

Karl Freudenberg, Käthe Penzien und Hannelore Renner

Abbau des markierten künstlichen und natürlichen Lignins

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

(Eingegangen am 8. August 1968)

In einer Folge von Abhandlungen¹⁻¹⁸⁾ wurde über künstliche Ligninpräparate berichtet, die aus markierten Bausteinen wie Coniferylalkohol gebildet waren (DHP), und über natürliche, die aus Fichten nach Eingabe von markiertem Coniferin und Phenylalanin stammten. Hierbei haben wir uns mit der Seitenkette beschäftigt, um ihr Verhalten bei der Ligninbildung durch den Abbau zu ermitteln. Das Ergebnis ist gemeinsam mit dem anderer Autoren in der Tabelle zusammengestellt.

Das Defizit der Aktivität von Veratrumsäure, Isohemipinsäure und Dehydrodiveratrumsäure aus ringbenachbart markierten DHP scheint auf die Zersetzlichkeit mancher radioaktiver Phenole zurückzuführen zu sein. Hinzu kommt die Unbeständigkeit der Veratrumsäure selbst, wenn ihre Radioaktivität einen gewissen Punkt überschreitet. Bereits früher haben wir gefunden, daß markierte Kaffeesäure derart empfindlich ist⁹⁾, daß sie mit käuflicher Malonsäure der üblichen radioaktiven Konzentration überhaupt nicht hergestellt werden kann. Dem entspricht, daß gewöhnliche Kaffeesäure bei radioaktiver Bestrahlung — *M. Reichert* hat hierfür radioaktives Thallium verwendet — rasch zersetzt wird.

- 1) *K. Freudenberg* und *F. Bittner*, Chem. Ber. **86**, 155 (1953).
- 2) *W. Stumpf*, *F. Weygand* und *O. A. Grosskinsky*, Chem. Ber. **86**, 1391 (1953).
- 3) *K. Freudenberg*, *H. Reznik*, *W. Fuchs* und *M. Reichert*, Angew. Chem. **66**, 109 (1954).
- 4) *K. Freudenberg* und *W. Fuchs*, Chem. Ber. **87**, 1824 (1954).
- 5) *K. Freudenberg* und *M. Reichert*, Chem. Ber. **87**, 1834 (1954).
- 6) *K. Freudenberg*, *H. Reznik*, *W. Fuchs* und *M. Reichert*, Naturwissenschaften **42**, 29 (1955).
- 7) *W. Fuchs*, Chem. Ber. **88**, 1825 (1955).
- 8) *K. Freudenberg*, Angew. Chem. **68**, 84 (1956).
- 9) *K. Freudenberg*, Angew. Chem. **68**, 508 (1956).
- 10) *K. Freudenberg* und *F. Niedercorn*, Chem. Ber. **89**, 2168 (1956).
- 11) *K. Freudenberg* und *F. Niedercorn*, Chem. Ber. **91**, 591 (1958).
- 12) *K. Freudenberg*, *K. Jones* und *H. Renner*, Chem. Ber. **96**, 1844 (1963).
- 13) *K. Freudenberg* und *B. Lehmann*, Chem. Ber. **96**, 1850 (1963).
- 14) *K. Freudenberg*, *C.-L. Chen*, *J. M. Harkin*, *H. Nimz* und *H. Renner*, Chem. Commun. **1965**, 224.
- 15) *K. Freudenberg* und *J. Torres-Serres*, Liebigs Ann. Chem. **703**, 225 (1967).
- 16) *K. Freudenberg* und *F. P. Toribio*, Chem. Ber. **102**, 1312 (1969).
- 17) *K. Freudenberg* und *M. Swaleh*, Chem. Ber. **102**, 1316 (1969), vorstehend.
- 18) *K. Freudenberg* und *O. P. Garg*, Chem. Ber. **102**, 1441 (1969).

