

68. Karl Freudenberg, Richard Kraft*) und Werner Heimberger: Über den Sinapinalkohol, den Coniferylalkohol und ihre Dehydrierungs- polymerisate

[Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Forschungsinstitut für die Chemie
des Holzes und der Polysaccharide Heidelberg]

(Eingegangen am 10. Februar 1951)

Zur Synthese des Sinapinalkohols werden Ergänzungen mitgeteilt. Die enzymatische und alkalische Spaltung des Syringins sowie die enzymatische Bildung eines kristallinen dimeren und eines amorphen polymeren Dehydrierungsproduktes des Sinapinalkohols wird beschrieben. Coniferylalkohol läßt sich auch durch eine in Mandeln vorkommende Dehydrogenase in ein ligninartiges Dehydrierungs-
polymerisat verwandeln.

Vor kurzem haben K. Freudenberg und R. Dillenburg die Reduktion (mit LiAlH_4) des Acetylsinapinsäureesters zum Sinapinalkohol (I) beschrieben¹⁾. Inzwischen sind bei dieser Synthese einige Erfahrungen gesammelt worden, die unten mitgeteilt werden. Es empfiehlt sich, den Acetylsinapinsäure-äthylester durch Kondensation des Syringaaldehyds mit Malonsäuremonoäthylester und nachherige Acetylierung herzustellen.

Die Versuche, den Alkohol aus seinem Glucosid, dem Syringin, zu gewinnen, sind anfänglich auf Schwierigkeiten gestoßen. Das Syringin wird aus der Rinde von Flieder (*Syringa*) gewonnen. A. Kromayer gibt an²⁾, daß die Ausbeute mit der Jahreszeit sehr schwanke. Wir haben in Fliederrinde (aus Heidelberg) regelmäßig 0.5–0.6% Syringin erhalten, gleichgültig, ob sie im März, April, Juni, Juli oder Oktober gesammelt war. In Blättern von Flieder und Liguster (Juli 1949) haben wir kein Syringin gefunden.

Bei der Spaltung des wasserfreien Glucosids sollte die Drehung von $[\alpha]_D^{20}$: -17° auf $+24^\circ$ ansteigen. Dieser Wert wird nicht erreicht, weil die Spaltung mit Emulsin wegen der Empfindlichkeit des Sinapinalkohols vorzeitig abgebrochen werden muß. Bei $\text{pH} 7$ wirkt Emulsin zu langsam, bei dem optimalen $\text{pH} 5$ wird der Alkohol mit der Zeit verändert. Daher wurde $\text{pH} 5.6$ gewählt und nach 6 Tagen (37°) abgebrochen. Da rohes Emulsin eine Dehydrogenase enthält, muß ein weitgehend gereinigtes Enzympräparat verwendet und Sauerstoff völlig ausgeschlossen werden. Auf diesem Wege gelingt es, bis zu 40% der erwarteten Menge an Sinapinalkohol zu erhalten. Er schmilzt bei 64–66° und ist mit dem synthetischen identisch.

Die nicht analysierten Produkte, die H. Pauly und L. Straßberger³⁾ (Schmp. 105–107°) sowie A. Kramer⁴⁾ (Schmp. gegen 110°) bei ihren Versuchen, Syringin mit Emulsin zu spalten, erhalten haben, sind von unserem Sinapinalkohol verschieden. Wir glauben auch nicht, daß das höherschmelzende Präparat ein Stereoisomeres unseres Sinapinalkohols sein kann. Wir sind bis jetzt noch keinen *cis-trans*-isomeren Oxyzimtalkoholen begegnet.

*) Stipendiat der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft.

1) B. 84, 67 [1951].

