

# E. Vorträge über Biochemie

## Vergleichende Untersuchung des natürlichen und biosynthetischen Lignins

VON K. FREUDENBERG

*Vortrag beim Chemischen Symposium  
anlässlich der 550-Jahrfeier der Universität Leipzig*

Am Lignin sind im Laufe von hundert Jahren zahllose chemische Beobachtungen gemacht worden, die in der Folge durch verfeinerte Messungen mehr und mehr nach der quantitativen Seite hin entwickelt wurden. An diesen Arbeiten sind Chemiker der verschiedensten Länder beteiligt. Drei hauptsächliche Ligninarten können unterschieden werden:

1. Das Coniferenlignin, dessen Stammkörper zum weitaus größten Teil aus Coniferylalkohol (4-Hydroxy-3-methoxy-zimtalkohol) besteht; p-Cumaralkohol (4-Hydroxy-zimtalkohol) und Sinapinalkohol (4-Hydroxy-3,5-dimethoxy-zimtalkohol) nehmen nur in sehr geringer Menge teil.

2. Laubholzlignin: Die Hauptbestandteile sind Sinapinalkohol und Coniferylalkohol; p-Cumaralkohol scheint nur in verschwindender Menge vorhanden zu sein.

3. Gramineenlignin: Seine Grundlage sind p-Cumaralkohol, Coniferylalkohol und Sinapinalkohol.

Im folgenden ist, wenn nicht ausdrücklich anderes erwähnt wird, vom Coniferenlignin die Rede, weil es in chemischer Hinsicht am einfachsten aufgebaut ist.

Trotz der in großer Zahl vorliegenden analytischen Ergebnisse, die mit stets verbesserter Meßmethodik zutage gefördert wurden (in den letzten Jahren von E. ADLER<sup>1)</sup>, K. KRATZL<sup>2) 3)</sup>, A. v. WACEK<sup>4)</sup>,

---

<sup>1)</sup> E. ADLER u. B. STENEMUR, Chem. Ber. **89**, 291 (1956); E. ADLER in *Biochemistry of Wood*, Pergamon Press London 1959, S. 131; E. ADLER u. J. GIERER in *Chemie der Pflanzenzellwand* (E. TREIBER), S. 484, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1957.

<sup>2-4)</sup> s. S. 221.

J. GIERER<sup>5)</sup>, M. J. MARTON<sup>6)</sup>, K. FREUDENBERG und K. DALL<sup>7)</sup> und vielen anderen), ist es unmöglich, zu einem Konstitutionsbild des Lignins zu gelangen. Nachdem es gelungen war, Coniferenlignin in vitro nachzubilden, ist die Konstitutionsermittlung des Coniferenlignins einen indirekten Weg gegangen: Durch Untersuchung der Zwischenprodukte der Ligninbildung in vitro werden Schlüsse auf die Konstitution des natürlichen Polymoleküls gezogen. Dieses Verfahren ist selbstverständlich nur dann zulässig, wenn diese Zwischenprodukte auch für das natürliche Lignin des Holzes verbindlich sind. Diese Frage soll hier ausführlich geprüft werden, nachdem vor kurzem auf dem Boden dieser Voraussetzung eine Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse der Konstitutionsforschung veröffentlicht worden ist<sup>8)</sup>. Ein Teil der älteren Arbeiten des Heidelberger Laboratoriums über Lignin ist in einer Zusammenstellung vom Jahre 1954 angeführt worden<sup>9)</sup>; seitdem sind weitere Arbeiten erschienen<sup>7) 8) 10-37)</sup>.

<sup>2)</sup> K. KRATZL, G. BILLEK, E. KLEIN u. K. BUCHTELA, *Monatsh.* **88**, 721 (1957); K. KRATZL u. G. HOFBAUER, *Monatsh.* **89**, 96 (1958); K. KRATZL u. H. FAIGLE, *Monatsh.* **89**, 708 (1958).

<sup>3)</sup> G. BILLEK, IV. Intern. Kong. Biochem. Wien, Sympos. II, London, Pergamon Press, S. 207 (1959); K. KRATZL, W. KISSER, A. GRAF u. G. HOFBAUER, *Monatsh.* **90**, 526 (1959). K. KRATZL u. G. BILLEK, *Monatsh.* **90**, 536 (1959).

<sup>4)</sup> A. v. WACEK, W. LIMONTSCHEW u. F. ZEISLER, *Chem. Ber.* **89**, 447 (1956).

<sup>5)</sup> J. GIERER, *Chem. Ber.* **80**, 257 (1956); *Acta Chem. Scand.* **8**, 1319 (1954).

<sup>6)</sup> M. J. MARTON, *Svensk. kem. Tridskrift* **71**, 439 (1959).

<sup>7)</sup> K. FREUDENBERG u. K. DALL, *Naturwiss.* **42**, 606 (1955).

<sup>8)</sup> K. FREUDENBERG, *Chem. Ber.* **92**, LXXXIX (1959).

<sup>9)</sup> K. FREUDENBERG in L. ZECHMEISTERS *Fortschr. d. Chem. org. Naturstoffe* **11**, 43 (1954).

<sup>10)</sup> K. FREUDENBERG u. W. FUCHS, *Chem. Ber.* **87**, 1824 (1954).

<sup>11)</sup> K. FREUDENBERG u. M. REICHERT, *Chem. Ber.* **87**, 1834 (1954).

<sup>12)</sup> K. FREUDENBERG, H. REZNIK, W. FUCHS u. M. REICHERT, *Naturwiss.* **42**, 29 (1955).

<sup>13)</sup> K. FREUDENBERG u. G. ACHTZEHN, *Chem. Ber.* **88**, 10 (1955).

<sup>14)</sup> K. FREUDENBERG u. H. SCHRAUBE, *Chem. Ber.* **88**, 16 (1955).

<sup>15)</sup> K. FREUDENBERG u. H. SCHLÜTER, *Chem. Ber.* **88**, 617 (1955).

<sup>16)</sup> K. FREUDENBERG u. W. EISENHUT, *Chem. Ber.* **88**, 626 (1955).

<sup>17)</sup> K. FREUDENBERG, *J. Polymer. Sci.* **16**, 155 (1955).

<sup>18)</sup> K. FREUDENBERG, *Lignin*. In Paech & Tracey, *Moderne Methoden der Pflanzenanalyse III*, 499, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955.

<sup>19)</sup> W. FUCHS, *Chem. Ber.* **88**, 1825 (1955).

<sup>20)</sup> K. FREUDENBERG u. G. SCHUHMACHER, *Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wissenschaften*, Jg. 1955/56, 3. Abhdlg., S. 127.

<sup>21)</sup> K. FREUDENBERG, *Angew. Chem.* **68**, 84 (1956).

<sup>22)</sup> K. FREUDENBERG u. O. AHLHAUS, *Mh. Chem.* **87**, 1 (1956).

<sup>23-37)</sup> s. S. 222.

Die Frage lautet mit anderen Worten: Verläuft die Synthese in vitro genau wie die in vivo? Die Bejahung dieser Frage setzt voraus:

1. Gleichheit der Ausgangsmaterialien;
2. Gleichheit der Enzymsysteme;
3. der Acceptoren, der Temperatur und sonstigen Bedingungen;
4. Gleichheit der Endprodukte.

Daraus ergeben sich:

5. die Folgerungen. Die Frage ist zu bejahen.

Anschließend werden behandelt:

6. der Verlauf der Biosynthese und die Zwischenprodukte;
7. Ausblick.

