

Horst Nimz

Über ein neues Abbauverfahren des Lignins

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

(Eingegangen am 16. August 1968)

Durch stufenweise Behandlung von Fichtenholz mit Thioessigsäure/Bortrifluorid und $2n$ NaOH läßt sich das Lignin vollständig aus dem Holz herauslösen. Erhitzt man die alkalische Lösung mit Raney-Nickel, so erfolgt ein durchgreifender Ligninabbau zu oligomeren (Mol.-Gew. < 5000), tetrameren, trimeren, dimeren und monomeren Phenolen, die durch Gelfiltration getrennt werden. Die Fraktion der Monomeren besteht zur Hauptsache aus Dihydroeugenol (**11**) und Dihydroconiferylalkohol (**7**, $R = R' = H$). Aus der Dimeren-Fraktion konnten bisher drei bereits bekannte (**12–14**) und zwei neue dimere Phenole (**15** und **16**) isoliert und identifiziert werden.

Der Abbau des hochmolekularen Lignins unter Bedingungen, bei denen noch keine C–C-Bindungen gespalten werden, war bisher unbefriedigend. Die Ausbeuten an definierten, niedermolekularen Spaltprodukten lagen bei etwa 10% oder wenig darüber. Für die Strukturermittlung des Lignins hatten diese Verfahren daher nur einen begrenzten qualitativen Wert.

Das Strukturschema des Fichtenlignins nach *Freudenberg*¹⁾, das sich vornehmlich auf die Ergebnisse der Biosynthese von künstlichem Lignin stützt, enthält als wichtigsten Bindungstyp zwischen den Phenylpropan-Bausteinen β -Aryläther-Bindungen (**1**) und daneben in größerem Umfang auch C–C-Bindungen. Ein gezielter, durchgreifender Lignin-Abbau sollte daher in der Spaltung der β -Aryläther-Bindungen (**1**) bestehen. Dabei muß aber die sekundäre Bildung neuer C–C-Bindungen²⁾ vermieden werden.

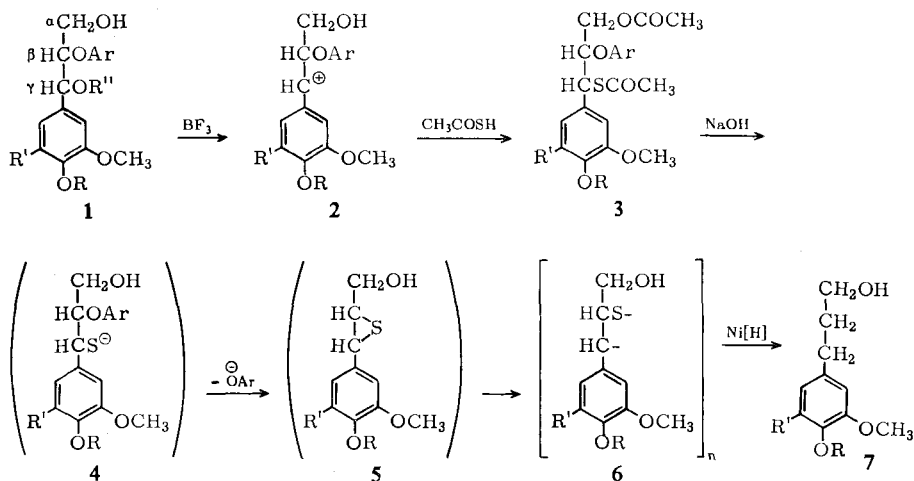
Wird Fichtenholz bei Raumtemperatur mit überschüssiger Thioessigsäure in Gegenwart einer katalytischen Menge Bortrifluorid umgesetzt, so reagiert das Lignin, wie aus Modellversuchen hervorgeht³⁾, unter Bildung von *S*-Benzyl-thioacetaten (**3**). Die Konzentration der zunächst unter dem Einfluß der Lewis-Säure aus Benzylalkohol- und Benzyläthergruppen gebildeten Benzylum-Ionen (**2**)²⁾ wird durch die Thioessigsäure so niedrig gehalten, daß der sonst übliche²⁾ Angriff dieser Kationen auf benachbarte Guajacylreste als Konkurrenzreaktion unterbleibt. Auch eine Kernacetylierung wurde in Modellversuchen³⁾ bis zu 30° nicht beobachtet. Dagegen findet eine normale Veresterung primärer alkoholischer Gruppen zu *O*-Acetaten

¹⁾ K. Freudenberg, *Science* [Washington] **148**, 595 (1965).

²⁾ Vgl. H. Nimz, *Holzforschung* **20**, 105 (1966).

³⁾ H. Nimz, unveröffentlicht; vgl. die Umsetzung von Holz mit Thioglykolsäure/BF₃: K. Freudenberg, K. Seib und K. Dall, *Chem. Ber.* **92**, 807 (1959).

statt³⁾. — Nach Entfernung der überschüssigen Thioessigsäure i. Vak. bei 15° und gründlichem Auswaschen des Rückstandes mit einer wäbr. Natriumacetatlösung erfolgt mit 2*n* NaOH in Äthanol/Wasser oder Glykol/Wasser bei 50 bis 60° die Verseifung der Estergruppen in **3** zu **4**. Hierbei verbleibt der Schwefel am Benzyl-C-Atom und bildet in der alkalischen Lösung ein Mercaptid-Anion, das sekundär das benachbarte β-C-Atom nucleophil unter Verdrängung des Phenolat-Ions angreift, was der Spaltung der β-Arylätherbindung gleichkommt. Dieser Nachbargruppen-effekt findet an entsprechenden Modells-substanzen bereits bei Raumtemperatur statt⁴⁾. Das zunächst gebildete Äthylensulfid (**5**) ist unter den Reaktionsbedingungen nicht stabil und polymerisiert sich zu höhermolekularen Produkten (**6**) mit Sulfidbrücken. Bei der Reaktion geht das Lignin zusammen mit den Hemicellulosen in Lösung und hinterläßt in durchschnittlich 45proz. Ausbeute eine fast reine Cellulose mit einem Ligningehalt von ca. 1.8%, den man durch sorgfältige Zerkleinerung vor und intensives Rühren während der Verseifung noch verringern kann.



Beim Erhitzen der abgetrennten alkalischen Lösung mit überschüssigem Raney-Nickel wird der Schwefel unter Spaltung der Sulfidbindungen durch Wasserstoff ersetzt⁵⁾. Es entstehen niedermolekulare Spaltprodukte (**7**), die formal aus dem Lignin durch Ersatz der Sauerstofffunktionen in γ- und β-Stellung durch Wasserstoff hervorgehen. C-C-Bindungen zwischen den C₉-Bausteinen sollten dagegen erhalten bleiben.