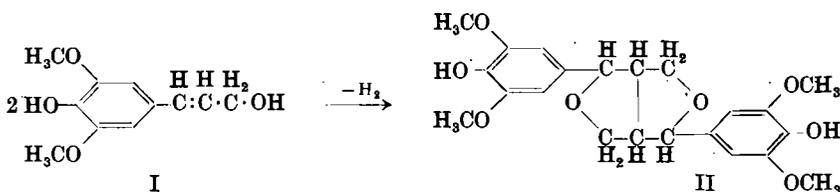
2) Arch. Pharmaz. 159, 18 [1862] (C. 1862, 193).

3) B. 62, 2277 [1929].

4) Compt. rend. Acad. Sciences 196, 816 [1933].

Als Glucoside von Phenolen werden sowohl Syringin wie Coniferin von warmem Alkali angegriffen, wie dies G. Tanret⁵⁾ als erster beim Picein, dem Glucosid des *p*-Oxy-acetophenons, gefunden hat. Tatsächlich gelingt es mit warmer Barytlösung die beiden Aglykone in geringer Menge zu gewinnen.

Auch wenn die enzymatische Spaltung des Syringins mit der geschilderten Vorsicht ausgeführt wird, bildet sich in geringer Menge ein bei 174–176° schmelzendes Nebenprodukt⁶⁾, dessen Menge bis zu 50% d.Th. ansteigt, wenn rohes Emulsin verwendet und die Luft nicht ausgeschlossen wird. Es entsteht auch, wenn der Sinapinalkohol allein der Wirkung des Emulsins ausgesetzt wird. Die Zusammensetzung und das Molekulargewicht entsprechen der Bildung aus 2 Moll. Sinapinalkohol unter Verlust von Wasserstoff. Als mögliche Formel wird II angeführt. Diese Formel ist der des Pinoresinols nach-



gebildet und muß noch bewiesen werden. Auch ein Analogon des Matairesinols kommt in Betracht. Die Substanz dreht in Chloroform 2° nach rechts; sie scheint uns das erste in vitro gebildete Lignan zu sein.

Unter der Einwirkung von Säuren (pH 3) fällt aus einer sehr verdünnten wäßrigen Lösung des Sinapinalkohols bei 20° ein in Wasser schwer lösliches kristallisiertes Produkt aus, vielleicht ein Dimeres.

Setzt man den Sinapinalkohol bei pH 7 und 20° in sehr verdünnter wäßriger Lösung nach Zugabe von Champignonpreßsaft einem Luftstrom aus, so scheidet sich in der dunkelbraun werdenden Flüssigkeit ein graubraunes Dehydrierungspolymerisat aus, das bis zu 2% Stickstoff enthält. Offenbar werden fremde, stickstoffhaltige Stoffe einpolymerisiert. Aus der Lösung konnte mit Äther eine geringe Menge 2,6-Dimethoxy-benzochinon extrahiert werden. Auch als gereinigtes Ferment verwendet wurde, enthielt das Produkt zunächst 1.0% Stickstoff. Es gelang aber, durch Behandeln mit wasserfreiem Aceton einen kleinen stark gefärbten unlöslichen Teil zu entfernen und den Hauptteil als helles, rötlichgelbes Material vom Stickstoffgehalt 0.4% zurückzugewinnen. Auf Eiweiß umgerechnet sind dies 2.6%. Das Produkt zeigt die Farbreaktionen des Lignins nur sehr schwach.

Nach Abzug des Proteins ist die Zusammensetzung 61.9% C, 5.37% H, 23.2% OCH₃ oder C₉H_{6.3}O_{2.6}(OCH₃)_{1.52}. Gegenüber Sinapinalkohol sind 1.7 H und 0.48 (OCH₃) verloren und 0.6 O gewonnen. Der Zuwachs an Sauerstoff ist offenbar durch partielle Entmethylierung (über Orthochinone) vorgetäuscht.

Das Dehydrierungspolymerisat aus Sinapinalkohol löst sich in Natronlauge, zu einem kleinen Teil auch in Natriumcarbonat-Lösung. Im Gegensatz zur Hauptmenge ist ein geringer Anteil in kaltem Benzol löslich.

