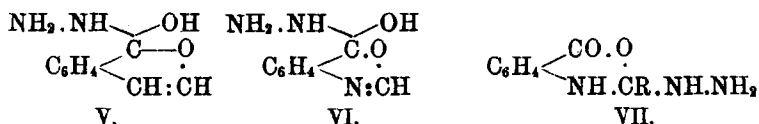


lacton (IV.) beobachtet worden, dessen Hydrazin-Additionsprodukt mit salpetriger Säure ein öliges Azid liefert, das spontan in Stickstoffwasserstoffsäure und Phenyl-isocaprolacton zerfällt. Die Hydrazin-Additionsprodukte der Lactone und der Acyl-anthranilsäureanhydride werden dementsprechend gleichartig zu formulieren sein (V. und VI.), die Hellersche Formulierung (VII.) (l. c.) ist sehr unwahrscheinlich:



20. Karl Freudenberg: Über Gerbstoffe.

III. Chlorogensäure, der gerbstoff-artige Bestandteil der Kaffeebohnen.

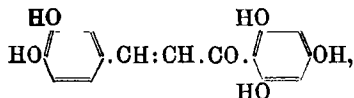
[Aus dem Chemischen Institut der Universität Kiel.]

(Eingegangen am 24. Dezember 1919.)

In zahlreichen gerbstoff-artigen Naturstoffen ist gebundene Kaffeesäure festgestellt worden. Ausgehend von der Erfahrung, daß dem Studium der komplizierten, amorphen Gerbstoffe die Erforschung der einfachen Typen vorausgehen muß, habe ich den in der Überschrift genannten krystallinischen Naturstoff untersucht, der diese Säure als Baustein enthält. Er ist bisher der einzige seiner Art¹⁾.

Vor 70 Jahren stellte Payen²⁾ fest, daß in den Kaffeebohnen mehr als 3 % des gut krystallisierenden Kalium-Coffein-Salzes einer Säure enthalten sind, die er Chlorogensäure nannte, weil sich ihre ammoniakalische Lösung an der Luft grün färbt. Aus der Beschreibung seiner Versuche geht hervor, daß er die Säure nicht ganz rein gewonnen hat. Einigen Fortschritt in dieser Richtung machte Griebel³⁾, der als erster nach mehr als 50 Jahren die Säure wieder in Händen hatte. Aber erst die gründlichen Untersuchungen Gorters⁴⁾ gewährten einen Einblick in die Konstitution der Chlorogensäure.

¹⁾ Vielleicht würde auch das von Tutin entdeckte Eriodictyol



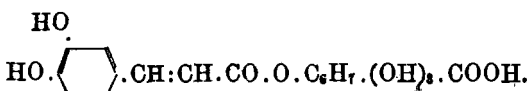
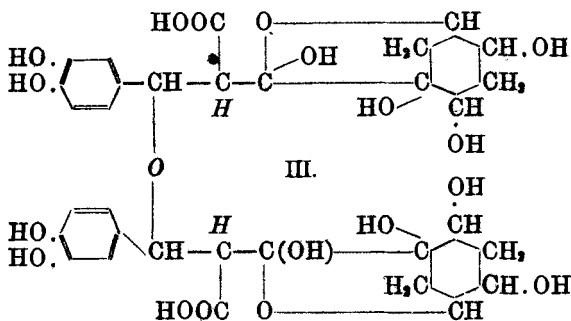
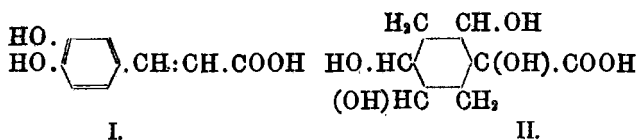
(Soc. 97, 2058 [1910]), bei der Einwirkung von Alkalien Kaffeesäure abspalten.

²⁾ A. ch. [3] 26, 108 [1849].

³⁾ Diss., München 1903.

⁴⁾ A. 358, 327, 359, 217 [1908]; Ar. 247, 184 [1909]; A. 379, 110 [1911].