Bei der Reduktion von Schwefelverbindungen mit Raney-Nickel werden radikalische Zwischenstufen angenommen⁶⁾, die sich dimerisieren und dadurch zu unerwünschten Sekundärprodukten beim Ligninabbau führen können. Die Dimerisierung wird durch eine hohe Wasserstoffkonzentration im frisch bereiteten Raney-Nickel bei großer Verdünnung der

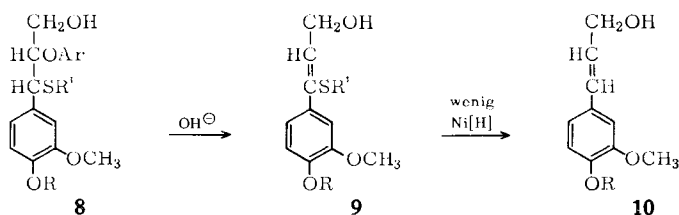
⁴⁾ J. Gierer, B. Lenz und N.-H. Wallin, *Acta chem. scand.* **18**, 1469 (1964); J. Gierer und L. A. Smedman, *ebenda* **19**, 1103 (1965).

⁵⁾ R. Mozingo, D. E. Wolf, S. A. Harris und K. Folkers, *J. Amer. chem. Soc.* **65**, 1013 (1943).

⁶⁾ Vgl. G. R. Pettit und E. E. van Tamelen, *Org. Reactions* **12**, 356 (1962).

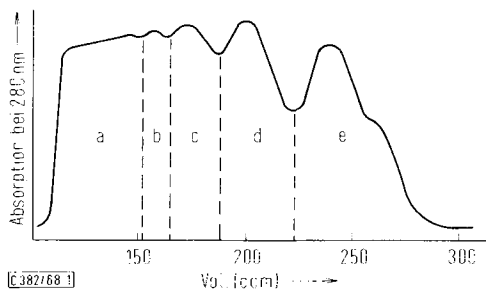
Schwefelverbindung meistens vollständig unterdrückt. Um zu prüfen, ob dennoch Dimerisierungen eintreten, wurde in einem Versuch die alkalische Lösung langsam zum vorgelegten Raney-Nickel getropft, wodurch einerseits die Konzentration der radikalischen Zwischenstufen niedrig gehalten wurde und andererseits stets ein großer Überschuss an Raney-Nickel vorhanden war. Da sich hierbei die Produktausbeuten gegenüber denen bei normaler Versuchsführung nicht änderten, können Dimerisierungen ausgeschlossen werden.

Die Ausbeuten an niedermolekularen Spaltprodukten waren wesentlich geringer, wenn in neutralem Medium reduziert wurde. Außerdem bildeten sich mit unterschüssigem Raney-Nickel in alkalischer Lösung größere Mengen Coniferylalkohol (**10**, R = H). Schließlich weist auch die Abhängigkeit der Ausbeuten von der Reduktionstemperatur (s. unten) darauf hin, daß neben dem Übergang von **4** nach **5** auch noch ein anderer Mechanismus der β -Aryl-äther-Spaltung wirksam sein muß. Nimmt man an, daß ein Teil der nach der Verseifung erhaltenen Mercaptid-Ionen **4** nicht intramolekular zu **5**, sondern intermolekular zu **8** reagiert, so besteht in alkalischer Lösung die Möglichkeit zur Abspaltung eines Benzylprotons, das durch die benachbarte Thioäthergruppe aktiviert wird⁷⁾. Anschließend erfolgt durch β -Eliminierung leicht die Spaltung der Ätherbindung unter Ausbildung einer Doppelbindung zum Olefin **9**, aus dem bei der Reduktion mit unterschüssigem Raney-Nickel Coniferylalkohol (**10**, R = H) entstehen könnte.



Fraktionierung der Spaltprodukte durch Gelfiltration

Nach der Reduktion erhält man durch Ansäuern und Extraktion mit Essigester, bei der die Kohlenhydrate in der wäßrigen Phase zurückbleiben, die phenolischen Abbauprodukte des Lignins, die sich durch Gelfiltration mit Sephadex LH-20 (Dimethylformamid) nach Molekulargewichten fraktionieren lassen. Die Abbild. zeigt



Uvicord-Diagramm einer Gelfiltration der Lignin-Spaltprodukte mit Sephadex LH-20. Größe der Säule: 2×108 cm. Fließmittel: Dimethylformamid. Substanzprobe: Etwa 50 mg eines Ansatzes, der bei 115° reduziert worden war

⁷⁾ Vgl. hierzu *L. Brandsma* und *J. F. Arens* in *The chemistry of funktional groups, The chemistry of the ether linkage*, edited by *S. Patai*, S. 559, Interscience Publishers, London-New York-Sydney 1967.

das Uvicord-Diagramm einer Gelfiltration, das die Unterteilung des Eluats in fünf Fraktionen (a—e) erlaubt. Mit Hilfe von Vergleichssubstanzen ließ sich zeigen, daß Fraktion e aus monomeren und Fraktion d aus dimeren Phenolen besteht. Folglich enthalten die Fraktionen c, b und a trimere, tetramere und höhermolekulare Phenole. Eine nochmalige Gelfiltration dieser Fraktionen zeigt ferner, daß bei der ersten Gelfiltration nur eine sehr geringe Überlappung der Fraktionen vorgelegen hat.

Die Gesamtausbeute und das Gewichtsverhältnis der Fraktionen a—e hängen in hohem Maße von der Temperatur ab, die bei der Reduktion mit Raney-Nickel angewandt wurde. Bisher konnten die besten Ausbeuten an niedermolekularen Produkten bei 115° (8 Stdn.) in alkalisch-wäßriger Glykollösung mit 250 g Raney-Nickel auf 100 g Holz erhalten werden (Tab.).