⁵⁾ Bull. Soc. chim. France [3] 11, 949 [1893].

⁶⁾ K. Freudenberg u. F. Bittner, B. 83, 601 [1950].

Nachdem sich gezeigt hatte, daß aus Syringin mit rohem Mandelemulsin ein dem Pinoresinol ähnliches dimeres Dehydrierungsprodukt entsteht (ohne Anzeichen von amorphen höheren Dehydrierungspolymerisaten), wurde Coniferin bei pH 7 und 20° 5 Wochen der Einwirkung von rohem Emulsin ausgesetzt. In dieser Zeit schied sich ein amorphes, ligninartiges Produkt aus (etwa 30% des erwarteten), das die Farbreaktionen des Lignins kräftig zeigt und die Löslichkeitseigenschaften des mit Champignondehydrogenase hergestellten Dehydrierungspolymerisates sowie des nach F. Brauns gewonnenen Lignins besitzt. Der anfängliche Stickstoffgehalt von 2% ließ sich durch Umfällen aus wasserfreiem Aceton auf 0.4% herabsetzen. Pinoresinol wurde dabei nicht beobachtet.

Die Zusammensetzung ist nach Abrechnung von 2.6% Protein $C_9H_{6.78}O_{1.75}(OCH_3)_{0.95}$. Das bedeutet gegenüber Coniferylalkohol den Verlust von 1.22 Atom H, 0.25 O und 0.05 (OCH_3) oder 0.72 H, 0.25 H_2O und 0.05 (OCH_3) .

Die dem Emulsin beigemischte Dehydrogenase spricht bei pH 7 nicht auf Dioxy-phenylalanin (Dopa) an.

Nach Versuchen von Hrn. Heinz Dietrich gibt Pinoresinol mit Pilzdehydrogenase ein amorphes Produkt, das die Farbreaktionen des Lignins nicht zeigt. Die Zusammensetzung $(C_{18}H_{16.1}O_{4.3}(OCH_3)_{1.81})$ läßt auf keinen Verlust von Wasserstoff gegenüber Pinoresinol schließen. Ein Defizit von $1/10$ des Methoxylys und Gewinn von 0.3 Sauerstoff deuten auf eine unter Oxydation verlaufende Reaktion. Der Gehalt an Stickstoff (Protein) ist zu vernachlässigen.

An der Conifere Araucaria und der Liliacee Cordyline sowie an anderem in der Verholzung begriffenen Gewebe wurde dicht innerhalb des Cambiums, aber außerhalb der verholzten Zone eine Schicht von der Dicke weniger Zellen beobachtet, die eine Glucosidase enthält. Der Nachweis wurde mit Indican geführt (von Hrn. H. Boesenberg). Das im Bereich des Cambiums vorhandene Coniferin oder andere entsprechende Glucoside werden daher unmittelbar an der Stelle der Verholzung gespalten. Die vorhandene, mit Dioxy-phenylalanin nachweisbare weniger streng lokalisierte Dehydrogenase nimmt alsdann die Dehydrierungs-polymerisation vor.

Beschreibung der Versuche

Sinapinsäure-äthylester⁷⁾: 5 g Syringaaldehyd werden mit 9 g Malonsäurehalbester versetzt (aus 50 g Kalium-Salz des Malonhalbesters erhält man etwa 37 g Malonsäurehalbester) und mit 15 ccm Pyridin gelöst. Dann gibt man 3—5 Tropfen Piperidin oder Anilin (auch beide zusammen) als Katalysator und einige Siedesteine zur Erleichterung der Kohlendioxyd-Abgabe hinzu. Es ist gut, die Lösung erst über Nacht bei Zimmertemperatur stehen zu lassen und 48 Stdn. im Trockenschrank bei 40° zu halten. Beim Eingießen in 200 ccm verd. Salzsäure (etwa 2*n*) fällt der Sinapinsäure-äthylester als gelber, kristalliner Niederschlag aus. Ausb. an getrocknetem Rohprodukt 6.5 g (94% d.Th.) vom Schmp. 80°. Aus Methanol durch langsames Zugeben von Wasser umkristallisiert, erhält man ein farbloses Produkt vom Schmp. 83°.