### 1. Ausgangsmaterialien

Die Biosynthese bedient sich ausschließlich des Coniferylalkohols, um klare Verhältnisse zu schaffen. Es wäre sehr wohl möglich, wenige Prozente p-Cumaralkohol und Sinapinalkohol mitzuverwenden, aber die Menge ihres Anteils im natürlichen Lignin ist nicht genau festzustellen. Man weiß lediglich, daß die anderen p-Hydroxy-zimtalkohole bei der Dehydrierung zusammen mit dem Coniferylalkohol leicht Mischpolymerisate liefern. Die ausschließliche Verwendung des Coniferylalkohols ist demnach eine Annäherung, die so lange erlaubt ist, als sie innerhalb der Fehlergrenzen liegt. Dies ist bisher der Fall, wenn man von den sehr geringen Mengen an p-Hydroxybenzaldehyd und Syringaaldehyd absieht, die neben Vanillin bei der Oxydation des Coniferenlignins entstehen.

<sup>23</sup>) K. FREUDENBERG, *Angew. Chem.* **68**, 508 (1956).

<sup>24</sup>) K. FREUDENBERG u. F. NIEDERCORN, *Chem. Ber.* **89**, 2168 (1956).

<sup>25</sup>) K. FREUDENBERG, *Composite Wood* **3**, 83 (1956).

<sup>26</sup>) K. FREUDENBERG, *Ind. and Eng. Chem.* **49**, 1384 (1957).

<sup>27</sup>) K. FREUDENBERG, *Croat. Chem. Acta* **29**, 189 (1957).

<sup>28</sup>) K. FREUDENBERG u. L. KNOF, *Chem. Ber.* **90**, 2857 (1957).

<sup>29</sup>) K. FREUDENBERG, J. HARKIN, M. REICHERT u. T. FUKUZUMI, *Chem. Ber.* **91**, 581 (1958).

<sup>30</sup>) K. FREUDENBERG u. F. NIEDERCORN, *Chem. Ber.* **91**, 591 (1958).

<sup>31</sup>) K. FREUDENBERG, *J. Polymer. Sci.* **29**, 433 (1958).

<sup>32</sup>) K. FREUDENBERG, G. GRION u. J. M. HARKIN, *Angew. Chem.* **70**, 743 (1958).

<sup>33</sup>) K. FREUDENBERG, *Biochemische Vorgänge bei der Holzbildung. IV. Internat. Kongr. f. Biochemie, Vol. II, Biochemistry of Wood*, Pergamon Press London 1958, S. 121.

<sup>34</sup>) K. FREUDENBERG, K. SEIB u. K. DALL, *Chem. Ber.* **92**, 807 (1959).

<sup>35</sup>) K. FREUDENBERG u. A. SAKAKIBARA, *Liebigs Ann. Chem.* **623**, 129 (1959).

<sup>36</sup>) K. FREUDENBERG, *Nature* **183**, 1152 (1959).

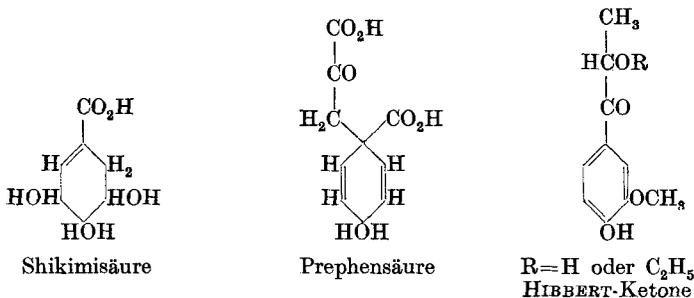
<sup>37</sup>) K. FREUDENBERG u. G. GRION, *Chem. Ber.* **92**, 1355 (1959).

Das Mengenverhältnis dieser Aldehyde ist ein sehr unvollkommener Maßstab für den Anteil der zugehörigen Zimtalkohole am Aufbau des Lignins. Sie sind Mindestwerte; p-Hydroxybenzaldehyd wird mit der geringsten Ausbeute aus der p-Cumaralkohol-komponente gebildet werden, weil diese zwei Kondensationsstellen (3 und 5) im Benzolkern hat.

Während der Wachstumsperiode befindet sich bei den Coniferen im saftreichen Gewebe der Cambiumregion das Coniferin, das Glucosid des Coniferylalkohols. Die entsprechenden Glucoside des Sinapinalkohols (Syringin) und des p-Cumaralkohols sind im Coniferensaft trotz Suchens noch nicht gefunden worden. Wenn überhaupt, so können sie nur in sehr geringen Mengen anwesend sein. Im Coniferin ist der keineswegs selbstverständliche, sogar durchaus nicht häufige Fall gegeben, daß ein Zwischenprodukt in erheblicher Menge im Gewebe angereichert ist und der weiteren Verarbeitung harrt. Das Coniferin bildet hier eine Art Depot, das zur Verfügung steht, um nach der Erzeugung neuer Zellen durch das Cambium zur Verholzung zu dienen. Hierbei wird der Coniferylalkohol durch eine nachgewiesene<sup>9)</sup>, in den in Verholzung begriffenen Zellen lokalisierte  $\beta$ -Glucosidase aus dem Glucosid Coniferin freigelegt, um alsdann an Ort und Stelle durch die vorhandenen Phenoldehydrasen in Lignin verwandelt zu werden.

Zunächst soll die Herkunft des Coniferins im Cambium behandelt werden.

Das Aglykon des Coniferins, der Coniferylalkohol ist eine der zahlreichen  $C_6C_3$ -Substanzen der Natur. Die von B. D. DAVIS<sup>38)</sup> und KATAGIRI<sup>39)</sup> erkannte Herkunft dieser Stoffe über die im Zuckerstoffwechsel entstehende Shikimisäure ist heute anerkannt. Aus ihr bilden sich über die Prephensäure<sup>38)</sup> Phenylbrenztraubensäure und weitere Säuren der



<sup>38)</sup> U. WEISS, C. GILVARY, E. S. MINGIOLI u. B. D. DAVIS, Science [New York] **119**, 774 (1954).

<sup>39)</sup> M. KATAGIRI, J. Biochem. **40**, 629 (1953); M. KATAGIRI u. R. SABO, Science **180**, 250 (1953).

$C_6C_3$ -Reihe. Mit der Auffassung, daß auch die Bildung des Lignins diesen Weg geht, stehen in Übereinstimmung die Versuche von S. A. BROWN und A. C. NEISH<sup>40</sup>), sowie von EBERHARDT und SCHUBERT<sup>41</sup>), die ergeben haben, daß radioaktive Shikimisäure in verschiedene Pflanzen eingeführt, in das Lignin in solcher Gestalt eingebaut wird, daß aus diesem nach der Oxydation radioaktives Vanillin und je nach der Pflanzenart ebensolcher Syringaaldehyd und p-Hydroxybenzaldehyd entstehen. Dieser Versuch beweist die Aromatisierung der Shikimisäure sowie die Substitution des entstandenen Benzolderivates zu gleichen Hydroxy- und Methoxy-Gruppierungen, wie sie auch in dem betreffenden Lignin vorkommen. Wenn auch nicht zu bezweifeln ist, daß die Shikimisäure zunächst zu einer  $C_6C_3$ -Substanz aufgebaut und diese in Gestalt von dehydrierten p-Hydroxyzimtalkoholen in das Lignin eingebaut wird, so ist doch kein strenger Beweis für diese Auffassung vorhanden. Der Versuch müßte ergänzt werden durch die Isolierung der radioaktiven Ligninkomponente in Gestalt einer  $C_6C_3$ -Verbindung, am besten in Form der HIBBERT-Ketone, deren Entstehen durch Alkoholyse aus dem Lignin für dieses charakteristisch ist<sup>42</sup>). Bei dem Aufbau der  $C_6C_3$ -Gruppe entsteht aus Prephensäure zunächst die Phenylbrenztraubensäure. Daher sind alle Versuche von Interesse, diese Säure<sup>43</sup>) oder Zimtsäure<sup>43</sup>), Phenylalanin<sup>43</sup>), Tyrosin<sup>43</sup>), p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure<sup>44</sup>), Ferulasäure<sup>43</sup>) in radioaktiver Form in die Pflanze einzuführen und ihren Einbau in das Lignin zu kontrollieren. Dies ist auch von verschiedenen Autoren an mehreren Pflanzenarten durchgeführt worden<sup>43</sup>)<sup>44</sup>). Das Ergebnis war, daß jedes Mal bei der Oxydation je nach der Pflanzenart radioaktives Vanillin allein oder in Gesellschaft von Syringaaldehyd oder p-Hydroxybenzaldehyd entstand. Auch hier ist nicht zu bezweifeln, daß die untersuchten Substanzen in echtes Lignin übergeführt worden sind. Dennoch fehlt die Isolierung einer für das Lignin charakteristischen Abbauverbindung der Gruppe  $C_6C_3$ . Solche Versuche sind mit gutem Erfolg im Wiener Laboratorium von KRATZL<sup>2</sup>) sowie in Heidelberg<sup>21</sup>) mit radioaktivem Coniferin und radioaktivem Phenylalanin<sup>23</sup>) sowie radioaktiver

<sup>40</sup>) S. A. BROWN u. A. C. NEISH, Nature [London] **175**, 688 (1955).

