

KARL FREUDENBERG und GIANNINO GRION*)

Beitrag zum Bildungsmechanismus des Lignins und der Lignin-Kohlenhydrat-Bindung

Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem
Forschungsinstitut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide, Heidelberg
(Eingegangen am 24. Februar 1959)

Bei der enzymatischen Dehydrierung des Coniferylalkohols entsteht unter anderem der Guajacylglycerin-coniferyläther I. Die Bildung dieses Ligninbausteins wurde durch Anlagerung von Wasser an ein Chinonmethid III erklärt. Jetzt wurde gefunden, daß bei der enzymatischen Dehydrierung des Coniferylalkohols in wäßrigem Methanol zusätzlich der Methyläther IV entsteht. Damit ist das Chinonmethid III als Vorstufe von I erwiesen. Statt Methanol können auch Sorbit oder Rohrzucker angelagert werden, wenn Coniferylalkohol in einer starken, wäßrigen Lösung dieser Stoffe enzymatisch dehydriert wird. Diese Äther (XI und XII) von I entstehen auch, wenn Coniferylalkohol in Dimethylformamid in Gegenwart von Sorbit oder Rohrzucker bei 20° mit Mangandioxyd dehydriert wird. Die Rohrzucker Verbindung XII zerfällt in verdünnter, wäßriger Säure in I, Fructose und Glucose. Damit ist die Bindungsart des Lignins an die Kohlenhydrate demonstriert und aufgeklärt.

Einer der Bausteine des Lignins, die Substanz C¹⁾, ist der Guajacylglycerin- β -coniferyläther I. Er konnte bisher nicht im kristallisierten Zustand gewonnen werden, aber neuerdings ist es B. LEHMANN²⁾ gelungen, den Dinitrophenyläther (II) kristallinisch zu erfassen. Auch der Dinitrophenyläther des Hydrierungsproduktes von C (VIII) kristallisiert³⁾; seine Konstitution konnte durch Synthese bestätigt werden⁴⁾. Die Bildung der Substanz C (I) wurde folgendermaßen erklärt³⁾: Bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols entsteht ein Radikal, das verschiedene mesomere Grenzformen besitzt. In Gestalt solcher Grenzformen treten je 2 Moleküle des Radikals zusammen. Hierbei bilden sich Chinonmethide, die sich im Falle des Dehydro-diconiferylalkohols (Substanz A¹⁾) und des DL-Pinoresinols (Substanz B)¹⁾ durch Umlagerung stabilisieren, indem sich die Phenol- bzw. Alkoholgruppen an die Chinonmethidgruppe addieren. Das gleichzeitig entstehende Chinonmethid III ist zu einer solchen innermolekularen Addition nicht fähig. Es stabilisiert sich durch Anlagerung von Wasser und bildet auf diese Weise die Substanz C (I).

Der unmittelbare Nachweis der zunächst entstehenden Radikale ist noch nicht gelungen. Dagegen konnte unlängst der Nachweis kurzlebiger Chinonmethide auf

*) Der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT danke ich für die Gewährung einer Unterstützung. G. Grion. Der RESEARCH CORPORATION NEW YORK danken wir für die Zuwendung von Mitteln.

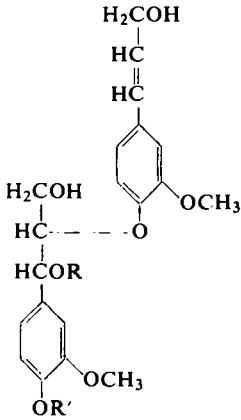
1) Nomenklatur: K. FREUDENBERG und A. SAKAKIBARA, Liebigs Ann. Chem. **623**, [1959].

2) K. FREUDENBERG und B. LEHMANN, unveröffentlicht.

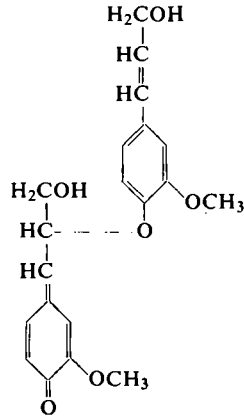
3) K. FREUDENBERG und H. SCHLÜTER, Chem. Ber. **88**, 617 [1955].

4) K. FREUDENBERG und W. EISENHUT, Chem. Ber. **88**, 626 [1955].

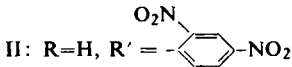
optischem Wege erbracht werden⁵⁾. Für das Chinonmethid III können wir hier einen chemischen Beweis nachtragen.



