

Karl Freudenberg und Mohammad Swaleh

## Aufbau und Abbau des künstlichen Lignins aus Coniferylalkohol-[ $\gamma$ - $^{14}\text{C}$ ]

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

(Eingegangen am 8. August 1968)

Die Synthese des Coniferylalkohols-[ $\gamma$ - $^{14}\text{C}$ ] ist neu bearbeitet worden. Sein Dehydrierungsprodukt wurde zu Methoxy-benzolcarbonsäuren abgebaut und deren Aktivität im Hinblick auf das Konstitutionsschema des Coniferenlignins erörtert. Dabei haben sich keine Widersprüche ergeben.

Die Bildung des Coniferylalkohols mit kernbenachbarter Markierung ( $\gamma$ - $^{14}\text{C}$ ) geht von der eingeführten Carbonylgruppe des Vanillins-[ $^{14}\text{CHO}$ ] aus. Die Lithium- und Grignard-Verbindung aus 3-Methoxy-4-benzyloxy-brombenzol (**1**, Bromguajacolbenzyläther) haben *Kratzl* und *Billek*<sup>1)</sup> sowie *Freudenberg* und *Reichert*<sup>2)</sup> mit aktivem Kohlendioxid umgesetzt, um in drei weiteren Schritten zum Vanillin zu gelangen. Die Ausbeuten betragen 35 bzw. 25%, bezogen auf das radioaktive Kohlendioxid. Wir folgten einem Weg, den *Grisebach* und *Patschke*<sup>3)</sup> bei der Synthese des *p*-Hydroxybenzaldehyds-[ $^{14}\text{CHO}$ ] eingeschlagen haben. Umsetzung des Bromids **1** mit  $\text{Cu}^{14}\text{CN}$  führt zum Nitril, das nach *Plieninger* und *Werst*<sup>4)</sup> in das Semicarbazon verwandelt wird. Aus diesem wird Vanillin-[ $^{14}\text{CHO}$ ] mit einer Ausbeute von 43 – 50% (bez. auf  $^{14}\text{CN}$ ) erhalten. Mit Malonsäure-monoäthylester entsteht aus diesem der Ferulasäure-äthylester und daraus der Coniferylalkohol-[ $\gamma$ - $^{14}\text{C}$ ] (32%, bez. auf  $^{14}\text{CN}$ ). Die Synthese des Coniferylalkohols<sup>5,14,15)</sup> wurde in einigen Punkten geändert (s. unten). Seine molekulare Aktivität samt der daraus hergestellten Veratrumsäure stimmte mit der des Vanillins überein.

Nach der Verdünnung mit inaktivem Coniferylalkohol wurde mit Peroxydase dehydriert<sup>5,6)</sup>. Die molekulare Aktivität des Dehydrierungsproduktes (Mol.-Gew. der Einheit = 185) lag unter der des angewendeten Coniferylalkohols. Der Unterschied verschwand jedoch in einer Probe, die mit kalter 70proz. Schwefelsäure

1) *K. Kratzl* und *G. Billek*, *Holzforschung* **7**, 66 (1953); *Mh. Chem.* **84**, 406 (1953).

2) *K. Freudenberg* und *M. Reichert*, *Chem. Ber.* **87**, 1834 (1954).

3) *H. Grisebach* und *L. Patschke*, *Chem. Ber.* **95**, 2098 (1962).

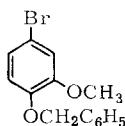
4) *H. Plieninger* und *G. Werst*, *Chem. Ber.* **88**, 1956 (1955).

5) *K. Freudenberg*, *K. Jones* und *H. Renner*, *Chem. Ber.* **96**, 1844 (1963).

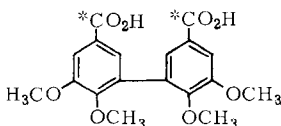
6) *K. Freudenberg* und *F. P. Toribio*, *Chem. Ber.* **102**, 1312 (1969), vorstehend.

(nach *Klason*) behandelt wurde. Das Hauptprodukt, denn nur dieses kann abgebaut werden, wurde wegen der Zusammenballung mit viel Bariumsulfat vermischt<sup>5)</sup> und nach *Freudenberg*, *Chen* und *Cardinale*<sup>7)</sup> mit kleinen Änderungen oxydativ abgebaut.

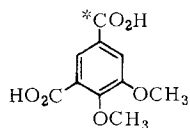
Die Veratrumsäure besaß nur 89% der molekularen Aktivität des Coniferylalkohols und seines nach *Klason* behandelten Dehydrierungsproduktes. Wir können als Grund für das Defizit nur Veränderungen vermuten, die mit der Zersetzlichkeit der radioaktiven Veratrumsäure-[carboxyl- $^{14}\text{C}$ ] zusammenhängen und in Erscheinung treten, wenn eine Probe vor der Messung längere Zeit gelagert hat. Zum Teil rührt der Verlust an Aktivität auch von den Diguajacyl-propandiolen her<sup>8)</sup>.