<sup>41</sup>) G. EBERHARDT u. W. Z. SCHUBERT, J. Amer. chem. Soc. **78**, 2835 (1956).

<sup>42</sup>) Vgl. z. B. Fußnote 23.

<sup>43</sup>) S. A. BROWN u. A. C. NEISH, Canad. J. Biochem. Physiol. **33**, 948 (1955); **34**, 769 (1956); S. A. BROWN, K. G. TANNER u. J. E. STONE, Canad. J. Chem. **31**, 755 (1953).

<sup>44</sup>) p-Hydroxyphenylbrenztraubensäure bei Zuckerrohr: S. N. ACERBO, W. J. SCHUBERT u. F. F. NORD, J. Amer. chem. Soc. **80**, 790 (1958); bei Fichte K. KRATZL u. G. BILLEK, Monatsh. **90**, 536 (1959); G. BILLEK, IV. Intern. Congr. Biochem. Wien, Sympos. V Pergamon Press London, S. 207 (1959); bei verschiedenen Pflanzen S. A. BROWN, D. WRIGHT u. A. C. NEISH, Canad. J. Biochem. Physiol. **37**, 25 (1959).

Ferulasäure<sup>23</sup>) angestellt worden, die alle radioaktive HIBBERT-Ketone ergaben. Bei der Durchführung dieses Versuches haben wir im Aglykon radioaktives Coniferin oder radioaktives Phenylalanin durch die abgestutzten Nadeln eines kleinen Zweiges junger Fichtenstämmchen aufsaugen lassen (Tauchtrieb<sup>12</sup>). Nach einigen Tagen ist die Fixierung des größten Teils der radioaktiven Substanz im unlöslichen Lignin vollzogen. L-Coniferin, aus radioaktivem Coniferylalkohol und L-Glucose hergestellt, wird jedoch nicht fixiert<sup>12</sup>). Die Erklärung liegt auf der Hand: Die oben erwähnte  $\beta$ -Glucosidase kann das L-Coniferin nicht angreifen, so daß das eigentliche Ausgangsmaterial für die Ligninbildung, der Coniferylalkohol, aus dem L-Coniferin nicht entstehen kann. Schließlich gelang es nachzuweisen, daß radioaktives Phenylalanin in kurzer Zeit nach der Aufnahme durch den Zweig zunächst in radioaktives Coniferin verwandelt wird, das kristallinisch isoliert wurde<sup>30</sup>). Es wird im weiteren Verlauf in radioaktives Lignin übergeführt. Damit ist die Bildung des Coniferins aus  $C_6C_3$ -Säuren bewiesen. Daß Coniferin in Fichtenlignin umgewandelt wird, soll unten ausführlich dargetan werden.

Die Natur kennt offenbar noch andere Wege zum Aufbau des Coniferins. K. KRATZL, G. BILLEK und Mitarbeiter<sup>3</sup>) haben gefunden, daß p-Kreosol und p-Hydroxybenzaldehyd — wenn auch in geringem Umfang — an der Bildung des Lignins und der daraus präparierten HIBBERT-Ketone teilnehmen können. Wie wichtig es ist, bis zu HIBBERTS Ketonen vorzudringen, erweist das radioaktive Glucovanillin: durch den Tauchtrieb eingegeben, wird das Aglykon, das Vanillin, zwar in das Lignin eingebaut, aber nicht als echtes Lignin, denn es liefert keine radioaktiven HIBBERT-Ketone<sup>23</sup>).

## 2. Enzymsystem

Im weiteren Verfolg unserer Frage muß zunächst das Enzymsystem der Fichte untersucht werden. Von der  $\beta$ -Glucosidase ist schon gesprochen worden. Sie setzt aus dem Coniferin den Coniferylalkohol an der Stelle der Verholzung in Freiheit. Im Saft des Cambiums und des umgebenden Gewebes der Coniferen befindet sich in reichlicher Menge das Enzym Laccase<sup>27</sup>)<sup>29</sup>), das ein kupferhaltiges Protein ist und im Pflanzenreich weit verbreitet vorkommt. Die Beteiligung der Laccase an der Bildung des Lignins wurde von T. HIGUCHI zuerst an Bambus erkannt<sup>45</sup>). Eine Laccase — daher ihr Name — verwandelt das Phenol Urushiol in Lack. Laccasen sind durch ihre Wirkung auf Phenole (Catechine, Gerbstoffe) am Braunwerden des Laubes oder verletzter Früchte beteiligt.

<sup>45</sup>) T. HIGUCHI, J. KAWAMURA u. J. MOTOMOTO, J. Jap. Forest Soc. **37**, 446 (1955); T. HIGUCHI, Physiologia plantarum **10**, 356 (1957); Plant. Physiol. **10**, 364 (1957).

Laccasen befinden sich in Pilzen<sup>46)</sup>, sie besorgen den Abbau von Phenolen des Bodens einschließlich des Lignins<sup>36)</sup>. Sie übertragen Phenolwasserstoff auf Sauerstoff und vermögen dies, was ihr wichtigstes Kennzeichen ist, auch in Gegenwart von Kohlenoxyd zu vollziehen. Die Laccase des Cambialgebietes der Fichte ist von einer Peroxydase begleitet. Um diese in Gegenwart von Laccase von der stets vorhandenen Katalase zu unterscheiden, wurde Äthylhydroperoxyd<sup>47)</sup> verwendet<sup>29)</sup>, das nicht mit Katalase reagiert. Ob die Peroxydase das von der Laccase gebildete Hydroperoxyd verwendet oder ob die Wirkung der beiden Enzyme unabhängig nebeneinander hergeht, ist nicht entschieden.

Für die Herstellung des biosynthetischen Lignins (Dehydrierungspolymerisat DHP) aus Coniferylalkohol wird gleichfalls eine Laccase verwendet, die sich im Fuß des Speisechampignons findet und leicht von den meisten Beimengungen, insbesondere von den gefärbten, befreit werden kann<sup>29)</sup>. Der Pilz ist ein Saprophyt, der kein Lignin bildet. Er bedarf der Laccase, wie oben erwähnt, zum Aufschluß der phenolartigen Stoffe des Bodens. Das Enzym ist von Tyrosinase begleitet, die während der Anreicherung entfernt wird. Peroxydase ist im Pilz nicht nachgewiesen.

Coniferylalkohol wird unter geeigneten, unten beschriebenen Bedingungen von der Pilzlaccase in Gegenwart von Luftsauerstoff oder von Peroxydase in Gegenwart von Hydroperoxyd in Lignin verwandelt. Das gleiche vermögen die Phenoldehydrasen der Cambiumzone Diese und die Dehydrasen des Versuches *in vitro* stimmen demnach überein. Die Dehydrierungsreaktion ist unspezifisch und es ist gleichgültig, welches der Enzyme verwendet wird<sup>29)</sup>. Man kann sogar Wasserstoffperoxyd allein verwenden, das allerdings langsamer reagiert und den Anteil an Aldehyden erhöht; sogar Salze des II-wertigen Kupfers bilden ohne Enzym<sup>29)</sup> in Gegenwart von Sauerstoff, wenn auch langsamer, dasselbe DHP. Auch Mangandioxyd ist mit und ohne Sauerstoff verwendbar<sup>37)</sup>.