Acetyl-sinapinsäure-äthylester: 10 g trockener Sinapinsäure-äthylester werden mit 20 ccm Essigsäureanhydrid und 40 ccm Pyridin versetzt und 2 Stdn. auf 100° erwärmt. Das Pyridin-Essigsäureanhydrid-Gemisch wird zur Hälfte i. Vak. abde-

⁷⁾ J. Gadamer, Arch. Pharmaz. 235, 103 [1897]; B. 30, 2330 [1897].

stilliert und der Rückstand in etwa 100 ccm Wasser gegossen. Der Acetyl-sinapinsäure-äthylester fällt hierbei fast weiß und körnig-kristallin aus.

Ein reines Produkt erhält man aus heißem Äthylalkohol unter Zusatz von Tierkohle. Beim Abkühlen scheiden sich aus der geklärten Lösung weiße Blättchen aus. Durch Wasser wird der Rest ausgeschieden. Der Schmelzpunkt (120–121°) der rein weißen Verbindung liegt einige Grade höher, als früher⁸⁾ angegeben; Ausb. 10.8 g (93% d. Th.).

Sinapinalkohol: Die Reduktion des acetylierten Esters mit Lithiumaluminiumhydrid wurde wie früher⁸⁾ durchgeführt. Bei Verwendung von absol. wasserfreiem Äther und bei genügendem Schutz vor Luftfeuchtigkeit tritt während der Reduktion keine Gelbfärbung des Reaktionsproduktes ein.

Die Zersetzung des Doppelsalzes leitet man am besten durch Zugabe von 50 ccm vorher mit Wasser gesätt. Äther ein, da bei direkter Zugabe von Wasser teilweise Zersetzung der organischen Stoffe erfolgt und dadurch der Ätherextrakt nach Freilegung des Sinapinalkohols dunkel gefärbt wird.

Die wäbr. Lösung des Lithium-Salzes des Sinapinalkohols wird durch Zentrifugieren von dem gelbgefärbten Aluminiumhydroxyd-Niederschlag abgetrennt, wie früher angegeben mit Kohlendioxyd gesättigt und mehrmals mit Äther ausgeschüttelt. Durch Zugabe von Natriumchlorid kann der Alkohol besser mit Äther aus der wäbr. Lösung entfernt werden. Der gelbe Aluminiumhydroxyd-Niederschlag (möglicherweise eine Additionsverbindung mit Sinapinalkohol) wird durch Zugabe von etwa 10 g Kaliumhydrogensulfat und wenig Wasser unter Äther zersetzt und der freigelegte Sinapinalkohol sofort ausgeschüttelt. Dieser Anteil enthält etwa die Hälfte der Gesamtausbeute. Die vereinigten Ätherauszüge werden im Scheidetrichter sorgfältig vom Wasser abgetrennt. In den Scheidetrichter gibt man unter Umschütteln so lange kleine Mengen von wasserfreiem Natriumsulfat, bis man feststellt, daß keine wäbr. Lösung dieses Salzes mehr gebildet wird. Nach Abtrennung der wäbr. Lösung gibt man wenig Natriumsulfat als Trockenmittel zu (es wurde festgestellt, daß bei Verwendung von größeren Mengen Natriumsulfat ein nicht unbeträchtlicher Anteil von Sinapinalkohol im Trockenmittel zurückbleibt, der auch durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther nicht herausgelöst werden kann). Beim Einengen der getrockneten Ätherlösung i. Vak. wartet man die erste Trübung ab, versetzt sofort mit einem Überschuß an absol. Äther und engt wieder ein. Nach mehrmaligem Wiederholen dieser Operation ist die Lösung genügend trocken. Chloroform, das als Extraktionsmittel wegen der besseren Löslichkeit des Sinapinalkohols geeigneter erscheint, kann wegen der raschen Gelbfärbung und Zersetzung des Alkohols nicht empfohlen werden.

