

112. Karl Freudenberg, Hans Reznik, Heinz Boesenberg und Dietrich Rasenack: Das an der Verholzung beteiligte Fermentsystem*)

[Aus dem Chemischen und dem Botanischen**) Institut der Universität Heidelberg]

(Eingegangen am 17. März 1952)

An der Verholzung ist eine streng lokalisierte β -Glucosidase beteiligt, die in Schnitten mit Indican nachgewiesen wird, das bei der Spaltung über Indoxyl Indigo bildet. Die dehydrogenierenden und oxydierenden Fermente im Gebiet des Cambiums sind wie die bisher verwendete Pilzdehydrogenase imstande, aus Coniferylalkohol ligninartige Dehydrierungspolymerisate zu bilden. Eine Deutung des Verholzungsvorganges wird gegeben.

Zwischen den Catechinen und *p*-Oxy-zimtalkoholen bestehen auffallende Ähnlichkeiten. Catechine werden durch Mineralsäuren sowie durch oxydierende Mittel mit und ohne Fermente in mehr oder weniger lösliche und schließlich in unlösliche Stoffe verwandelt (Gerbstoffrote)¹⁾. Entsprechend verhalten sich die *p*-Oxy-zimtalkohole, die sich mit Säuren kondensieren lassen und mit Phenoldehydrogenasen ligninartige Stoffe bilden. Auch der *o*-Oxy-zimtalkohol ist zu diesen Reaktionen befähigt. Ein vereinfachtes Modell ist das Isoeugenol, das mit Säuren ein dimeres Kondensat, mit Pilzdehydrogenase nach H. Cousin und H. Hérissey (1908) ein dimeres Dehydrogenierungsprodukt bildet, das Dehydro-diisoeugenol, dessen Zusammenhang mit dem Lignin von H. Erdtman betont worden ist. Es hat sich jetzt gezeigt (H. H. Hübner), daß als Vorstufe der ligninartigen Dehydrogenierungs-polymerisate des Coniferylalkohols bei Verwendung von wenig Pilzdehydrogenase ein kristallisiertes dimeres Dehydrogenierungs-polymerisat gewonnen wird, das 3 Hydroxyle enthält, von denen eines mit Dinitrofluorbenzol reagiert, was nach unseren Befunden bedeutet, daß es phenolisch ist. Es ist ein Analogon des Dehydro-diisoeugenols und enthält wie dieses ein Cumaransystem (Dehydro-diconiferylalkohol).

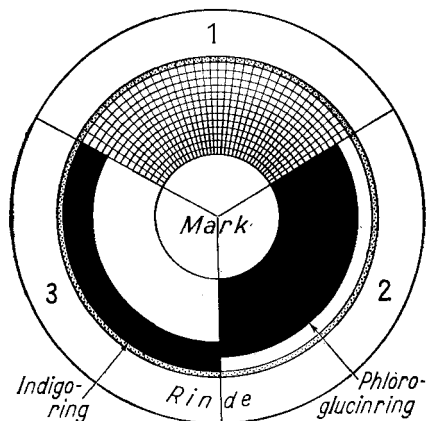
Die Bildung des Lignins in der Pflanze zeichnet sich immer deutlicher ab. In der Cambiumzone der Coniferen befindet sich vielfach in reichlicher Menge der am Phenolhydroxyl glucosidierte Coniferylalkohol, das Coniferin. Im Gewebe beiderseits des Cambiums lassen sich mit Dioxyphenylalanin (Dopa) dehydrogenierende Fermente (Phenoldehydrogenasen) nachweisen. Wenn das Glucosid Coniferin das Ausgangsmaterial für das Lignin liefert, so müssen zwei Bedingungen erfüllt sein: In den in Verholzung begriffenen Zellen muß eine Glucosidase anwesend sein, die den Coniferylalkohol freilegt, und weiterhin müssen die Phenoldehydrogenasen oder sonstigen oxydierenden Fermente des Gewebes dasselbe leisten wie die von uns bisher verwendete Pilzdehydrogenase, nämlich imstande sein, den Coniferylalkohol in Lignin oder ligninartige Stoffe zu verwandeln. Beide Erwartungen haben sich erfüllt.

*) Heinrich Wieland, dem Lehrmeister meiner Dozentenjahre in München und Freiburg in Dankbarkeit und Freundschaft gewidmet.