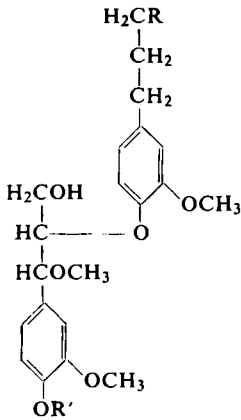
I: R, R' = H; Substanz C



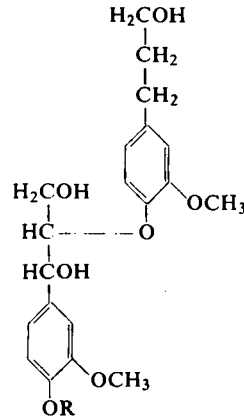
III



- IV: R = CH₃, R' = H; Guajacylglycerin- α -methyl- β -coniferyläther
 XI: R = C₆H₁₃O₅, R' = H
 XII: R = C₁₂H₂₁O₁₀, R' = H



- V: R = OH, R' = H
 VI: R = OH, R' = C₆H₃(NO₂)₂
 IX: R, R' = H
 X: R = H, R' = C₆H₃(NO₂)₂



- VII: R = H
 VIII: R = C₆H₃(NO₂)₂

Wenn man die Dehydrierung des Coniferylalkohols mit Laccase und Luftsauerstoff bei 20° in Methanol/Wasser (3:7 Vol.-Tle.) vornimmt, so entsteht außer den üblichen, in Wasser sich bildenden Umwandlungsprodukten des Coniferylalkohols eine neue

⁵⁾ K. FREUDENBERG, G. GRION und J. HARKIN, *Angew. Chem.* 70, 743 [1958].

Substanz, die sich im Chromatogramm beim Besprühen mit Diazobenzolsulfonsäure rot färbt. Sie ist weniger hydrophil als Substanz C (I). Die gleiche Substanz tritt neben den anderen Dehydrierungsprodukten auf, wenn Coniferylalkohol in Methanol/Wasser bei 20° mit Luftsauerstoff in Gegenwart von Kupferacetat oder einem Gemisch von Kupferacetat und Kupfersulfat dehydriert wird. In einem erheblich größeren Umfang bildet sie sich, wenn Coniferylalkohol bei 20° mit Kupferacetat oder mit Mangandioxyd in reinem Methanol unter Durchleiten von Luft behandelt wird. Jetzt erscheint im Gemisch der Umwandlungsprodukte des Coniferylalkohols die Substanz C (I) nur noch in Spuren. Hierdurch ist die frühere Aussage bestätigt, daß sich C durch Addition von Wasser an das Chinonmethid III bildet. Gleichzeitig war zu folgern, daß die neue Substanz der Methyläther (IV) der Substanz C sein muß. Um greifbare Mengen des Methyläthers zu gewinnen, wurde Coniferylalkohol in Methanol unter Durchleiten von Luft mit Hilfe von Mangandioxyd bei 20° dehydriert, bis der Coniferylalkohol verschwunden war. Der neue Methyläther wird durch Gegenstromverteilung isoliert. Er ist amorph und läßt sich auf der Cellulosesäule in 3 Bestandteile auftrennen. Offenbar handelt es sich um Stereoisomere. Unter Berücksichtigung der *cis-trans*-Isomerie und der Anwesenheit von 2 asymmetrischen Kohlenstoffatomen sind 4 Racemate zu erwarten. Bei längerem Stehenlassen an der Luft tritt der entsprechende ungesättigte Aldehyd hinzu, der im Chromatogramm durch starke blaue Fluoreszenz und durch eine Farbreaktion mit Dinitrophenylhydrazon zu erkennen ist. Durch sehr vorsichtige Hydrolyse mit Toluolsulfonsäure in wäßr. Aceton wird der Methyläther IV in die gelbkuppelnde Substanz C (I) umgewandelt, die chromatographisch in zwei verschiedenen Lösungsmittelgemischen identifiziert wurde. Der Versuch, die Substanz C (I) mit Methanol und *p*-Toluolsulfonsäure in der Wärme in den Methyläther IV zu verwandeln, ist ergebnislos geblieben. Es entsteht eine rotkuppelnde, hydroxylärmere Substanz, denn sie erweist sich im Chromatogramm als stärker hydrophob als Pinoresinol. Offenbar liegt der Dimethyläther von I vor. Es gelang nicht, den Dinitrophenyläther des Methyläthers IV zur Kristallisation zu bringen.