Kalilauge zerlegt sie schon bei niederer Temperatur sehr glatt in gleichmolekulare Mengen Kaffeesäure (I.) und Chinasäure (II.). Durch heiße, verdünnte Mineralsäuren wird die Chlorogensäure gleichfalls abgebaut, aber außer Chinasäure und wenig Kaffeesäure entsteht eine sehr erhebliche Menge Kohlendioxyd und ein Spaltstück, dessen Krystallisation Gorter nicht gelungen ist. Er schloß daraus, daß der Chlorogensäure eine den β -Ketonsäuren ähnliche Struktur zu Grunde liegen müsse, denn nur so schien ihm die in verschiedenem Sinne verlaufende Spaltung, insbesondere die Bildung der Kohlensäure, erklärbar. Diesen Vorstellungen gab er durch eine Formel Ausdruck, die ein zusammenhängendes Kohlenstoffgerüst aufweist und einer Kombination von je einem Molekül Chinasäure und Kaffeesäure unter Abzug eines Moleküls Wasser entspricht. Da eine solche Verbindung die Formel $C_{16}H_{18}O_9$ haben würde, die Analyse der Chlorogensäure jedoch auf $2(C_{16}H_{18}O_9) + H_2O = C_{32}H_{38}O_{19}$ stimmende Werte ergab, nannte er die erste hypothetische Verbindung Hemi-chlorogensäure und nahm an, daß sich zwei Moleküle unter Hinzutritt von Wasser zur Chlorogensäure zusammenschließen. Diese Anlagerung von Wasser sollte an den Äthylen-Bindungen der Kaffeesäure-Reste erfolgen. In seiner hier wiedergegebenen Formel (III.) der Chlorogensäure wird der Zusammenhang mit der Hemi-chlorogensäure dadurch zum Ausdruck gebracht, daß dieses verbindende Molekül Wasser durch Kursivdruck kenntlich gemacht ist.



Sein übriges Beobachtungsmaterial deutete Gorter im Sinne dieser Anschauungen. Obwohl seine Formel unmöglich als endgültig angesehen werden konnte, ließ sich aus Gorters Versuchen kein ohne weiteres auffallender Widerspruch gegen den in seiner Formel der Hemi-chlorogensäure ausgedrückten Gedanken einer zusammenhängenden Kohlenstoffkette herleiten. Nur eine Beobachtung, der er anscheinend geringe Bedeutung beimißt, läßt sich unmöglich damit vereinigen: Gorter fand, daß Chlorogensäure durch *Mucor*- und *Penicillium*-Arten gespalten wird, und aus seinen Worten geht hervor, daß er zumindest Kaffeesäure als Spaltstück festgestellt hat. Nach allem, was über die Wirkung der Schimmelpilze bekannt ist, kann die Kaffeesäure nur herausgelöst werden, wenn sie über ein Sauerstoffatom mit den übrigen Teilen des Moleküls verbunden ist. Eine solche Aufspaltung wäre der als Esterase erkannten Tannase¹⁾ zuzuschreiben, die in Schimmelpilzen entsteht, welche auf einem hydrolysierbaren Gerbstoff, z. B. Galläpfel-Tannin, wachsen.

Bei der Nachprüfung von Gorters Spaltversuch habe ich nicht den lebenden Pilz, sondern aus *Aspergillus niger* gewonnene Tannase verwendet. Die Aufspaltung gelang, neben der Kaffeesäure wurde Chinasäure isoliert. Zugleich ergab sich, daß die Chlorogensäure, die Gorter für wasserfrei hielt, ein halbes Molekül Krystallwasser enthält; damit fällt der Unterschied zwischen seiner Hemi-chlorogensäure und der Chlorogensäure weg; diese ist einfach ein Depsid der Kaffeesäure mit der Chinasäure, und zwar läßt sich Gorters Versuchen entnehmen, daß es die Kaffeesäure ist, die mit ihrem Carboxyl an einem Hydroxyl der Chinasäure haftet (Formel IV). Welches Hydroxyl der Chinasäure die Bindung vermittelt, wird erst aufgeklärt werden können, wenn die Konstitution der Chinasäure feststeht. In der oben mitgeteilten Formel dieser Säure (II.) ist die wahrscheinlichste Stellung der Hydroxyle wiedergegeben.

Gorters Beobachtungsmaterial paßt größtenteils sehr gut zu dieser Auffassung; nur einzelne Widersprüche mußten geklärt werden.