**) Unterlagen zum botanischen Teil wird H. Reznik veröffentlichen.

1) K. Freudenberg, *Chemie der nat. Gerbstoffe*, Berlin 1920, S. 7, 8.

Für den Nachweis einer β -Glucosidase in Gewebeschnitten haben wir das Indican, das Glucosid des Indoxyls verwendet, das A. Robertson²⁾ synthetisiert hat. Sobald Indoxyl in Freiheit gesetzt ist, verwandelt es sich durch Luftsauerstoff in Indigo, und zwar mit größerer Geschwindigkeit als die Glucosidspaltung vor sich geht. Wir konnten bereits mitteilen³⁾, daß in lebenden Sproß-Querschnitten der Conifere *Araucaria excelsa* dicht innerhalb des Cambiumringes, aber außerhalb der verholzten Zone, eine Schicht von der Dicke weniger Zellen beobachtet wurde, in der mit Indican eine β -Glucosidase nachweisbar ist (Abbild. 1 u. 2). Mit Phloroglucin-Salzsäure läßt sich auch

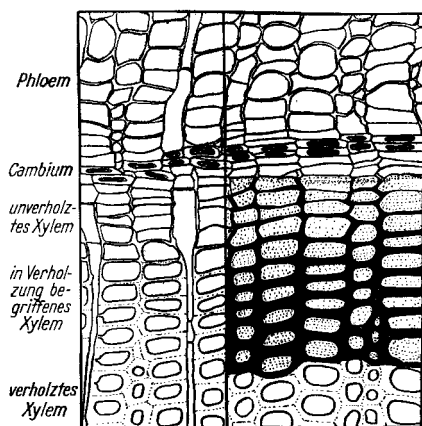


Abbild. 1. Schema eines Querschnittes durch einen einjährigen Coniferensproß

Sektor 1: Schematische Darstellung des Holzkörpers (Xylem) mit Radialreihen von Holzzellen. Punktierte äußere Zone: Cambium (Bildungsgewebe).

Sektor 2: Schematische Übersicht über die Topographie der Phloroglucin-Reaktion. Unverholztes cambium-nahes Xylem nicht gefärbt.

Sektor 3: Topographie der Indican-Reaktion. Farbring im cambium-nahen Xylem.



Abbild. 2. Teilausschnitt eines mikroskopischen Querschnittes durch das Phloem, Cambium und Xylem eines lebenden Pinussprosses

Rechte Bildhälfte: Indican-Effekt im verholzenden Xylem. Die linke Bildhälfte wurde zum Vergleich ungefärbt gelassen.

außerhalb des Cambiums ein sehr dünner unterbrochener Ring von verholzten Zellen nachweisen, die der Rinde angehören. Auch hier tritt eine schwache Indigobildung auf, ebenso in den Harzgängen. An anderen Coniferen und vielen Laubhölzern wird Entsprechendes gefunden, doch ist die Stärke der Indigobildung sowie der Zeitraum bis zum Sichtbarwerden verschieden. Auch bei der gänzlich anders gebauten Liliacee *Cordyline congesta* ist am Ort der Verholzung Glucosidase nachweisbar.

Das dehydrogenierende oder oxydierende Fermentsystem der Kiefer hat bereits S. M. Manskaja⁴⁾ untersucht. Sie hat eine Peroxydase im Cambium

²⁾ Journ. chem. Soc. London 1927, 1939.

³⁾ B. 84, 474 [1951].

⁴⁾ Doklady Akademii Nauk 1948, 369.

