

Horst Nimz

## Isolierung des Guajacylglycerins und seines dimeren $\beta$ -Aryläthers aus Fichtenlignin

Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität und dem Forschungsinstitut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide, Heidelberg

(Eingegangen am 28. Juli 1966)

Aus Fichtenlignin werden durch schonende Hydrolyse DL-threo- und DL-erythro-Guajacylglycerin (5) erhalten, von denen ersteres mengenmäßig überwiegt. Die Trennung der beiden diastereomeren Formen gelingt durch fraktionierte Kristallisation ihrer Tetraacetate. Ein weiteres Abbauphenol des Fichtenlignins ist der Guajacylglycerin- $\beta$ -guajacylglycerinäther (1), dessen Isolierung und Strukturaufklärung beschrieben werden.

Frühere Untersuchungen<sup>1–3)</sup> haben zur Isolierung von zwei dimeren, zwei trimeren und einem tetrameren Abbauphenol des Fichtenlignins geführt. Die unter schonenden Hydrolysebedingungen erhaltenen Verbindungen stellen den ersten direkten Nachweis von Guajacylglycerin- $\beta$ -arylätherbindungen und 1,2-Diaryl-propanverknüpfungen im Lignin dar. Gegenstand der vorliegenden Mitteilung sind die Isolierung und Strukturaufklärung von zwei weiteren Abbauphenolen des Fichtenlignins, die sich dem erstgenannten Bindungstyp zuordnen lassen.

Beim hydrolytischen Ligninabbau war das intermediäre Auftreten von Guajacylglycerin (5) vermutet worden<sup>4)</sup>. Man hatte bisher jedoch nur Umwandlungsprodukte von 5 erhalten, da letzteres unter den angewandten Reaktionsbedingungen nicht stabil ist. Erst vor kurzem gelang v. Rudloff<sup>5)</sup> die Isolierung sehr geringer Mengen DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat aus Kiefernholz (*Pinus resinosa* Ait), das mit einem Gemisch aus Dioxan, Pyridin und Acetanhydrid bei 50–70° behandelt worden war. Etwa gleichzeitig fand Theander<sup>6)</sup> im Aceton-Extrakt von Kiefern-Nadeln (*Pinus silvestris*) (–)-threo-Guajacylglycerin und zwei Glucoside, in denen die Glucose an das Benzyl- bzw. an das mittelständige C-Atom der Glycerinseitenkette von (–)-threo-Guajacylglycerin gebunden ist. Da es sich jedoch im letzteren Falle um optisch aktives Guajacylglycerin handelt, kann es als Ligninbaustein nicht in Betracht gezogen werden.

Wird vorextrahiertes Fichtenholzmehl (*Picea excelsa*) 10 Tage mit Wasser bei 100° perkoliert und das von Hemicellulosen befreite eingeeengte Perkolat einer Gegenstromverteilung unterworfen, so werden 6 Fraktionen (A–F) erhalten<sup>3)</sup>. Die Frak-

1) H. Nimz, Chem. Ber. 98, 533 (1965).

2) H. Nimz, Chem. Ber. 99, 469 (1966).

3) H. Nimz, Chem. Ber. 99, 2638 (1966).

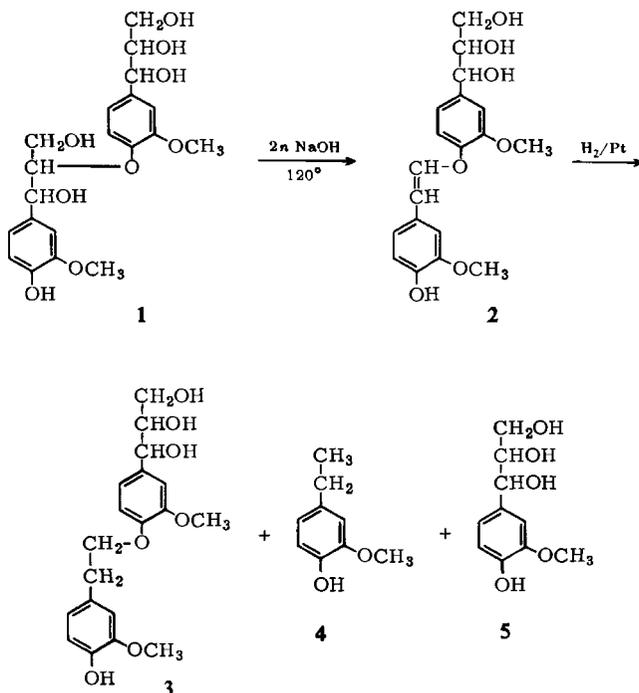
4) K. Kratzl, W. Kisser, J. Gratzl und H. Silbernagel, Mh. Chem. 90, 771 (1959).