Abbau in der Seitenkette markierter, künstlicher und natürlicher Ligninpräparate

abgebaute Substanz	Markierung in der Seitenkette		endständig
	ringbenachbart	mittelständig	
DHP aus markiertem Coniferylalkohol	inaktiv ¹⁹⁾ 89% d. Akt. d. DHP ¹⁷⁾ 88% d. Akt. d. DHP ¹⁷⁾ 86% d. Akt. d. DHP ¹⁷⁾ Metahemipinsäure Hibbert-ketone	inaktiv ^{10, 19)} 1% d. Akt. d. DHP ¹⁴⁾ 50% d. Akt. d. DHP ¹²⁾ 10,5% d. Akt. d. DHP ¹⁴⁾	aktiv ^{1, 6)} <1% d. Akt. d. DHP ^{1, 3, 16)} <1% d. Akt. d. DHP ^{3, 16)} 1,2% d. Akt. d. DHP ¹⁶⁾ nach Säurebehandlg.: aktiv ¹⁾ aktiv ^{8, 9)}
Fichtenlignin in Gegenwart von markiertem Coniferin gewachsen	inaktiv ¹⁹⁾ aktiv ^{22, 23)} aktiv ²⁴⁾ Aus Sul-) Vanillin fonsäure) Acetaldehyd	inaktiv ¹⁹⁾ 1% d. Akt. d. Lignins ¹⁴⁾ 53% d. Akt. d. Lign. ¹⁴⁾ 12% d. Akt. d. Lign. ¹⁴⁾ aktiv ²⁴⁾	aktiv ²¹⁾ 1% d. Akt. d. Lign. aktiv ⁸⁾
Fichtenlignin in Gegenwart von markiertem DL-Phenylalanin gewachsen	Veratrumssäure Isohemipinsäure Metahemipinsäure Hemipinsäure Methoxytrimesinsäure 4-Methoxy-isophthalsäure 4-Methoxy- <i>o</i> -phthalsäure Trimethoxy- <i>o</i> -phthalsäure 2,3,4-Trimethoxy-benzoessäure	1% d. Akt. d. Lign. ¹³⁾ 29% d. Akt. d. Lign. ¹³⁾ 15% d. Akt. d. Lign. ¹³⁾ 10% d. Akt. d. Lign. ¹³⁾ wenig aktiv wenig aktiv } ¹³⁾ wenig aktiv wenig aktiv }	2% d. Akt. d. Lign. ¹⁶⁾ 7% d. Akt. d. Lign. ¹⁶⁾ Aminsäure: 1,3% d. Akt. d. Lign. ¹⁶⁾
Lignin in Gegenwart von diffus markiertem L-Phenylalanin gewachsen	Hibbert-ketone	aktiv ^{8, 9, 25)}	

19) K. Freudenberg, J. prakt. Chem. (4) 10, 232 (1960).

20) K. Kratzl, G. Billek, A. Graf und W. Schweers, Mh. Chem. 87, 60 (1956).

21) K. Freudenberg, Pure appl. Chem. 5, 9 (1962).

22) K. Kratzl, G. Billek, E. Klein und K. Buchtele, Mh. Chem. 88, 721 (1957).

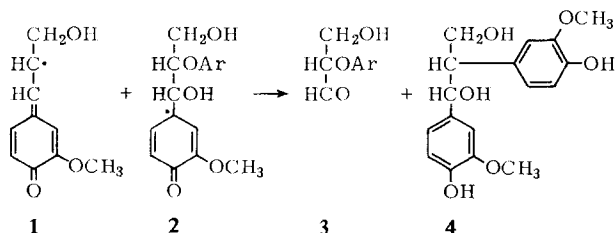
23) K. Kratzl und H. Faigle, Mh. Chem. 89, 708 (1958).

24) K. Kratzl, Cellular Ultrastructure of Woody Plants, S. 166, Syracuse University Press 1965.

25) S. A. Brown und A. C. Neish, Nature [London] 175, 688 (1955).