Wenn der Methyläther IV mit Wasserstoff in Gegenwart von 10-proz. Pd/BaSO₄ hydriert wird, entspricht die Wasserstoffaufnahme der Hydrierung einer Doppelbindung. Das Chromatogramm zeigt eine mit roter Farbe kuppelnde Substanz, die sich bei längerer Laufzeit als ein Gemisch von 2 einander sehr ähnlichen Substanzen erweist. Sie hat die Konstitution V, die 2 Racemate zuläßt. Wenn das Hydrierungsprodukt VII der Substanz C mit Toluolsulfonsäure in warmem Methanol behandelt wird, so tritt neben dem Ausgangsprodukt der rot kuppelnde Methyläther V auf. Der Dinitrophenyläther des hydrierten Methyläthers (V) kristallisiert gut. Wir schreiben ihm die Formel VI zu.

Wenn der Methyläther IV in Methanol in Gegenwart des energischer wirkenden Platins aus Platindioxyd hydriert wird, so entstehen zwei chromatographisch leicht unterscheidbare, rot kuppelnde Hydrierungsprodukte, die durch Gegenstromverteilung getrennt werden können. Die stärker hydrophile Substanz ist identisch mit V, die weniger hydrophile bildet den Hauptanteil (IX). Ihr Dinitrophenyläther kristallisiert und hat die Zusammensetzung X. Bei der Hydrierung der Zimtalkoholgruppe

in IV konkurrieren demnach, wenn Platin aus Platindioxyd verwendet wird, zwei Reaktionen. In der ersten wird die Hydroxylgruppe durch Wasserstoff ersetzt und nunmehr die Doppelbindung hydriert zu IX. In der zweiten Reaktion wird die Doppelbindung hydriert und die nunmehr stabilisierte Hydroxylgruppe unberührt gelassen (V). Mit Palladium wird nur die zweite Reaktion beobachtet. Aus dem IR-Spektrum ist zu erkennen, daß IX weniger aliphatisches Hydroxyl enthält als V.

Wenn der Methyläther V (Hydrierungsprodukt von IV) in wäbr. Aceton mit wenig *p*-Toluolsulfonsäure erwärmt wird, so entsteht neben dem Ausgangsmaterial das Hydrierungsprodukt VII der Substanz C (I). Es wurde in den Dinitrophenyläther VIII übergeführt, der sich als identisch erwies mit dem seinerzeit aus Substanz C hergestellten Produkt³⁾, das auch synthetisch erhalten wurde⁴⁾. Damit ist zugleich der Beweis erbracht, daß an der Methylätherbildung in IV das sekundäre Carbinol und nicht das primäre der Zimtalkoholgruppe beteiligt ist. Denn ein Methyläther der letzteren Art müßte nach der Hydrierung sehr stabil sein.

Es wurde versucht, auch den *Phenyl*-äther der Substanz C herzustellen. Die Lösung von Coniferylalkohol in Phenol und wenig Wasser, das Laccase aus Champignon enthielt, wurde bei Raumtemperatur gerührt und belüftet. Man beobachtet nur Spuren der Substanzen A (Dehydro-diconiferylalkohol) und B (DL-Pinoresinol) sowie einer neuen Verbindung. Als die Mischung von Coniferylalkohol, kristallisierter Meerrettichperoxydase, Phenol und hydroperoxydhaltigem Wasser aufbewahrt wurde, blieb der Coniferylalkohol fast ganz unverändert. Dagegen kann man die mit Laccase wahrgenommene neue Verbindung im besserer Ausbeute erhalten, wenn Coniferylalkohol mit Phenol in Acetonlösung mit Mangandioxyd bei 20° unter Durchleiten von Luft dehydriert wird. Die neben den üblichen Dehydrierungsprodukten des Coniferylalkohols entstehende neue Substanz hat dieselben chromatographischen Eigenschaften wie die mit Laccase gewonnene. Auch ist die Kupplungsfarbe die gleiche, und zwar braunorange. Wir haben davon abgesehen, die Substanz zu isolieren.

Die Erfahrungen mit Methanol, das sich an das Chinonmethid III addiert, haben uns veranlaßt, die Addition von Kohlenhydraten zu untersuchen. Bereits früher wurde vorausgesagt⁶⁾, daß die Bindung der Kohlenhydrate an das Lignin keine glykosidische sei, sondern in einer Ätherbindung zwischen Phenylcarbinol und einem Hydroxyl der Kohlenhydrate besteht. Wir können jetzt den Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung erbringen. Wenn man den Coniferylalkohol in einer konzentrierten Lösung von Sorbit in Wasser mit Pilzlaccase und Luft bei gewöhnlicher Temperatur dehydriert, so beobachtet man im Papierchromatogramm eine neue Substanz, die sich mit Diazobenzolsulfonsäure hellrot färbt und wesentlich hydrophiler ist als die gleichzeitig entstandenen Dehydrierungsprodukte des Coniferylalkohols. Dieselbe Substanz tritt auf, wenn Coniferylalkohol bei 20° in einer mit Sorbit gesättigten Lösung von Dimethylformamid in Gegenwart von Mangandioxyd dehydriert wird. Wir zweifeln nicht, daß es sich um einen Sorbitäther des Guajacylglycerin- β -coniferyläthers handelt (XI).

