

Karl Freudenberg und Chen-Loung Chen \*)

## Weitere Oxydationsprodukte des Fichtenlignins

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

(Eingegangen am 5. Juni 1967)

Die methoxylierten Diphenyläther-carbonsäuren **1**, **2** und **3** wurden aus dem Fichtenholz gewonnen. Unter ihnen tritt die Säure **3** mengenmäßig hervor und ist hinter Veratrumsäure, Isohemipinsäure und Dehydro-diveratrumsäure an vierter Stelle einzuordnen. Die Biphenyl-dicarbonssäure **4** wurde nur chromatographisch, allerdings mit Sicherheit, festgestellt. Da auch 1.2.4-Trimethoxy-benzol und Veratroylameisensäure hinzukommen, erhöht sich die Zahl der festgestellten Oxydationsprodukte des Fichtenlignins auf 29. Trotz ihrer Mannigfaltigkeit fügen sie sich sämtlich dem Bild ein, das von der Entstehung und Konstitution des Fichtenlignins gewonnen ist.

Zur Gewinnung der methoxylierten Carbonsäuren aus Fichtenholz wurde die früher angewendete Technik<sup>1)</sup> beibehalten: Extrahiertes Holzmehl wird mit starkem Alkali behandelt, methyliert und oxydiert. Gegenüber früher<sup>1)</sup> wurde lediglich die Temperatur bei der Methylierung mit Dimethylsulfat und Alkali auf 0 bis 5° herabgesetzt. Bereits bei der ersten Abhandlung dieser Serie<sup>2)</sup> wurde Kühlung durch fließendes Wasser vorgeschrieben. Den Hinweis auf den Vorteil noch tieferer Temperatur verdanken wir Herrn *J. M. Harkin*. Die Bildung der Diphenyläthersäure **1** erklärt sich aus dem Radikal  $R_d$  **5**<sup>3)</sup>, dessen Seitenkette durch ein Aroxyl der Coniferylreihe verdrängt wird. Nachdem die Säure **1** gefunden war, konnte die Säure **2** vorausgesagt werden, denn es ist anzunehmen, daß das chinoide Radikal begünstigt ist, wenn die 5-Stellung durch einen Substituenten, der später zur Carboxylgruppe wird, blockiert ist. Durch die Behandlung mit starkem Alkali erleiden die im Lignin vorhandenen Bauelemente **1** und **2** teilweise Spaltung der Ätherbindung. So erklärt sich aus der unteren Hälfte dieser Moleküle das nach der Methylierung auftretende 1.2.4-Trimethoxy-benzol (charakterisiert als Nitroderivat **6**). Die Säure **3** wurde nunmehr in greifbarer Menge als Dimethylester isoliert. Zur Identifizierung stand synthetische Säure zur Verfügung<sup>4)</sup>. Wenn man die sehr großen Verluste bedenkt, die bei dem Abbaufahren unvermeidbar sind, erscheint es statthaft, eine solche Bindung in das früher entworfene Konstitutionsschema aus 18 Einheiten aufzunehmen<sup>5,6)</sup>.

\*) Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Gewährung von Mitteln.

1) *K. Freudenberg, C.-L. Chen und G. Cardinale*, Chem. Ber. **95**, 2814 (1962).

2) *H. Urban*, Dissertat., Techn. Hochschule Karlsruhe 1926; Cellulosechemie **7**, 73 (1926).

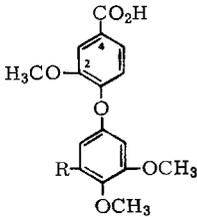
3) *K. Freudenberg*, Science [Washington] **148**, 596 (1965).

4) *K. Freudenberg und K.-Ch. Renner*, Chem. Ber. **98**, 1879 (1965).

5) *K. Freudenberg*, Holzforschung **18**, 3, 166 (1964). Eine weiter entwickelte Fassung siehe 1. c.<sup>6)</sup>

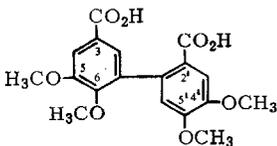
6) *K. Freudenberg*, Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics, Springer (1968).