5) E. v. Rudloff, Chem. and Ind. 1965, 180.

6) O. Theander, Acta chem. scand. 19, 1792 (1965).

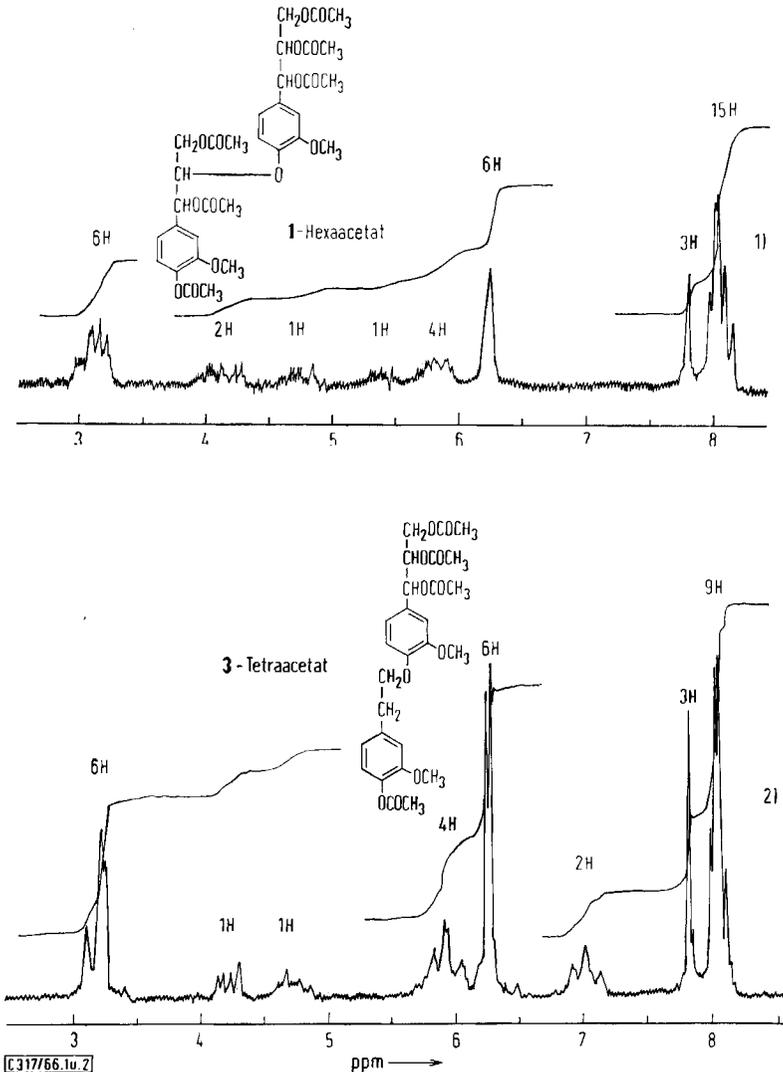
tion D ergibt bei der Chromatographie an Polyamidpulver ein Gemisch der vier theoretisch möglichen stereoisomeren Formen des Guajacylglycerins (**5**) in einer Ausbeute von 0.04%, bezogen auf den Ligninanteil des zur Perkolation eingesetzten Holzmehls. Während die Trennung der beiden phenolischen Racemate Schwierigkeiten bereitet, gelingt sie durch fraktionierte Kristallisation ihrer Tetraacetate. Hierbei werden aus 280 mg chromatographisch gereinigtem sirupösem Acetatgemisch 180 mg schmelzpunktreines *DL-threo*- und 27 mg *DL-erythro*-Guajacylglycerin-tetraacetat erhalten. Aus diesem Ergebnis dürfte auf ein *threo/erythro*-Verhältnis von etwa 4 bis 5:1 im Ausgangsgemisch geschätzt werden. Beide Kristallisate sind optisch inaktiv.