Das Kohlendioxyd, das bei der Einwirkung von Mineralsäuren auf Chlorogensäure auftritt, entstammt der freigewordenen Kaffeesäure, wie ein Kontrollversuch mit dieser allein ergeben hat; das undefinierbare Nebenprodukt rührt von 3.4-Dioxy-styrol her. Gorters schön krystallisierende »Pentacetyl-hemi-chlorogensäure«, ($C_{26}H_{28}O_{14}$), die nunmehr Pentacetyl-chlorogensäure zu nennen ist, beweist die Gegenwart von fünf Hydroxylgruppen.

¹⁾ K. Freudenberg, B. 52, 177 [1919].

Sie verliert durch Anilin oder Kaliumacetat in heißem Alkohol oder durch heiße, 20-proz. Essigsäure zwei Acetyle. Dies sind, wie auch Gorter annimmt, die an den Hydroxylgruppen der Kaffeesäure haftenden; die Kaffeesäure-Hydroxyle sind also in der Chlorogensäure unbesetzt, während die Chinasäure ein Hydroxyl zur Bindung mit dem Carboxyl der Kaffeesäure hergibt. Pentacetyl-chlorogensäure addiert zwei Atome Brom und zerfällt dann mit Kalilauge in Essigsäure, Monobrom-kaffeesäure und Chinasäure (G.). Natrium-amalgam führt die Chlorogensäure in ein Dihydroderivat $C_{16}H_{20}O_8$ über, das Gorter durch Kalilauge und Säuren glatt und ohne Kohlensäure-Entwicklung in Dihydro-kaffeesäure und Chinasäure zerlegen konnte.

Gorters »Hemi-chlorogensäure« müßte sechs freie Hydroxyle enthalten. Es ist ihm zwar nicht gelungen, in das Pentacetyl-Derivat eine weitere Acetylgruppe einzuführen, aber er versuchte, das in der Pentacetylverbindung vermutete freie Hydroxyl durch Methylmagnesiumjodid nach Zerewitinoff¹⁾ nachzuweisen. Der von ihm gefundene Wert (5.18 % OH, nicht wie er angibt 5.35) liegt allerdings näher an dem für zwei Hydroxyle (6.03) als für eines (3.01) berechneten und könnte darauf hindeuten, daß außer dem Carboxyl ein alkoholisches Hydroxyl frei wäre; Beweiskraft kann einem so unklaren Ergebnisse jedoch nicht zugesprochen werden. Ein letzter Widerspruch zu meiner Auffassung läßt sich aus einer Angabe Gorters herauslesen, nach der Kaliumpermanganat durch die Lösung der Chlorogensäure in wäßrigem Bicarbonat nicht sofort entfärbt werden soll. Ich vermag diese Beobachtung nicht zu bestätigen, sondern finde einen sofortigen Farbumschlag in Grün, der übrigens bei der Kaffeesäure ebenso eintritt.

Gorter hat die Chlorogensäure aus arabischen und liberischen Kaffeebohnen isoliert, in denen sie ungefähr 4 % ausmachen soll; ferner hat er sie in Substanz gewonnen aus den Kaffeeblättern, dem Milchsaft von *Castilleja elastica*²⁾, aus dem Samen von *Helianthus annuus*³⁾, *Kopsia flavida* und *Strychnos nux vomica*⁴⁾. Darüber hinaus will er die Chlorogensäure in sehr zahlreichen Pflanzen mit Hilfe einer Farbenreaktion⁵⁾ nachgewiesen haben. (Die mit Mineralsäure gekochte Lösung wird ausgeäthert, der blau fluorescierende Äther-Auszug

¹⁾ B. 40, 2023 [1907]. Gorter führte seine Bestimmung mit einer sehr geringen Substanzmenge aus.

²⁾ R. 31, 281 [1912].

³⁾ Ar. 247, 436 [1909].

⁴⁾ Ar. 247, 197 [1909]. Die von Pelletier und Caventou (A. ch. 10, 169 [1819]) als Begleiter des Strychnins aufgefundenen Igasursäure ist nicht mit Chlorogensäure identisch.