und den neugebildeten Jahresringen neben einer Poly-phenoloxydase gefunden und ihre Wirksamkeit auf Coniferylalkohol festgestellt. Wir haben die Fermentsysteme von *Araucaria excelsa* untersucht. An einem armdicken Stamm wurde die Rinde abgehoben und die dünne Zellschicht abgeschabt, die unmittelbar auf dem Holz liegt. Ein kleiner Teil der in diesen Zellen vorhandenen Peroxydase ist wasserlöslich, während der größte Teil zellgebunden ist. Die gleichzeitig vorhandene Brenzcatechinoxydase (Phenoldehydrogenase) ist in diesem Gewebe in wasserlöslicher Form vorhanden. Im Gewebe außerhalb des Cambiums und im Mark befinden sich gleichfalls beide oxydierenden Fermentarten, und zwar beide in wasserlöslicher und gewebegebundener Form. Die Peroxydasen wurden durch Purpurogallin-Bildung festgestellt. Mit löslicher und zellgebundener Brenzcatechinoxydase läßt sich bei Belüftung Coniferylalkohol bei p_H 5.5–6.5 und 20° in ein amorphes Dehydrogenierungspolymerisat von Lignin-Eigenschaften verwandeln. Die Reaktion geht nur langsam und unvollständig vonstatten, weil sehr wenig Phenoldehydrogenase anwesend ist oder die Wirksamkeit der zellgebundenen Brenzcatechinoxydase durch das Polymerisationsprodukt, welches das Zellmaterial umhüllt, herabgesetzt wird. Weit besser verlief sowohl mit der gelösten wie mit der zellgebundenen Peroxydase die Umwandlung des Coniferylalkohols in das Dehydrierungspolymerisat mit Wasserstoffperoxyd, das in äußerst geringen Konzentrationen angewendet wurde. Die mit den Redoxasen der *Araucaria* gewonnenen Dehydrierungspolymerisate stimmen in der Elementarzusammensetzung, dem Methoxylgehalt und dem Ultraviolettpektrum nach bisherigen Feststellungen mit dem durch Pilzdehydrogenase gewonnenen Dehydrierungspolymerisat überein. Auch hierbei wurde die kristalline Vorstufe, der Dehydro-diconiferylalkohol, gefaßt.

Im Elektrophorese-Chromatogramm verhält sich die lösliche Peroxydase ähnlich wie Meerrettichperoxydase. Es ist jedoch auch möglich, daß ein einfacheres System vorliegt, denn es hat sich gezeigt (H. Wilk), daß Coniferylalkohol durch Wasserstoffperoxyd in Gegenwart von Kobalt(II)-Ion in ein Dehydrogenierungspolymerisat umgewandelt werden kann. Die Pilzdehydrogenase, die wir bisher verwendet haben, wird ebenso wie die Brenzcatechinoxydase und die Peroxydase aus *Araucaria* durch Blausäure gehemmt. Dies gilt nicht für die Dehydrogenase des rohen Mandelemulsins, die den Sinapinalkohol in ein wasserstoffärmeres Dimeres vom Typ des Pinoresinols zu verwandeln vermag⁵⁾.

Nach diesen Versuchen läßt sich die Verholzung folgendermaßen deuten: In den neu entstandenen, noch lebenden Zellen zwischen dem Holz und dem Cambium befindet sich streng lokalisiert eine β -Glucosidase. Sie legt den Coniferylalkohol aus dem Coniferin frei. Der Coniferylalkohol wird von der Phenoldehydrogenase und, wahrscheinlich vorwiegend, von der Peroxydase in Lignin verwandelt. Diese Auffassung setzt voraus, daß das Coniferin und

⁵⁾ K. Freudenberg, R. Kraft u. W. Heimberger, B. 84, 472 [1951]. Die damals vermutete Konstitution konnte inzwischen bestätigt werden (H. Dietrich). Diese Versuche, ebenso die erwähnten von H. H. Hübner, H. Wilk, F. Bittner u. W. Fuchs werden demnächst veröffentlicht.

Syringin von den noch unbekannten Bildungsorten den in Verholzung begriffenen Geweben zugeführt werden. Es ließe sich jedoch auch vermuten, daß diese Oxy-zimtalkohole am Ort der Verholzung erzeugt werden und die Glucosidase dazu dient, den Überschuß durch Glucosidierung abzufangen. Diese Deutung ist jedoch weniger wahrscheinlich als die erste, weil dann die Oxy-zimtalkohole an sehr verschiedenen Stellen erzeugt werden müßten, und zwar in Geweben, in denen solche biosynthetischen Fähigkeiten unwahrscheinlich sind.

Durch Indican wird β -Glucosidase auch in den Harzgängen der *Araucaria* angezeigt. Es ist möglich, daß ihr auch hier die Aufgabe zukommt, den Coniferylalkohol aus seinem Glucosid freizulegen, denn es ist bekannt, daß manche Harze, insbesondere von Coniferen, mit dem Coniferylalkohol in Beziehung stehen. In dem austretenden Harzsaft der *Araucarie* ist außerdem auch die Brenzcatechinoxidase und Peroxydase nachgewiesen.

