Nachdem nun aber unsere Befunde das Vorliegen eines Steroid-Gerüsts ausschliessen liessen<sup>4)</sup>, ist es wohl angezeigt, diese irreführende Bezeichnung aufzugeben. Die reine Verbindung werden wir deshalb im weiteren Cafestol nennen<sup>5)</sup>.

Bei der häufigen Isolierung von Cafestol-acetat nach den beschriebenen Methoden wurden jeweils Präparate erhalten, deren Eigenschaften mit nur geringfügigen Schwankungen den früher beobachteten<sup>2)</sup> entsprachen. Neuerdings bedienten wir uns aber auch leicht saurer Adsorptionsmittel wie Floridin zur Reinigung. Dabei trat starke Grün-Färbung des Adsorptionsmittels ein, und man gelangte selbst bei Verwendung von Mutterlaugen-Präparaten rasch zu gut schmelzendem Cafestol-acetat. Nach mehrfach wiederholter Chromatographie schmolz dieses um 4<sup>0</sup> höher als früher gefunden und wies insbesondere eine noch niedrigere Drehung und Extinktion auf:  $[\alpha]_D = -91^0$  in Chloroform;  $\log \epsilon_{2900 \text{ \AA}} = 1,70$  in Alkohol<sup>6)</sup>. Die rein blaue Farbreaktion mit Mineralsäure, die nur sehr langsam und schwach eintritt, veränderte sich bei dieser Reinigung kaum mehr.

<sup>1)</sup> 3. Mitteilung der Arbeitsreihe „Zur Konstitution des Cafesterols“. 2. Mitteilung s. A. Wettstein und K. Miescher, *Helv.* **25**, 718 (1942).

<sup>2)</sup> A. Wettstein, H. Fritzsche, F. Hunziker und K. Miescher, *Helv.* **24**, 332 E (1941).

<sup>3)</sup> *B.* **71**, 1991, 2342 (1938).

<sup>4)</sup> *Helv.* **25**, 718 (1942).

<sup>5)</sup> So kann der dem Cafestol zugrunde liegende gesättigte Kohlenwasserstoff weiter nach unserem früheren Vorschlag Cafestan genannt werden und damit braucht auch in der Bezeichnung der vielen Umwandlungs- und Abbauprodukte keine Änderung einzutreten. Lediglich das inerte, dritte Sauerstoffatom im Cafestol, das bisher mit dem Präfix „ox-“ angedeutet wurde, weil es einer Keto- oder Äthergruppe entsprechen konnte, ist nun nach dem Nachweis, dass es einem Oxydring an einer fortlaufenden Kohlenstoffkette angehört<sup>4)</sup>, zweckmässig mit dem Präfix „Epoxy-“ (s. B. **65**, 15 A (1932)) zu bezeichnen.

<sup>6)</sup> Ähnliche Präparate lassen sich auch durch mehrfach wiederholte Reinigung über das Maleinsäure-anhydrid-addukt gewinnen.

Hingegen ist die beim Kaffeeöl beobachtete<sup>1)2)</sup> und auch noch bei rohen Cafestol-Präparaten auftretende intensive blaugraue Fluoreszenz unter der Quarzlampe völlig verloren gegangen. Die bei fortgesetzter Reinigung eintretende allmähliche Abnahme von Extinktion und Drehung legt den Schluss nahe, dass die nun ganz schwache Bande auf Spuren einer hartnäckigen Verunreinigung zurückzuführen ist und aller reinstem Cafestol (und entsprechend dem Epoxy-nor-cafestadien-on II) abgeht. Auch dürfte dem reinsten Cafestol eine um noch wenige Grade tiefere Drehung zukommen.

Erstaunlicherweise haben die früheren Bearbeiter jeweils das Vorkommen nur einer einzigen Substanz von den ungefähren Eigenschaften des Cafestols im Kaffee angegeben, trotzdem sie offensichtlich meist ein rohes Gemisch in Händen hielten. Unsere vorläufigen Versuche zur Reindarstellung der das Cafestol begleitenden Substanz waren, infolge ihrer noch bedeutend höheren Empfindlichkeit, bisher nicht erfolgreich. Sie geben aber doch wertvolle Hinweise auf ihre Eigenschaften und sollen, da wir aus Mangel an Ausgangsmaterial die Bearbeitung zur Zeit kaum weiterführen können, kurz mitgeteilt werden. Die bei der Isolierung des Cafestols gewonnenen Rohkrystallisate führten wir auch hier in die bedeutend weniger empfindlichen Acetate über. Durch ihre fraktionierte Krystallisation aus Methanol wurde schliesslich ein sicher noch uneinheitliches, farbloses Krystallisat vom Smp. ca. 146° und der bisher grössten Linksdrehung  $[\alpha]_D = -234^\circ$  (in  $\text{CHCl}_3$ ) erhalten, während Cafestol-acetat wie gesagt bei 173—175° schmilzt und eine Drehung von nur  $-91^\circ$  aufweist. Die Verbrennungswerte der beiden Acetate stimmen annähernd überein<sup>3)</sup>. Das neue Acetat zeigte aber im Ultraviolett-Spektrum<sup>4)</sup> in Hexan bei 2870 Å eine sehr starke Bande mit dem molekularen Extinktionskoeffizienten  $\log \epsilon = 3,96$  (für Mol.-Gew. 358). Sollte demnach die beim Cafestol an derselben Stelle beobachtete ganz schwache Bande von einer Verunreinigung durch diese Substanz herrühren, was nach dem eben Gesagten wahrscheinlich ist, so würde diese Verunreinigung höchstens einige Promille betragen. Neben der hohen Drehung und Extinktion ist die momentan und sehr intensiv eintretende grünblaue Farbreaktion mit Mineralsäure charakteristisch für die Verbindung. Sie scheint sich ferner wie Cafestol mit Maleinsäure-anhydrid umzusetzen und ebenso nicht für die Fluoreszenz roher Präparate im U.V.-Licht verantwortlich zu sein. Wir werden die Verbindung mit den genannten Eigenschaften vorläufig Kahweol nennen, bis etwas Endgültiges über

