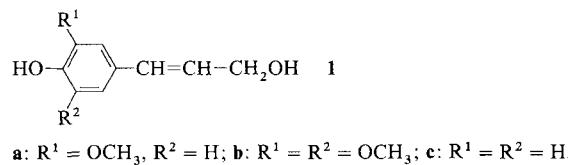


- Gillette, D. R. Powell, R. West, *Organometallics* **1991**, *10*, 546; Si-C-C: D. Seyferth, D. C. Annarelli, *J. Am. Chem. Soc.* **1975**, *97*, 2273; siehe auch [1] und [2].
- [9] R. S. Grev, H. F. Schaefer III, *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 6577; D. Cremer, E. Kraka, *ibid.* **1985**, *107*, 3800; D. Cremer, J. Gauss, E. Cremer, *THEOCHEM* **1988**, *46*, 531.
- [10] 4: $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, C_6D_6 , 295 K): δ = 0.344 (br, 6 H, SiCH_2Me_2), 0.945 (d, 3 H, CH_2Me_2 , $J(\text{H},\text{H})$ = 6.6 Hz), 1.079–1.450 (m, 45 H, CH_2Me_2 und SiCH_2Me_2), 2.698 (sept, 1 H, p - CH_2Me_2 , $J(\text{H},\text{H})$ = 6.6 Hz), 2.709 (sept, 1 H, p - CH_2Me_2 , $J(\text{H},\text{H})$ = 6.6 Hz), 3.543 (d, 1 H, PH , $J(\text{P},\text{H})$ = 183.7 Hz), 3.571 (br, 2 H, $\text{o-CH}_2\text{Me}_2$), 3.814 (br, 2 H, $\text{o-CH}_2\text{Me}_2$), 6.869–7.276 (m, 9 H, *arom.H*), 7.753 (br, 2 H, *arom.H*), 7.967 (m, 1 H, *arom.H*), 8.373 (m, 1 H, *arom.H*); $^{31}\text{P-NMR}$ (81 MHz): δ = -100.68 (d, $J(\text{P},\text{H})$ = 183.9 Hz); $^{29}\text{Si-NMR}$ (INEPT): δ = -0.74 (d, $\text{Is}_2\text{Si-P}$, $J(\text{Si},\text{P})$ = 23.5 Hz), 6.95 (s, $\text{Si}(\text{iPr})_3$); MS (EI, 70 eV): m/z 788 (M^+ , 24%), 745 ($(M - \text{iPr})^+$, 12), 630 ($(M - \text{Si}(\text{iPr}))^-$, 1 H $^+$, 100).
- [11] 4: Raumgruppe $P2_1/n$, a = 11.917(6), b = 17.487(9), c = 23.784(12) Å, β = 97.95(4) $^\circ$, V = 4909 Å 3 , Z = 4. 8970 gemessene Reflexe (Vierkreisdiffraktometer, Mo $K\alpha$ -Strahlung, ω -Scan), 5753 beobachtet ($I > 2\sigma$). Nicht-H-Atome anisotrop, H-Atome in gefundenen Lagen isotrop verfeinert, bis auf Protonen der Methylgruppen (starre Gruppen). R = 0.052, R_w = 0.059 (638 Variable)[12].
- [12] Weitere Einzelheiten zu den Kristallstrukturuntersuchungen können beim Fachinformationszentrum Karlsruhe, Gesellschaft für wissenschaftlich-technische Information mbH, W-7544 Eggental-Leopoldshafen 2, unter Angabe der Hinterlegungsnummer CSD-56208, der Autoren und des Zeitschriftenzitats angefordert werden.

Matrixunterstützte Laserdesorptions-Massenspektrometrie von Ligninen

Von Jürgen O. Metzger*, Christine Bicke, Oskar Faix, Wilfried Tuszynski, Raimond Angermann, Michael Karas und Kerstin Strupat