Das dimere Phenol **1** findet sich nach der Gegenstromverteilung des Fichtenholz-Perkolates zunächst in der Fraktion E<sup>3</sup>) (s. oben), aus der es chromatographisch abgetrennt wird. Bei der sukzessiven Umsetzung mit Dinitrofluorbenzol und Acetanhydrid/Pyridin werden ein Dinitrophenylrest und fünf Acetylgruppen gebunden, während mit Acetanhydrid/Pyridin allein ein Hexaacetat entsteht. Demnach besitzt **1** eine phenolische und fünf alkoholische Hydroxygruppen. Aus den Analysenwerten und Molekulargewichten dieser Verbindungen ergeben sich für **1** ferner zwei Methoxygruppen und die Summenformel C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>O<sub>9</sub>.



Das NMR-Spektrum (Abbild. 1) des Hexaacetats bestätigt zunächst die analytisch gefundenen Ergebnisse: Es werden zwei aromat. gebundene Methoxygruppen ( $\tau = 6.25$ ), eine aromat. (7.80) und fünf aliph. (7.9–8.2) gebundene Acetoxygruppen

nachgewiesen. Ferner sind sechs arom. Protonen (2.95–3.3) vorhanden. Wie aus dem Vergleich mit früheren Spektren<sup>2,3,7)</sup> (vgl. auch das NMR-Spektrum vom Guajacylglycerin-tetraacetat im exp. Teil) geschlossen werden darf, lassen sich die Signale bei 3.95–4.33 den beiden Benzylprotonen, bei 4.5–4.95 ( $\text{>CHOAc}$ ) und 5.25–5.6 ( $\text{>CHOAr}$ ) den beiden mittelständigen und bei 5.6–6.0 den vier endständigen Seitenketten-Protonen im Hexaacetat von 1 zuordnen.



Abbild. 1—2. NMR-Spektren von 1) 1-Hexaacetat und 2) 3-Tetraacetat in  $\tau$ -Einheiten mit Tetramethylsilan als inneren Standard, aufgenommen in  $\text{CCl}_4$  mit einem Varian-A60-Gerät

<sup>7)</sup> C. H. Ludwig, B. J. Nist und J. L. McCarthy, J. Amer. chem. Soc. **86**, 1186 (1964).

Den endgültigen Strukturbeweis für **1** liefert schließlich der alkalische Abbau. In Analogie zu früheren Ergebnissen<sup>3,8)</sup> bildet **1** beim Erhitzen mit  $2n$  NaOH den Styryläther **2**, der im neutralen oder schwach sauren Medium nicht sehr stabil ist und daher mit  $H_2/Pt$  zu **3** hydriert wurde. Als Nebenprodukte werden hierbei durch eine teilweise Hydrogenolyse der Styrylätherbindung in **2** das 4-Äthyl-guajacol (**4**) und das Guajacylglycerin (**5**) erhalten. **4** konnte als kristalliner Dinitrophenyläther und **5** als DL-threo-Tetraacetat (Schmp. 113–114°) isoliert werden. Es ist anzunehmen, daß auch sehr geringe Mengen des DL-erythro-Tetraacetats von **5** vorhanden sind, die jedoch durch fraktionierte Kristallisation nicht gefaßt werden konnten.

**3** bildet ein Tetraacetat, dessen NMR-Spektrum (Abbild. 2) neben sechs aromat. Protonen ( $\tau = 3.0-3.45$ ) zwei Methoxygruppen (6.24–6.26), eine aromat. (7.81) und drei aliphat. (7.9–8.2) gebundene Acetoxygruppen nachweist. Das Signal (7.0) der beiden Benzylprotonen (Ar-CH<sub>2</sub>-) ist erwartungsgemäß zu einem Triplett ( $J = 6.2$  Hz) aufgespalten, während dasjenige der benachbarten CH<sub>2</sub>-Gruppe (5.91;  $J = 6.2$  Hz) vom Signal der endständigen CH<sub>2</sub>-Gruppe der C<sub>3</sub>-Seitenkette überlagert wird. Die Protonen der Glycerinseitenkette gehören einem ABX<sub>2</sub>-System an, dessen AB-Teil bei  $\tau = 4.1-4.33$  für das Benzylproton und bei 4.5–4.9 für das mittelständige Proton liegt.