Aus markiertem Cyanessigester hergestellter Coniferylalkohol $\text{HO} \cdot (\text{CH}_3\text{O})\text{C}_6\text{H}_3 \cdot \text{CH} : \text{CH} \cdot \text{C}^*\text{H}_2\text{OH}$ (F. Bittner) liefert Pilzdehydrogenase ein Dehydrierungspolymerisat, das die volle Radioaktivität besitzt. Der Formaldehyd, der daraus durch Kochen mit Schwefelsäure erhalten wird, ist aktiv. Er entstammt also dem primären Carbinol. Wir sehen darin eine Stütze für die Auffassung, daß auch der Formaldehyd aus Lignin primärem Carbinol entstammt. Essigsäurelignin, das mit aktiver Essigsäure (W. Fuchs) nach bekannter Vorschrift hergestellt wurde, enthält nach der Abspaltung der Essigsäure keine aktiven C-Atome. Demnach wird bei der Bereitung keine Essigsäure irreversibel mit dem Lignin kondensiert.

Beschreibung der Versuche

Beim Nacharbeiten der Indican-Synthese haben sich folgende Erfahrungen ergeben:

A. Robertson²⁾ geht vom Indoxylcarbonsäure-methylester aus, der aus dem Dimethylester der Phenylglycincarbonsäure hergestellt wird⁶⁾. Wir haben gefunden, daß der Dimethylester zweckmäßig durch Veresterung des nach J. Houben⁷⁾ aus Anthranilsäure und Chloressigsäuremethylester hergestellten sauren Esters bereitet wird (Ausb. des Halbesters 50%, Schmp. 163°); zur Weiterarbeit genügt das Rohprodukt vom Schmp. 159–160°. 150 g werden 48 Stdn. in 300 ccm Methanol und 20 ccm konz. Schwefelsäure gekocht. Ausb. an Dimethylester 70%; Schmp. 94–95°. Der Indoxyl-carbonsäure-(2)-methylester wird daraus durch Behandeln mit Natrium in einer Ausbeute von 54% gewonnen; Schmp. 157–158°.

Wenn statt des Di-esters der oben erwähnte Mono-ester ebenso mit Natrium behandelt wird, entsteht kein Indoxylcarbonsäure-methylester.

Die übrigen Vorschriften von A. Robertson bedürfen geringfügiger Ergänzungen. Das nach der Decarboxylierung erhaltene Pentaacetyl-indican wird zweckmäßig nach G. Zemplén⁸⁾ verseift:

Die Lösung von 5 g des Acetats in 120 ccm warmem absol. Methanol wird nach Zusatz von 0.5 ccm reiner $n\text{CH}_3\text{ONa}$ -Lösung 75 Min. bei 40° gehalten. Sie wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand mit 20 ccm kaltem sauerstoff-freiem Wasser aufgenommen. Die filtrierte, fast farblose Lösung wird i. Vak. eingengt und das auskristallisierte Indican auf Ton abgepreßt; Ausb. 2.4 g (82% d. Th.).

⁶⁾ D. Vorländer, A. 301, 349 [1898]; vergl. Farbwerke Meister Lucius u. Brüning, Dtsch. Reichs-Pat. 105495 [1899] u. 111911 [1900]; Frdl. Teerfarb.-Fabrikat. V, 400, 401.

⁷⁾ B. 46, 4000 [1913].

⁸⁾ B. 62, 1613 [1929].

Indican wird leicht hydrolysiert, aber es ist in dem hier in Frage kommenden Bereich von p_H 4–7.5 genügend beständig, um zum Nachweis von β -Glucosidase zu dienen⁹⁾.

Lösliche Redoxasen

Das Pflanzenmaterial wird unter flüssigem Stickstoff zerrieben und in der auf $+4^0$ abgekühlten 4fachen Menge einer Puffer-Lösung nach Sørensen von p_H 6.5 3 Stdn. aufbewahrt. Nach einstündigem gelegentlichem Durchrühren mit dem doppelten Vol. kalten *n*-Butanols¹⁰⁾ wird zentrifugiert. Im gefällten Eiweiß befinden sich keine Redoxasen. Die wäBr. Lösung wird bei 4^0 mit dem 2.5fachen Vol. gesätt. Ammoniumsulfat-Lösung versetzt. Nach 2 Stdn. wird zentrifugiert. Der Niederschlag bildet auf der Oberfläche eine helle häutige Masse, in der die Redoxasen enthalten sind. Sie wird abgetrennt und getrocknet; sie löst sich fast vollständig in Wasser. Die Ausbeute beträgt etwa 1% aus Rinde und Phloem eines armdicken Araucariastammes und 1% aus dem in Verholzung begriffenen Gewebe.