<sup>1)</sup> R. O. Bengis und R. J. Anderson, J. Biol. Chem. **97**, 99 (1932).

<sup>2)</sup> Diss. R. Neu, Leipzig 1940, S. 10.

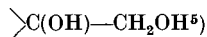
<sup>3)</sup>  $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$ . Eventuell enthält das neue Acetat zwei Wasserstoffatome weniger, dem freien Alkohol entspräche somit die Formel  $\text{C}_{20}\text{H}_{26-28}\text{O}_3$ .

<sup>4)</sup> Die Aufnahme der Absorptionsspektren verdanken wir wiederum der Freundlichkeit von Hrn. P.-D. Dr. Almsy, Zürich.

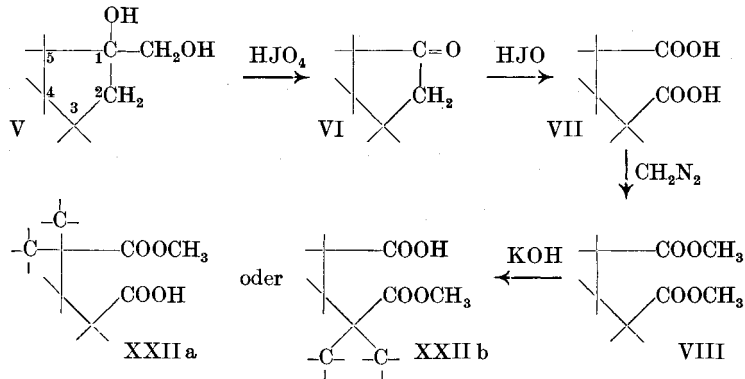
ihre Verwandtschaft mit dem Cafestol ausgesagt werden kann. Sie kommt nämlich hinsichtlich ihrer Labilität, insbesondere der Empfindlichkeit gegen Säure, und der starken Linksdrehung einer von *R. O. Bengis* und *R. J. Anderson*<sup>1)</sup> aus dem Unverseifbaren von Röstkaffee<sup>2)</sup> isolierten, Kahweol genannten Substanz nahe. Diese Autoren geben für die freie Verbindung den Smp. 143°, die Drehung — 204° und die Bruttoformel C<sub>19</sub>H<sub>26</sub>O<sub>3</sub>, und für das Acetat den Smp. 142 bis 144° und die Bruttoformel C<sub>21</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub> an.

### VI. Über die Verknüpfung des die Seitenkette tragenden Cyclopentanringes.

Wir konnten früher<sup>3)</sup>, wie in den folgenden Teilformeln veranschaulicht wird, durch Abbau des Cafestols und seiner Hydrierungsprodukte (z. B. der Verbindung V)<sup>4)</sup> zu den entsprechenden Ringketonen (z. B. VI), durch Ringöffnung zu einer Dicarbonsäure (VII) und durch Umwandlung derselben in ein Anhydrid zeigen, dass die Gruppierung



des Cafestols wahrscheinlich am Aufbau eines Cyclopentanringes beteiligt ist, der in einer  $\alpha$ -Stellung zur genannten Seitenkette eine Methylengruppe enthält. Die folgenden Versuche



geben nun Auskunft über den Charakter der zwei weiteren Kohlenstoffatome 3 und 5.

<sup>1)</sup> *J. Biol. Chem.* **97**, 99 (1932). Vgl. *L. von Noël* und *F. Dannmeyer*, *Pharm. Zentralhalle* **70**, 69 (1929); *Strahlentherapie* **32**, 769 (1929); **38**, 583 (1930); *Th. Sabalitschka* und *S. v. Schüchting*, *Deut. Apoth.-Ztg.* **53**, 760 (1933); *H. Wagner*, *Z. Untersuch. Lebensmitt.* **77**, 240 (1939).