Zwar läßt sich bei Animpfen und Versetzen der konz. äther. Lösung mit Petroläther die Abscheidung von öligen Bestandteilen nicht ganz vermeiden, jedoch kristallisiert der größte Teil des Sinapinalkohols bei mehrtägigem Stehen bei 3–4° in weißen Kristalldrusen aus. Man gibt jeden Tag 1–2 mal so lange Petroläther zu, bis die Lösung keine Trübung mehr zeigt. Während der Kristallisation muß die Lösung vor Luftfeuchtigkeit und Licht geschützt werden. Aus der eingeengten Mutterlauge kann ebenfalls noch Sinapinalkohol gewonnen werden.

Die Ausbeute aus 8 g Acetyl-sinapinsäure-äthylester war nicht immer gleich; es wurden 2.3–2.7 g Sinapinalkohol erhalten, entspr. 40–47% d. Theorie. Manchmal werden nur ölige Produkte erhalten.

Umkristallisation ist nicht erforderlich, denn der Alkohol kristallisiert rein weiß und läßt sich, vor Licht geschützt, im Vakuumexsiccator über Diphosphorpentoxyd längere Zeit fast unverändert aufbewahren (die Oberfläche färbt sich leicht gelb). Schmp. 66–67°, also etwas höher, als früher angegeben.

$C_{11}H_{14}O_4$ (210.2) Ber. C 62.84 H 6.71 Gef. C 62.78 H 6.79

Syringin: 10 kg zerkleinerte Fliederrinde werden zweimal mit je 50 l heißem Wasser übergossen und 20–30 Min. gekocht. Der dunkle Abguß wird nach dem Erkalten so lange mit der Lösung von basischem Bleiacetat versetzt, als noch ein nennenswerter Niederschlag gebildet wird. Die abgeheberte Flüssigkeit wird mit Schwefelwasserstoff entbleit, i. Vak. bis zur beginnenden Kristallisation eingedampft, mit Tierkohle geklärt und über Talk filtriert. Nach weiterer Konzentrierung kristallisiert Syringin aus. Es

⁸⁾ B. 84, 67 [1951].

wird noch mehrmals aus Wasser oder Alkohol umkristallisiert. Die Ausbeute beträgt nach Verarbeitung sämtlicher Mutterlaugen 50–60 g; Schmp. 190–192°.

Das Pentaacetat des Syringins wurde mit Pyridin und Essigsäureanhydrid hergestellt und aus Alkohol umkristallisiert; Schmp. 114–115°.

$C_{27}H_{34}O_{14}$ (582.5) Ber. C 55.67 H 5.88 CH_3CO 36.9 Mol.-Gew. 582.5

Gef. C 55.71 H 5.92 CH_3CO 36.1 Mol.-Gew. 584 (ebull. i. Bzl.)

$[\alpha]_D^{20}$ (in Chloroform): $-0.40^\circ \times 25 / 0.6077 \times 2.0 = -8.2^\circ$.