Bei der Behandlung mit dem heißen Alkali wird ein Teil des Diphenyläthers gespalten. Daraus erklärt sich die Tri-*O*-methyl-gallussäure, die bei dem entsprechenden Abbau des Dehydrierungspolymerisats aus Coniferylalkohol in geringer Menge auftritt<sup>3</sup>). Eine Biphenylbindung wie in der Säure 4 kommt im Lignin vor, wenn auch nur in sehr geringer Menge. Schließlich ist die Säure 7 synthetisch hergestellt worden. Für ihr Vorkommen unter den Abbausäuren haben sich keine Anzeichen ergeben, wohl aber trat die Veratroylameisensäure in Gestalt ihres Methylesters auf. Sie war bei den ersten Abbauersuchen dieser Art<sup>7</sup>) angetroffen worden und ist erst jetzt wieder aufgetreten.

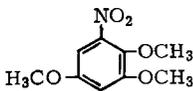


1: R = H.  
2,3,4'-Trimethoxy-  
diphenyläther-  
carbonsäure-(4)

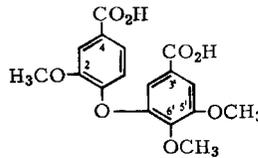
2: R = CO<sub>2</sub>H.  
2,4,5'-Trimethoxy-  
diphenyläther-  
dicarbonsäure-(4,3')



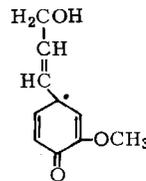
4. 5,6,4',5'-Tetramethoxy-  
biphenyl-  
dicarbonsäure-(3,2')



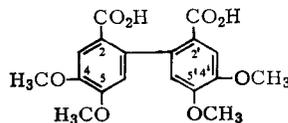
6. 2,3,5-Trimethoxy-  
nitrobenzol



3. 2,5,6'-Trimethoxy-  
diphenyläther-  
dicarbonsäure-(4,3')



5. R<sub>d</sub>



7. 4,5,4',5'-Tetramethoxy-  
biphenyl-  
dicarbonsäure-(2,2')

<sup>7)</sup> K. Freudenberg, A. Janson, E. Knopf und A. Haag, Ber. dtsch. chem. Ges. 69, 1415 (1936).

In die schematische Konstitutionsformel des Fichtenlignins sind Ätherbindungen von der Art der Säuren 1 und 2 wegen ihrer geringen Menge nicht aufgenommen worden. Wenn man aber an Hand des Schemas<sup>5,6)</sup> abschätzt, in welcher Menge die wichtigsten Abbausäuren auftreten sollten, so ergibt sich die Reihenfolge: Veratrumsäure, Isohemipinsäure, Dehydro-diveratrumsäure, Trimethoxy-diphenyläther-dicarbonensäure 3, Anissäure, Trimethylgallussäure, Metahemipinsäure. Sie steht in gutem Einklang mit den gefundenen Mengen, obwohl bei der Aufstellung des Schemas diese Oxydationsversuche nur zu einem kleinen Teil berücksichtigt waren. Somit ist diese Versuchsreihe ein weiterer Hinweis auf die Brauchbarkeit des Schemas.

### Beschreibung der Versuche

Bei der Vorbehandlung des Holzes und seiner zweimaligen Methylierung gilt die frühere Vorschrift<sup>1)</sup>, S. 2822. Doch wird durch Eis und langsames Zutropfen des Dimethylsulfats die Temperatur unter +5° gehalten. Nach der Behandlung mit Alkali wird erneut in der gleichen Weise methyliert. Dabei muß sehr gut gerührt werden, damit sich kein Dimethylsulfat im Reaktionsgefäß anreichert, sondern es immer in dem Maße verbraucht wird, wie es zutropft. Zuletzt muß die Lösung nach Zugabe von weiterem Alkali alkalisch bleiben. Wie früher wurde vor der Oxydation ein Neutralteil A gewonnen. Bei der Oxydation entstand der Säureteil D (vgl. l. c.<sup>1)</sup>, S. 2824). Aus 180 g zweimal methyliertem Fichtenholz (auf Trockengewicht berechnet) werden 0.95 g Neutralteil A und 15.5 g Säureteil D gewonnen.

Der Neutralteil A wurde auf einer Kieselgelsäule (2.4 cm × 22 cm) chromatographiert, die mit Benzol gewaschen und mit Benzol eluiert wurde. Die Fraktionen 33–50 (je 15 ccm) enthielten 21 mg 1.2.4-Trimethoxy-benzol. Es wurde nach Schüler<sup>8)</sup> zum 2.3.5-Trimethoxy-nitrobenzol (6) umgesetzt und mit synthetischem Material verglichen. Mischprobe: Schmp. 129–130°.