Lignin ist als Bestandteil der Lignocellulosen, der Gerüstsubstanz der Landpflanzen, neben den Polysacchariden Celulose und Hemicellulosen das mengenmäßig häufigste Biopolymer. Als Nebenprodukt der Zellstoffgewinnung fallen weltweit jährlich über 50 Millionen Tonnen technische Lignine an, deren Verwertung als erneuerbarer Rohstoff und in Hinblick auf den Umweltschutz eine Herausforderung für den Chemiker ist. Die Kenntnisse über Lignine sind noch immer fragmentarisch^[1–3]. Es gilt als sicher, daß die monomeren Ligninvorstufen in Nadelhölzern überwiegend Coniferylalkohol **1a**, in Laubhölzern darüber hinaus Sinapinalkohol **1b** und in Gräsern und krautartigen Dicotyledonen zusätzlich noch *p*-Cumarylalkohol **1c** sind^[1], die nach Freudenberg^[4]



radikalisch zu Lignin polymerisieren. Allerdings ist der Biosyntheseweg von den Monomeren zum Makromolekül noch nicht eindeutig geklärt^[2]. Auf jeden Fall unterscheidet sich Lignin grundsätzlich von anderen Biopolymeren wie Proteinen, Nucleinsäuren und Polysacchariden, bei denen die Art

der Verknüpfung und die Reihenfolge der Bausteine festliegen, denn in Lignin sind mindestens zehn Bindungsarten mit unterschiedlicher prozentualer Gewichtung vorhanden, die die Phenylpropaneinheiten zu einem völlig unregelmäßigen Polymer dreidimensional verknüpfen^[5].

Die Konstitutionsaufklärung von Ligninen durch chemische Abbaumethoden ist äußerst aufwendig und langwierig, dennoch sind keine eindeutigen Aussagen möglich. Durch $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektroskopie können ca. vierzig unterschiedliche Kohlenstoffatome zugeordnet werden^[5]. Die Molekulargewichtsbestimmung ist problematisch, da Lignine in Lösung stark zu Molekülassoziationen neigen^[2]. Die Massenspektrometrie als wichtige analytische Methode wurde bisher nur in Form der Pyrolyse-Massenspektrometrie, bei der lediglich monomere und in geringem Maß dimere Pyrolyseprodukte nachgewiesen werden können, zur Untersuchung und Charakterisierung von Ligninen herangezogen^[6].

Die massenspektrometrische Untersuchung von Polymeren im Allgemeinen und von Biopolymeren im Besonderen hat jedoch in den letzten Jahren mit der Entwicklung neuer „weicher“ Ionisationsverfahren, wie Sekundärionen(SI)-^[7], Fast-Atom-Bombardment(FAB)-^[8], ^{252}Cf -Plasmadesorption(PD)-Massenspektrometrie^[9], den verschiedenen Sprayverfahren wie dem Ionenspray^[10] und insbesondere der matrixunterstützten Laserdesorption (MALD)^[11], große Fortschritte gemacht. Der zugängliche Massenbereich wurde zunehmend erweitert. So wurde über den massenspektrometrischen Nachweis von Proteinen bis etwa 250 000 Da durch MALD-MS berichtet^[12]. Dabei wurde das protonierte Quasimolekül des Proteins nachgewiesen, eine Fragmentierung wird bei dieser Methode jedoch nicht beobachtet. Die MALD-MS wurde auch bei Oligosacchariden wie Maltodextrine und Dextrane erfolgreich eingesetzt. Das Massenspektrum zeigt in wohl definierten, einer Monomereinheit entsprechenden Abständen die Signale der einzelnen Oligomere und ermöglicht die Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung bis etwa 10 000 Da^[13]. Auch eine Reihe von linearen Polymeren wie Polystyrol, Polyethylenglykol mit einem mittleren Molekulargewicht $\bar{M}_n < 10000$ Da wurden insbesondere mit SI-MS untersucht^[14].

Das Fehlen einer schnellen, empfindlichen und aussagekräftigen Mikromethode zur Charakterisierung von Ligninen veranlaßte uns zur Untersuchung der möglichen Anwendung der „weichen“ Ionisationsverfahren auf Lignine. Während wir mit FAB-MS und PD-MS bisher keinen Erfolg hatten, gelang mit MALD-MS ein Durchbruch in der Anwendung der Massenspektrometrie auf Lignine.

Milled-Wood-Lignin von Birke (*Betula alba*), das mit klassischen Methoden der Ligninchemie gut charakterisiert war^[15], wurde ohne weitere Reinigung in Aceton/Wasser (9:1) mit 2,5-Dihydroxybenzoësäure als Matrix im Gewichtsverhältnis 1:15 gemischt. 1 μL dieser Lösung (entsprechend 50 ng Lignin) wurde auf einen Silberträger getropft, getrocknet und in einem Flugzeitmassenspektrometer, wie in^[12] beschrieben, vermessen. Zur Desorption wurde ein Stickstoff-Laser mit einer Wellenlänge von 337 nm und einer Impulsdauer kleiner 5 ns verwendet. Die Auflösung ist relativ gering ($m/\Delta m = 50$) und damit die Signale relativ breit. Die Peak-Zentroide können aber mit recht guter Genauigkeit (Standardabweichung $\pm 0.1\%$) bestimmt werden^[12].