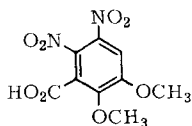
1. Bromguajacol-benzyläther



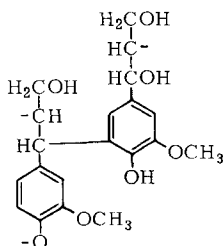
2. akt. Dehydro-diveratrumsäure



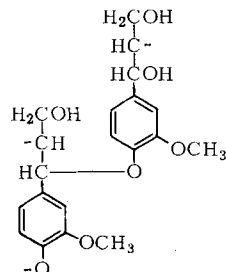
3. akt. Isohemipinsäure



4. 5,6-Dinitro-2,3-dimethoxybenzoesäure



5. Einheiten 2 und 3 im Schema des Lignins



6. Vorstufe der Gruppierung 5

Die Dehydro-diveratrumsäure (2) hatte in jeder Molekülhälfte 86% der molekularen Aktivität des Coniferylalkohols und die Isohemipinsäure (3) 88% der für eine Carboxylgruppe erwarteten Aktivität.

Die radioaktive Isohemipinsäure (3) wurde nach der früheren Vorschrift<sup>5)</sup> in 5,6-Dinitro-2,3-dimethoxybenzoesäure (4) verwandelt. Diese Säure ist inaktiv. Demnach findet im künstlichen Lignin keine Kondensation zwischen  $\text{C}_\gamma$  einer beliebigen Einheit und dem C-Atom 5 einer anderen Einheit statt. Dies bedeutet, daß die Bindung zwischen den Einheiten 2 und 3, die in das Ligninschema<sup>9)</sup> eingetragen ist (5), in

<sup>7)</sup> *K. Freudenberg*, *C.-L. Chen* und *G. Cardinale*, *Chem. Ber.* **95**, 2814 (1962); *K. Freudenberg* und *C.-L. Chen*, ebenda **100**, 3683 (1967).

<sup>8)</sup> *K. Freudenberg*, *K. Penzien* und *H. Renner*, *Chem. Ber.* **102**, 1320 (1969), nachstehend, siehe Fußn. 14, 26) und Formel 4.

<sup>9)</sup> *K. Freudenberg*, *Holzforschung* **18**, 3 (1964); *Science [Washington]* **148**, 595 (1965); *K. Freudenberg* in: *Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics Vol. 2, Constitution and Biosynthesis of Lignin*, Springer-Verlag, Heidelberg-New York, 1968, S. 103/4.

einem frisch hergestellten Präparat nicht oder nur zu minimalen Mengen vorhanden ist. Es wurde wiederholt betont<sup>9)</sup>, daß diese Bindung erst beim Altern des Holzes durch Umlagerung aus einem Benzylaryläther **6** entsteht<sup>10,11)</sup>.

Die Ergebnisse stehen im Einklang mit der schematischen Formel des Coniferenlignins.

Der Deutschen Gesellschaft für Holzforschung danken wir für die wiederholte Gewährung von Mitteln. K. Freudenberg und M. Swaleh.

Dem Deutschen Akademischen Austauschdienst bin ich für die Gewährung eines Stipendiums zu Dank verpflichtet. M. Swaleh.

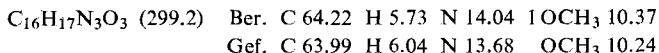
Frau Käthe Penzien danken wir für die Messungen der Radioaktivität.

## Beschreibung der Versuche

3-Methoxy-4-benzyloxy-benzonitril-[<sup>14</sup>CN] wurde aus 3-Methoxy-4-benzyloxy-brombenzol<sup>12)</sup> mit Cu<sup>14</sup>CN nach Friedman und Shechter<sup>13)</sup> gewonnen. Hierzu muß 20 Stdn. in Dimethylformamid gekocht werden. Das Nitril schmilzt, aus Petroläther umkristallisiert, bei 73–74°.



Die weitere Umsetzung folgt unter Berücksichtigung der hier erforderlichen Mengenverhältnisse der angegebenen Vorschrift<sup>3)</sup>. Benzylvanillin-semicarbazon wird aus Äthanol umkristallisiert und schmilzt bei 162–163°.



Das Vanillin wird aus Cyclohexan umkristallisiert. Die Ausb. beträgt im Mittel 45%, bez. auf KCN.

Ferulasäure-äthylester (kernbenachbart markiert): Der rohe Malonsäure-monoäthylester wird mit Äthanol/Benzol (1:19 Vol.) chromatographisch auf Silicagel gereinigt. Das radioaktive Vanillin (0.4–0.7 g) wird mit inaktivem auf 5 g verdünnt und mit 6.6 g Malonsäure-monoäthylester, 5 ccm Pyridin und je 3 Tropfen Piperidin und Anilin 18 Stdn. auf 55–60° erwärmt. Nach dieser Zeit ist das Vanillin nicht mehr nachzuweisen (Silicagel-Dünnschicht mit Äthanol/Benzol 1:19 Vol.). Die Mischung wird i. Vak. bei 60° von Wasser und anderen flüchtigen Substanzen befreit und der Rückstand auf einer Silicagelsäule mit derselben Mischung von Äthanol und Benzol gereinigt. Ausb. 94%.