### 3. Acceptoren und äußere Bedingungen

Auch die äußeren Bedingungen der Ligninbildung *in vivo* und *in vitro* stimmen im ganzen überein: Man verwendet eine sehr verdünnte wässrige Lösung des Coniferylalkohols von 20° und bei  $p_H$  von ungefähr 6, das ohne Puffer aufrechterhalten bleibt. Diese Bedingungen sind der Pflanze angemessen. Natürlich können in der Zelle Konzentrations-

<sup>46)</sup> G. LEGRAND, C. R. hebdomadaire Séances Acad. Sci. **240**, 249 (1955).

<sup>47)</sup> A. RIECHE, Alkylperoxyde und Ozonide. Dresden u. Leipzig 1931, S. 23.

unterschiede auftreten und es ist nichts darüber bekannt, ob sich die Reaktion in der Lösung oder an der Zellwand abspielt. Diese Unterschiede beeinflussen jedoch das Endergebnis nicht in wahrnehmbarer Weise.

Als Acceptor dient bei unseren Versuchen *in vitro* bei Verwendung von Laccase oder Kupfersalzen der Luftsauerstoff. Doch man kann, wie schon erwähnt, auch Hydroperoxyd ohne Enzym oder mit Peroxydase verwenden. Mangandioxyd kann gleichfalls die Dehydrierung bewirken, d. h. als Acceptor dienen, wenn es unter Stickstoff in der nötigen Menge geboten wird. In Gegenwart von Luft ist weniger Mangandioxyd erforderlich. Wahrscheinlich ist auch in Gegenwart von Luft das Mangandioxyd der Acceptor, der vom Luftsauerstoff aufoxydiert wird. Bei Verwendung von Mangandioxyd macht sich eine verstärkte Bildung der ungesättigten Aldehyde bemerkbar, die jedoch das Gesamtbild nicht stören. Von diesen Acceptoren kommen für die lebende Zelle nur Sauerstoff und Hydroperoxyd in Frage. Ob die Zelle über andere Acceptoren verfügt, ist unbekannt. Hydroperoxyd darf in der im vollen Stoffwechsel befindlichen Zelle angenommen werden. Es kann der Peroxydase zur Dehydrierung des Coniferylalkohols dienen. Wird es dagegen in Gegenwart von Katalase in Sauerstoff und Wasser zerlegt, so kann der Sauerstoff der Laccase zur Dehydrierung des Coniferylalkohols dienen. Die Laccase kann sich also des vom Peroxyd stammenden Sauerstoffs oder des Assimilations- sowie Luftsauerstoffs bedienen. Vielleicht regelt die Menge des als Acceptor dienenden Sauerstoffs in der Zelle die Geschwindigkeit der Ligninbildung, denn es ist möglich, daß Hydroperoxyd und Sauerstoff einen Engpaß bilden. Wenn dies zutrifft, könnte freier Coniferylalkohol im Saft erwartet werden, der nach der Hydrolyse des Coniferins durch die Glucosidase auf die Dehydrierung wartet. Geringe Mengen Coniferylalkohol sind auch bei vorsichtigster Arbeit im Preßsaft des im Wachstum befindlichen Gewebes nachzuweisen<sup>30)</sup> und es scheint, daß dieser Coniferylalkohol im Saft des intakten Baumes vorhanden ist und nicht erst bei der Aufarbeitung durch die Berührung des Coniferins mit der im Zellgewebe befindlichen Glucosidase in Freiheit gesetzt wird. Nach dem Gesagten scheint sicher zu sein, daß auch die Frage nach dem Acceptor bei dem Vergleich der Entstehung des Lignins *in vivo* und *in vitro* keine Schwierigkeiten macht. Daß im Preßsaft des wachsenden Gewebes der Fichte die nachher zu erwähnenden Zwischenprodukte der Ligninbildung nicht oder nur in äußerst geringer Menge auftreten, ist kein Argument gegen ihre Rolle als Zwischenprodukte in der Pflanze, denn sie werden ohne Zweifel nur in geringster Menge auftreten und sehr rasch weiterverarbeitet.

#### 4. Vergleich der Endprodukte

Das bisher Vorgetragene lehrt, daß die Voraussetzungen für den gleichen Ablauf der Ligninbildung *in vivo* und *in vitro* gegeben sind. Diese Übereinstimmung ist für das Weitere zwar notwendig, aber das Kernstück bleibt naturgemäß der unmittelbare Vergleich des natürlichen und des biosynthetischen Lignins.

##### a) Herstellung der Vergleichspräparate

Ohne Zweifel ist das beste zur Zeit verfügbare Ligninpräparat das Milled Wood Lignin (MWL) nach A. BJÖRKMAN<sup>48)</sup>. Es entsteht durch extreme Feinmahlung des Holzes, in unserem Fall des Fichtenholzes unter einem Einbettungsmaterial, das keine Quellung verursacht. Hierfür wird vorzugsweise Toluol genommen. Unter diesen Umständen werden das Lignin und die Lignin-Polysaccharidverbindung mechanisch abgebaut<sup>23)</sup>. Das Holz muß vorher mit kaltem Aceton, das 15% Wasser enthält, extrahiert werden zwecks Entfernung von niedermolekularen Bestandteilen, von nicht phenolischen Substanzen und von löslichen ligninartigen Anteilen, die je etwa 0,5% des Holzes ausmachen, zusammen etwa 1,5%<sup>28)</sup>. Von dem löslichen ligninartigen Anteil wird weiter unten die Rede sein. Nach der Entfernung des Toluols, in dem sich sehr geringe Mengen Coniferylalkohol und andere Abbauprodukte befinden, wird mit feuchtem Aceton oder feuchtem Dioxan in der Kälte extrahiert. Dabei gehen erhebliche Mengen des Lignins in Lösung. Wenn bei der Mahlung des Holzes unter Toluol Sauerstoff anwesend ist, tritt eine merkliche Oxydation ein<sup>48)</sup>. Sie ist erklärlich durch die Wechselwirkung zwischen dem Sauerstoff und intermediär auftretenden radikalartigen Bruchstücken. Deshalb ist vorgeschrieben, den Sauerstoff durch Stickstoff zu verdrängen. Man wird annehmen dürfen, daß sich unter diesen Umständen die Radikale gegenseitig absättigen oder sich sonstwie stabilisieren, z. B. durch Disproportionierung. Das MW-Lignin enthält sehr geringe Mengen an Kohlenhydraten, die vernachlässigt werden können. Extrahiert man jedoch das feingemahlene Holz weiter mit Dimethylformamid, so werden Fraktionen gewonnen, die reicher an Kohlenhydraten sind<sup>48)</sup>. Das Kohlenhydrat-arme MW-Lignin muß vor der weiteren Verarbeitung zur Entfernung niedermolekularer Bruchstücke mit kaltem Butanol extrahiert werden<sup>8)</sup>. Was dann verbleibt, ist ein helles amorphes Pulver, dessen Menge 20–25% des Ligninanteils des Holzes ausmacht.

<sup>48)</sup> Nature **179**, 1057 (1954); Svensk kem. Tidskr. **67**, 36 (1955); Svensk Papperstidn. **59**, 477 (1956); **60**, 158, 243, 285, 329 (1957).