⁵⁾ Ar. 247, 187 [1909].

nacheinander mit Bicarbonatlösung, Wasser und verdünntem Eisenchlorid ausgeschüttelt. Der Äther färbt sich gelb, die Eisenchlorid-Schicht schwach olivbraun, bei größerer Substanzmenge grauviollett.) Diese Reaktion ist, wie bereits Charaux¹⁾ festgestellt hat, nicht nur ein Kennzeichen der Chlorogensäure, sondern auch der Kaffeesäure, denn es ist bei der Anwendung der beiden Säuren kein Unterschied wahrzunehmen. Die Reaktion dürfte auf der Bildung von Dioxystyrol und seinen Umwandlungsprodukten beruhen, und es bleibt abzuwarten, ob nicht auch andere, ähnliche Verbindungen die gleiche Reaktion geben.

Als Ester-anhydrid der Kaffee- und Chinasäure schließt sich die Chlorogensäure der Reihe der Depside an, die in der Natur in freiem Zustande bisher nur unter den Flechtensäuren, in gebundenem im chinesischen Tannin angetroffen worden sind. E. Fischers Vorstellung von der Verbreitung der Depside findet damit eine Bestätigung und Erweiterung zugleich; denn mit der Chinasäure wird eine neue, von den Phenol-carbonsäuren verschiedene Komponente unter die Bausteine der Depside eingereiht.

Chlorogensäure gibt ebensowenig wie ein unzersetzter Kaffee-Auszug die Fällungsreaktion mit verdünnter Gelatine-Lösung. Wird jedoch eine Probe in einer 10-proz. Gelatine-Lösung erwärmt, so entsteht beim Abkühlen eine zähe, weiße Abscheidung. *p*-Oxy-benzoesäure, Protocatechusäure, Gallussäure und Pyrogallol-carbonsäure verhalten sich ebenso. In einer $\frac{1}{2}$ -proz. Gelatine-Lösung zeigen Pyrogallol-carbonsäure, Kaffeesäure, Salicylsäure und *p*-Oxy-benzaldehyd eine opalisierende Trübung, bevor sie auskrystallisieren, Gallussäure-methylester, Protocatechualdehyd, Pikrinsäure, Maclurin und Gambir-Catechin geben dagegen, wie die eigentlichen Gerbstoffe eine Fällung bei der Vermengung ihrer wäßrigen Lösung mit einer $\frac{1}{2}$ -proz. Gelatine-Lösung. Diese Beispiele, die übrigens zum Teil bereits bekannt sind, mögen genügen, um darzutun, daß die Phenolderivate von den einfachen Typen bis zu den komplizierten Gerbstoffen nur graduelle Unterschiede im Verhalten gegen Gelatine aufweisen, und daß nach dem Ausfall der Leimreaktion nicht über die Zuteilung einer Substanz zur Klasse der Gerbstoffe entschieden werden kann. Auf Grund ihrer Konstitution muß der Chlorogensäure eine nahe Beziehung zu den Gerbstoffen zuerkannt werden.

Gorter hat bewiesen, daß die Chlorogensäure den Hauptbestandteil der sogenannten Kaffee-Gerbsäure bildet, und man kann ihm

¹⁾ Journ. Pharm. Chim. [7] 2, 292 [1910]; hier findet sich eine sehr ausführliche Schilderung der besagten Farbenreaktion.

und Charaux nur zustimmen, wenn sie diesen vermeintlichen Gerbstoff aus der Literatur streichen. Es bleibt eine offene Frage, welche der in zahlreichen anderen Pflanzen angetroffenen¹⁾ und als »Kaffee-Gerbsäure« bezeichneten Naturstoffe auch Chlorogensäure enthalten. Die Annahme Charaux', daß alle im Pflanzenreich vorkommende gebundene Kaffeesäure aus Chlorogensäure stamme, entbehrt der Begründung. Die eingebürgerte Vorstellung, daß »Kaffee-Gerbsäure« Zucker enthalte, geht auf Hlasiwetz²⁾ zurück. Aber der »Zucker«, den er in seiner Kaffee-Gerbsäure vorzufinden glaubte, war zur Hauptsache chinasaures Kalium. Die Gegenwart der Chlorogensäure hat er nicht beachtet.

Versuche.