Bei mittelständiger und endständiger Markierung wurden größere radioaktive Konzentrationen vermieden. Die Aktivität der Metahemipinsäure gibt zuverlässige Werte nur dann, wenn das künstliche oder natürliche Lignin nicht mit starker Mineralsäure behandelt worden ist. Es ist seit langem bekannt, daß Ligninpräparate, die nicht mit Säure in Berührung waren, beim Abbau sehr wenig Metahemipinsäure liefern. Die 6-Stellung der Coniferylkörper scheint sich durch Säure vorzugsweise mit dem endständigen Carbinol der Seitenkette zu kondensieren. Das Produkt liefert alsdann bei endständiger Markierung aktive Metahemipinsäure. Die Übereinstimmung der Isohemipinsäure und Metahemipinsäure verschiedener Herkunft bei mittelständiger Markierung ist schon früher¹⁴⁾ als Hinweis auf die Ähnlichkeit des DHP mit dem Lignin gedeutet worden. Auch der Versuch mit Phenylalanin liegt qualitativ in derselben Linie. Hier kann hervorgehoben werden, daß *Kratz*²⁴⁾ auf einem anderen Wege die Übereinstimmung zwischen DHP und Lignin festgestellt hat. Die Sulfonsäuren beider bilden mit Alkali Vanillin und Acetaldehyd, die je nach der Markierung des eingegebenen Coniferins radioaktiv sind. Die Aktivität der Veratrumsäure bei mittelständiger Markierung des DHP kann mit der Bildung von Diguajacyl-propandiol (**4**) (siehe unten) zusammenhängen oder beruht auf Streuung.

Wenn die Eingabe von mittelständig markiertem Coniferin in die Fichte nachgearbeitet wird, sollte auf die Aktivität der Veratrumsäure geachtet werden, weil sie einen Maßstab bilden könnte für die Menge des im Lignin vorkommenden 1.2-Diguajacyl-propandiols-(1.3)¹⁴⁾ (**4**), denn dieses sollte bei mittelständiger Markierung aktive Veratrumsäure liefern. Dieses Dehydrierungsprodukt von 2 Molekülen Coniferylalkohol, deren eines die Seitenkette verloren hat, bildet sich in sehr geringen Mengen auch im DHP²⁶⁾. Aus den Versuchen von *Nimz*²⁷⁾ am Lignin scheint jedoch hervorzugehen, daß es im Lignin verbreiteter ist und wohl zu einigen Prozenten vorkommt. Diese Diphenylpropandirole kommen zustande durch Wechselwirkung eines Radikals nach der Art von **2** mit dem Chinonmethidradikal **1**. Im Falle **2**²⁸⁾ reagiert das Radikal in *para*-Stellung zur ursprünglichen Phenolgruppe. Diese Form der dehydrierten C₆C₃-Einheiten wird sich vorzugsweise ausbilden, wenn, wie bei **2**, eine Einheit über die Seitenkette bereits in größere Aggregate eingebaut ist. Wenn also größere Aggregate unter Dehydrierung und Anbau von **1** weiter reagieren, wird die Bildung der Diphenyldirole (**4**) begünstigt sein. Hier scheint uns ein Unterschied zwischen DHP und dem Lignin der Pflanze angedeutet zu sein. Das DHP hat keinen



26) K. Freudenberg und H. Nimz, Chem. Commun. **1966**, 132.

27) H. Nimz, Chem. Ber. **99**, 2638 (1966).

28) K. Freudenberg, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] **11**, 43 (1954).

Grund, ausgebreitet und flächig aufzutreten. Man wird es sich vielmehr in geballter Form vorstellen dürfen mit eingebetteten, zum Teil unzugänglichen Phenolgruppen. Es besitzt einen Polymerisationsgrad, ähnlich wie das MW-Lignin nach *Björkman*, von rund 50 Einheiten. Das Lignin im Holze ist mit den Polysacchariden chemisch verbunden und vermutlich höheren Molekulargewichtes. Es ist sicherlich kein Zufall, daß das Lignin nur in Anwesenheit von Polysacchariden auftritt. Auf der gequollenen Oberfläche der Polysaccharidaggregate vermag es sich flächig auszubreiten und seine Phenolgruppen für die Weiterreaktion besser anzubieten als das DHP. Diese Weiterreaktion führt einmal zu einem höheren Molekulargewicht und dann gerade zu der Bildung der Diphenylpropandiole.

Aus der abgespaltenen Seitenkette **3** wird bei der Hydrolyse Glycerinaldehyd und daraus Methylglyoxal freigesetzt. Dieses ist von *Adler*²⁹⁾ in der Sulfitablaugung und von *Lundquist* und *Miksche*³⁰⁾ bei der Sulfitkochen von MW-Lignin nach *Björkman* gefunden worden (0.3% des Lignins).