Ausbeuten der nach der Gelfiltration aus 100 g Fichtenholz erhaltenen Fraktionen a—e (Reduktion bei 115° mit 250 g Raney-Nickel)

| Fraktion | a oligomer | b tetramer | c trimer | d dimer | e monomer |
|-------------------|---------------|---------------|-------------|------------|--------------|
| Ausb. in g | 8.88 | 4.60 | 6.05 | 8.04 | 11.48 |
| % der Gesamtausb. | 22.7 | 11.8 | 15.5 | 20.6 | 29.4 |

Aus dem Kurvenverlauf in der Abbild. geht hervor, daß nach der Reduktion bei 115° die Ausbeuten an oligomeren Spaltprodukten mit steigendem Molekulargewicht kontinuierlich abnehmen und hochmolekulare Ligninanteile mit einem Molekulargewicht > 5000 nicht vorhanden sind. Dieser Befund und die in der Tab. angegebenen Ausbeuteverhältnisse stehen in auffallend guter Übereinstimmung mit dem von *Freudenberg*¹⁾ aufgestellten Strukturschema für das Fichtenlignin: Bei einer Spaltung sämtlicher Ätherbindungen zwischen den C₉-Einheiten unter Erhaltung der C—C-Bindungen bilden sich aus den 18 Phenylpropan-Bausteinen des Formelschemas¹⁾ fünf monomere, zwei dimere und drei trimere Phenole. Monomere und Dimere machen also mit zusammen 9 C₉-Einheiten genau die Hälfte der insgesamt 18 Einheiten aus. Dasselbe gilt für die beiden Fraktionen d und e in der Tab. bezüglich der Gesamtausbeute an Abbauprodukten des Lignins. Die restlichen 50% erscheinen im Formelschema als Trimere, während sie sich in der Tab. auf die drei Fraktionen a—c verteilen; ein Unterschied, der sich aus der Begrenzung des Formelschemas auf 18 C₉-Einheiten ergibt.

Bei tieferer Reduktionstemperatur enthält die Fraktion a dagegen stets noch einen hochmolekularen Ligninanteil, der sich im Uvicord-Diagramm durch ein steiles Maximum zu Beginn der Kurve bei etwa 110 ccm bemerkbar macht. Außerdem sind die Gewichtsverhältnisse der Fraktionen a—e zugunsten von a verschoben. Die relativen Ausb. an a betragen bei 100° (8 Stdn.) 28%, bei 75° (24 Stdn.) 42.3% und bei 50° (48 Stdn.) 61.4%. Man kann jedoch auch bei 50° zu recht befriedigenden Ausbeuten an niederen Spaltprodukten gelangen, wenn man die nach der Gelfiltration erhaltene Fraktion a nochmals unter gleichen Bedingungen mit Raney-Nickel reduziert. Bei dieser zweiten Reduktion entstehen erneut niedermolekulare Phenole der Fraktionen b—e in einer Ausb. von 42%. Nach zweimaliger Reduktion erhält man auf diesem Wege aus 100 g Holz 28.4 g an Spaltprodukten, von denen 72% niedermolekular (tetramer bis monomer) sind. Letztere unterscheiden sich qualitativ nicht von denen, die bei 115° erhalten werden.

Die Gesamtausbeute der Fraktionen a–e ist mit 39 g aus 100 g Holz höher als erwartet (25–27 g), was auf noch anhaftendes Dimethylformamid und noch geringe Mengen Kohlenhydrate zurückgeführt wird. — Auch bei 50° wird nach der ersten Reduktion eine sehr hohe (35.8 g) Gesamtausbeute erhalten.

Isolierung der Spaltprodukte

Papier- und dünn-schicht-chromatographisch besteht die Fraktion e zur Hauptsache aus zwei Phenolen. Die Trennung an Kieselgel ergibt aus 100 g Holz 4.75 g Dihydroeugenol (**11**) und 965 mg Dihydroconiferylalkohol (**7**, $R=R'=H$). Außerdem werden 3.30 g eines Gemisches von mindestens vier weiteren Phenolen erhalten, deren Identifizierung noch aussteht. Bei einem Ligningehalt von 27% im Holz und einem „Molekulargewicht“ von 183⁸⁾ für die Lignineinheit, betragen die Ausbeuten an **11** und **7** ($R=R'=H$) 19.4% und 3.6%.

Die dimeren Phenole wurden durch zweimalige Chromatographie an Kieselgel mit verschiedenen Fließmitteln isoliert. Fünf davon (**12**–**16**) konnten bisher aufgeklärt werden. Lediglich **15** und **16** ließen sich nur über ihre Diacetate voneinander trennen. Alle fünf Phenole werden sowohl bei einer Reduktionstemperatur von 115° als auch bei 50°, jedoch in unterschiedlichen Ausbeuten, erhalten.

Unter den dimeren Phenolen der Fraktion d ist das Bivanillyl (**12**) mit einer Ausb. von 550 mg aus 100 g Holz bisher das mengenmäßig wichtigste; auf eine dimere „Lignineinheit“ bezogen sind das 2.3%. — Die Schmelzpunkte der kristallinen Verbindung sowie von dessen Diacetat stimmen befriedigend mit den Literatur⁹⁾-Daten überein. Die Struktur von **12** wird ferner durch die Spektren bewiesen.

Vom Tetrahydro-dehydro-dieugenol¹⁰⁾ (**13**) konnten nur 120 mg (aus 100 g Holz) erhalten werden, da bei der wiederholten Chromatographie erhebliche Verluste eintreten. Dasselbe gilt wahrscheinlich auch für einige andere Phenole, so daß keine quantitativen Aussagen über die Ligninstruktur gemacht werden sollen. Die Struktur **13**¹⁰⁾ wird außerdem durch das IR- und das Massenspektrum belegt. Diisoeugenol (**14**) konnte aus je 100 g Holz bei verschiedenen Reduktionstemperaturen in Ausbeuten zwischen 66 und 125 mg erhalten werden. Es stimmt im Misch-Schmp., in seinen R_F -Werten und im IR-Spektrum mit synthetischem Diisoeugenol¹¹⁾ überein. Das NMR-Spektrum bestätigt die angenommene Struktur¹²⁾.

Die bisher noch nicht bekannten Phenole **15** und **16** konnten chromatographisch nicht zerlegt werden. Erst die beiden Diacetate ließen sich trennen. Die Ausbeute des Gemisches betrug 550 mg (100 g Holz) bei einem Ansatz, der bei 50° reduziert worden war.

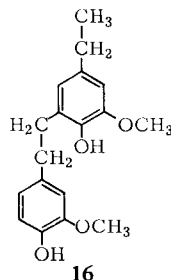
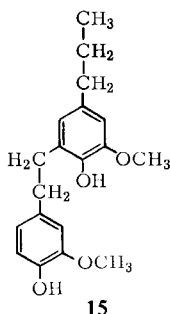
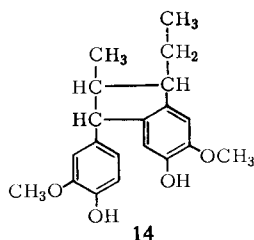
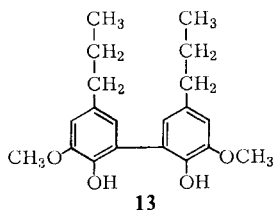
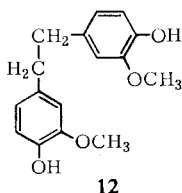
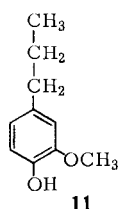
⁸⁾ Berechnet aus der Formel $C_9H_{8.05}O_{2.4}(OCH_3)_{0.92}$ für die Lignineinheit. Vgl. *K. Freudenberg*, *Holzforschung* **18**, 3 (1964).