Entsprechend verhält sich der Rohrzucker. Coniferylalkohol läßt sich mit Pilzlaccase in einer 66-proz. Lösung von Rohrzucker in Wasser dehydrieren. Im Chromato-

⁶⁾ K. FREUDENBERG, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] XI, 69 [1954].

gramm tritt neben den üblichen Dehydrierungsprodukten eine hydrophile, rotkuppelnde Substanz auf (R_F 0.27, gemessen in der oberen Phase des Gemisches Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5 Vol.-Tle.)). Es ist auch hier wesentlich vorteilhafter, in Dimethylformamid mit Mangandioxyd zu dehydrieren. Hierbei unterbleibt die Bildung der Substanz C (I). Neben der rotkuppelnden Substanz (R_F 0.27) zeigt sich in geringerem Umfang eine zweite von gleicher Farbreaktion (R_F 0.11). Durch Gegenstromverteilung werden die Umwandlungsprodukte des Coniferylalkohols abgetrennt. Es hinterbleibt ein Gemisch der 2 rotkuppelnden Substanzen mit Rohrzucker und einem anderen Kohlenhydrat. Zunächst wird die Hauptmenge des Rohrzuckers mit Äthanol zur Kristallisation gebracht. Durch erneute Gegenstromverteilung wird die rotkuppelnde Hauptsubstanz (R_F 0.27) isoliert.

Diese Rohrzuckerverbindung ist wasserlöslich und sirupös. Der Methoxylgehalt läßt auf eine Verbindung von zwei Moll. III mit einem Mol. Rohrzucker schließen. Bei der vorsichtigen Hydrolyse mit Toluolsulfonsäure werden erhalten: Substanz C (I), Glucose und Fructose.

Wenn man annimmt, daß sich der Rohrzucker vorzugsweise mit seinen primären Hydroxylgruppen an das Chinonmethid III anlagert, so ergeben sich für die Verbindung von einem Mol. Chinonmethid mit einem Mol. Rohrzucker (XII) 12 Möglichkeiten; denn jedes der drei Isomeren XII kann vier stereoisomere Formen bilden. Eine solche Formel kann der Verbindung mit R_F 0.11 zugewiesen werden. Ihre Reindarstellung ist jedoch noch nicht gelungen. Ob in der Substanz von R_F 0.27 der Rohrzucker an zwei verschiedenen Stellen mit Chinonmethid III reagiert hat oder ob sich das Chinonmethid III an die Zimtalkoholgruppe von XII addiert hat, ist nicht entschieden.

Es ist erwiesen, daß die Synthese des Lignins *in vitro* ebenso verläuft wie in der Pflanze^{7,8)}. Es ist daher auch nicht zu bezweifeln, daß die Bindung des Lignins an die Polysaccharide der Pflanze in derselben Weise vonstatten geht wie *in vitro*. Die Kohlenhydratäther sind Phenole, die durch weitere Dehydrierung mit anderen Ligninbausteinen verschweißt werden können. Außerdem besitzen sie Zimtalkoholgruppen, von denen unlängst bewiesen wurde¹⁾, daß sie durch Addition an Chinonmethid III gleichfalls zum Wachstum des Ligninmoleküls beitragen. Äther von Zuckern sind unseres Wissens in der Natur bisher nur in Gestalt von Methyläthern aufgefunden worden. Die Saccharidäther der Ligninbausteine und des Lignins selbst sind eine neue Klasse von Kohlenhydratverbindungen.

⁷⁾ K. FREUDENBERG, *Ind. Engng. Chem.* **49**, 1384 [1957].