<sup>2)</sup> In der Tat konnten wir aus Kaffeesatz in vergleichbaren Ausbeuten Roh-cafestol-acetat-Präparate mit ähnlichen Eigenschaften wie aus Roh-Kaffee gewinnen. *S. a. Diss. R. Neu*, Leipzig 1940, S. 48.

<sup>3)</sup> *A. Wettstein*, *H. Fritzsche*, *F. Hunziker* und *K. Miescher*, *Helv.* **24**, 332 E (1941).

<sup>4)</sup> Die römischen Ziffern bezeichnen die in dieser Publikationsreihe fortlaufend nummerierten Umwandlungs- und Abbauprodukte des Cafestols.

<sup>5)</sup> *s. a. H. Hauptmann* und *J. França*, *Z. physiol. Ch.* **259**, 245 (1939).

Der aus dem Epoxy-cafestan-diol (V) auf dem bezeichneten Wege erhaltene Dimethylester VIII wurde unter verschiedenen Bedingungen alkalisch verseift, und in entsprechenden Modellversuchen die Verseifung des  $\Delta^{5-3}$  *t*-Acetoxy-ätio-biliensäure-dimethylesters<sup>1)</sup> studiert. Dabei zeigte es sich, dass die beiden Reaktionen weitgehend parallel verlaufen: Für den Ätio-biliensäure-dimethylester noch hinreichende und selbst wesentlich energischere Bedingungen vermochten auch den neuen Dimethylester in vorzüglicher Ausbeute bloss in den entsprechenden Monomethylester überzuführen. Bei Verwendung sehr drastischer Mittel konnte allerdings aus VIII kein Krystallinat erhalten werden, wohl weil dann der in der Molekel ausserdem enthaltene Oxydring<sup>2)</sup> nicht mehr ganz stabil ist. Der neue Monomethylester (XXII *a* oder *b*) schmilzt bei 151—152°. Ob seine veresterte Carboxylgruppe dem ursprünglich die Seitenkette tragenden Kohlenstoffatom 1 oder der ursprünglichen Methylengruppe 2 entspricht, ist noch ungewiss. Die starke sterische Hinderung dieser veresterten Carboxylgruppe<sup>3)</sup> zeigt aber, dass das ihr benachbarte Kohlenstoffatom 5 oder 3, ähnlich wie das Kohlenstoffatom 13 des Steroid-Gerüsts, quartärer (oder doch wenigstens tertiärer) Natur ist, also wahrscheinlich kein Wasserstoffatom trägt.

Weil nach Versuchen von *E. Tschopp* dem  $\Delta^{5-3}$  *t*-Oxy-ätio-biliensäure-monomethylester<sup>1)</sup> eine ganz geringe oestrogene Wirkung zukommt (Grenzdosis an der Ratte ca. 1 mg), wurde auch der Monomethylester XXII geprüft. Er erwies sich aber bei der gleichen Dosierung in diesem Test als unwirksam und führte, wie auch der erstere Ester, mit 6 mal täglich 1,5 mg kein Kammwachstum am Kapaun herbei

Bei dieser Gelegenheit sei noch nachgetragen, dass Versuche, die Dicarbonsäure VII analog wie die Epoxy-nor-cafestan-one A und B<sup>2)</sup> durch Oxydation der CH<sub>2</sub>-Gruppe in Nachbarstellung zum Epoxy-Sauerstoff mittels Chromsäure in das entsprechende Dicarboxy-lacton überzuführen, keinen Erfolg hatten. Bei gelinder Einwirkung des Oxydationsmittels wurde die Dicarbonsäure unverändert zurückerhalten, bei energischerer Oxydation weitgehend abgebaut.

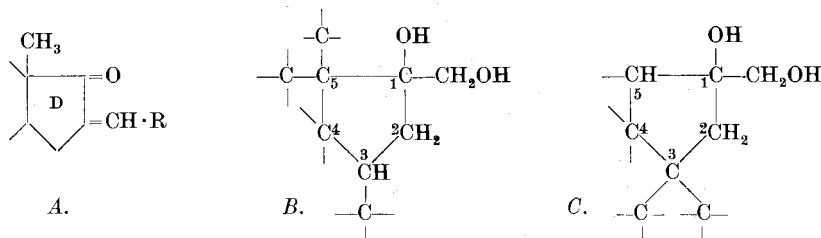
Während die bisher mitgeteilten Befunde über den die Seitenkette tragenden Cyclopentanring des Cafestols völlig analog waren mit denjenigen am Ring D der Steroid-Molekel, konnten wir nun feststellen, dass die beiden Ringe auch abweichende Eigenschaften aufweisen. Zwar liess sich die durch die Ringaufspaltung sichergestellte aktive Methylengruppe in  $\alpha$ -Stellung zur Carbonylgruppe des Epoxy-nor-cafestan-on A (VI) hier und bei einigen anderen entsprechenden Ketonen mittels der *Zimmermann*'schen Farbreaktion mit m-

<sup>1)</sup> *S. Kuwada*, J. pharm. Soc. Japan **56**, 14 (1936), s. C. **1936**, I, 4737; *S. Kuwada* und *K. Nakamura*, J. pharm. Soc. Japan **58**, 254 (1938), s. C. **1939**, I, 4199.