Zur Kennzeichnung der Mono-, Di- und Trimethoxybenzole eignet sich Dünnschichtchromatographie (Kieselgel G) mit Benzol/Chloroform in verschiedenem Verhältnis als Lösungsmittel. Zur Sichtbarmachung dient Schwefelsäure/Formalin (9 : 1 Vol.) und Trocknen bei 120°. 1.2.4-Trimethoxy-benzol gibt dabei eine blaue Färbung.

Das Säuregemisch (15.5 g) wird mit 80 ccm Aceton 24 Std. bei 0° aufbewahrt. Der unlösliche, mit Wasser gewaschene Rückstand (0.28 g) besteht zur Hauptsache aus Dehydrodiveratrumsäure. Der in Aceton lösliche Teil wird über Cellulosepulver (4.8 cm × 80 cm; Whatman CF 11) chromatographiert, nachdem mit Benzol/Eisessig/Wasser (114 : 28.5 : 1 Vol.) vorgewaschen war. Die Säule wird mit 6 l dieses Gemisches eluiert, dann mit 1 l Methanol gewaschen und in die Säurefraktionen S-1 bis S-7 aufgeteilt:

Bezeichnung	Gläser	Menge	
S-1	25–41	6.2 g	
S-2	44–56	3.0 g	
S-3	Hemipinsäure; 4-Methoxy- <i>o</i> -phthalsäure; 4-Methoxyisophthalsäure; 3.4.5-Trimethoxy- <i>o</i> -phthalsäure	57–81	1.0 g
S-4	Metahemipinsäure, Bernsteinsäure	82–115	0.5 g
S-5	Metahemipinsäure, Methoxytrimesinsäure, Bernsteinsäure	116–180	0.6 g
S-6	Bernsteinsäure, Tricarballoylsäure, Benzolpolycarbonsäuren	181–300	1.6 g
S-7	Oxalsäure, Benzolpolycarbonsäuren	Methanol	2.2 g

<sup>8)</sup> A. Schüler, Archiv Pharmaz. Ber. dtsh. pharmaz. Ges. 245, 268 (1907).

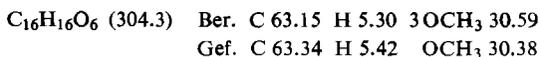
Zur Prüfung der Fraktionen (je 20 ccm) dienen Papierchromatogramme mit der organischen Phase einer Mischung von n-Butanol/Morpholin/Wasser (5 : 1 : 4).

Die Fraktionen S-1 und S-2 wurden untersucht. Die Fraktion S-1, 6,2 g, wurde unter 30 ccm Aceton 24 Stdn. bei 0° aufbewahrt und von unreiner Dehydro-diveratrumsäure (110 mg) abfiltriert. Nach Entfernung des Acetons wurde mit ätherischem *Diazomethan* methyliert und über eine Säule von Whatman-Cellulosepulver (3.2 cm × 60 cm) chromatographiert, nachdem mit 500 ccm Dimethylformamid, dann mit 1 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40 : 1 Vol.) vorgewaschen worden war. Mit 6 l des letzteren Lösungsgemisches wurde eluiert. Diese Esterfraktion (E-1) wurde in die Fraktionen E-1-1, E-1-2 und E-1-3 aufgeteilt. Die Gläser (je 20 ccm) 35–140 (E-1-1) enthielten 4.42 g bekannte Ester. Die Gläser 141–200 (E-1-2) enthielten 0.55 g Rückstand. Er wurde auf einer Kieselgelsäule (2.4 cm × 22 cm) chromatographiert, die mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 1 Vol.) vorgewaschen worden war. Die Säule wurde mit 500 ccm Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 1 Vol.), dann mit 1 l Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 2 Vol.), dann mit 1.5 l Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.) eluiert. Die Fraktionen (je 15 ccm) wurden mit Kieselgeldünnschicht (Lösungsmittel Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.)) geprüft. Die mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.) eluierten Fraktionen 31–75 enthielten den *Dimethylester der 2.5'.6'-Trimethoxy-diphenyläther-dicarbonsäure-(4.3')* (3).

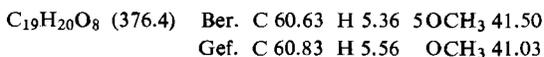
Nach Entfernung des Lösungsmittels wurde der Rückstand 2 mal aus Methanol umkristallisiert: Rhomben, Schmp. 112–114°, Ausb. 0.28 g. Mischprobe mit synthetischem Präparat 113–114°<sup>4)</sup>.