⁹⁾ *I. A. Pearl*, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4593 (1952).

¹⁰⁾ *H. Erdtman*, *Biochem. Z.* **258**, 172 (1933); *Fr. Fichter* und *A. Christen*, *Helv. chim. Acta* **8**, 332 (1925).

¹¹⁾ *A. Müller* und *A. Horváth*, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **76**, 855 (1943).

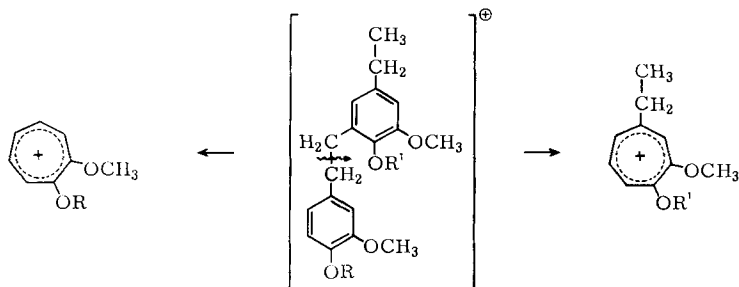
¹²⁾ Im 100 MHz-NMR-Spektrum konnten durch Entkopplung der vicinalen Protonen nach der Doppelresonanzmethode die Verknüpfungsstellen des Diisoeugenols im Sinne von *Müller* und *Horváth*¹¹⁾ bestätigt werden. Für die Aufnahme des Spektrums danke ich Herrn Dr. *J. Ch. Jochims*, Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg.



Aus den Analysenwerten und den massenspektrometrisch ermittelten Molekulargewichten ergeben sich für die Acetate die Summenformeln $C_{23}H_{28}O_6$ und $C_{22}H_{26}O_6$. Je zwei Methoxygruppen lassen sich nach Zeisel/Vieböck und durch die NMR-Spektren (Singulets um $\tau = 6.3$) nachweisen. Die beiden aromatisch gebundenen Acetoxygruppen sind für beide Acetate in den NMR-Spektren (Singulets um $\tau = 7.8$) und den Massenspektren (Signale bei $m/e = M-42$ und $M-84$) erkennbar. Jedes Acetat zeigt Multipletts bei $\tau = 3.1-3.7$ für fünf aromatische Protonen und besitzt je ein Singulett mit der relativen Intensität vier, dessen chemische Verschiebung ($\tau = 7.29$) derjenigen der Äthylenprotonen ($\tau = 7.15$) des Diacetats vom Bivanillyl (**12**) ähnlich ist. Wir ordnen daher dieses Signal den Äthylenprotonen in den Diacetaten von **15** und **16** zu. Da diese Protonen jedoch nicht äquivalent sind, sollte man statt des Singulets in beiden Fällen zwei Triplets erwarten. Offenbar fallen aber diese Signale infolge sehr ähnlicher chemischer Verschiebungen zu einem scheinbaren Singulett zusammen^{12a}). — Die Methylenprotonen der kernständigen Äthylgruppe im Diacetat von **16** ergeben erwartungsgemäß ein Quadruplett bei $\tau = 7.47$ und die Methylenprotonen ein Triplett mit derselben Kopplungskonstanten von $J = 7.5$ Hz bei $\tau = 8.84$. Im NMR-Spektrum des Diacetats von **15** wird die Propylgruppe durch ein Triplett bei $\tau = 7.55$ für die ringbenachbarte Methylengruppe, durch ein Multiplett bei $\tau = 8.2-8.8$ für die mittelständige Methylengruppe und durch ein unsymmetrisches Triplett bei $\tau = 9.10$ für die Methylgruppe angezeigt.

Im Massenspektrum des Diacetats von **16** lassen sich die intensivsten Signale durch die Spaltung der mittleren C—C-Bindung in der Äthylenbrücke des Molekellions (MZ 386) oder die aus ihm durch Abspaltung von einer oder zwei Acetylgruppen gebildeten Fragment-Ionen (MZ 344 und 302) erklären.

^{12a}) *Ann. b. d. Korr.* (7. 1. 69): Inzwischen konnten wir eine Verbindung **15** mit C—CH₂OH anstelle von C—CH₃ synthetisieren. Ihr Triacetat ergibt im NMR-Spektrum für die vier Protonen der Äthylenbrücke ebenfalls ein Singulett bei $\tau = 7.29$.

MZ 179, R = COCH₃

MZ 137, R = H

MZ 386, R = R' = COCH₃MZ 344, R = H, R' = COCH₃

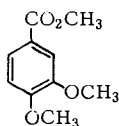
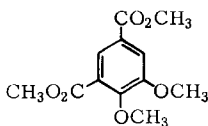
MZ 302, R = R' = H

MZ 207, R' = COCH₃

MZ 165, R' = H

Die Fragment-Ionen der MZ 358 und 316 bilden sich aus den Ionen der MZ 386 und 344 durch Eliminierung eines Bruchstückes der MZ 28. Offenbar wird in diesen beiden Fällen die Äthylgruppe als Äthylen abgespalten. Das Signal bei m/e 151 muß aufgrund seines zugehörigen Isotopenpeaks bei m/e 151.5 dem doppelt geladenen Ion der Masse 302 zugeordnet werden. Die übrigen Signale (s. Versuchsteil) erklären sich aus der Abspaltung von CO, \cdot CH₃, CH₂O und CH₃OH aus den bereits genannten Fragment-Ionen. — Das Massenspektrum des sirupösen Diacetats von **15** läßt sich in entsprechender Weise deuten.

Beim oxydativen Abbau des Gemisches der beiden Phenole **15** und **16** werden nach der Methylierung mit Diazomethan, Oxydation mit Kaliumpermanganat und erneuter Methylierung die Methylester **17** und **18** der Veratrumsäure und der Isohemipinsäure chromatographisch nachgewiesen.

**17****18**

Aus diesen Resultaten ergeben sich für **15** und **16** noch zwei weitere Strukturmöglichkeiten, bei denen die beiden Alkylsubstituenten am zweifach substituierten Guajacylrest vertauscht sind, die aber im Hinblick auf das Lignin sehr unwahrscheinlich sind.

Auswertung der Ergebnisse

Das neue Abbaufahren eröffnet erstmals einen Weg zur strukturellen Erfassung des größten Teils oder des gesamten Lignins. Es kann ferner für den Vergleich der sehr verschiedenartigen in der Natur vorkommenden Lignine dienen. Da bisher nur ein Teil der wichtigsten Spaltprodukte isoliert worden ist, kann eine ausführliche Auswertung hinsichtlich der Ligninstruktur noch nicht gegeben werden.