<sup>2)</sup> *Helv.* **25**, 718 (1942).

<sup>3)</sup> Entsprechende Veresterungsversuche der Dicarbonsäure VII mit Alkohol und Mineralsäure schienen, ebenfalls wegen des Oxydringes, wenig aussichtsreich.

Dinitrobenzol<sup>1)</sup> meist noch nachweisen. Es musste aber bereits auffallen, dass sie dann langsamer und wesentlich schwächer eintrat als bei 17-Ketosteroiden, was wohl für eine weniger aktive bzw. stärker gehinderte Methylengruppe spricht. Als wir aber versuchten, diese Methylengruppe unter der Einwirkung von Alkali mit aromatischen Aldehyden zu kondensieren, war eine solche Umsetzung in keinem Falle zu erzielen. Diese Feststellung wurde am Epoxy-nor-cafestan-on A (VI) wie auch am Epoxy-nor-cafestadien-on (II) erhoben. In Parallelversuchen liessen sich aber *t*-Dehydro-androsteron, Androsteron und auch der einen aromatischen Ring<sup>2)</sup> enthaltende Oestron-methyläther als Vertreter der 17-Ketosteroide mit Piperonal und dem besonders aktiven *m*-Nitrobenzaldehyd<sup>3)</sup> sehr glatt zu entsprechenden 16-Benzyliden-Verbindungen (A) umsetzen<sup>4)</sup>. Im experimentellen Teil sind nähere Angaben über die so gewonnenen  $\Delta^5$ -16-Piperonyliden- und 16-*m*-Nitrobenzyliden-androsten-3*t*-ol-17-one, sowie 16-*m*-Nitrobenzyliden-androsteron und -oestron-methyläther enthalten.



Die Tatsache, dass die  $\alpha$ -Methylengruppe der vom Cafestol abgeleiteten Ringketone mit aromatischen Aldehyden in Gegenwart von Alkali nicht reagiert, weist bei der bekannten Hinderung analoger gesättigter Verbindungen mit benachbarten Substituenten<sup>5)</sup> darauf hin, dass das Kohlenstoffatom 3 in  $\beta$ -Stellung zur Carbonylgruppe nicht als Methylengruppe vorliegt. Entspricht der Dicarbonsäure-

<sup>1)</sup> s. Tabelle im exp. Teil. Vgl. *W. Zimmermann*, *Z. physiol. Ch.* **233**, 257 (1935); **245**, 47 (1936); *R. B. Oesting* und Mitarb., *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **36**, 524 (1937); *Endocrinology* **22**, 307 (1938); *R. Neustadt*, *Endocrinology* **23**, 711 (1938); *N. H. Callow*, *R. K. Callow* und *C. W. Emmens*, *Biochem. J.* **32**, 1312 (1938).

<sup>2)</sup> Über die ungesättigte Gruppierung des Cafestols werden wir demnächst berichten.

<sup>3)</sup> *O. Wallach*, *Terpene* und *Campher*, 2. Aufl., S. 109.

<sup>4)</sup> Vgl. *F. H. Stodola* und *E. C. Kendall*, *J. org. Chem.* **6**, 837 (1941); über eine ähnliche Kondensation in 16-Stellung mit Methyl-äthyl-keton s. *A. Butenandt*, *J. Schmidt-Thomé* und *Th. Weiss*, *B.* **72**, 417 (1939).

<sup>5)</sup> S. z. *B. O. Wallach*, loc. cit., sowie insbes. das Verhalten von Menthon (*O. Wallach*, *A.* **305**, 261 (1899)) und Pulenon (*O. Wallach* und *W. Kempe*, *A.* **329**, 87 (1903)) bei Verwendung von Alkalihydroxyd als Kondensationsmittel. In Gegenwart von Alkalialkoholat kondensieren bereits viele in  $\beta$ -Stellung substituierte Ketone (s. u. a. *O. Wallach*, *A.* **323**, 356 (1902), *F. W. Semmler*, *B.* **36**, 4367 (1903); **40**, 5020 (1907); **41**, 126, 3992 (1908), *C. Martine*, *Ann. Chim. Phys.* [8] **3**, 49 (1904)), während unser Cafestol-Derivat sogar unter diesen Bedingungen unverändert blieb und in einem Modellversuch auch *d*-Campher kein Kondensationsprodukt ergab.

monoester der Teilformel XXIIa, so kann das Kohlenstoffatom 3, wegen der mitgeteilten Reaktionsfähigkeit der daran haftenden freien Carboxylgruppe, auch nicht quartärer Natur sein. Unter der genannten Voraussetzung wird also hier, im Gegensatz zu den bekannten Steroiden, eine Methin-Gruppe vorliegen.