Die Gläser 201–300 (E-1-3) enthielten 0.49 g Substanz. Sie wurde über einer Kieselgelsäule (2.4 cm × 22 cm) chromatographiert, die mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 1 Vol.) vorgewaschen worden war. Die Säule wurde mit 0.3 l Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 1 Vol.), 0.5 l Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 2 Vol.), 1.5 l Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.), dann mit 1 l Methylenchlorid eluiert. Die Fraktionen (je 15 ccm) 21–45 (E-1-3-1) des mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.) gewonnenen Eluates enthielten den *Methylester der 2.3'.4'-Trimethoxy-diphenyläther-carbonsäure-(4)* (1).

Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde der Rückstand 2 mal aus Methanol umkristallisiert und zur weiteren Reinigung die Lösung von 30 mg des Esters in 5 ccm Methanol mit 5 ccm 5proz. *Kalilauge* eine Stde. bei 100° unter Rückfluß gekocht. Die angesäuerte Lösung setzt bei 0° im Laufe von 24 Stdn. Kristalle ab, die, aus Methanol umkristallisiert, bei 145–147° schmelzen. Mischprobe mit synthetischem Präparat 147–148°.



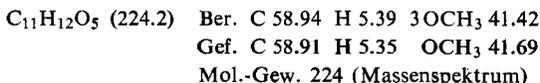
Die mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1 : 3 Vol.) gewonnenen Fraktionen 46–100 (E-1-3-2) wurden mit der durch Methylenchlorid gewonnenen Fraktion vereinigt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wurde über Cellulosepulver (2.0 cm × 20 cm, Whatman CF 11) chromatographiert, nachdem die Säule mit 0.3 l Dimethylformamid, dann mit 0.5 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40 : 1 Vol.) vorgewaschen worden war. Die Säule wurde mit 3.5 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40 : 1 Vol.) eluiert. Aus den Fraktionen (je 10 ccm) 90–145 (E-1-3-2-1) wurde der *Dimethylester der 2.4'.5'-Trimethoxy-diphenyläther-dicarbonsäure-(4.3')* (2) gewonnen. Rhomben aus Methanol, Ausb. 19 mg. Mischprobe mit synthetischem Präparat Schmp. 90–91°.



Die Fraktionen 146–169 (E-1-3-2-2), die dem vorangehenden Präparat folgen, wurden verworfen. Aus den Fraktionen 170–300 (E-1-3-2-3) wurden 37 mg Rückstand erhalten, der

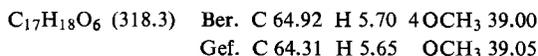
aus Methanol kristallisierte und sich als *Dimethylester der 5.6.4'.5'-Tetramethoxy-biphenyl-dicarbonensäure-(3.2')* (4) erwies. Der Methylester und die daraus gewonnene Säure waren noch nicht einheitlich und konnten nur chromatographisch mit synthetischem Material in verschiedenen Lösungsmitteln verglichen werden. Der Schmp. der Säure betrug 241–252°, während die synthetische Säure unter Zersetzung bei 252–253° schmilzt.

Die oben erwähnte Fraktion S-2 enthielt 3.0 g Rückstand. Nach Veresterung mit *Diazomethan* wurde über Cellulosepulver (3.2 cm × 40 cm, Whatman CF 11) chromatographiert, nachdem die Säule mit 500 ccm Dimethylformamid, dann 1 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) vorgewaschen worden war. Jetzt wurde mit 4 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) eluiert. Die Fraktionen (je 20 ccm) 96–200 enthielten 0.67 g eines gelben Rückstands, der auf einer Kieselgelsäule mit Cyclohexan/Methylenchlorid (1:1, dann 1:2, dann 1:3 Vol.) eluiert wurde. Die letztere Fraktion enthielt den *Veratroylameisensäure-methylester*. Gelbe Nadeln, Schmp. 67–68°. Ausb. 58 mg.



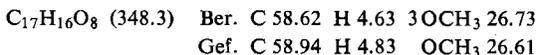
Aus den folgenden Gläsern wurde *Hemipinsäure-dimethylester* in sehr geringer Ausbeute erhalten. Schmp. 60–62°.