Abbildung 1 zeigt das erhaltene Massenspektrum, das eine breite Molekulargewichtsverteilung von einigen hundert bis größer 16 000 Da aufweist. Der Schwerpunkt der Verteilung liegt bei etwa 2600 ± 100 Da, was recht gut dem gelochromatographisch bestimmten Zahlenmittel des Molekulargewichts \bar{M}_n des Birkenlignins^[15] entspricht. Die breite Verteilungskurve (Abb. 1) zeigt bis etwa 2000 Da eine ausgeprägte Feinstruktur (Abb. 2), die oligomeren Ligninmolekü-

[*] Prof. Dr. J. O. Metzger

Fachbereich Chemie der Universität
Carl-von-Ossietzky-Straße 9–11, W-2900 Oldenburg

Dipl.-Chem. C. Bicke, Priv.-Doz. Dr. O. Faix
Bundesforschungsanstalt für Forst- und Holzwirtschaft, Hamburg

Dr. W. Tuszynski, Dipl.-Phys. R. Angermann
Fachbereich Physik der Universität Oldenburg

Dr. M. Karas, K. Strupat
Institut für Medizinische Physik der Universität Münster

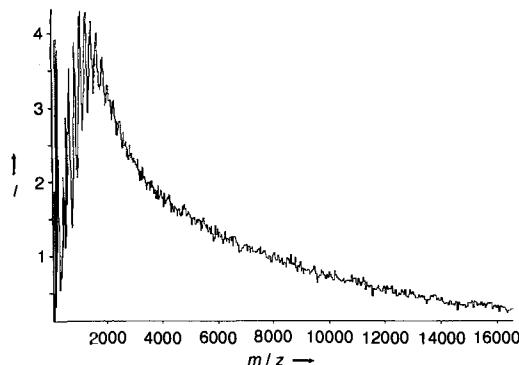


Abb. 1. MALD-Massenspektrum von Birkenlignin. Summe von 20 Einzelspektren. I = relative Intensität in willkürlichen Einheiten, Molekulargewicht M , in Da (m/z).

len zuzuordnen ist. Diese Oligomere sind keine einheitlichen Moleküle, sondern weisen selbst eine breite Molekulargewichtsverteilung auf. So sind deutlich Gruppen von Oligomeren – von den Trimeren mit ca. 600 Da bis zu den Nonameren mit ca. 1800 Da – zu unterscheiden. Bestimmt man die Schwerpunkte der Signale der einzelnen Oligomergruppen, so erhält man deren Zahlenmittel des Molekulargewichts \bar{M}_n . Teilt man dieses Zahlenmittel durch den Oligomerisationsgrad, erhält man mittlere Formelgewichte zwischen 214 und 204 Da für eine Phenylpropaneinheit dieser Oligomere, die damit recht gut mit dem chemisch bestimmten durchschnittlichen Formelgewicht des Birkenlignins von 209 Da übereinstimmen. Daraus ist auch zu folgern, daß die ionisierten Ligninmoleküle wahrscheinlich protoniert sind, da eine Kationisierung mit Na^+ , wie bei Zuckern beobachtet^[13], ein deutlich höheres durchschnittliches Molekulargewicht ergeben würde.

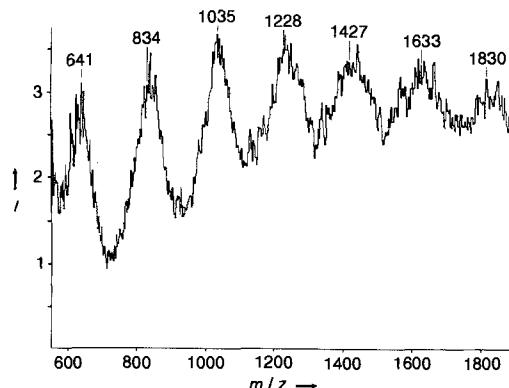


Abb. 2. Feinstruktur des MALD-Massenspektrums im Bereich 600–1800 Da von Birkenlignin (Ausschnitt aus Abb. 1). Die Zahlen an den Peakmaxima geben die Schwerpunkte der Verteilung der jeweiligen Oligolignolsignale an. I = willkürliche Einheiten, M , in Da.