⁸⁾ K. FREUDENBERG, *Biochem. Vorgänge bei der Holzbildung*, IV. Internat. Kongreß f. Biochem., Symp. II, Wien, Sept. 1958.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Guajacylglycerin- α -methyl- β -coniferyläther (IV): Die Lösung von 1 g *Coniferylalkohol* in 45 ccm *Methanol* und 105 ccm Wasser, das 50 Hydrochinoneinheiten von Pilzlaccase⁹⁾ enthält, wird bei 20° belüftet und gerührt, bis der *Coniferylalkohol* – etwa nach 70 Stdn. – verschwunden ist. Zur Chromatographie dient das Lösungsgemisch: *Xylol*/Methyläthylketon/Formamid (25:25:1 Vol.-Tle.; Papier von Schleicher & Schüll 2043 b mgl, vorher mit Formamid getränkt¹⁾). Beim Besprühen mit Diazobenzolsulfonsäure tritt außer den üblichen gelben, violetten und roten Flecken ein neuer roter des *Methyläthers IV* auf. Der R_F -Wert beträgt 0.15. IV läuft schneller als Substanz A (Dehydro-diconiferylalkohol), die den R_F -Wert 0.11 hat. Im Lösungsgemisch *Xylol*/Dimethylformamid¹⁾ (3:1 Vol.-Tle.) ist der R_F -Wert der neuen Substanz 0.44, der Substanz A 0.35.

Derselbe Methyläther IV wird beobachtet, wenn bis zum Verschwinden des *Coniferylalkohols* folgende Lösungen belüftet werden: 0.5 g *Coniferylalkohol* und 0.4 g *Kupferacetat* in 70 ccm Wasser und 30 ccm *Methanol*; 0.5 g *Coniferylalkohol*, 0.1 g *Kupfersulfat* und 0.1 g *Kupferacetat* in 70 ccm Wasser und 70 ccm *Methanol*; 0.5 g *Coniferylalkohol* und 0.2 g *Kupferacetat* in 100 ccm *Methanol*.

Zur Darstellung des Methyläthers IV wird die Lösung von 10 g *Coniferylalkohol* in 1 l *Methanol* mit 3 g *Mangandioxyd* versetzt und bei Raumtemperatur gerührt und belüftet. Das *Mangandioxyd* wird folgendermaßen hergestellt¹⁰⁾: Die Lösung von 111 g $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ in 150 ccm Wasser sowie 117 ccm 40-proz. *Natronlauge* werden gleichzeitig tropfenweise innerhalb einer Stde. in eine heiße, gerührte Lösung von 96 g KMnO_4 in 600 ccm Wasser gegeben. Während des Erkaltes wird eine Stde. weitergerührt, der Niederschlag nach 3 Stdn. abzentrifugiert, gut mit Wasser gewaschen und zentrifugiert, bis kein *Permanganat* mehr sichtbar ist. Schließlich wird das Wasser mit *Methanol* verdrängt und das *Mangandioxyd* unter *Methanol* aufbewahrt.

Die zugeführte Luft wird bei gewöhnlicher Temperatur mit *Methanol* gesättigt. Nach ungefähr 170 Stdn. ist der *Coniferylalkohol* verbraucht. Die *Methanol*lösung wird filtriert und i. Vak. abgedampft. Aus dem Rückstand wird durch Gegenstromverteilung (200 Rohre zu 50 ccm) mit dem Gemisch von *Dimethylformamid*/Wasser/Äther (1:4:5 Vol.-Tle.) die Mehrzahl der Begleitstoffe nach 200 Überführungen abgetrennt. Die verbleibende Mischung des Methyläthers IV mit *Dehydro-diconiferylalkohol* (A) wird i. Vak. aus einem Bad von 50–60° eingedampft und durch 300 Überführungen mit *Methylenchlorid*/Methanol/Wasser (10:7:3 Vol.-Tle.) getrennt. Bei erneutem Eindampfen i. Vak. werden 1.7 g des Äthers IV als amorpher Rückstand erhalten.

Im kurzwelligen UV-Licht erscheint die Substanz bei der Durchsicht auf dem Papier als dunkler Fleck. Besser ist Besprühen mit *Diazobenzolsulfonsäure*. Die amorphe Substanz enthält 23.12% *Methoxyl* (ber. 23.85%). An der Luft oxydiert sie sich langsam zum entsprechenden ungesättigten Aldehyd, der im UV-Licht blau fluoresziert und im Chromatogramm mit *Dinitrophenylhydrazin* einen braunen Fleck gibt. Man kann den Methyläther IV auf einer vorher mit *Formamid* getränkten *Cellulosesäule* mit dem Gemisch *Xylol*/Methyläthylketon/Formamid (100:25:1 Vol.-Tle.) in 3 Isomere auftrennen.

Hydrolyse des Methyläthers IV: 50 mg IV werden in 5 ccm *Aceton* gelöst. Hierzu wird so viel Wasser (etwa 10 ccm) gegeben, daß die Lösung gerade noch klar bleibt. Mit sehr wenig

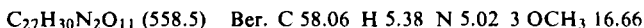
⁹⁾ K. FREUDENBERG, J. HARKIN, M. REICHERT und T. FUKUZUMI, *Chem. Ber.* **91**, 581 [1958].