Gewinnung der Chlorogensäure: Kaffeebohnen werden bei gewöhnlicher Temperatur scharf getrocknet und zuletzt bei niedrigem Druck über Phosphorpentoxyd 2 Stunden auf 100° erhitzt. Dabei werden die Bohnen brüchig und die in ihnen enthaltenen Oxydasen³⁾ zerstört. Die zerkleinerten Samen werden mit kaltem Wasser erschöpft, das mit einigen ccm Toluol durchgeschüttelt ist. Der Auszug wird unter vermindertem Druck konzentriert, filtriert, zum sehr dicken Sirup eingeeengt und dieser vorsichtig mit absolutem Alkohol vermischt, bis sich eine ölige Abscheidung zeigt. Durch Zugabe von sehr wenig verdünntem Alkohol stellt man wieder eine homogene Lösung her. Sie wird 24 Stunden bei Zimmertemperatur, dann die gleiche Zeit auf Eis der Krystallisation überlassen und danach mit dem gleichen Volumen 50-proz. Alkohol verdünnt. Das abgesaugte Kalium-Coffein-Salz wird scharf gepreßt, mehrmals aus möglichst wenig 50-proz. Alkohol und dann wiederholt aus Wasser umkrystallisiert nötigenfalls unter Benutzung von Tierkohle. Wenn das Salz vollkommen rein ist, gelingt die Abscheidung eines farblosen Chlorogensäurepräparates ohne weiteres. Zu diesem Zwecke wird das Salz in wenig warmem Wasser gelöst und die Flüssigkeit mit warmem Chloroform ausgeschüttelt, solange dieses noch Coffein annimmt. Beim Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure fällt die Chlorogensäure schnell aus, sie wird zweimal aus möglichst wenig Wasser umkrystallisiert. Die Ausbeute an völlig farbloser Säure beträgt etwas über 1% des lufttrockenen Kaffees.

¹⁾ Vergl. Wehmer, Pflanzenstoffe. Jena 1911.

²⁾ A. 142, 219 [1867]; vergl. Griebel, l. c.

³⁾ Gorter, A. 359, 217 [1908].

Analysen. 0.1700 g lufttrockene Säure verloren über Phosphorpentoxyd bei 14 mm Druck und 110° in 4 Stunden 0.0039 g. Bei der gleichen Temperatur und 1 mm Druck trat kein weiterer Gewichtsverlust ein. 0.1553 g verloren 0.0036 g.

$C_{16}H_{18}O_9 + \frac{1}{2}H_2O$ (363.23). Ber. H_2O 2.48. Gef. H_2O 2.29, 2.32.

0.1661, 0.1517, 0.1598 g entwässerte Sbst.: 0.3295, 0.3014, 0.3159 g CO_2 , 0.0759, 0.0713, 0.0749 g H_2O .

$C_{16}H_{18}O_9$ (354.22). Ber. C 54.23, H 5.12.

Gef. » 54.12, 54.20, 53.94, » 5.11, 5.26, 5.24.

Gortler gibt an, daß die Chlorogensäure kein Krystallwasser enthält, er teilt nicht mit, wie er getrocknet hat. Seine Analysen stimmen auf die wasserhaltige Substanz ($\frac{1}{2}H_2O$).

Das Calciumsalz wurde nach Gorters Vorschrift bereitet und bei 12 mm Druck und 115° über Phosphorpentoxyd entwässert. Die Gewichtskonstanz war erst nach 7 Stunden erreicht und wurde durch weiteres 2-stündiges Trocknen bei derselben Temperatur und 1 mm Druck bestätigt. Präparate verschiedener Darstellung verloren 14.0, 14.7, 15.5% Wasser. Gortler hat bei 100° unter gewöhnlichem Druck getrocknet und 13.0—13.4% Gewichtsverlust gefunden. Seine Analysen lassen erkennen, daß das von ihm verwendete Salz noch etwa 2.5% Wasser enthält.

Das wasserfreie Salz ist schwefelgelb und wird, mit Wasser übergossen, wieder nahezu farblos.

0.1704 g Sbst.: 0.3203 g CO_2 , 0.0738 g H_2O . — 0.1663 g Sbst.: 0.0293 g $CaSO_4$.

$C_{22}H_{24}O_{10}Ca$ (746.50). Ber. C 51.45, H 4.59, Ca 5.37.

Gef. » 51.27, » 4.85, » 5.19.