Kommt dem Dicarbonsäure-monoester aber die Formel XXIIb zu, so bildet die durch die Reaktionsträgheit der ursprünglichen Methylengruppe 2 nahegelegte Annahme einer Verzweigung am Kohlenstoffatom 3 nur eine Bestätigung des früheren Befundes, nach dem in diesem Falle das Kohlenstoffatom 3 quartärer (oder wenigstens tertiärer) Natur ist. Unter dieser Voraussetzung kann weiter das Kohlenstoffatom 5 nicht ebenfalls quartär sein.

Es war geplant, durch Abbau des Dicarbonsäure-monoesters die Natur des die freie Carboxylgruppe tragenden Kohlenstoffatoms mit aller Sicherheit festzulegen und durch Aufbau des Dicarbonsäure-monoesters und Cyclisierung die Übereinstimmung der freien Carboxylgruppe mit der ursprünglichen Keto- oder Methylengruppe nachzuweisen. Aus zeitbedingtem Mangel an Ausgangsmaterial müssen wir hierauf vorläufig verzichten. Ausserdem wurde inzwischen eine Steroid-Formel für Cafestol auch auf anderem Wege praktisch ausgeschlossen<sup>1)</sup>.

Fassen wir die neuen Befunde zusammen, so lässt sich die Verknüpfung des Cyclopentanringes im Cafestol durch eine der Partialformeln *B* oder *C*<sup>2)</sup> ausdrücken. Sie bilden beide einen zusätzlichen Hinweis dafür, dass im Cafestol kein Steroid vorliegt<sup>3)</sup>.

#### Experimenteller Teil<sup>4)</sup>.

##### Isolierung und Reinigung von Cafestol-acetat durch Chromatographie an Floridin<sup>5)</sup>.

18 g eines letzten Mutterlaugenproduktes von der Gewinnung von rohem Cafestol-acetat aus Roh-Kaffee<sup>6)</sup>, die nur noch eine braune Schmiere darstellten, wurden in einem Gemisch Petroläther-Benzol

<sup>1)</sup> Helv. 25, 718 (1942).

<sup>2)</sup> Eine Verknüpfung der Kohlenstoffatome 3 bzw. 5 mit dem Epoxy-Sauerstoffatom kommt nicht in Frage, sonst müsste das Nor-cafestan-dion (XIII) entgegen seinem tatsächlichen Verhalten ein  $\beta$ - bzw.  $\alpha$ -Diketon sein. (Mit Semicarbazid lieferte es ein normales Disemicarbazon, kein Pyrazol oder Triazin, mit o-Phenylendiamin kein Chinoxalin.)

<sup>3)</sup> Der Nachweis, dass die Kohlenstoffatome 3 und gegebenenfalls 5 wasserstoffarm oder -frei sind, wodurch Ringverzweigungen an diesen Stellen wahrscheinlich werden, beeinträchtigt andererseits die Ableitung eines 5-Ringes aus der *Blanc*'schen Regel, da sie für eingebaute Ringe nicht unbedingt zwingend ist (s. Helv. 24, 341 E (1941)). Gegebenenfalls wäre also der Cyclopentanring in den obigen Teilformeln durch einen entsprechenden Cyclohexanring zu ersetzen.

<sup>4)</sup> Alle Schmelzpunkte sind korrigiert.

<sup>5)</sup> Floridin XS der Firma *H. Bensmann*, Bremen.

<sup>6)</sup> s. Helv. 24, 332 E (1941).

1 : 1 gelöst und nach der Durchlaufmethode an 180 g Floridin chromatographiert. Die Säule färbte sich dabei bald stark grün, offenbar infolge Zerstörung der viel stärker säureempfindlichen Begleitsubstanz. Die genannten Eluate sowie diejenigen mit Gemischen steigender Benzolkonzentration und mit reinem Benzol lieferten insgesamt ca. 6,5 g fast farblose, bereits um 165° schmelzende Krystallisate. Diese ergaben durch Umkrystallisation aus Methanol oder Aceton-Hexan-Gemischen unter Stickstoff ohne weiteres Präparate vom Smp. 170—172° und der Drehung  $[\alpha]_D^{23} = -104^\circ \pm 2^\circ$  (in Chloroform).

Die späteren Eluate mit Äther und insbesondere Methanol lieferten etwa 11,5 g eines dunkel-rotbraunen Harzes.

Ein Cafestol-acetat mit den obigen Konstanten wurde in Benzol aufgenommen, die Lösung durch eine Säule von Floridin laufen gelassen und mit Benzol nachgewaschen bis nichts mehr eluiert wurde. Das so fast quantitativ zurückgewonnene Krystallisat wurde zweimal aus Aceton-Hexan-Gemisch oder Methanol umkrystallisiert und dann noch dreimal auf gleiche Weise an Floridin chromatographiert. Die Konstanten des Produktes änderten sich hiebei in folgender Weise:

	Nach der 2. Chromatographie	Nach der 4. Chromatographie
Smp. . . . .	172—174°	173—175°
$[\alpha]_D^{20}$ (in $\text{CHCl}_3$ ) . . . . .	$-97^\circ \pm 2^\circ$	$-91^\circ \pm 2^\circ$
$\log \epsilon$ max. (2900 Å; in $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) .	2,44	1,70

4,703 mg Subst. gaben 12,73 mg  $\text{CO}_2$  und 3,58 mg  $\text{H}_2\text{O}$

$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{O}_4$  (358,46) Ber. C 73,71 H 8,43%

Gef. „ 73,87 „ 8,52%

Beim Versetzen der Lösung von 1—2 mg des Präparates in 0,4 cm<sup>3</sup> Methanol mit 2 Tropfen konz. Salzsäure blieb sie längere Zeit fast farblos und war nach 1 Stunde mässig stark reinblau gefärbt mit roter Fluoreszenz. Eine Fluoreszenz des Krystallisates unter der Quarzlampe war nicht vorhanden.