Es ist anzunehmen, daß die Phenole **1** und **5** periphere Gruppen des Lignins sind und durch Hydrolyse von Ätherbindungen abgespalten werden. Als spaltbare Ätherbindungen kommen vor allem die von Freudenberg, Harkin und Werner<sup>9)</sup> im Lignin nachgewiesenen Benzyl-aryl-äther in Betracht. Versuche an Lignin-Modellverbindungen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, haben jedoch gezeigt, daß unter den angewandten sehr milden Hydrolysebedingungen auch bereits eine Spaltung von Guajacylglycerin- $\beta$ -arylätherbindungen stattfindet, wenn die zur Seitenkette *p*-ständige Phenolgruppe frei ist. Gleichzeitig findet eine teilweise Umlagerung zu einem Phenylcumaran statt. Dies würde im vorliegenden Falle bedeuten, daß **5** über das mittelständige Sauerstoffatom der Glycerinseitenkette an das Rest-Lignin gebunden gewesen sein könnte, nicht aber **1**. Da auf Grund biogenetischer Vorstellungen im Lignin keine oder nur sehr vereinzelt unverätherte Glycerinseitenketten vorkommen sollten, muß der sich hieraus ergebende Frage weitere Beachtung geschenkt werden.

Herrn Prof. Dr. K. Freudenberg danke ich für das der Arbeit entgegengebrachte fördernde Interesse, Herrn Prof. Dr. E. Adler, Göteborg, für Substanzproben und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Mitteln.

## Beschreibung der Versuche

**Chromatographie:** Die angegebenen  $R_F$ -Werte wurden mit den folgenden Lösungsmittelgemischen erhalten: a) Xylol/Dimethylformamid (9 : 2), auf vorgetränktem Papier<sup>10)</sup> (Schleicher und Schüll 2043 b MgI); b) Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25 : 25 : 1), wie unter a); c) Benzol/Aceton (1 : 1), auf DC-Platten mit Kieselgel G nach Stahl (E. Merck); d) Cyclohexan/Essigester (1 : 1), wie unter c); e) Cyclohexan/Essigester (9 : 1), wie unter c); f) Benzol/Äthanol (6 : 1), auf DC-Platten mit Polyamid-Pulver (E. Merck).

<sup>8)</sup> J. Gierer und I. Norén, Acta chem. scand. **16**, 1713 (1962).

<sup>9)</sup> K. Freudenberg, J. M. Harkin und H. -K. Werner, Chem. Ber. **97**, 909 (1964).

<sup>10)</sup> K. Freudenberg und B. Lehmann, Chem. Ber. **93**, 1354 (1960).

*$\alpha$ -Guajacyl-glycerin (5)*: Aus 3 kg mit Aceton/Wasser (9:1) vorextrahiertem Fichtenholz (*Picea excelsa*) wurden durch Perkolatlon mit Wasser bei 100° und anschließende Gegenstromverteilung des von Hemicellulosen durch Aceton-Fällung befreiten Perkolats in der Fraktion D<sup>3</sup>) 3.75 g eines braunen Sirups erhalten, der an einer Säule (3 × 78 cm) mit Polyamid-Pulver und Benzol/Äthanol (9:1) chromatographiert wurde. Die i. Vak. eingeeengten Fraktionen (je 35 ccm) 105–145 ergaben 310 mg chromatographisch einheitliches *Guajacylglycerin* als farblosen Sirup. Beim Stehenlassen kristallisierten aus der mit Wasser gesättigten Essigesterlösung 30 mg farblose, zu Büscheln verwachsene Nadeln vom Schmp.<sup>11)</sup> 123–125°, deren weitere Umkristallisation verlustreich ist.  $R_F$  0.06 (System a), 0.28 (c), 0.40 (f).

*$\alpha$ -Guajacyl-glycerin-tetraacetat*: Das mit Pyridin/*Acetanhydrid* aus 240 mg sirupösem **5** erhaltene Rohprodukt wurde an einer Kieselgelsäule (2 × 68 cm) mit Cyclohexan/Essigester (5:2) chromatographiert. Die Fraktionen (je 35 ccm) 23–40 ergaben 280 mg (65%) chromatographisch einheitliches *Acetat* als farblosen Sirup.  $R_F$  0.65 (d).

NMR ( $\tau$ ): 3.1 (3 arom. Protonen); 4.04–4.25 (1 H, Ar–CH–OAc); 4.55–4.9 (1 H, CH–OAc); 5.6–6.5 (2 H, –CH<sub>2</sub>–OAc); 6.25 (3 H, Ar–OCH<sub>3</sub>); 7.8 (3 H, Ar–OCOCH<sub>3</sub>); 7.9–8.15 (9 H, 3 R–OCOCH<sub>3</sub>).

*DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat*: Aus der Lösung des vorangehend beschriebenen sirupösen Tetraacetats (280 mg) in etwa 15 ccm Essigester/Petroläther (<40°) kristallisierten nach mehrwöchigem Stehenlassen oder nach Animpfen mit *DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat* nacheinander 123 mg (Schmp. 112–114°) und 91 mg (Schmp. 102–108°) *Acetat* aus, das nach einmaligem bzw. zweimaligem Umkristallisieren aus demselben Lösungsmittelgemisch seinen Schmp. nicht mehr änderte. Gesamtausb. 180 mg vom Schmp. und Misch-Schmp. mit synthet. *DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat*<sup>12)</sup> 113–114°. Die Kristalle sind optisch inaktiv.

*DL-erythro-Guajacylglycerin-tetraacetat*: Aus der oben nach der zweiten Kristallisation erhaltenen Mutterlauge des *threo-Acetat*s wurden durch wiederholtes Umkristallisieren 27 mg *DL-erythro-Guajacylglycerin-tetraacetat* vom Schmp. und Misch-Schmp.<sup>12)</sup> 83–85° erhalten.

*Guajacylglycerin- $\beta$ -guajacylglycerinäther,  $\alpha$ -[4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl]-glycerin- $\beta$ -[2-methoxy-4-(1,2,3-trihydroxy-propyl)-phenyläther]* (**1**): Die nach der Gegenstromverteilung des Fichtenholz-Perkolates erhaltene Fraktion E<sup>3</sup>) wurde i. Vak. von Lösungsmitteln befreit (2.95 g) und an einer Säule (3 × 70 cm) mit Polyamid-Pulver und Benzol/Äthanol (5:1) chromatographiert. Die Fraktionen (je 30 ccm) 55–95 ergaben nach dem Einengen 390 mg (aus 3 kg Holz 0.05%, bez. auf den Ligninanteil) eines farblosen, amorphen, chromatographisch einheitlichen Pulvers. Das Produkt beginnt oberhalb 35° allmählich zu erweichen und schmilzt bei 75–80°.  $R_F$  0.013 (a), 0.31 (f). **1** ist etwas hygroskopisch und konnte nicht analysenrein erhalten werden.

*Hexaacetat des Phenols 1*: Man erhielt aus 85 mg **1** mit *Acetanhydrid*/Pyridin nach Chromatographie an Kieselgel (Cyclohexan/Essigester, 3:2) 102 mg (74%) *Hexaacetat* als farbloses Glas, das oberhalb 30° langsam zu einem Sirup erweicht.  $R_F$  0.36 (d). Zur Analyse wurde 3 Tage bei 70°/1 Torr über Paraffin und Phosphorpentoxid getrocknet. NMR-Spektrum s. Abbild. 1.

$C_{32}H_{38}O_{15}$  (662.7) Ber. C 57.99 H 5.78 2 OCH<sub>3</sub> 9.36 6 COCH<sub>3</sub> 38.98  
Gef. C 58.23 H 6.05 OCH<sub>3</sub> 9.29 COCH<sub>3</sub> 38.63

<sup>11)</sup> Nach einer Privatmitteilung von Prof. E. Adler schmilzt das bisher nicht beschriebene kristalline *DL-threo-Guajacylglycerin* bei 133–134°.

<sup>12)</sup> E. Adler und S. Yllner, Acta chem. scand. 7, 570 (1953); E. Adler und B. Gustafsson, ebenda 17, 27 (1963).

*Pentaacetat vom Dinitrophenyläther des Phenols 1*: Die Lösung von 70 mg **1** in 2 ccm Dimethylformamid wurde mit 50 mg *2,4-Dinitro-fluorbenzol* und 40 mg *Natriumhydrogencarbonat* 15 Stdn. bei 22° geschüttelt und anschließend das i. Vak. eingeengte Filtrat mit je 2 ccm Pyridin und *Acetanhydrid* versetzt. Nach 20stdg. Stehenlassen wurde der Eindampfrückstand an Kieselgel mit Cyclohexan/Essigester (3:2) chromatographiert. Ausb. 98 mg (73%) gelbes, amorphes Pulver, das zwischen 63 und 80° schmilzt.  $R_F$  0.45 (d).