Die hohen Ausbeuten an Dihydroeugenol und anderen Produkten mit einer Propylseitenkette zeigen an, daß außer Ätherbindungen auch alkoholische C—O-Bindungen gespalten werden. — Die Bildung des Bivanillyls (**12**) erklärt sich aus 1.2-Diaryl-

propan-Verknüpfungen¹³⁾ im Lignin, aus denen Formaldehyd abgespalten wird. Überraschend ist seine hohe Ausbeute. Da das Bivanillyl zwei freie *o*-Stellungen besitzt, sollte es als Bindungstyp in den oligomeren Fraktionen (a–c) sogar noch stärker beteiligt sein als in der Dimeren-Fraktion (d). Man geht daher wohl nicht fehl in der Annahme, daß von 100 C₉-Einheiten des Fichtenlignins mindestens acht an Diaryl-propan-Verknüpfungen beteiligt sind. — Das Biphenylderivat **13** bildet sich aus kernverknüpften Lignineinheiten, die in der Seitenkette nicht durch C–C-Bindungen an andere Lignineinheiten gebunden sind. — Interessant ist das Vorkommen des Diisoeugenols (**14**) unter den Spaltprodukten, da es einen bisher nicht nachgewiesenen Bindungstyp im Lignin anzeigt. Es ist allerdings noch zu prüfen, ob **14** unter den angewandten Bedingungen über Isoeugenol oder Coniferylalkohol aus dem Lignin entstehen kann. — Die beiden Abbauphenole **15** und **16** dürften sich mit Sicherheit aus Phenylcumaran-Einheiten des Lignins bilden.

Herrn Prof. Dr. K. Freudenberg, der mir die Durchführung dieser Untersuchungen ermöglicht hat, schulde ich meinen aufrichtigsten Dank. Ich danke ferner Herrn Doz. Dr. A. Mannschreck für die Anfertigung der NMR-Spektren und Herrn Dr. Ch. Wünsche für die Massenspektren.

Beschreibung der Versuche

Chromatographie: Die angegebenen *R_F*-Werte werden mit den folgenden Lösungsmittelgemischen erhalten: a) Xylol/Dimethylformamid (9 : 2); b) Xylol/Methyläthylketon/Formamid (25 : 25 : 1); c) Cyclohexan/Aceton (5 : 1); d) Cyclohexan/Aceton (3 : 1); e) Cyclohexan/Aceton (2 : 1); f) Cyclohexan/Essigester (3 : 1); g) Cyclohexan/Essigester (10 : 1); h) Äther/Petroläther (40–60°) (1 : 2); k) Benzol/Aceton (3 : 1); l) Benzol/Chloroform (1 : 4); [a] und b) auf vorgetränktem Papier¹⁴⁾ nach Schleicher & Schüll, 2043b Mgl, und c) bis l) auf DC-Platten mit Kieselgel H nach Stahl (E. Merck).

Raney-Nickel: Zur Lösung von 635 g Ätznatron in 2.5 l Wasser gibt man bei 10° unter starkem Rühren portionsweise innerhalb von etwa 2 Stdn. 500 g gepulverte *Nickel-Aluminium-Legierung* (Ni-Gehalt 50%), wobei die Temp. der Lösung 25° nicht überschreiten darf. Danach läßt man über Nacht bei Raumtemp. stehen, dekantiert die Lösung und wäscht den Katalysator etwa zehnmal mit Wasser und abschließend einmal mit Glykol nach.

Gewinnung und Fraktionierung des Rohextraktes: 100 g gemahlene (Korngröße <0.1 mm), mit Aceton/Wasser (9 : 1) bei 20° erschöpfend extrahiertes und über P₂O₅ i. Vak. getrocknetes *Fichtenholz* (*Picea excelsa*) wird 20 Min. an der Ölpumpe i. Vak. gehalten und i. Vak. mit der Mischung von 600 ccm *Thioessigsäure* und 15 ccm *BF₃-Ätherat* übergossen. Nach Aufhebung des Vakuums wird ein CaCl₂-Trockenrohr aufgesetzt und eine Woche bei etwa 22° geschüttelt, wobei leichte H₂S-Entwicklung eintritt.

Anschließend destilliert man die überschüss. Thioessigsäure zuerst 10 Min. an der Wasserstrahlpumpe, dann 30 Min. an der Ölpumpe bei einer Badtemp. von 15° ab. Als Vorlagen dienen zwei Kühlfallen von –80°. — Der Rückstand wird mindestens fünfmal unter einer 5proz. wäbr. Natriumacetatlösung intensiv geknetet und einmal im Mörser sehr fein verrieben, wobei jedesmal auf einer 26 D 2-Fritte scharf abgesaugt wird. Die vereinigten Waschwässer schüttelt man dreimal mit Essigester aus, wäscht die vereinigten Extrakte einmal mit

¹³⁾ H. Nimz, Chem. Ber. **98**, 3160 (1965); **99**, 469 (1966); K. Lundquist und G. E. Miksche, Tetrahedron Letters [London] **1965**, 2131.

¹⁴⁾ K. Freudenberg und B. Lehmann, Chem. Ber. **93**, 1354 (1960).

wenig Wasser und dampft sie i. Vak. bei einer Badtemp. von 30° möglichst vollständig bis zum Sirup ein. — Alle bis hierher ausgeführten Operationen sind unter einem gut ziehenden Abzug auszuführen.

Zum Eindampfrückstand (etwa 5 g) gibt man den oben erhaltenen ausgewaschenen Holzrückstand und rührt intensiv nach Zugabe von 1 l 2*n* NaOH in Glykol/Wasser (3 : 1) 24 Stdn. unter Stickstoff bei 60°. Danach zentrifugiert man ab, bewahrt die Lösung unter Stickstoff auf und rührt den Niederschlag nochmals in gleicher Weise 20 Stdn. mit 800 ccm 2*n* NaOH in Glykol/Wasser (3 : 1). Nach Abzentrifugieren wird der Niederschlag noch dreimal mit insgesamt 1 l Glykol/Wasser (3 : 1) nachgewaschen (Zentrifugieren), anschließend auf einer Fritte zweimal mit Äthanol/Wasser (1 : 1) und einmal mit Methanol gewaschen. Trocknung i. Vak. über P₂O₅ ergibt 45.2 g eines hellgrauen Pulvers mit einem Klason-Ligningehalt¹⁵⁾ von 1.8%.