Abbildung 2 zeigt, daß den Feinstrukturpeaks der Oligomere (Abb. 1) eine Hyperfeinstruktur überlagert ist, die in Abbildung 3 für die Tetramere gespreizt dargestellt ist. Zahlreiche Tetramere mit unterschiedlichem Molekulargewicht wurden detektiert. Zwei Sequenzen mit $\Delta m = 30$ Da (826, 856, 886 und 776, 805, 834, 866) belegen das Vorhandensein von Guajacyl- und Syringylpropanbausteinen im Birkenlignin, die sich jeweils nur um die Masse einer Methoxygruppe ($\Delta m = 30$) unterscheiden. Dies weist darauf hin, daß Tetramere mit vier Guajacyleinheiten, solche mit drei Guajacyl- und einer Syringyleinheit etc. bis zu solchen mit vier Syringyleinheiten vorliegen. Der Schwerpunkt der Molekulargewichtsverteilung der Tetramere liegt zwischen m/z 826 (mit zwei

Syringyl- und zwei Guajacyleinheiten) und m/z 856 (mit drei Syringyl- und einer Guajacyleinheit). Das zeigt, daß sich die statistische Verteilung der Monomere im Lignin (Syringyl: Guajacyl ≈ 1.4) bereits in den niedrigen Oligomeren findet. Auch die Verteilung der unterschiedlichen Bindungstypen, die durch chemischen Abbau im Lignin nachgewiesen wurden^[5], scheint bei den Oligomeren derjenigen der Polymere zu entsprechen, wie eine Analyse der Molekulargewichte der zahlreichen verschiedenen Tetramere zeigt. In der Hyperfeinstruktur des MALD-Massenspektrums sind die Informationen verschlüsselt, die eine zunehmend detaillierte Analyse des komplexen Aufbaus von Lignin ermöglichen.

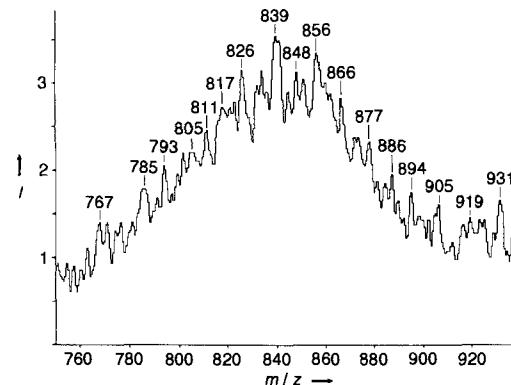


Abb. 3. Hyperfeinstruktur des Signalbereichs der Tetramere im MALD-Massenspektrum von Birkenlignin (Ausschnitt aus Abb. 2).

Außer Birkenlignin wurde auch ein Coniferenlignin (Chinesisches Rotholz, *Metasequoia glyptostroboides*)^[17] vermessen. Das MALD-Massenspektrum zeigt eine breite Verteilung von einigen hundert bis größer 12 000 Da und liefert wieder direkt das Zahlenmittel des Molekulargewichts $\bar{M}_n = 2300 \pm 100$. Die Feinstruktur der Signale bis 2000 Da sind Oligomeren bis zur Größe von Decameren zuzuordnen (Abb. 4). Im Unterschied zum Birkenlignin (Abb. 2) beträgt das chemisch bestimmte mittlere Formelgewicht einer Phenylpropaneinheit 190 Da, da das Coniferenlignin praktisch ausschließlich aus Guajacylpropaneinheiten aufgebaut ist. Auch dieser Wert wird durch das MALD-Massenspektrum bestätigt. Die Hyperfeinstruktur zeigt ähnlich wie bei Birkenlignin zahlreiche unterschiedliche Oligolignole desselben Oligomerisationsgrads, in denen die Monomere durch unterschiedliche Bindungsarten miteinander verknüpft sind.

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen, daß die MALD-Massenspektrometrie eine schnelle, empfindliche und äußerst aus-

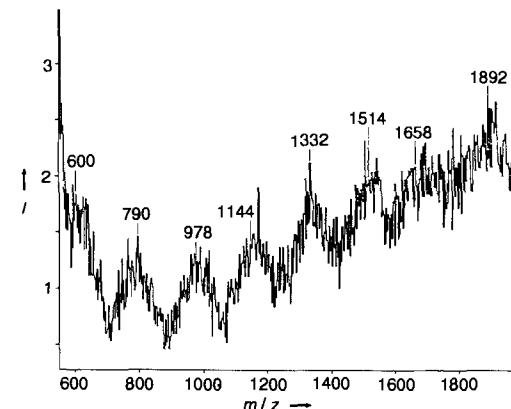


Abb. 4. Feinstruktur des MALD-Massenspektrums eines Coniferenlignins (Chinesisches Rotholz) von 600 bis 2000 Da. Ausschnitt aus Gesamtspektrum. Die Zahlen an den Peakmaxima geben die Schwerpunkte der Molekulargewichtsverteilung der jeweiligen Oligolignole an.