¹⁰⁾ Ähnlich wie J. ATTENBURROW und Mitarbb., *J. chem. Soc. [London]* **1952**, 1094. Vielleicht ist es nicht nötig, bei der Anwendung genügender Mengen *Mangandioxyds* Luft einzuleiten.

Toluolsulfonsäure wird auf p_H 3.5 eingestellt. Die Mischung wird unter Rückfluß 15 Stdn. im Bad von 75° erwärmt. Im Papierchromatogramm wird jetzt neben viel rot kuppelndem Ausgangsmaterial die gelb kuppelnde Substanz C (I) erkannt.

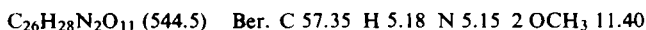
Hydrierung des Methyläthers IV: 400 mg IV werden in 30 ccm Methanol mit 120 mg eines Palladium/Bariumsulfat-Katalysators (10% Pd) hydriert. Der aufgenommene Wasserstoff entspricht einer Doppelbindung. Im Papierchromatogramm (Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25:25:1 Vol.-Tle.)) ist der R_F -Wert 0.17. Wenn das Papierchromatogramm über 20 Stdn. entwickelt wird, so trennt sich die Substanz in zwei sehr nahe nebeneinanderliegende Anteile auf, die wohl Stereoisomere sind. Diesem Hydrierungsprodukt kommt die Formel V zu.

2,4-Dinitro-phenyläther VI: 535 mg V und 395 mg 2,4-Dinitro-fluorbenzol werden in 35 ccm Aceton gelöst. Unter Rühren wird die Lösung von 175 mg Natriumhydrogencarbonat in 20 ccm Wasser zugesetzt. Nach 5 Stdn. ist die Reaktion mit Diazobenzolsulfonsäure verschwunden. Nachdem Wasser bis zur beginnenden Trübung zugegeben ist, kristallisiert im Kühlschrank die Substanz aus. Ein Rest wird beim Verdunsten des Acetons gewonnen. Lange, sehr schwach gelbe Nadeln aus Äthanol/Wasser. Ausb. 64% d. Th. Schmp. 128–130°.



Hydrolyse von V: 1.3 g V werden in 30 ccm Aceton gelöst, mit 60 ccm Wasser und weiterem Aceton versetzt, bis wieder eine klare Lösung entsteht. Durch Zugabe von wenig *p*-Toluolsulfonsäure wird auf p_H 3.5 eingestellt und 15 Stdn. unter Rückfluß erhitzt. Das entstandene Gemisch von Ausgangsmaterial und VII (Hydrierungsprodukt von C) wird durch 200 Überführungen mit Methylenchlorid/Methanol/Wasser (10:7:3 Vol.-Tle.) getrennt. Ausb. an VII 400 mg.

Dinitrophenyläther VIII: 400 mg des aus der Hydrolyse von V stammenden Hydrierungsproduktes VII werden in 35 ccm Aceton gelöst und mit 300 mg 2,4-Dinitro-fluorbenzol und einer Lösung von 140 mg Natriumhydrogencarbonat in 20 ccm Wasser versetzt. Die Mischung wird 5 Stdn. gerührt und mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Im Kühlschrank scheiden sich farblose Kristalle aus, die aus Äthanol/Wasser umkristallisiert werden. Schmp. 148.5–150° in Übereinstimmung mit den früheren Präparaten^{3,4}.

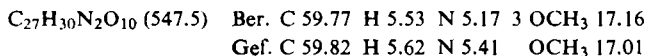


Bei dem Versuch, den Methyläther IV aus der Substanz C (I) herzustellen, wurde die Lösung in Methanol mit sehr wenig *p*-Toluolsulfonsäure (p_H 3) 10 Stdn. im Bade von 70° erwärmt. Hierbei entsteht nicht der erwartete Methyläther IV, sondern eine rot kuppelnde, in Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25:25:1 Vol.-Tle.) schnell laufende Verbindung, die einen höheren R_F -Wert (0.73) hat, als DL-Pinoresinol. Offenbar handelt es sich um einen Dimethyläther.

Wenn dagegen das Hydrierungsprodukt VII der Substanz C mit Methanol und sehr wenig *p*-Toluolsulfonsäure (p_H 3–3.5) 15 Stdn. lang unter Rückfluß erhitzt wird, so erhält man auf dem Chromatogramm neben Ausgangsmaterial den Methyläther V.