Die wäßrig-alkalischen Glykollösungen (2.8 l) gibt man vorsichtig in einen 6-l-Rundkolben mit 250 g frisch hergestelltem Raney-Nickel und erhitzt unter Luftausschluß 8 Stdn. zum Sieden. Wegen anfänglichen starken Schäumens darf die Temperatursteigerung nur sehr langsam erfolgen. Danach stellt man Rührer und Heizung ab, läßt unter Luftabschluß erkalten, dekantiert vorsichtig, filtriert die letzten Anteile, säuert die klare, braune Lösung im Scheidetrichter mit 800 ccm halbkonz. Salzsäure an und schüttelt die erhaltene dicke Emulsion sofort fünfmal mit Essigester aus. Zur besseren Phasentrennung kann gegebenenfalls etwas Äthanol hinzugegeben werden. Die vereinigten Auszüge (etwa 3.5 l) werden je einmal mit je 500 ccm Wasser, 5proz. wäßr. Natriumacetatlösung und Wasser gewaschen, i. Vak. auf etwa 1 l eingengt, nochmals mit wenig Wasser ausgeschüttelt und schließlich i. Vak. vollständig von Lösungsmitteln befreit. Man erhält durchschnittlich 40 g eines braunen Sirups, der noch etwas Glykol enthält.

Das oben nach der Reduktion durch Dekantieren erhaltene Raney-Nickel wird noch zweimal mit je 500 ccm einer 1*n* NaOH in Äthanol/Wasser (1 : 1) und einmal mit 500 ccm Äthanol/Wasser (1 : 1) unter Stickstoff und Rühren aufgekocht. Die nach dem Dekantieren erhaltenen Filtrate werden wie oben angesäuert und aufgearbeitet. Man erhält weitere 4–5 g Sirup.

Die filtrierte Lösung des Rohsirups (etwa 45 g) in 50 ccm Dimethylformamid (DMF) füllt man mit DMF auf 100 ccm auf. 0.2 ccm dieser Lösung ergeben bei der Filtration durch eine Säule (2 × 108 cm) mit Sephadex LH-20 und DMF als Fließmittel das Uvicord-Diagramm in der Abbild. — Die präparative Gelfiltration erfolgt in Anteilen von je 10 ccm mit Sephadex LH-20 (7 × 130 cm-Säule) und DMF als Lösungsmittel. Man unterteilt das Eluat gemäß der Abbild. in die Fraktionen a–e, die nach Eindampfen im Rotationsverdampfer an der Ölpumpe i. Vakuumexsikkator bei 1 Torr über konz. Schwefelsäure und Ätzkali eine Woche getrocknet werden. Ausb. a (oligomer) 8.88 g (22.7%), b (tetramer) 4.60 g (11.8%), c (trimer) 6.05 g (15.5%), d (dimer) 8.04 g (20.6%), e (monomer) 11.48 g (29.4%).

Monomere Abbauphenole

Dihydroeugenol (11) und *Dihydroconiferylalkohol* (7, R=R'=H): 1.15 g der nach der Gelfiltration erhaltenen sirupösen Fraktion e wurden durch eine Kieselgelsäule (2.5 × 50 cm) mit Cyclohexan/Aceton (5 : 1, ab Röhrchen 50 mit 3 : 1) chromatographiert. Die Fraktionen (je etwa 12 ccm) 29–35 enthielten 475 mg chromatographisch einheitliches 11 als farbloses bewegliches Öl. *R_F* 0.76 (a), 0.80 (b), 0.42 (c), in Übereinstimmung mit synthet. *Dihydroeugenol*. — Die Röhrchen 36–105 enthielten 330 mg eines Gemisches von mindestens vier verschiedenen Substanzen, die noch nicht näher untersucht worden sind, und die Röhrchen 106–130

¹⁵⁾ Bestimmt nach K. Freudenberg und Th. Ploetz, Ber. dtsh. chem. Ges. 73, 754 (1940).

6.5 mg chromatographisch einheitlichen *Dihydroconiferylalkohol* vom Schmp. und Misch-Schmp.¹⁶⁾ 63°. R_F 0.39 (a), 0.26 (b) und 0.38 (k), in Übereinstimmung mit der synthet. Verbindung¹⁶⁾.

Acetat von 11: Die Lösung von 100 mg **11** in 2 ccm *Pyridin*/*Acetanhydrid* (1 : 1) wird nach 20stdg. Stehenlassen bei etwa 22° in wenig Eiswasser gegossen und nach Zersetzung des überschüss. Acetanhydrids mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformlösung wäscht man je einmal mit 5proz. Natriumhydrogensulfatlösung, mit gesätt. Natriumhydrogencarbonatlösung und mit Wasser, trocknet sie über Natriumsulfat und engt i. Vak. ein. Der zurückbleibende farblose Sirup (105 mg) ist chromatographisch einheitlich. R_F 0.58 (f), in Übereinstimmung mit synthet. *3-Methoxy-4-acetoxy-1-propyl-benzol*¹⁷⁾.

NMR¹⁸⁾ (CCl₄): $\tau = 3.1 - 3.5$ (3 arom. H); 6.30 (3 H, s, OCH₃); 7.47 (2 H, t, $J = 7.5$ Hz, Ar-CH₂-); 7.83 (3 H, s, COCH₃); 8.04-8.85 (2 H, m, Ar-C-CH₂-C); 9.07 (3 H, t, $J = 7$ Hz, Ar-C-C-CH₃).

2,4-Dinitro-phenyläther von 11: 200 mg sirupöses **11** oder synthet. *Dihydroeugenol* werden mit 300 mg *2,4-Dinitro-fluorbenzol*, 200 mg *Natriumhydrogencarbonat* und 2 ccm DMF 20 Stdn. bei etwa 22° geschüttelt, dann das DMF an der Ölpumpe abgedampft und die filtrierte Lösung des Rückstandes in Methanol mit Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Beim Stehenlassen kristallisieren blaßgelbe Nadeln, die nach nochmaligem Umkristallisieren bei 75° schmelzen. Ausb. 268 mg (67%). Die beiden erhaltenen *Dinitrophenyläther* unterschieden sich nicht in Schmp., Misch-Schmp., R_F -Wert und IR-Spektrum. R_F 0.31(g).

IR (KBr): 3112, 3096, 2970, 2940, 2880, 1615, 1600, 1530-1505, 1472, 1460, 1440, 1350, 1320, 1295, 1280, 1248, 1200, 1190, 1160, 1140, 1125, 1100, 1032, 925, 835, 825, 780, 740, 690, 642/cm.