Das biosynthetische Lignin wird folgendermaßen hergestellt: Zu einer bei 20° gehaltenen wässrigen Lösung des Enzyms läßt man unter guter Durchlüftung die Lösung von 10 g Coniferylalkohol in 5 l Wasser in dem Maße zutropfen, wie der Coniferylalkohol verschwindet. Er ist an einer violetten Farbreaktion bei der Tüpfelprobe mit Diazobenzosulfosäure zu erkennen. Der Niederschlag wird in feuchtem Dioxan gelöst, ein unlöslicher hochmolekularer Anteil entfernt und der Rückstand der eingedampften Lösung mit kaltem Butanol ausgerieben<sup>49)</sup>. In der Butanollösung befinden sich niedermolekulare Anteile. Die Ausbeute an hochmolekularem Lignin beträgt 70–80% des eingesetzten Coniferylalkohols.

### b) Vergleich der Eigenschaften

Das biosynthetische Lignin ist von der gleichen hellen Holzfarbe wie das MW-Lignin. Beide Substanzen erweichen unter Wasser von 70° an; beim Erkalten erstarren sie wieder. Kocht man sie kurze Zeit mit Mineralsäure, so wird die Thermoplastizität verloren. Die Löslichkeitseigenschaften sind die gleichen. Das Molekulargewicht beider liegt zwischen 6000 und 10 000<sup>49)</sup>. Diese Übereinstimmung rührt daher, daß die niedermolekularen, in Butanol löslichen und die höhermolekularen, in Dioxan unlöslichen Anteile entfernt sind. Die Infrarotspektren<sup>33)</sup><sup>50)</sup> stimmen überein bis auf winzige Abweichungen, die weiter unten besprochen werden. Die Ultraviolettpektren sind bezüglich der Lage der Maxima und Minima identisch. Die Extinktion ist bei dem künstlichen Produkt 1,2–1,3mal höher als bei dem natürlichen<sup>20)</sup>. Die Extinktion fällt nach Stehen unter n/10 Mineralsäure bei 20° während einer Woche auf die des natürlichen Lignins ab<sup>51)</sup>, das im Holze vielleicht auch, während langer Zeit, unter der Wirkung sehr schwacher Säuren steht. Die  $\Delta\varepsilon$ -Kurve, d. h. Differenzkurve zwischen der Ultraviolettabsorption in neutraler und alkalischer Lösung ist gleich<sup>33)</sup><sup>50)</sup>. Natürliches und biosynthetisches Lignin sind optisch inaktiv trotz der Gegenwart zahlreicher asymmetrischer C-Atome. Die Erklärung wird unten gegeben. Die Analysen stimmen innerhalb der Fehlergrenzen überein bis auf den Methoxylgehalt, der beim MW-Lignin durchschnittlich 14,7%, beim DHP bis 17,2% beträgt. Das natürliche Lignin enthält auf die C<sub>9</sub>-Einheit berechnet nur 0,90 bis 0,94 Methoxylgruppen, während das Kunstprodukt eine besitzt. Dieser Mindergehalt des natürlichen Produktes beruht entweder auf der Einkondensation des p-Cumaralkohols

<sup>49)</sup> G. MEYERHOFF, Naturwiss. 46, 143 (1959).

<sup>50)</sup> K. FREUDENBERG, Bull. Soc. chim. France 1959, 1748.

<sup>51)</sup> K. FREUDENBERG, K. DALL und B. LEHMANN, unveröff.

oder anderer methoxylfreier Phenole oder einer oxydativen, über o-Chinone verlaufenen Zerstörung eines kleinen Teils der Guajacylgruppen, die mit Alterungserscheinungen zusammenhängt. Möglicherweise, sogar wahrscheinlich, sind beide Ursachen zutreffend. Im übrigen sagen die Analysen aus, daß bei dem natürlichen wie biosynthetischen Material der Coniferylalkohol 1,5—2 Atome Wasserstoff verloren und 0,4—0,6 Moleküle Wasser gewonnen hat<sup>9)</sup> 34). Von dem abgegebenen Wasserstoff entfällt 0,3—0,4 Atom auf entstandene Carbonylgruppen, während nur der Rest von 1,2—1,6 Atomen Wasserstoff in solcher Weise austreten kann, daß Bindungen von einer Einheit zur anderen entstehen<sup>34)</sup>.

Der Gehalt an Carbonylgruppen, gemessen durch die Titration der Mineralsäure nach Umsetzen mit Hydroxylaminsalz, beträgt beim MW-Lignin 0,20<sup>48)</sup>, beim DHP 0,15<sup>9)</sup> 52). Dieser kleine Unterschied macht sich im IR-Spektrum bei  $\nu = 1710\text{--}1740$  cm bemerkbar, und zwar handelt es sich beim Naturprodukt um einen geringen Mehrgehalt an nicht konjugierter Carbonylgruppe. Der gesamte Hydroxylgehalt beträgt übereinstimmend pro C<sub>9</sub>-Einheit, die im folgenden stets zugrunde gelegt wird, 1,2—1,4 OH<sup>9)</sup> 48). Der Phenolgruppengehalt, bestimmt durch Titration, beträgt in beiden Fällen 0,30—0,35 OH<sup>7)</sup> 34). Äthylengruppen sind in beiden Fällen nicht mit Sicherheit nachweisbar. Durch Messung der Kernresonanz sind keine Äthylengruppen wahrzunehmen<sup>33)</sup> 53). Dies bedeutet, daß, wenn überhaupt, weniger als 0,13 Äthylenbindungen pro C<sub>9</sub>-Einheit vorliegen können. Katalytische Deuterierung des DHP nach Reaktion der Carbonylgruppen mit Lithiumaluminiumhydrid hat kein Ergebnis gebracht<sup>51)</sup>. Dennoch kann aus dem Infrarotspektrum in dem Bereich von  $\nu = 970$ /cm auf einen geringen Betrag von Doppelbindung geschlossen werden, der im Falle des Kunstproduktes um ein geringes höher liegt. Auf Doppelbindungen, schätzungsweise eine auf 30 Einheiten oder 0,03 bezogen auf C<sub>9</sub>, muß aus dem Vorhandensein von Zimtaldehydgruppen geschlossen werden, die für die Farbreaktionen maßgebend sind. E. ADLER schätzt eine auf 40 Einheiten<sup>54)</sup>, J. MARTON auf 30—40 Einheiten<sup>6)</sup>. Vielleicht ist aus Gründen der Alterung (Säurewirkung?) der Gehalt an Doppelbindung bei dem Naturstoff um ein geringes niedriger als bei dem Kunstprodukt.

---

<sup>52)</sup> J. GIERER u. S. SÖDERBERG, *Acta Chem. Scand.* **13**, 127 (1959) finden am MW-Lignin einen höheren Verbrauch von Natriumborhydrid, als diesem Carbonylgruppengehalt entspricht. DHP wurde nach ihrem Verfahren noch nicht gemessen.

<sup>53)</sup> Die Messung hat in dankenswerter Weise Herr Dr. N. SHEPPARD, Cambridge, England, ausgeführt.

<sup>54)</sup> E. ADLER, K. J. BJÖRQVIST u. S. HÄGGROTH, *Acta Chem. Scand.* **2**, 93 (1948).