Hydrierung von IV mit Platin: 3 g des Methyläthers IV werden in Methanol mit Platin aus 150 mg Platindioxyd hydriert. Dabei entstehen zwei amorphe, rot kuppelnde Produkte, und zwar zu 70% der Methyläther IX und zu 30% der Methyläther V. IX hat in Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25:25:1 Vol.-Tle.) den R_F -Wert 0.73, also wesentlich höher als V (0.17). Die beiden Produkte wurden im Verteilungsgemisch Methylenchlorid/Methanol/Wasser (10:7:3 Vol.-Tle.) getrennt (230 Stufen).

Dinitrophenyläther X: 600 mg des *Methyläthers IX* werden wie V umgesetzt. Der *Dinitrophenyläther X* wird aus Äthanol/Wasser umkristallisiert. Ausb. 68% d. Th. Sehr hellgelbe Nadeln vom Schmp. 144°.



Phenyläther der Substanz C (?): Die Lösung von 500 mg *Coniferylalkohol*, 50 g *Phenol* und 18.5 ccm Wasser, das 51 Hydrochinoneinheiten von Pilzlaccase enthält, wird bei Raumtemperatur belüftet. Dabei entstehen Spuren der Substanzen A, B, C und anderer sowie einer neuen, braunorange kuppelnden Substanz, die im Gemisch Xylol/Dimethylformamid (3:1 Vol.-Tle.) den R_F -Wert 0.45 besitzt. Der R_F -Wert von Substanz A ist 0.35. In Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25:25:1 Vol.-Tle.) ist der R_F -Wert beider Substanzen 0.11.

In größerem Umfang trat die Substanz auf, als 500 mg *Coniferylalkohol*, 2 g *Phenol* und 50 ccm Aceton mit 500 mg Mangandioxyd bei Raumtemperatur gerührt und belüftet wurden. Neben der neuen Substanz entstehen hierbei Dehydro-diconiferylalkohol, DL-Pinosesin und andere Zwischenprodukte.

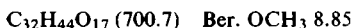
Sorbitäther des Guajacylglycerin-coniferyläthers (XI): Zur warm bereiteten Lösung von 75 g *Sorbit* in 23 ccm Wasser werden 100 mg *Coniferylalkohol* und nach dem Erkalten 2 ccm einer Lösung von 23 Einheiten Pilzlaccase gegeben. Das Gemisch wird bei 20° belüftet und gerührt, bis der Coniferylalkohol verschwunden ist. Das Wasser wird i. Vak. abgedampft und der Rückstand mit Aceton extrahiert, das die Hauptmenge des Sorbits zur Abscheidung bringt. Für die Papierchromatographie wird die obere Phase eines Gemisches von Butanol-(1)/Eisessig/Wasser (4:1:5 Vol.-Tle.) verwendet. Der Sorbitäther kuppelt mit hellroter Farbe und hat einen R_F -Wert von 0.59, während die üblichen Dehydrierungsprodukte des Coniferylalkohols mit einem R_F -Wert von etwa 0.84 voraneilen.

11.8 g trockener *Sorbit* werden unter Schütteln in 100 ccm wasserfreiem Dimethylformamid gelöst. Nach Zugabe von 400 mg *Coniferylalkohol* und 200 mg Mangandioxyd wird bei 20° unter Ausschluß von Wasser gerührt und belüftet. Nach 50 Stdn. ist der Coniferylalkohol nahezu verschwunden. Im Chromatogramm zeigen sich außer Dehydrierungsprodukten des Coniferylalkohols und der genannten Substanz vom R_F 0.59 in geringerer Menge eine violett-kuppelnde vom R_F -Wert 0.66 und eine gelbkuppelnde vom R_F -Wert 0.72.

Rohrzucker-äther (XII): 66 g *Rohrzucker* und 100 g *Coniferylalkohol* werden in 34 ccm Wasser gelöst, das 17 Laccaseeinheiten enthält. Die Lösung wird bei 20° gerührt und belüftet, bis der Coniferylalkohol nahezu verschwunden ist. Der größte Teil des Wassers wird i. Vak. bei 35° verdampft und der Rückstand mit Aceton extrahiert. Dabei bleibt die Hauptmenge des Rohrzuckers zurück. Im Papierchromatogramm (wie bei Sorbit) zeigt sich eine rot-kuppelnde Substanz vom R_F -Wert 0.27, während die gewöhnlichen Umwandlungsprodukte des Coniferylalkohols einen R_F -Wert von etwa 0.84 haben.