C₁₆H₁₆N₂O₆ (332.3) Ber. C 57.83 H 4.85 N 8.43 1OCH₃ 9.34

Gef. C 57.89 H 4.73 N 8.51 OCH₃ 9.35

Diacetat von 7 (R=R'=H): In üblicher Weise mit *Acetanhydrid*/*Pyridin* hergestellt. R_F 0.37 (d) und 0.34 (f), in Übereinstimmung mit aus *Dihydroconiferylalkohol*¹⁶⁾ hergestelltem Diacetat. Farbloser Sirup.

NMR (CCl₄): $\tau = 3.06 - 3.45$ (3 arom. H); 5.96 (2 H, t, $J = 6.2$ Hz, C-CH₂-OAc); 6.25 (3 H, s, OCH₃); 7.35 (2 H, t, $J = 8$ Hz, Ar-CH₂); 7.80 (3 H, s, ArOCOCH₃); 8.05 (3 H, s, ROCOCH₃); etwa 7.8-8.25 (2 H, m, Ar-C-CH₂-C).

Dimere Abbauphenole

Vortrennung der Fraktion d: 4.02 g Sirup, der nach der Gelfiltration als Fraktion d (s. Abbild.) aus 50 g Holz erhalten worden war, wurden durch eine Kieselsäule (4 × 85 cm) mit Cyclohexan/Aceton (4 : 1, ab Röhrchen 60 mit 3 : 1, ab 140 mit 2 : 1 und ab 200 mit 1 : 1) chromatographiert. Nach Dünnschichtchromatographie jedes zweiten Röhrchens (je etwa 40 ccm) mit den Gemischen d) und h) wurden sechs Fraktionen (d1-d6) erhalten: d1, Röhrchen 25-47, 112 mg; d2, 48-100, 955 mg; d3, 101-130, 530 mg; d4, 131-175, 613 mg; d5, 176-220, 808 mg; d6, 220-250, 205 mg.

¹⁶⁾ H. Nomura und S. Hotta, Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ. **17**, 693, C. **1928**, II, 1325; A. F. Semechkina und N. N. Shorigina, Zhur. Obshei Khim. **28**, 3265 (1958), C. A. **53**, 10747 (1959).

¹⁷⁾ P. Pastrovich, Mh. Chem. **4**, 188 (1883).

¹⁸⁾ Aufgenommen mit einem Vraian-A60-Gerät und Tetramethylsilan als innerem Standard.

Bivanillyl (12): Aus der filtrierten Lösung der Frakt. d3 (530 mg, s. oben) in Äthanol/Wasser kristallisierten beim Stehenlassen im Kühlschrank 275 mg feine Nadeln, die nach nochmaligem Umkristallisieren aus Essigester/Cyclohexan bei 158° (Lit.⁹⁾: 161–162°) schmolzen. R_F 0.48 (a), 0.71 (b), 0.26 (h) und 0.12 (d). Stark fluoreszierend im UV.

IR (KBr): 3400 (breit), 3030, 2965, 2920, 2860, 1605, 1510, 1458, 1430, 1370, 1310, 1270, 1232, 1150, 1118, 1030, 930, 855, 820, 795, 710/cm.

Massenspektrum: m/e 274, 137, 122, 105, 94, 77, 66, 65, 51, 41, 32, 28; metastabile Ionen bei 109 (=122²/137) und 73 (=94²/122).

Diacetat von 12: Mit *Acetanhydrid*/Pyridin; nach zweimaligem Umkristallisieren aus Äthanol/Wasser farblose Nadeln vom Schmp. 139–140° (Lit.⁹⁾: 138–139°). R_F 0.29 (f). Ausb. 79%.

NMR (CCl₄/CDCl₃ 3 : 1): τ = 3.0–3.5 (6 arom. H); 6.29 (6 H, s, 2 OCH₃); 7.15 (4 H, s, –CH₂–CH₂–); 7.74 (6 H, s, 2 COCH₃).

Tetrahydro-dehydro-dieugenol (13): Die Fraktion d2 (955 mg, s. oben) enthält im wesentlichen die vier dimeren Phenole 13–16. Ihre Trennung erfolgt an einer Kieselgelsäule (3 × 75 cm) mit Äther/Petroläther (40–60°) (1 : 3, ab Röhrchen 45 mit 2 : 5, ab 110 mit 1 : 1 und ab 140 mit reinem Äther) bei 15°. Das Eluat wird in die folgenden vier Fraktionen (d2.1–d2.4) unterteilt: d2.1, Röhrchen (je 25 ccm) 61–92, 275 mg; d2.2, 106–140, 143 mg; d2.3, 141 bis 190, 146 mg, und d2.4, 191–215, 96 mg.

Fraktion d2.4 enthält chromatographisch einheitliches 13 und ergibt nach zweimaligem Umkristallisieren des Eindampfrückstandes aus Äthanol/Wasser 60 mg Blättchen vom Schmp. 149–150° (Lit.¹⁰): 150–150.5°). R_F 0.10 (h) und 0.22 (d).

IR (KBr): 3350 mit Schulter bei 3270, 2980, 2955, 2935, 2880, 2855, 1600, 1490, 1465, 1450, 1420, 1380, 1312, 1265, 1233, 1190, 1150, 1095, 1055, 1033, 925, 852, 808/cm.

Massenspektrum: m/e 330, 301, 297, 287, 269, 259, 255, 241, 227, 213, 165, 150.5, 136, 128, 114, 112.5, 78, 43, 31; metastabile Ionen bei 275 (=301²/330) und 241 (=269²/301).

Diisoeugenol (14): Aus der Lösung der Fraktion d2.2 (143 mg, s. oben) in Äthanol/Wasser kristallisierten farblose Stäbchen, die nach nochmaligem Umkristallisieren aus Essigester/Petroläther (40–60°) bei 180° (Lit.¹¹): 180°) schmolzen und keine Schmp.-Depression mit synthet. Produkt zeigten. Ausb. 50 mg. R_F 0.21 (d), 0.32 (h), 0.63 (a) und 0.93 (b).

IR (Nujol): 3345 (breit), 2850–3000, 1615, 1518, 1500, 1460 (Nujol), 1445, 1425, 1375 (Nujol), 1342, 1312, 1277, 1230, 1210, 1200, 1153, 1120, 1108, 1090, 1060, 1035, 1012, 960, 888, 869, 845, 819, 780, 760/cm; übereinstimmend mit synthet. Diisoeugenol¹¹).

Massenspektrum: m/e 328, 299, 284, 267, 239, 204, 189, 175, 160, 143, 137, 115, 91, 77, 55, 43; metastabile Ionen bei 273 (=299²/328), 239 (=267²/299), 127 (= mehrere Möglichkeiten) und 102 (=175²/299).