## c) Abbaureaktionen

Nach einer von E. ZIEGLER und K. GARTLER<sup>55)</sup> aufgefundenen Reaktion, die J. GIERER auf das Lignin angewendet hat<sup>56)</sup>, werden freie Guajacylgruppen durch Chinonchlorimin in Indophenol übergeführt. Der Gehalt an diesen Gruppen ist bei beiden Präparaten gering und gleich. In beiden Fällen wird in jeder 10. Einheit ein freies, d. h. in der p-Stellung nicht veräthertes Guajacylcarbinol gefunden<sup>51)</sup>. Lösliches Lignin (s. unten) enthält nach Behandlung mit Butanol fast doppelt soviel. E. ADLER und G. HERNESTAM haben gefunden<sup>57)</sup>, daß aus Methoxyl, das einem phenolischen Hydroxyl benachbart ist, mit Perjodsäure Methanol entsteht. Der Betrag ist bei beiden Produkten gleich hoch<sup>51)</sup> und entspricht der Zahl der freien Phenolhydroxyle. Beim Kochen mit starker Mineralsäure entsteht aus beiden Produkten<sup>51)</sup> Formaldehyd in der gleichen Menge (MWL 1,1%, DHP 1,4%). Durch Mahlung des DHP entstehen dieselben Bruchstücke wie aus MW-Lignin (Coniferylalkohol und andere)<sup>51)</sup>. Wenn beide Präparate mit Diazomethan methyliert und dann oxydiert werden, so entsteht in beiden Fällen 0,8% rohe Isohemipinsäure. Ein größerer Betrag (2–3%) wird in beiden Fällen erhalten, wenn das Präparat mit starkem Alkali behandelt, methyliert und oxydiert wird<sup>30)</sup>. Die Ausbeute an Vanillin bei der Oxydation mit Nitrobenzol und Alkali ist in beiden Fällen gleich (25%). Aus beiden Präparaten entstehen mit Äthanolchlorwasserstoff in geringen Mengen die von HIBBERT beschriebenen Ketone der Guajacylpropanreihe.

## d) Sonstige Umwandlungsreaktionen

Beim Erhitzen mit Natriumhydrogensulfit entstehen aus beiden Substanzen Sulfonsäuren. Es empfiehlt sich, die Substanzen zuerst aus Acetonlösung auf Kieselgur zu verteilen, damit nicht infolge der Thermoelastizität eine Verklumpung eintritt. Wenn die acetylierten Präparate mit einer Mischung von Acetanhydrid und Eisessig in Gegenwart von Spuren von Perchlorsäure behandelt werden, so wird zusätzliches Acetyl aufgenommen. Diese Erscheinung beruht auf der Öffnung von Phenylcumaran-, Pinoresinolringen und anderen Phenylcarbinoläthern. In beiden Fällen werden 0,5 Acetyl pro C<sub>9</sub>-Einheit aufgenommen. Dies bedeutet, daß ungefähr jede dritte Einheit eine solche Gruppe besitzt<sup>58)</sup>.

<sup>55)</sup> Mh. Chem. **19**, 634 (1948); **80**, 759 (1949).

<sup>56)</sup> J. GIERER, Acta Chem. Scand. **8**, 13196 (1954).

<sup>57)</sup> E. ADLER u. G. HERNESTAM, Acta chem. Scand. **9**, 319 (1955); G. HERNESTAM, Svensk kem. Tidskr. **67**, 37 (1955).

<sup>58)</sup> K. FREUDENBERG, H. WILK, H.-U. LEUCK, L. KNOF u. T. H. FUNG, Liebigs Ann. Chem. **630**, 1 (1960).

### e) Reaktionen mit radioaktivem Ausgangsmaterial

Nach Einführung von radioaktivem Coniferin werden die radioaktiven Teile der von Rinde befreiten Fichtenstämmchen sorgfältig gemahlen und mit Aceton-Wasser extrahiert. Das ungelöste Holzpulver liefert radioaktive HIBBERT-Ketone<sup>21) 23) 2)</sup>. Ihre Radioaktivität entspricht der des Lignins in diesem Holzstück. Ebenso verhält sich das Holz nach Eingabe von radioaktivem Phenylalanin<sup>21) 23) 30)</sup>. DHP das mit radioaktivem Coniferylalkohol hergestellt war, liefert gleichfalls HIBBERT-Ketone von der erwarteten Radioaktivität<sup>33)</sup>. Wenn der Pflanze endständig markiertes Coniferin eingegeben wird, so läßt sich radioaktiver Formaldehyd gewinnen<sup>59)</sup>, das gleiche ist der Fall bei DHP, das aus endständig markiertem Coniferylalkohol hergestellt wird. Wenn die anderen C-Atome in der Seitenkette markiert sind, ist der Formaldehyd inaktiv. Isohemipinsäure ist radioaktiv, wenn sie aus Lignin stammt, das in der Fichte nach Zugabe von mittelständig markiertem Coniferin oder Phenylalanin entstanden ist<sup>24) 30) 59)</sup>. DHP liefert radioaktive Isohemipinsäure, wenn zur Herstellung mittelständig markierter Coniferylalkohol verwendet wurde.

### f) Lösliches Lignin

In einem früheren Stadium der Ligninchemie hat häufig ein in organischen Lösungsmitteln lösliches Ligninpräparat als Vergleichsmaterial gedient, das in sehr geringer Menge im Holze vorhanden ist. Oben ist bereits erwähnt, daß es nach Abtrennung fremder Substanzen ungefähr ein halbes Prozent des Fichtenholzes ausmacht. Das sind 1,5% des im Fichtenholz vorhandenen Lignins. Dieses lösliche Lignin unterscheidet sich von dem Lignin nach BRAUNS dadurch, daß es von nicht phenolischen Stoffen und von Lignanen befreit ist und nicht mit Äthanol in Berührung war. In der  $\Delta\varepsilon$ -Kurve weicht dieses lösliche Lignin stark von DHP und MW Lignin ab, die übereinstimmen. Dies hängt zum Teil mit dem höheren Phenolgruppengehalt zusammen, der 0,5 und mehr pro Einheit beträgt. Das Molekulargewicht liegt über 6000, wenn niedermolekulare Anteile mit kaltem Butanol entfernt sind<sup>49)</sup>. Das niedrige Molekulargewicht (815), das G. DE STEVENS und F. F. NORD für ein von ihnen dargestelltes Präparat gefunden haben<sup>60)</sup>, erklärt sich aus einer anderen Herstellungsweise, bei der die niedermolekularen Beimengungen des löslichen Lignins nicht entfernt sind. Bei der Behandlung

<sup>59)</sup> K. FREUDENBERG u. F. BITTNER, Chem. Ber. **86**, 155 (1953).

<sup>60)</sup> G. DE STEVENS u. F. F. NORD, Fortschritte der chemischen Forschung **3**, 95 (1954); Handbuch der Pflanzenphysiologie X, 425, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1958.

der Acetylverbindung unseres Produktes mit Acetanhydrid, Eisessig und Perchlorsäure wird weniger Acetyl aufgenommen (0,35) als von den Acetaten des MW-Lignins und DHP (0,5)<sup>58)</sup>. Die Reaktion mit Chinonchlorimin<sup>51)</sup><sup>56)</sup> weist auf doppelt soviel freie Guajacylgruppen hin als im DHP und MWL. Vielleicht handelt es sich um einen durch Laccase angegriffenen Ligninanteil, denn die Laccase, die das Lignin zu synthetisieren vermag, kann es wieder abbauen. Dies geschieht nur in sehr beschränktem Umfang, weil die Zelle abstirbt, wenn die Zellwand mit Lignin angefüllt ist. Wird dagegen MW-Lignin oder DHP in sehr feinverteiltem Zustand unter Belüftung der Wirkung der Laccase ausgesetzt, so wird laufend Sauerstoff verbraucht, ohne daß die Reaktion ein Ende findet. Dasselbe spielt sich in der Natur am Lignin des Holzes ab, wenn von außen her holzerstörende Pilze, die Laccase enthalten, das Lignin angreifen<sup>36)</sup><sup>8)</sup>.

### 5. Folgerungen

Aus den obigen Versuchen geht eindeutig hervor, daß natürliches und biosynthetisches Lignin so weit übereinstimmen, wie dies bei amorphen Hochpolymeren festgestellt werden kann.