Wenn mit Säure gewonnenes Lignin mit Diazomethan methyliert und ohne Behandlung mit Alkali oxydiert wird, tritt eine geringe Menge von Isohemipinsäure auf³¹⁾. Ein nicht mit Säure behandeltes DHP aus mittelständig markiertem Coniferylalkohol wurde ebenso verarbeitet und an der in Spuren auftretenden Isohemipinsäure keine Aktivität gefunden³²⁾. Dieses Präparat entstammt demnach nicht einer dem Dehydro-diconiferylalkohol entsprechenden ringoffenen Anordnung. Wahrscheinlicher ist die Gruppierung **5** der unter¹⁷⁾ zitierten voranstehenden Abhandlung. Früher wurde bei einem entsprechenden Versuch aktive Isohemipinsäure erhalten⁹⁾. Wir schreiben dem mit der heutigen Technik durchgeführten Versuch mehr Beweiskraft zu.

Vor einiger Zeit wurde festgestellt¹⁵⁾, daß nach Eingabe von radioaktivem Phenylalanin in junge Fichtenzweige bereits nach wenigen Tagen aktives Coniferin im Gemisch mit ebensolchem Glucocumaralkohol und Syringin auftritt. Diese kristallinen isolierten Glucoside sind ein Durchgangsprodukt für die Ligninbildung und treten in einer minimalen Ausbeute von 0.03% auf, bezogen auf das eingegebene Phenylalanin. Es ist nicht zu erwarten, daß das Phenylalanin ausschließlich den Weg zum Lignin geht, und es ist naheliegend, die Ausbeute an diesen Glucosiden auf den wasserlöslichen Inhalt der Zweige zu beziehen. Vergleicht man die Radioaktivität der wasserlöslichen Anteile mit der Radioaktivität der Glucoside, so berechnet sich deren Ausbeute zu 0.2%.

Es fiel auf und wurde seinerzeit erwähnt¹⁵⁾, daß in den jungen Zweigen der Glucocumaralkohol gegenüber den beiden anderen Glucosiden in verhältnismäßig größerer Menge auftritt als im Cambium reifer Bäume. Diese Erscheinung steht ohne Zweifel in Zusammenhang mit der 1963¹³⁾ und jetzt wieder¹⁶⁾ am Lignin 1- bis 2-jähriger Fichtentriebe gemachten Beobachtung, daß dieses junge Lignin einen geringeren Methoxylgehalt besitzt als das Lignin reifer Stämme. In diesen ist 0.92 Methoxyl pro C₉-Einheit enthalten, während in ganz jungem Holze 0.7 bis hinunter zu 0.6 Methoxyl

²⁹⁾ *E. Adler*, *Svensk Papperstidn.* **50**, 9 (1947).

³⁰⁾ *K. Lundquist, G. E. Miksche, L. Ericsson und L. Berndtson*, *Tetrahedron Letters* [London] **1967**, 4587.

³¹⁾ *H. Richtzenhain*, *Chem. Ber.* **83**, 488 (1950).

³²⁾ Den Versuch hat Frau Dr. *H. Renner* ausgeführt.

angetroffen wurde. Somit paßt das Lignin der Fichte in das interessante Bild, das *S. M. Manskaja* bereits 1958³³⁾ entworfen hat: „Für junge Teile der höheren Pflanzen sowie auch für niedrig organisierte Vertreter der phylogenetischen Reihe ist ein kleiner Gehalt an Lignin mit niedriger Methoxylzahl . . . kennzeichnend . . . In der Phylogenese des Lignins ist die Wiederholung von Merkmalen der Ontogenese ersichtlich“³³⁾.

Für die hier angedeuteten Probleme sei auf die vor kurzem erschienene Zusammenfassung der Ligninchemie verwiesen³⁴⁾.

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

³³⁾ Proceedings of the IV. International Congress of Biochemistry Vol. 2, S. 224, Biochemistry of Wood, Wien 1958, Pergamon Press 1959.

³⁴⁾ *K. Freudenberg, A. C. Neish*, Constitution and Biosynthesis of Lignin, Molecular-Biologie, Biochemie und Biophysik, Bd. 2, Springer-Verlag.