#### Anreicherung von Kahweol-acetat.

Es wurde dabei von einem rohen Cafestol-acetat mit der Drehung  $[\alpha]_D = \text{ca. } -170^\circ$  ausgegangen<sup>1)</sup>. Durch fraktionierte Krystallisation aus Methanol sowie Hexan, wobei insbesondere die stärker linksdrehenden Mutterlaugen weiterverarbeitet wurden, konnte unter teilweiser Zersetzung ein offensichtlich noch uneinheitliches farbloses Krystallisat vom Smp. 143—146° erhalten werden, das die höchste Drehung von  $[\alpha]_D^{24} = -234^\circ$  zeigte (in Chloroform). Im Gemisch mit Cafestol ergab es

<sup>1)</sup> s. Helv. 24, 332 E (1941).

keine deutliche Schmelzpunktserniedrigung. Bei der beschriebenen Einwirkung von Salzsäure lieferte es momentan eine sehr intensive grünblaue Färbung, zeigte hingegen unter der Quarzlampe nur eine mässige Fluoreszenz. Die sehr starke Bande im U.V.-Spektrum bei 2870 Å war mit  $\log \varepsilon = 3,96$  in Hexan (für Mol.-Gew. 358) mindestens 180 mal höher als diejenige des bisher reinsten Cafestol-acetats. Zur Analyse wurde bei 80° und 0,01 mm getrocknet.

2,295; 3,282 mg Subst. gaben 6,23; 8,90 mg CO <sub>2</sub> und 1,64; 2,43 mg H <sub>2</sub> O		
C <sub>22</sub> H <sub>30</sub> O <sub>4</sub> (358,46)	Ber. C 73,71	H 8,43%
C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> O <sub>4</sub> (356,45)	Ber. „ 74,12	„ 7,92%
	Gef. „ 74,08; 74,00	„ 8,00; 8,29%

Versuche zur Trennung von Cafestol- und Kahweol-acetat durch Chromatographie an Calciumcarbonat oder Aluminiumoxyd waren nicht erfolgreich. Die letztere Methode z. B. ergab sehr stark auseinandergezogene, fast gleichmässige Eluate, von denen die ersten nur wenig tiefer, die letzten wenig höher links drehten als das Ausgangsmaterial.

Bei der Umsetzung eines an Kahweol-acetat reichen Präparates von der Drehung ca. —200° mit Maleinsäure-anhydrid<sup>1)</sup> wurde ein sehr uneinheitliches Reaktionsprodukt erhalten, aus dessen Mutterlauge sich auch durch Chromatographie an Aluminiumoxyd kein nicht umgesetztes Präparat isolieren liess. Offenbar hat sich also auch das Kahweol-acetat an Maleinsäure-anhydrid angelagert.

#### Verseifung des Dicarbonsäure-dimethylesters VIII zum Monomethylester XXII.

200 mg des Dimethylesters VIII vom Smp. 77—79° wurden 9 Stunden mit 400 mg Pottasche in 0,8 cm<sup>3</sup> Wasser und 3,2 cm<sup>3</sup> Methanol gekocht. Dann goss man die Reaktionslösung in Wasser, ätherte aus, wusch den Ätherauszug mit Wasser, trocknete ihn und dampfte ihn ein. Ein Rückstand, d. h. ein Neutral-Anteil wurde nicht erhalten.

Die alkalisch-wässrige Schicht wurde angesäuert und ausgeäthert, die Ätherlösung mit Wasser gewaschen, getrocknet und eingedampft. Der Rückstand ergab nach zweimaligem Umkrystallisieren aus einem Hexan-Aceton-Gemisch 165 mg Monomethylester vom Smp. 150,5—152°.

Dieselbe Verbindung wurde u. a. erhalten durch einstündiges Kochen mit 10 cm<sup>3</sup> 1-proz. alkoholischer Kalilauge (unter Verbrauch von 1,10 Äquivalenten Lauge). Nach 1½-stündiger Behandlung mit 10-proz. methanolischer Kalilauge krystallisierte das Produkt nicht mehr.

<sup>1)</sup> s. Helv. 24, 332 E (1941).



Es wurde 13 Stunden bei 90° und 0,007 mm getrocknet.