sagekräftige Mikromethode zur Charakterisierung von Ligninen ist, die direkt die Molekulargewichtsverteilung liefert. Oligomere bis zum Oligomerisationsgrad von Nona- (Birkenlignin) oder Decamer (Coniferenlignin) wurden nachgewiesen und deren mittleres Molekulargewicht bestimmt. Zudem konnte gezeigt werden, daß im Lignin eine Vielzahl unterschiedlicher Oligomere mit gleichem Oligomerisationsgrad vorliegen, die die Vielfalt und statistische Verteilung der Bindungsarten im Lignin widerspiegeln. Es ist zu erwarten, daß durch Weiterentwicklung der MALDI-Technik der zugängliche Massenbereich ausgedehnt werden kann, so daß auch noch wesentlich höhermolekulare Lignine vermessen werden können. Die Verbesserung der massenspektrometrischen Auflösung wird das Verfolgen der Feinstruktur bis zu hohen Polymerisationsgraden sowie bis zu mittleren Polymerisationsgraden eine detaillierte Analyse der Hyperfeinstruktur ermöglichen. Ob durch eine nachfolgende stoßinduzierte Fragmentierung und Anwendung von MS/MS-Techniken sogar eine Sequenzierung möglich sein könnte, ist noch unklar. Unsere Ergebnisse zeigen weiterhin, daß die Massenspektrometrie mit Erfolg auf vernetzte und unregelmäßig gebaute Polymere angewandt werden kann, was im Hinblick auf zahlreiche technisch wichtige Polymere von Bedeutung sein sollte.

Eingegangen am 4. November 1991 [Z 5003]

CAS-Registry-Nummer:
Milled-Wood-Lignin, 8068-00-6.

- [1] *Lignins – Occurrence, Formation, Structure and Reactions* (Hrsg.: K. V. Sarkani, C. H. Ludwig), Wiley-Interscience, New York, 1971.
- [2] D. A. I. Goring in *Lignin – Properties and Materials* (Hrsg.: W. G. Glasser, S. Sarkani), ACS Symp. Ser. **1989**, 397.
- [3] D. Fengel, G. Wegener, *Wood – Chemistry, Ultrastructure, Reactions*, de Gruyter, Berlin, New York, 1989.
- [4] K. Freudenberg, A. C. Neish, *Constitution and Biosynthesis of Lignin*, Springer, Berlin, New York, 1968.
- [5] H. Nimz, *Angew. Chem.* **1974**, 86, 336; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1974**, 13, 313; G. Krüger, *Chemie Unserer Zeit* **1976**, 10, 21.
- [6] J. O. Metzger, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1979**, 295, 45, zit. Lit.
- [7] A. Benninghoven, *Chem. Phys. Lett.* **1970**, 6, 616.
- [8] M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1981**, 325.
- [9] R. D. Mac Farlane, D. F. Torgersen, *Science* **1976**, 191, 920.
- [10] J. W. Metzger, W. Beck, G. Jung, *Angew. Chem.* **1992**, 104, 235; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 226, zit. Lit.
- [11] M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.* **1988**, 60, 2299.
- [12] M. Karas, U. Bahr, A. Ingendok, F. Hillenkamp, *Angew. Chem.* **1989**, 101, 805; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1989**, 28, 760.
- [13] B. Stahl, M. Steup, M. Karas, F. Hillenkamp, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1463.
- [14] I. V. Bletsos, D. M. Hercules, D. van Leyen, B. Hagenhoff, E. Niehuis, A. Benninghoven, *Anal. Chem.* **1991**, 63, 1953.
- [15] Elementaranalyse: 60.05% C; 5.79% H; 34.16% O; 21.50% MeO; MeO pro Phenylpropaneinheit 1.41; durchschnittliches Formelgewicht einer Phenylpropaneinheit 208.8; $M_w \approx 9700$; $M_n \approx 2600$ [16].
- [16] O. Faix, *Das Papier*, **1976** (10A), V1.
- [17] Elementaranalyse: 62.91% C, 5.88 H, 32.21% O, 15.98 MeO; MeO pro Phenylpropaneinheit 0.96; durchschnittliches Formelgewicht einer Phenylpropaneinheit 190.0; $M_w \approx 7800$; $M_n \approx 2300$ [16].