$C_{36}H_{38}N_2O_{18}$  (786.7) Ber. C 54.96 H 4.87 N 3.56 2 OCH<sub>3</sub> 7.89 5 COCH<sub>3</sub> 27.35  
Gef. C 55.02 H 5.15 N 3.61 OCH<sub>3</sub> 7.82 COCH<sub>3</sub> 27.25

*Alkalischer Abbau des Phenols 1*: Die Lösung von 400 mg **1** in 10 ccm 2*n* NaOH wurde 14 Stdn. im Einschlußrohr unter Stickstoff auf 120° erhitzt, nach dem Erkalten mit 2*n* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> schwach angesäuert und fünfmal mit Essigester extrahiert. Die vereinigten Extrakte wurden mit wenig Wasser gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und das Filtrat (etwa 50 ccm) mit 50 mg Platindioxid unter *Wasserstoff* geschüttelt. Nach 4 Stdn., als 35 ccm (1.1 Mol) Wasserstoff aufgenommen worden waren, ließen sich chromatographisch (Systeme a) und b)) neben den drei Verbindungen **3**, **4** und **5** nur Spuren anderer Produkte nachweisen. Der Eindampfrückstand des Filtrats wurde an einer Kieselgelsäule (2×43 cm) mit Benzol/Aceton (3:2) chromatographiert. Die Fraktionen (je etwa 30 ccm) 6–9 enthielten als Hauptprodukt *4-Äthyl-guajacol* (**4**) ( $R_F$  0.76 (a), 0.89 (b), Kupplungsfarbe mit diazotierter Sulfanilsäure: rotviolett), und die Fraktionen 75–98 130 mg (37%) chromatographisch einheitliches Phenol **3**, [*4-Hydroxy-3-methoxy-phenäthyl*]-[*2-methoxy-4-(1.2.3-trihydroxy-propyl)-phenyl*]-äther (farbloser Sirup,  $R_F$  0.105 (a), 0.033 (b), 0.52 (c)). Danach wurde die Chromatographie mit Benzol/Aceton (1:1) fortgesetzt und in den Fraktionen 135–158 31 mg (15%) chromatographisch einheitliches *Guajacylglycerin* (**5**) erhalten.

*2,4-Dinitro-phenyläther von 4*: Das oben aus 400 mg **1** nach der Chromatographie erhaltene, nicht ganz einheitliche *4-Äthyl-guajacol* wurde in üblicher Weise mit 75 mg *2,4-Dinitro-fluorbenzol* umgesetzt und das Rohprodukt an Kieselgel mit Cyclohexan/Essigester (15:1) chromatographiert. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Methanol wurden 25 mg blaßgelbe Nadeln vom Schmp. und Misch-Schmp. 86° (Lit.<sup>13</sup>): 87–88.6° erhalten.  $R_F$  0.33 (e), ebenfalls in Übereinstimmung mit synthetischem Produkt.

$C_{15}H_{14}N_2O_6$  (318.5) Ber. N 8.80 1 OCH<sub>3</sub> 9.75 Gef. N 9.00 OCH<sub>3</sub> 9.85

*Tetraacetat von 3*: 130 mg sirupöses Phenol **3** (s. oben) ergaben, mit Pyridin/*Acetanhydrid* umgesetzt, 165 mg (87%) chromatographisch an Kieselgel mit Cyclohexan/Essigester (2:1) gereinigtes *Tetraacetat* als farblosen, zähen Sirup.  $R_F$  0.55 (d). NMR-Spektrum s. Abbild. 2.

$C_{27}H_{32}O_{11}$  (532.6) Ber. C 60.88 H 6.05 2 OCH<sub>3</sub> 11.66 4 COCH<sub>3</sub> 32.33  
Gef. C 60.85 H 6.02 OCH<sub>3</sub> 11.66 COCH<sub>3</sub> 31.88

*DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat* (aus **1**): Das beim alkalischen Abbau aus 400 mg **1** nach der Chromatographie (s. oben) erhaltene sirupöse *Guajacylglycerin* (31 mg) ergab mit *Acetanhydrid*/Pyridin nach der Chromatographie an Kieselgel mit Cyclohexan/Essigester (5:2) 24 mg sirupöses *Tetraacetat*, das aus seiner Lösung in Essigester/Petroläther nach dem Animpfen mit *DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat* kristallisierte (16 mg, Schmp. 102–106°). Nach zweimaligem Umkristallisieren lagen Schmp. und Misch-Schmp. mit synthet.<sup>12</sup>) *DL-threo-Guajacylglycerin-tetraacetat* bei 112–114°. Aus den vereinigten Mutterlauge wurden weitere 2 mg *Acetat* vom Schmp. 81–95° erhalten.

<sup>13</sup>) P. K. Ramachandran, A. T. Tefteller, G. O. Paulson, T. Cheng, C. T. Lin und W. J. Horton, J. org. Chemistry **28**, 398 (1963).