39 g reiner *Rohrzucker* werden durch Schütteln in 300 ccm Dimethylformamid gelöst. Hierzu werden 18 g *Coniferylalkohol* und ebensoviel Mangandioxyd gegeben. Unter Ausschluß der Feuchtigkeit wird gerührt und belüftet, bis der Coniferylalkohol fast verschwunden ist (220 Stdn.). Außer den gewöhnlichen Dehydrierungsprodukten des Coniferylalkohols entsteht die gesuchte Substanz von R_F 0.27 sowie in geringerer Menge eine von R_F 0.11, die gleichfalls mit roter Farbe kuppelt. Die Isolierung der letzteren Substanz (XII) ist noch nicht gelungen. Die Lösung wird aus einem Bad von 40° i. Vak. mit der Ölpumpe konzentriert und die Hauptschubstanz (R_F 0.27) durch Gegenstromverteilung mit Äthylacetat/Wasser (1:1 Vol.-Tle.) in 600 Überführungen von den phenolischen Begleitern befreit. Die Lösung enthält noch Rohrzucker und das andere Kohlenhydrat. Sie wird i. Vak. zum dünnen Sirup

eingedampft, mit absol. Äthanol versetzt und mit Rohrzucker angeimpft. Nachdem die Hauptmenge des Rohrzuckers im Kühlschrank auskristallisiert ist, wird abgesaugt und mit Äthanol gründlich ausgewaschen. Die vereinten Lösungen werden mit Gips (gefälltes CaSO_4 bei 240° getrocknet) und Impfkristallen von Rohrzucker versetzt und erneut der Kristallisation überlassen. Schließlich wird die Äthanollösung bis zum Sirup eingeengt. Die rotkuppelnde Hauptsubstanz wird durch Gegenstromverteilung mit Butanol/Wasser (1:1 Vol.-Tle.) in 350 Überführungen isoliert. Zur Papierchromatographie wurde die obere Phase des Gemisches Butanol-(1)/Eisessig/Wasser (4:1:5 Vol.-Tle.) verwendet. Rohrzucker (R_F 0.05) und die unbekannte Zuckerart (R_F 0.39) werden mit Bleitetraacetat erkannt¹¹⁾. 1 g Bleitetraacetat wird in 100 ccm dest. Benzol mit 0.1 g getrockneter Tierkohle 15 Stdn. aufbewahrt. Die Lösung wird abgesaugt. Das Chromatogrammpapier wird mit Xylol besprüht und nach 3 Min. noch xylolfeucht mit der oben genannten Lösung entwickelt. Es entstehen weiße Flecken auf braunem Hintergrund. Für XII berechnet sich:



Für eine Verbindung aus 2 Moll. Chinonmethid und 1 Mol. Rohrzucker werden berechnet:



Der Mindergehalt an Methoxyl kann dem im Sirup verbliebenen Wasser zugeschrieben werden.

¹¹⁾ J. G. BUCHANAN, C. A. DECKER und A. G. LONG, J. chem. Soc. [London] 1950, 3162.

EMIL BUCHTA und HILDEGARD SCHAMBERGER¹⁾

Über die Anlagerung von Pyrrol, 1- und 2-Methyl-pyrrol an β -Aroyl-acrylsäuren

Aus dem Institut für Organische Chemie der Universität Erlangen
(Eingegangen am 26. Februar 1959)

β -Aroyl-acrylsäuren reagieren mit Pyrrol, 1- und 2-Methyl-pyrrol nach dem
Schema der substituierenden Addition.

Im Zusammenhang mit anderen Arbeiten untersuchten wir die Umsetzung von Pyrrol und seines 1- und 2-Methylhomologen mit β -Aroyl-acrylsäuren. Erwärmt man z. B. eine benzolische Lösung von β -Benzoyl-acrylsäure mit frisch dest. Pyrrol, so scheidet sich unter Dunkelfärbung der Lösung nach kurzer Zeit eine in Natriumcarbonat lösliche Verbindung aus, die sich als 2.5-Bis-[3-oxo-3-phenyl-1-carboxy-propyl]-pyrrol (Ia) erwies und die bei der Kondensation mit Hydrazinhydrat das 2.5-Bis-[3-oxo-6-phenyl-2.3.4.5-tetrahydro-pyridazyl-(4)]-pyrrol (III) liefert. Aus der benzol. Mutterlauge von Ia läßt sich in geringer Ausbeute das 2.5-Bis-[3-oxo-3-phenyl-propyl]-pyrrol (IIa) isolieren, das aus Ia durch Decarboxylierung entstanden ist. Besser und sofort in reiner Form erhält man IIa durch Erhitzen von Ia über den

¹⁾ Diplomarb. H. SCHAMBERGER, Univ. Erlangen 1947.