Wenn wir den zurückgelegten Weg rückwärts gehen, stellen wir fest: Die Endprodukte Lignin und DHP sind identisch. Das Milieu ihrer Entstehung gleicht sich. Die Enzymsysteme sind dieselben. Das Ausgangsmaterial ist bei der Pflanze Coniferin, dem eine Glucosidase zur Verfügung steht, um den Coniferylalkohol freizusetzen. Aus Phenylalanin, das ein Beispiel für eine  $C_6C_3$ -Säure ist, wird zunächst Coniferin gebildet, das alsdann über Coniferylalkohol zu Lignin verarbeitet wird. Das Ausgangsmaterial des DHP ist von vornherein der Coniferylalkohol. Die Ausgangsmaterialien sind demnach dieselben.

Sieht man von dem Unterschied ab, daß in einem Fall das Lignin in der lebenden Zelle, im anderen Fall auf dem Laboratoriumstisch entsteht, so sind alle übrigen Bedingungen für die Bildung des DHP in Übereinstimmung mit denen in der Natur. Was auf dem Laboratoriumstisch vor sich geht, vollzieht sich unter zellmöglichen Bedingungen von Temperatur und  $p_H$ . Die Enzyme sind dieselben und die Endprodukte stimmen überein. Der Coniferylalkohol könnte in der Pflanze gar keinen anderen Weg zum Lignin zurücklegen, als er es auch *in vitro* tut. Der Schluß ist berechtigt, daß die Ligninsynthese *in vivo* und *in vitro* gleich verläuft; dann aber ist auch die zu prüfende Frage bejaht: Die bei der Synthese *in vitro* faßbaren Zwischenprodukte sind verbindlich für die Konstitution des Lignins.

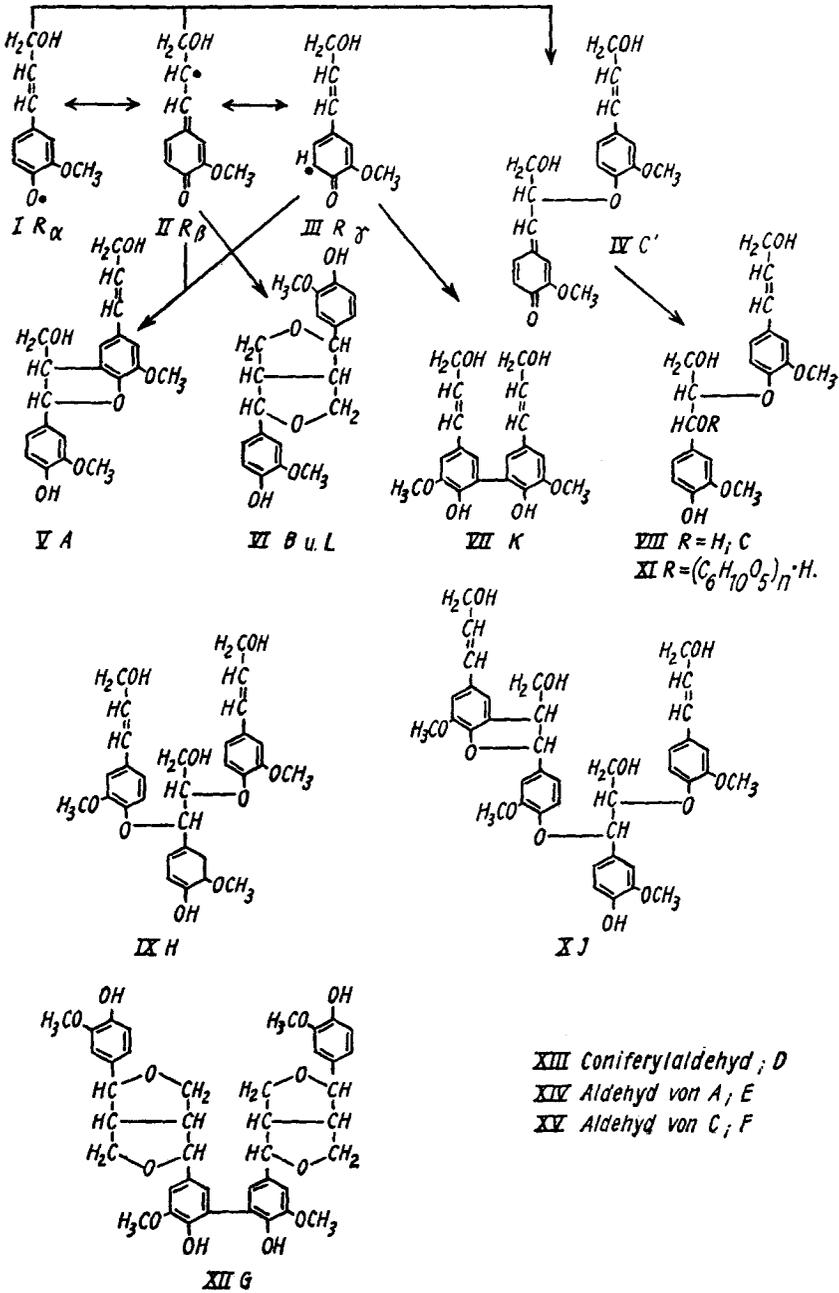
## 6. Verlauf der Biosynthese und die Zwischenprodukte

Die Biosynthese des Lignins ist in ihren Grundzügen aufgeklärt. Aus dem Coniferylalkohol entsteht zuerst das mesomere Radikal I, II und III. I vereinigt sich mit II zu dem Chinonmethid C' (IV), das im Gegensatz zu den Radikalen I—III unmittelbar optisch nachweisbar ist<sup>32)</sup> und in dem Gemisch, das zur DHP-Bildung unter den oben beschriebenen Bedingungen führt, eine Halbwertszeit von ungefähr einer Stunde besitzt. Es hat die Bezeichnung C' erhalten. II und III vereinen sich auch zu einem Chinonmethid, das aber nicht nachweisbar ist, sondern sich sofort zu dem Dehydro-diconiferylalkohol V stabilisiert (Substanz A). 2 Moleküle II ergeben ein doppeltes Chinonmethid, das nicht nachweisbar ist, sondern sich gleichfalls innermolekular zum DL-Pinoresinol und DL-Epipinoresinol VI stabilisiert (Substanz B und L). 2 Moleküle III geben ein nicht nachweisbares Chinonmethid, das sich zum 5,5'-Bis-dehydro-coniferylalkohol VII (Substanz K) umlagert<sup>61)</sup>. Substanz C' stabilisiert sich unter Anlagerung von Wasser zu VIII (Substanz C). Statt Wasser lagert Substanz C' auch Coniferylalkohol selbst an unter Bildung des Phenyläthers IX (Substanz H). Auch das Anlagerungsprodukt von A an C' ist isoliert (X, Substanz J). Sogar an die Polysaccharide des Holzes kann sich, wie Modellversuche mit Rohrzucker ergeben haben, das Chinonmethid C' addieren (XI). Dies ist die Erklärung für die Bindung des Lignins im Holze. Die Zwischenprodukte H und J sind jetzt als Addukte der Phenolgruppe des Coniferylalkohols und des Dehydro-diconiferylalkohols (A) an C' formuliert, weil sie nur noch eine Phenolgruppe enthalten<sup>62)</sup>. Sie bilden mit Dinitrofluorbenzol Monoäther, die nicht mehr mit Benzoldiazonium-sulfonsäure reagieren. Vor weiterer Verätherung werden H und J sehr leicht durch verdünnte Säure zu C und Coniferylalkohol bzw. A hydrolysiert. Erst bei der Verätherung ihres Phenolhydroxyls werden sie stabil. Das tritt ein, wenn sie mit den anderen Zwischenprodukten zum Lignin vereinigt werden. Früher<sup>8)36)50)</sup> wurden H und J als Addukte der Zimtalkoholgruppe von Coniferylalkohol oder A an C' aufgefaßt.