Coniferylalkohol-[<sup>14</sup>C]: Die früheren Vorschriften<sup>5,14,15)</sup> werden in einzelnen Punkten geändert. Bei kräftigem Rühren wird unter Stickstoff eine auf –20° gekühlte Mischung von 5 g LiAlH<sub>4</sub> und 250 ccm Äther mit der Lösung von 7.5 g Ferulasäure-äthylester in 220 ccm Äther so langsam versetzt, daß die Temperatur –13° nicht übersteigt. Danach wird noch weitere 3 Stdn. gerührt und 15 Stdn. bei –20° aufbewahrt. Jetzt läßt man die Temperatur auf –5° ansteigen, gibt unter kräftigem Rühren feuchten Äther und langsam 15 ccm Wasser zu, wobei die Temperatur +5° nicht übersteigen darf. Nunmehr wird festes Kohlendioxid eingetragen, die Lithium- und Aluminiumsalze werden abfiltriert und mit Äthylacetat gewaschen. Das ätherische Filtrat wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand wiederholt mit

10) K. Freudenberg und H.-K. Werner, Chem. Ber. **97**, 579 (1964).

11) K. Freudenberg, J. M. Harkin und H.-K. Werner, Chem. Ber. **97**, 909 (1964).

12) B. Riegel und H. Witcoff, J. Amer. chem. Soc. **68**, 1913 (1946).

13) L. Friedman und H. Shechter, J. org. Chemistry **26**, 2522 (1961).

14) K. Freudenberg und H. H. Hübner, Chem. Ber. **85**, 1181 (1952).

15) H. Nimz, Chem. Ber. **96**, 478 (1963).

Äthylacetat extrahiert. Das gesamte Äthylacetat wird unter vermindertem Druck auf 200 ccm eingengt, über Natriumsulfat getrocknet und i. Vak. vollkommen abgedampft. Der fest gewordene Rückstand wird in wenig warmem Methylenchlorid mit Petroläther bis zur leichten Trübung versetzt. Im Kühlschrank kristallisiert der *Coniferylalkohol* aus. Er wird abfiltriert, i. Vak. über Phosphorperoxyd getrocknet und eingeschmolzen. Ausb. 74%.

Nach der Methylierung einer Probe mit *Diazomethan* wird der *Dimethoxyzimtalkohol*<sup>16)</sup> in Wasser gelöst und mit *Kaliumpermanganat* und Kaliumcarbonat bei Raumtemperatur oxydiert. Die erhaltene *Veratrumsäure* hat dieselbe molekulare Aktivität wie der angewendete Coniferylalkohol.

Der *Abbau des Dehydrierungsproduktes*<sup>6)</sup> zu den *Methoxy-benzolcarbonsäuren* geschieht nach dem früheren Verfahren<sup>5,7)</sup> in Portionen von 6 g mit dem Unterschied, daß alle Methylierungen mit *Dimethylsulfat* bei 0° ausgeführt werden<sup>17)</sup>. Nach der Behandlung mit ätherischem *Diazomethan* wird der Äther beseitigt, der Rückstand in 250 ccm Aceton/Wasser (85:15 Vol.) mit 250 g Bariumsulfat vermischt und bei 40° i. Vak. eingetrocknet. Das Bariumsulfat als Träger ist nötig, um bei den weiteren Operationen die Verklumpung zu verhindern. Aus der angesäuerten Endlösung werden die Abbausäuren mit Äthylacetat extrahiert.

#### Messung der Radioaktivität

Substanz	% Ausb.	Mol.-Gew.	$\mu\text{C}/\text{mMol}$	vor d. Weiterverarbeitg. verd. auf $\mu\text{C}/\text{mMol}$	% d. Aktivität d. Ausgangsmat.
$\text{Cu}^{14}\text{CN}$	100	89.5		44.0	
Vanillin-[ $^{14}\text{CHO}$ ]	43--50	152	43.72	4.00	99
Ferulasäure-äthylester	43	220			
Coniferylalkohol-[ $\gamma$ - $^{14}\text{C}$ ]	32.5	180	4.050	2.381	101
Daraus vor der Verdünnung: Veratrumsäure		182	4.06		100
Nach Verdünnung: Dehydrierungsprodukt (DHP)	30.7	184.5	2.399		101
Veratrumsäure	2.6	182	2.116		89
Dehydro-diveratrumsäure	0.4	362	4.03		86 <sup>18)</sup>
Isohemipinsäure	0.9	236	2.12		88

<sup>16)</sup> K. Freudenberg und W. Fuchs, Chem. Ber. **87**, 1828 (1954).

<sup>17)</sup> Nach einem Vorschlag von J. M. Harkin.

<sup>18)</sup> Für das halbe Molekül.