Sinapinalkohol aus Syringin: Ein nach R. Willstätter und W. Czányi⁹⁾ hergestelltes Emulsinpräparat erwies sich als genügend arm an Dehydrogenase. 5 g Syringin werden in 300 ccm ausgekochtem Wasser gelöst. Mit Phosphatpuffer wird auf p_H 5.6 eingestellt und bei 37° mit 0.4 g Emulsin und 1 ccm Toluol versetzt. Dabei wird mit reinem Stickstoff ausgespült. Das Gefäß wird mit zwei hintereinander geschalteten Gärrohren verschlossen, von denen das innere alkal. Dithionit, das äußere Wasser enthält. Bei Verwendung eines an Dehydrogenase reicheren Ferments empfiehlt sich ein Zusatz von gallussaurem Natrium. Die Lösung bleibt 5 Tage bei 37° stehen, wird danach über Talk filtriert und 4–5 mal ausgeäthert. Die Auszüge werden mit Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. abgedampft. Das hinterbliebene Öl wird mit wenig Chloroform in ein Saugröhrchen gespült und das Chloroform i. Vak., zuletzt an der Ölpumpe abgezogen. Der ölige Rückstand (1.5 g) wird zweimal mit Petroäther durchgearbeitet, der Petroläther abgegossen und der Rest an der Ölpumpe entfernt. Der ölige Rückstand wird in wenig absol. Äther gelöst und Petroläther bis zum Beginn der Trübung zugesetzt. Insbesondere nach dem Impfen kristallisiert der Sinapinalkohol aus. Er wird abgepreßt und mit wenig kaltem Äther gewaschen. Ausb. 1 g; Schmp. 64–66°. Er muß vor Licht, Luft und Feuchtigkeit geschützt werden.

$C_{11}H_{14}O_4$ (210.2) Ber. OCH_3 29.55 Gef. OCH_3 29.56

Wie erwähnt, kann das Glucosid auch mit Barytlösung gespalten werden. 2 g Syringin werden in 100 ccm einer Barytlösung, die 10 g $Ba(OH)_2$ enthält, 4 Tage bei 37° aufbewahrt. In die bräunlich-gelbe Lösung wird Kohlendioxyd geleitet, das Filtrat wird ausgeäthert und der Auszug wie oben beschrieben aufgearbeitet. Die Ausbeute ist gering; Schmp. 65°.

Aus Coniferin wird der Coniferylalkohol auf die gleiche Weise, aber mit besserer Ausbeute gewonnen.

Dehydro-disinapinalkohol: Wenn Syringin oder Sinapinalkohol mit rohem Emulsin und ohne die geschilderten Vorsichtsmaßnahmen behandelt werden, so entsteht alsbald in wechselnder, meist geringer Ausbeute das auch in warmem Wasser schwer lösliche Dehydrierungsprodukt. Es kann aus Wasser, Alkohol oder Benzol umkristallisiert werden und schmilzt bei 175–176°.

$C_{22}H_{26}O_8$ (418.2) Ber. C 63.17 H 6.22 OCH_3 29.68 akt. H 0.48

Gef. C 63.23 H 6.31 OCH_3 29.67 akt. H 0.49, 0.46.

80.84 mg Sbst. in 8 ccm Benzol: $\Delta = 0.072^\circ$; isotherme Destillation in Dioxan gegen Azobenzol: $0.221 \times 10 / 0.0055$. Ber. Mol.-Gew. 418.2 Gef. Mol.-Gew. 409, 402.

$[\alpha]_D^{20}$ (in Chloroform): $+0.09^\circ \times 5.00 / 0.0957 \times 2.00 = +2.3^\circ$

$+0.12^\circ \times 5.00 / 0.1393 \times 2.00 = +2.1^\circ$

Kaliumsalz: 20 mg des Dimeren werden in 5 ccm Alkohol gelöst und mit wenig alkohol. Kalilauge versetzt. Der farblose Niederschlag wird mit absol. Alkohol gewaschen und bei 100°/12 Torr getrocknet.

$C_{22}H_{24}O_8K_2$ (494.6) Ber. K 15.82 Gef. K 16.04

Über Palladium/Bariumsulfat in Alkohol und über Platinoxid in Alkohol nimmt der Dehydro-disinapinalkohol keinen Wasserstoff auf.

⁹⁾ Ztschr. physiol. Chem. 177, 172 [1921].