100 MHz-NMR (CDCl₃): τ = 3.12–3.53 (5 arom. H); 4.52 (1 H, s, OH); 4.56 (1 H, s, OH); 6.10–6.32 (7 H, m, 2 OCH₃ und Ar–CH–Ar'); 6.95–7.24 (1 H, m, Ar–CH–C); etwa 7.30–7.75 (1 H, m, C–CH–C); etwa 8.1–8.9 (2 H, m, C–CH₂–C); 8.95 (3 H, d, J = 7 Hz, C–CH₃); 9.01 (3 H, t, J = 7.5 Hz, C–CH₃).

1-[3-Methoxy-4-acetoxy-phenyl]-2-[5-methoxy-6-acetoxy-3-propyl-phenyl]-äthan (Diacetat von 15): Die Fraktion d2.1 (s. oben) enthält das Gemisch der beiden Phenole 15 und 16, das chromatographisch einheitlich erscheint (R_F 0.63 (a), 0.41 (f), 0.45 (h), 0.40 (e)). Obwohl der Sirup teilweise kristallisierte, gelang die Trennung der freien Phenole bisher nicht. Daher wurde das Gemisch (275 mg) in der üblichen Weise mit *Acetanhydrid*/Pyridin acetyliert, und die Rohacetate wurden durch eine Kieselgelsäule (1.3 × 48 cm) mit Cyclohexan/Aceton (10 : 1) chromatographiert. Die Röhrchen (je 12 ccm) 14–16 enthielten 184 mg einheitliches,

sirupöses Diacetat von **15**, Röhrchen 17 45 mg eines Gemisches und 18–21 88 mg chromatographisch einheitliches Diacetat von **16**. Das *Diacetat von 15* zeigt die R_F -Werte 0.48 (e), 0.45 (h) und 0.42 (f).

Massenspektrum: m/e 400, 372, 358, 330, 316, 193, 179, 165, 158, 151, 137, 122, 107, 91, 77, 55, 43, 28; metastabile Ionen bei 320 (=3582/400) und 279 (=3162/358).

NMR (CCl_4): $\tau = 3.1$ – 3.7 (5 arom. H); 6.30 (3 H, s, OCH_3); 6.36 (3 H, s, OCH_3); 7.29 (4 H, s, $Ar-CH_2-CH_2-Ar$); 7.55 (2 H, t, $J = 7.5$ Hz, $Ar-CH_2-C-C$); 7.80 (3 H, s, $COCH_3$); 7.83 (3 H, s, $COCH_3$); 8.2–8.8 (2 H, m, $Ar-C-CH_2-C$); 9.10 (3 H, t, $J = 7$ Hz, $C-C-CH_3$).

$C_{23}H_{28}O_6$ (400.5) Ber. C 68.98 H 7.05 $2OCH_3$ 15.50
Gef. C 69.27 H 7.17 OCH_3 15.41

1-[3-Methoxy-4-acetoxy-phenyl]-2-[5-methoxy-6-acetoxy-3-äthyl-phenyl]-äthan (Diacetat von 16): Aus der filtrierten Lösung des bei der voranstehend beschriebenen Säulenchromatographie in den Röhrchen 18–21 erhaltenen Sirups (88 mg) in Äthanol/Wasser kristallisierten beim Stehenlassen im Eisschrank feine Nadeln, die nach nochmaligem Umkristallisieren bei 69° schmolzen. Ausb. 75 mg. R_F 0.45 (e), sonst übereinstimmend mit dem Diacetat von **15**.

Massenspektrum: m/e 386, 358, 344, 316, 302, 272, 269, 207, 179, 165, 151, 137, 122, 105, 91, 77, 43, 32, 28; metastabile Ionen bei 307 (=3442/386) und 265 (302/344).

NMR (CCl_4): $\tau = 3.1$ – 3.7 (5 arom. H); 6.26 (3 H, s, OCH_3); 6.34 (3 H, s, OCH_3); 7.29 (4 H, s, $Ar-CH_2-CH_2-Ar$); 7.47 (2 H, qd, $J = 7.5$ Hz, $Ar-CH_2-C$); 7.79 (3 H, s, $COCH_3$); 7.82 (3 H, s, $COCH_3$); 8.84 (3 H, t, $J = 7.5$ Hz, $Ar-C-CH_3$).

$C_{22}H_{26}O_6$ (386.5) Ber. C 68.36 H 6.78 $2OCH_3$ 16.06
Gef. C 67.90 H 6.88 OCH_3 16.02

Oxydativer Abbau von 15 und 16: Die Lösung von 50 mg der sirupösen Fraktion d.2.1 (s. oben) in 1 ccm Methanol wurde mit überschüss. *Diazomethan*-Lösung 2 Tage bei 22° aufbewahrt, dann frische *Diazomethan*-Lösung zugegeben und weitere 2 Tage stehengelassen. Zur Lösung des Eindampfrückstandes in 3 ccm Aceton gab man 5 ccm Wasser, 200 mg Magnesiumsulfat-heptahydrat sowie 50 mg $KMnO_4$ und erhitze 2 Stdn. unter Rühren und Zugabe von zwei weiteren Portionen von je 50 mg $KMnO_4$ nach jeweils 30 Min. zum Sieden. Dann wurde das überschüss. $KMnO_4$ durch einige Tropfen Äthanol zerstört, filtriert, der Filtrerrückstand gründlich mit Aceton nachgewaschen, die vereinigten Filtrate wurden mit $2n$ H_2SO_4 kongosauer gemacht und fünfmal mit Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten äther. Lösungen schüttelte man einmal mit Wasser aus, trocknete sie über Natriumsulfat, engte das Filtrat auf etwa 1 ccm ein und gab überschüss. äther. *Diazomethan*-Lösung hinzu. Nach 2stdg. Stehenlassen bei etwa 22° wurde der Eindampfrückstand für die Chromatographie in einigen Tropfen Aceton gelöst. Dünnschichtchromatographisch ließen sich auf Kieselgel H mit „Leuchtstoff Grün“ (M. Woelm, Eschwege) durch Vergleich mit authent. Proben *Veratransäure-methylester* (**17**) und *Isohemipinsäure-dimethylester* (**18**) nachweisen. R_F (**17**): 0.55 (l), 0.47 (h), 0.55 (e); R_F (**18**): 0.30 (l), 0.43 (h), 0.55 (e). Die Methylester der *Meta-hemipinsäure* (4.5-Dimethoxy-phthalsäure), *Hemipinsäure* (3.4-Dimethoxy-phthalsäure) und der *Dehydro-diveratrumsäure* (2.3.2'.3'-Tetramethoxy-biphenyl-dicarbonsäure-(5.5')), die ebenfalls als Vergleichssubstanzen dienten, hatten andere R_F -Werte und ließen sich chromatographisch in der oben zuletzt erhaltenen Acetonlösung nicht nachweisen.