4,782; 3,995 mg Subst. gaben 11,98; 10,02 mg CO<sub>2</sub> und 3,69; 3,14 mg H<sub>2</sub>O  
 9,949 mg Subst. verbrauchten bei der Titration 2,96 cm<sup>3</sup> 0,01-n. KOH

C<sub>20</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> Ber. C 68,54 H 8,63 Äquiv.-Gew. 350  
 (350,44) Gef. „ 68,37; 68,45 „ 8,64; 8,80 „ „ 336

In derselben Weise wurde der  $\Delta^5$ -3*t*-Oxy-ätio-biliensäure-mono-methylester vom Smp. 222—223°<sup>1)</sup> erhalten (z. B. unter Verbrauch von 1,19 Äquivalenten 1-proz. alkoholischer Kalilauge).

Farbreaktion von Cafestol und Derivaten sowie verschiedener Steroide mit *m*-Dinitrobenzol.

Einige mg Substanz wurden in 2 Tropfen Alkohol oder Dioxan gelöst und die Lösung mit 2 Tropfen 1-proz. alkoholischer *m*-Dinitrobenzol-Lösung sowie 1—4 Tropfen 15-proz. Kalilauge versetzt.

Substanz	Farbreaktion		
	Ablauf	Intensität	Farbe
Blindprobe . . . . .			—
Epoxy-nor-cafestan-on A (VI) . . . . .	l	s schw	violett, verblasst
„ „ „ „ B (XI) . . . . .	s l	s schw	violett, verblasst
Nor-cafestan-ol-on A (XII) . . . . .			—
„ „ „ „ B (XV) . . . . .			—
„ „ „ „ C (XVI) . . . . .	s s l	schw	violett
Nor-cafestan-on-säure (XVII) . . . . .			—
Nor-cafestan-dion (XIII) . . . . .	m	schw	violett
Epoxy-nor-cafestadien-on (II) . . . . .			—
Cafestol-acetat . . . . .			—
Epoxy-cafestan-di-ol-monoacetat (IV) . . . . .			—
Dimethylester VIII . . . . .			—
<i>c</i> -Androsteron . . . . .	m	m	rosa
<i>t</i> -Dehydro-androsteron . . . . .	s r	st	rot
Androstendion . . . . .	s r	s st	dunkelrot, dann braun
Testosteron . . . . .	l	schw	rötlich-braun
Dihydro-testosteron . . . . .	s r	m	violett, dann braun

l = langsam schw = schwach  
 m = mittel st = stark  
 r = rasch — = farblos  
 s = sehr

### Kondensationen von *t*-Dehydro-androsteron mit Piperonal.

a) 100 mg *t*-Dehydro-androsteron und 115 mg Piperonal (= 2,2 Äquivalente) wurden 1½ Stunden mit einer Lösung von 100 mg

<sup>1)</sup> S. *Kuwada* und K. *Nakamura*, J. pharmac. Soc. Japan **58**, 254 (1938), C **1939** I, 4199 geben Schmelzpunkt mit 214,5—216,5° an und erhalten daneben einen tiefer schmelzenden Ester, offenbar ein Krystalldimeres.

Natriumäthylat in 12 cm<sup>3</sup> Alkohol unter Feuchtigkeitsausschluss gekocht. Dann goss man in Wasser, ätherte aus, wusch die Ätherlösung mit Wasser, Hydrogensulfidlösung, Sodalösung und Wasser, trocknete sie und dampfte sie im Vakuum ein. Die beinahe reinen, schwach gelblichen Nadelchen wurden aus Hexan-Aceton-Gemisch umkrystallisiert und so 130 mg des  $\Delta^5$ -16-Piperonyliden-androsten-3*t*-ol-17-ons vom Smp. 242—243° erhalten. Das Präparat wurde 20 Stunden bei 105° und 0,005 mm getrocknet.

4,615; 2,109 mg Subst. gaben 13,05; 5,96 mg CO<sub>2</sub> und 3,17; 1,43 mg H<sub>2</sub>O

C <sub>27</sub> H <sub>32</sub> O <sub>4</sub>	Ber. C 77,11	H 7,67%
(420,53)	Gef. „ 77,17; 77,12	„ 7,69; 7,59%

b) Die gleichen Mengen *t*-Dehydro-androsteron und Piperonal wie in a) wurden 3 Stunden mit 100 mg Pottasche in 0,8 cm<sup>3</sup> Wasser und 3,2 cm<sup>3</sup> Methanol gekocht. Nach Aufarbeitung wie unter a) wurde dieselbe Menge des gleichen Produktes erhalten.

c) Die gleichen Mengen *t*-Dehydro-androsteron und Piperonal wie in a) wurden in 3 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst, die Lösung mit 2 Tropfen 10-n. Natronlauge versetzt und 16 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Auch hier wurde in derselben Ausbeute das Produkt von Ansatz a) gewonnen.

Als man Epoxy-nor-cafestan-on A (VI) genau nach a)—c) und Epoxy-nor-cafestadien-on (II) nach b) behandelte, konnte kein einheitliches Reaktionsprodukt, dagegen ein grosser Teil unverändertes Ausgangsmaterial erhalten werden!