Ein makrocyclischer Rezeptor für zwei Chinonmoleküle

Von Christopher A. Hunter* und Duncan H. Purvis

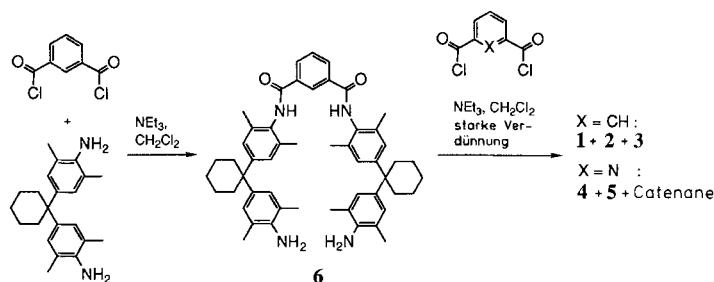
Die photosynthetischen Reaktionszentren der Purpurbakterien weisen zwei Chinon-Bindungsstellen auf, die ca. 12 Å voneinander getrennt sind^[1]. Dieser doppelte Chinonkomplex ist das Bindeglied zwischen der Einelektronenchemie

[*] Dr. C. A. Hunter [†], D. H. Purvis
Department of Chemistry, University of Otago
P. O. Box 56, Dunedin (Neuseeland)

[†] Gegenwärtige Adresse: Department of Chemistry, University of Sheffield
Sheffield S3 7HF (Großbritannien)

des photoinduzierten Elektronentransfers und der Zweielektronenchemie, die zur Bildung stabiler Reduktionsprodukte notwendig ist^[2]. Wir beschreiben nun eine supramolekulare Einheit ähnlicher Struktur, die eine analoge Funktion wahrnehmen könnte.

Wir berichteten kürzlich über die Synthese des makrocyclischen Rezeptors **1** (Schema 1), der durch Wasserstoff-



Schema 1. Synthese der makrocyclischen Rezeptoren.

brücken und π - π -Wechselwirkungen *p*-Benzochinon zu komplexieren vermag (Abb. 1)^[3]. Zusätzlich zum cyclischen Dimer **1** erhielten wir das cyclische Tetramer **2**, und das [2]-Catenan **3**^[4]. Einsatz von Pyridin-2,6-dicarboxyldichlorid statt Isophthaloyldichlorid im letzten Schritt der Reaktionsfolge ergab das cyclische Dimer **4** zusammen mit dem cyclischen Tetramer **5** (Schema 1)^[5]. Auch Catenane konnten isoliert werden, wurden bislang jedoch nicht charakterisiert.

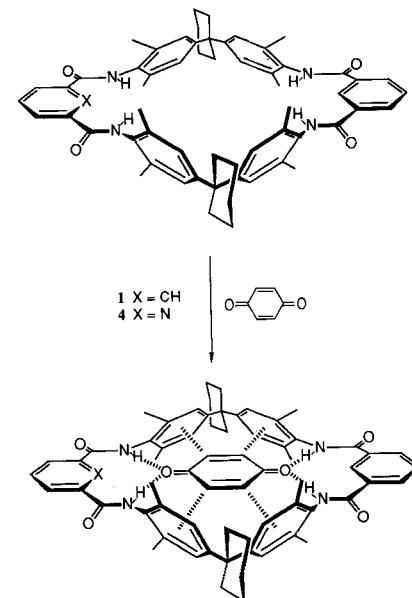


Abbildung 1. Komplexierung von *p*-Benzochinon durch **1** und **4**. Intermolekulare H-Brücken und π - π -Wechselwirkungen sind mit gestrichelten Linien angedeutet.

Die Eigenschaften des cyclischen Dimers **4** ähneln denen der Stammverbindung **1**: Beide bilden 1:1-Komplexe mit *p*-Benzochinon (Abb. 1, Tabelle 1)^[6]. Dagegen unterscheiden sich die Verhalten der cyclischen Tetramere **2** und **5**. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **2** ist den Spektren von **1** und **6** sehr ähnlich, was darauf hindeutet, daß **2** eine „offene“ Konformation wie die in Abbildung 2 dargestellte einnimmt. Das $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von **5** hingegen zeigt deutliche Abweichungen von dem des entsprechenden Dimers **4**. Die Iso-