*Synthese der Säure 1*: Die Lösung von 0.195 g *Kalium* in einigen Kubikzentimetern Methanol wird mit der Lösung von 0.91 g *Vanillinsäure-methylester* in 10 ccm Methanol vermischt. Das Methanol wird i. Vak. entfernt und der Rückstand mit 1.09 g *4-Brom-veratrol*, 0.13 g aktiviertem Kupfer<sup>9)</sup> und 0.13 g Kupferacetat versetzt und unter Rühren 4 Stdn. auf 180–200° erhitzt, mit warmem Aceton aufgenommen, filtriert und nach der Verdampfung mit ätherischem *Diazomethan* behandelt. Der Ätherrückstand wird über Cellulosepulver (3.2 cm × 30 cm, Whatman CF 11) chromatographiert, nachdem die Säule mit 500 ccm Dimethylformamid und 1 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) vorgewaschen war. Bei der Elution mit Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) werden Fraktionen von 20 ccm aufgefangen. Aus den Fraktionen 71–125 wird der gesuchte *Ester* gewonnen. Rhomben aus Methanol, Schmp. 76–77°, Ausb. 0.82 g.



Die zugehörige *Säure* kristallisiert aus Methanol in Nadeln vom Schmp. 148–149°.

Die Synthese des *Dimethylesters der Säure 2* verläuft ebenso, nur werden statt Bromveratrol 1.38 g *5-Brom-2.3-dimethoxy-benzoessäure-methylester* verwendet. Das Rohprodukt wird über eine Cellulosesäule chromatographiert, die mit 500 ccm Dimethylformamid und 1 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) vorgewaschen war. Sie wird mit 3 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) eluiert. Aus den Fraktionen (je 20 ccm) 81–130 erhält man den Ester. Rhomben aus Methanol, Schmp. 90–91°, Ausb. 0.49 g. Die zugehörige *Säure* bildet Nadeln aus Methanol, Schmp. 197–198°.



*Synthese des Dimethylesters der Säure 4*: Das Gemisch von 2.75 g *6-Brom-veratrumssäure-methylester* und 6.22 g *5-Jod-veratrumssäure-methylester* und 9 g aktiviertem Kupfer wird unter Rühren 4 Stdn. im Ölbad auf 180–200° erhitzt. Durch mehrmalige Behandlung mit Äther wird der größte Teil der Ausgangsmaterialien entfernt. Der unlösliche Anteil wird in einem

<sup>9)</sup> Organic Synthesis, Coll. Vol. III, 339 (1955).

Soxhletapparat mit Aceton extrahiert und das Reaktionsprodukt nach Entfernen des Acetons über Cellulosepulver (3.2 cm × 30 cm, Whatman CF 11) chromatographiert, das mit 500 ccm Dimethylformamid, dann mit 1 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) vorgewaschen war. Die Säule wird mit 4 l Cyclohexan/Dimethylformamid (40:1 Vol.) eluiert. Aus den Fraktionen (20 ccm) 140–190 wird der gesuchte Ester erhalten. Rhomben aus Methanol, Schmp. 153–154°, Ausb. 0.52 g.

$C_{20}H_{22}O_8$  (390.4) Ber. C 61.30 H 5.88 6OCH<sub>3</sub> 47.69  
 Gef. C 61.65 H 5.55 OCH<sub>3</sub> 47.94  
 Mol.-Gew. 390 (Massenspektrum)

Die zugehörige Säure schmilzt bei 252–253°.

$C_{18}H_{18}O_8$  (362.4) Ber. C 59.66 H 5.07 4OCH<sub>3</sub> 34.53  
 Gef. C 59.50 H 5.29 OCH<sub>3</sub> 33.97

4.5.4'.5'-Tetramethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(2.2') (7): Die Mischung von 2.75 g 6-Bromveratrumsäure-methylester mit 3 g aktiviertem Kupfer wird unter Rühren 4 Stdn. auf 180 bis 200° erhitzt und wie oben aufgearbeitet. Der Dimethylester kristallisiert aus Methanol in Rhomben vom Schmp. 196–197°. Ausb. 0.86 g.

$C_{20}H_{22}O_8$  (390.4) Ber. C 61.30 H 5.88 6OCH<sub>3</sub> 47.69  
 Gef. C 61.24 H 5.77 OCH<sub>3</sub> 47.69  
 Mol.-Gew. 390 (Massenspektrum)

Die zugehörige Säure wird aus Methanol umkristallisiert. Nadeln vom Schmp. 272–273°.

$C_{18}H_{18}O_8$  (362.4) Ber. C 59.66 H 5.07 4OCH<sub>3</sub> 34.53  
 Gef. C 59.48 H 5.14 OCH<sub>3</sub> 34.11

[251/67]