#### Kondensation von *t*-Dehydro-androsteron mit *m*-Nitrobenzaldehyd.

100 mg *t*-Dehydro-androsteron und 115 mg *m*-Nitrobenzaldehyd wurden in 3 cm<sup>3</sup> Alkohol gelöst, die Lösung mit 1 Tropfen 5-proz. methanolischer Kalilauge versetzt und 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dann war das Ganze völlig durchkrystallisiert. Man verdünnte mit Wasser, zog mit Äther, dem etwas Chloroform zugesetzt war, aus, wusch die organische Lösung mit Wasser, Hydrogensulfidlösung, Sodalösung und Wasser, trocknete sie und dampfte sie im Vakuum ein. Bei wiederholtem Umkrystallisieren des Rückstandes aus Aceton-Hexan wurden 100 mg leicht gelblicher Krystalle vom Smp. 248,5—250° erhalten, die das  $\Delta^5$ -16-*m*-Nitrobenzyliden-androsten-3*t*-ol-17-on darstellen. Man trocknete 16 Stunden bei 100° und 0,006 mm.

3,012 mg Subst. gaben 8,17 mg CO<sub>2</sub> und 2,03 mg H<sub>2</sub>O

4,482 mg Subst. gaben 0,139 cm<sup>3</sup> N<sub>2</sub> (21°, 743 mm)

C <sub>26</sub> H <sub>31</sub> O <sub>4</sub> N	Ber. C 74,08	H 7,41	N 3,32%
(421,52)	Gef. „ 74,02	„ 7,54	„ 3,52%

Bei der analogen Behandlung von Epoxy-nor-cafestan-on A (VI) konnte nur unverändertes Ausgangsmaterial zurückgewonnen werden! Auch *d*-Campher lieferte auf gleiche Weise kein Reaktionsprodukt.

#### Kondensation von *c*-Androsteron mit *m*-Nitrobenzaldehyd.

Die Umsetzung erfolgte wie beim *t*-Dehydro-androsteron, nur dass hier 40 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen wurde

und keine Krystallausscheidung eintrat. Das gelbliche 16-m-Nitrobenzyliden-androsteron schmolz nach dem Umkrystallisieren bei 189—190°. Es ergab im Gemisch mit dem Ausgangsmaterial eine sehr starke Schmelzpunktserniedrigung. Das Präparat wurde 18 Stunden bei 100° und 0,008 mm getrocknet.

3,723 mg Subst.	gaben 10,07 mg CO <sub>2</sub> und 2,60 mg H <sub>2</sub> O		
3,040 mg Subst.	gaben 0,088 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (23°; 739 mm)		
C <sub>26</sub> H <sub>33</sub> O <sub>4</sub> N	Ber. C	73,73	H 7,85 N 3,31%
(423,53)	Gef. „	73,81	„ 7,82 „ 3,25%

### Kondensation von Oestron-methyläther mit m-Nitrobenzaldehyd.

95 mg Oestron-methyläther<sup>1)</sup> und 110 mg m-Nitrobenzaldehyd wurden in 3 cm<sup>3</sup> Alkohol und 1 cm<sup>3</sup> Dioxan gelöst, die Lösung mit 2 Tropfen einer 5-proz. methanolischen Kalilauge versetzt und 40 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Dabei war eine erhebliche Krystallisation zu beobachten. Nach üblicher Aufarbeitung wurde der gelbliche 16-m-Nitrobenzyliden-oestron-methyläther aus Methanol umkrystallisiert und schmolz dann bei 187—188°. Im Gemisch mit dem Ausgangsmaterial zeigte er eine sehr starke Schmelzpunktserniedrigung. Ausbeute 75 mg.

Zur Analyse wurde 18 Stunden bei 100° und 0,008 mm getrocknet.

2,487 mg Subst.	gaben 6,80 mg CO <sub>2</sub> und 1,51 mg H <sub>2</sub> O		
3,005 mg Subst.	gaben 0,092 cm <sup>3</sup> N <sub>2</sub> (23°; 739 mm)		
C <sub>26</sub> H <sub>27</sub> O <sub>4</sub> N	Ber. C	74,79	H 6,52 N 3,36%
(417,49)	Gef. „	74,61	„ 6,79 „ 3,43%

Freies Oestron reagierte unter diesen Bedingungen infolge Bildung des Phenolates nicht, Oestron-acetat wurde dabei leicht verseift und kam so ebenfalls nicht zur Reaktion und Oestron-benzoat erwies sich als zu schwerlöslich.

Die Analysen wurden in unserem mikroanalytischen Laboratorium unter der Leitung von Hrn. Dr. *Gysel* ausgeführt.

Wissenschaftliche Laboratorien der *Ciba*, Basel  
Pharmazeutische Abteilung.

<sup>1)</sup> *S. A. Thayer, L. Levin und E. A. Doisy*, J. biol. Chem. **91**, 796 (1931); *A. Bute-*  
*mandt, I. Störmer und U. Westphal*, Z. physiol. Ch. **208**, 167 (1932).