Die bisher angeführten Zwischenprodukte entstehen in automatischer Reaktion aus Coniferylalkohol durch den Verlust höchstens eines H-Atoms. Substanz H entspricht 3 Molekülen Coniferylalkohol minus 2 H-Atome, J entspricht 4 Molekülen minus 3 H-Atome. Das Radikal I—III und daher alle Folgeprodukte einschließlich des Lignins sind trotz

<sup>61)</sup> K. FREUDENBERG u. K. C. RENNER, Chem. Ber., in Vorbereitung.

<sup>62)</sup> K. FREUDENBERG u. M. FRIEDMANN, Chem. Ber., im Druck.



Mitwirkung der Enzyme optisch inaktiv. Sie enthalten sämtlich ein oder zwei Phenolhydroxyle und können infolgedessen weiterer Dehydrierung unterliegen. Wie diese erfolgt, wurde am Beispiel des Pinoresinols ermittelt, das für sich allein bei der Dehydrierung die Substanz XII (G) ergibt, die alsdann unter den zahlreichen übrigen Zwischenprodukten, die bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols entstehen, aufgefunden wurde<sup>65</sup>).

Schließlich wurden in sehr geringer Menge isoliert der Coniferylaldehyd XIII (D), der Aldehyd von A (XIV, E) und der Aldehyd von C (XV, F)<sup>63</sup>). Die Zwischenprodukte G, D, E und F haben mehr als ein Wasserstoffatom pro Coniferylalkoholeinheit verloren. Auch sie können wie die voranstehende Gruppe weiterer Dehydrierung unterliegen. Aber diese Dehydrierungsreaktion muß Halt machen und das Wachstum des Moleküls muß alsbald stillstehen, denn wir finden in A, C und seinem Polysaccharidäther XI sowie in H und I eingebaute Einheiten, die keiner weiteren Verknüpfung unter Dehydrierung fähig sind. Daraus erklärt es sich, daß der Aufbau des Polymoleküls des Lignins nach Verlust von ungefähr 1,5 Wasserstoffatomen ein vorzeitiges Ende finden würde, wenn nicht die in H und J verwirklichte Additionsreaktion ein Weiterwachsen erlaubte, das nicht mit Wasserstoffverlust verbunden ist. — Alle Zwischenprodukte A—L sind isoliert und in ihrer Konstitution aufgeklärt worden. Unter ihnen bilden sich in einem gewissen Stadium der Reaktion die Substanzen A, B und C in weitaus größter Menge. Im Chromatogramm der Zwischenprodukte sind außer den 11 bisher erkannten Substanzen noch etwa 30 weitere wahrnehmbar, wenn sie auch nur in sehr geringer Menge auftreten<sup>63</sup>).

## 7. Ausblick

Die erkannten 11 Substanzen machen es bereits möglich, ein ungefähres Bild von der Konstitution des Lignins zu entwerfen. Die beiden Bauprinzipien erlauben das Weiterwachsen bis zum Riesenmolekül. Das oben angegebene Molekulargewicht 10000 ist keine obere Grenze. Es ist das Molekulargewicht jener Ligninpräparate, die in 85proz. Aceton oder 90proz. Dioxan noch löslich sind, in kaltem Butanol aber unlöslich. Wer sich damit abgeben will, die obigen Zwischenprodukte auf dem Papier durch weitere Dehydrierung und Addition an Chinonmethide (deren es zahlreiche geben kann) zum Polymolekül aufzubauen, muß bedenken, daß auf 4—5 durch Dehydrierung entstandene Bindungen

---

<sup>63</sup>) K. FREUDENBERG und B. LEHMANN, Chem. Ber. 1960, im Druck.

nur eine Additionsbindung zustande kommt. Ferner muß ungefähr 1 aliphatisches Hydroxyl (primär und sekundär) pro Einheit bestehen bleiben, während nur 0,3 Phenolgruppe übrigbleibt und dementsprechend 0,7 Phenyläthersauerstoff auftritt. Die letztere Zahl ist überraschend groß und läßt folgern, daß Bauelemente wie A und alle von C' und anderen Chinonmethiden ausgehenden (VIII = C, IX = H, X = J, sowie XI) mengenmäßig eine erhebliche Rolle spielen. Die Carbonylgruppen beanspruchen 0,2 Sauerstoff, für aliphatische Äther bleibt 0,2—0,3 Sauerstoff übrig, da der gesamte Sauerstoff (ohne  $\text{OCH}_3$ ) 2,4—2,5 Atom O beträgt. Konstitutionsbilder des Lignins, die diese Bedingungen erfüllen, lassen sich konstruieren. Weiterhin liegen Anzeichen vor, daß die in H und J abgebildeten Äther von Phenylcarbinolen mit Phenolgruppen dadurch teilweise umgeäthert werden, daß an die Stelle einer verätherten Phenolgruppe ein veräthertes aliphatisches Carbinol tritt.

Das Radikal II ( $\text{R}_\beta$ ) ist wie ein Kitt, der größere Stücke verbindet. Es addiert sich mit einem beliebigen Aroxyl zu einem Chinonmethid, das Phenolgruppen, vielleicht auch Alkohole addiert.

Die bekannten Reaktionen des Lignins lassen sich sämtlich mit diesem Schema erklären.

1935 hat BROR HOLMBERG nachgewiesen<sup>64</sup>), daß die Reaktion des Sulfit- und Sulfataufschlusses an Phenylcarbinolen und ihren aliphatischen Äthern ansetzt. Auch die von ihm gefundene Aufnahme von Alkyl sowie von Thioglykolsäure, beide unter der Wirkung von Mineralsäure, greift an dieser Stelle an. Man wird schwer Reaktionen finden, die nach unserem Schema nicht erklärt werden können. Aus der geringen Zahl der Äthylenbindungen im Lignin und DRP ist zu folgern, daß solche Bindungen bevorzugt sind, bei denen Doppelbindungen verschwinden. Auch hierfür finden sich genügend Beispiele an den obigen Substanzen.

Das Polymolekül des Lignins bildet sich nicht mit großer Geschwindigkeit, wie dies bei den üblichen Polymerisationen der Fall ist. Es wird dagegen in steter Folge aus kleinen und großen Stücken zusammengebaut. Die Additionsreaktion bewirkt Verzweigungen, deren Dehydrierungskondensation schwerlich fähig ist. Eine Ordnung in der Sequenz ist nicht anzunehmen, denn man wird sich kaum vorstellen können, daß Matrizen vorliegen wie bei den Proteinen. Gegenüber der Alterung ist das Lignin anfälliger als sein Begleiter, die Cellulose. Die

<sup>64</sup>) BR. HOLMBERG, *Papir J.* **23**, 81, 92 (1935); G. A. BERG u. BR. HOLMBERG, *Svensk kem. Tidskr.* **47**, 257 (1935); BR. HOLMBERG, *Sv. Papperstidn.* **39**, Sondernummer 113 (1936).

Veränderungen, die in Jahren, Jahrzehnten und Jahrhunderten vor sich gehen, sind schwer zu überschauen.

Mit aller Deutlichkeit veranschaulichen die obigen Formeln die auffallendste Eigenschaft des Lignins: Die fast unerschöpfliche Mannigfaltigkeit der  $C_6C_3$ -Bausteine, die aus einer Stammsubstanz, dem Coniferylalkohol, hervorgegangen sind.

*Heidelberg, Wilckensstr. 34.*

Bei der Redaktion eingegangen am 28. November 1959.

---

Verantwortlich

für die Schriftleitung: Prof. Dr.-Ing. E. Leibnitz, Leipzig O 5, Permoserstraße 15;  
für den Anzeigenteil: DEWAG-Werbung Leipzig, Leipzig C 1, Friedrich-Ebert-Str. 110, Ruf 78 51.  
Z. Z. gilt Anzeigenpreisliste 4; Verlag: Johann Ambrosius Barth, Leipzig C 1, Salomonstraße 18B;  
Fernruf 27 681 und 27 682. ZLN 5065

Printed in Germany

Druck: Paul Dünnhaupt, Köthen (IV/5/1) L 36/60