Nach diesen Feststellungen erübrigt sich die Nachprüfung von Gorters weiteren Analysen; im Folgenden sollen lediglich seine Analysenergebnisse den nach der neuen Chlorogensäure-Formel errechneten gegenübergestellt werden.

$(C_{16}H_{17}O_9)_2Mg$ (730.58). Ber. Mg 3.33. Gef. Mg 3.28.

$(C_{16}H_{17}O_9)_2Zn$ (771.63). Ber. Zn 8.45. Gef. Zn 8.07.

$(C_{16}H_{17}O_9)_2Pb$ (913.46). Ber. Pb 22.68. Gef. Pb 21.96.

$(C_{16}H_{17}O_9)_2Pb2PbO$ (1360.0). Ber. Pb 45.70. Gef. Pb 45.02.

Neutrales Benzidin-Salz $(C_{16}H_{18}O_9)_2(C_{12}H_{12}N_2)$ (892.62).

Ber. C 59.18, H 5.42.

Gef. » 58.32, » 5.60.

Basisches Benzidin-Salz $(C_{16}H_{18}O_9)(C_{12}H_{12}N_2)$ (538.40).

Ber. C 62.44, H 5.62, N 5.20.

Gef. » 61.58, 61.14, » 5.91, 5.55, » 5.20.

Anilina-Salz $(C_{16}H_{18}O_9)(C_6H_7N)$ (447.32). Ber. C 59.04, H 5.63.

Gef. » 58.50, » 5.70.

Fermentativer Abbau der Chlorogensäure. 0.5 g Säure wurden in wenig Wasser gelöst und mit $\frac{1}{10}$ -Strontiumhydroxyd-Lösung bis zur eben beginnenden Gelbfärbung versetzt. Da die schwach saure Lösung am folgenden Tage prachtvolle, zentimeterlange, Nadeln des Strontiumsalzes ausgeschieden hatte, wurde mit 200 ccm Wasser eine klare Lösung hergestellt. Die Flüssigkeit blieb mit 0.1 g Tannase¹⁾ 9 Tage bei 40° stehen, wurde danach im Extraktionsapparat mit Äther von Kaffeesäure befreit und mit weiteren 0.1 g Tannase nochmals die gleiche Zeit aufbewahrt. Durch erneute Äther-Extraktion wurde eine zweite Portion gewonnen. Aus Wasser umkrystallisiert wog die Kaffeesäure 0.21 g; das sind 80% der berechneten Menge, bezogen auf wasserhaltige Kaffeesäure.

Die wäßrige Lösung wurde unter vermindertem Druck zum Sirup eingedampft und mit der berechneten Menge verdünnter Schwefelsäure und viel Aceton versetzt. Das Strontiumsulfat und die Tannase wurden abfiltriert und aus dem Filtrat ein Rest von Strontium mit Schwefelsäure genau ausgefällt. Das Aceton wurde verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst und in der Kälte mit gewachsener Tonerde nach H. Wislicenus²⁾ behandelt. Die Reste von Kaffee- und Chlorogensäure werden mit gelber Farbe auf die Tonerde niedergeschlagen. Das Filtrat zeigte die grüne Eisenchlorid-Reaktion der genannten Säuren nicht mehr. Es wurde unter vermindertem Druck zum Sirup eingeeengt, der aus bald krystallisierender Chinasäure bestand.

Im Verlaufe der hier mitgeteilten Untersuchung mußte ich darauf bedacht sein, auf jede experimentelle Unstimmigkeit einzugehen, so unbedeutend sie an sich auch sein mochte. Dadurch könnte der Anteil Gorters an der Erforschung der Chlorogensäure in einem ungünstigeren Lichte erscheinen, als recht ist. Der weitaus größte Teil seines sorgfältig durchgearbeiteten Versuchsmaterials konnte so wie er war als Unterlage zur Konstitutionsaufklärung der Säure dienen. Nur seine Folgerungen waren unrichtig.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, der Preussischen Akademie der Wissenschaften auch hier meinen Dank dafür auszusprechen, daß sie mir die Mittel zu dieser Untersuchung gewährt hat.

¹⁾ K. Freudenberg, B. 52, 183 [1919].

²⁾ K. Freudenberg, B. 52, 1241 [1919].