Zur Prüfung der Ferment-Lösung werden 2 Tropfen auf Filtrierpapier gebracht und mit 3 Tropfen einer Lösung von 10 mg Brenzcatechin in 1 ccm Wasser und 2 ccm Puffer von p_H 6.5 versetzt. Als bald auftretende dunkelbraune Färbung zeigt Brenzcatechinoxidase an. Zur Prüfung auf Peroxydase wird entsprechend mit einer Lösung von Pyrogallol und Wasserstoffperoxyd nach R. Willstätter geprüft^{11,12)}. Rotbraune Farbe auf dem getrockneten Papier zeigt Peroxydase an. Die Purpurogallin-Kristalle wurden in Reagensglasversuchen unter dem Mikroskop festgestellt, in besonderen Fällen in Äther gelöst, aus Eisessig umkristallisiert und auf den Schmelzpunkt geprüft.

Wie schon erwähnt, ist die Brenzcatechinoxidase in dem in Verholzung begriffenen Zellgewebe wasserlöslich, in dem Cambial- und benachbarten Phloem-Gewebe dagegen teils wasserlöslich, teils unlöslich. Die Peroxydase ist in beiden Gewebearten teils löslich, teils zellgebunden.

Die gelöste Brenzcatechinoxidase wurde im Warburg-Apparat untersucht. Ein festes Präparat hatte in 8 Tagen die Hälfte der Wirksamkeit verloren, ein gelöstes ist in 5 Tagen unwirksam geworden (p_H 6.5, $+4^0$). Zusatz von $1/1000$ *n* HCN (2 ccm Ferment-Lösung, 1 ccm Blausäure) hemmte deutlich, $1/100$ *n* stärker. Coniferylalkohol verbrauchte den Sauerstoff bedeutend langsamer als Brenzcatechin.

Die wäBr. Auszüge enthielten eine geringe Menge Peroxydase, die in wäBr. Lösung nach 8 Tagen unverändert war, aber durch Kochen unwirksam wurde. Auch der getrocknete Niederschlag ist widerstandsfähig. Im Elektrophorese-Chromatogramm fand sich eine zur Kathode wandernde empfindliche Komponente und eine beständigere, die zur Anode ging.

Verwendet wurde als Gerät: Elphor-H nach W. Grassmann und K. Hannig¹³⁾ und als Chromatogrammpapier: Whatman 1. Wir benutzten den von Miller vorgeschlagenen Puffer¹⁴⁾ in der Ionenstärke 0.2 *n* und arbeiteten bei einem p_H um 6.5, das mit der Chinhydronelektrode bestimmt wurde. Aus der Lösung wurden 0.1 ccm abpipettiert und senkrecht zur Wanderungsrichtung auf das Papier aufgetragen. Wir arbeiteten bei 60 mA und 2–4 mV. Nach längerem Anlegen der Spannung wurde das Papier an der Luft schwach getrocknet, dann mit der Test-Lösung besprüht und so auf die Wanderung der Peroxydase untersucht.

Zellgebundene Redoxasen

Das abzentrifugierte Pflanzenmaterial aus dem obigen Versuch, oder frisches, unter flüssigem Stickstoff zerkleinertes wurde mit Aceton erschöpfend bei 4^0 extrahiert. Es

⁹⁾ Vergl. hierzu Fr. Cramer, *Angew. Chem.* **64**, 136 [1952].

¹⁰⁾ R. K. Morton, *Nature* **166**, 1092 [1950].

¹¹⁾ R. Willstätter u. A. Stoll, *A.* **416**, 21 [1916].

¹²⁾ R. Willstätter u. A. Pollinger, *A.* **430**, 269 [1923].

¹³⁾ Firma Dr. Bender u. Dr. Hobein, München.

¹⁴⁾ L. G. Miller, R. H. Golder, *Arch. Biochem.* **29**, 420 [1950].

wurde abgesaugt, mit Aceton ausgewaschen und i. Vak. getrocknet. Das Fermentgemisch ist in diesem Zustand haltbar.

Bei den meisten Untersuchungen entfernten wir die löslichen Redoxasen aus dem mit Aceton getrockneten Material nicht, da ihr Anteil gegenüber dem Hauptteil nur gering erscheint.

Die Aktivität der Brenzcatechinoxidase gegen Brenzcatechin ist sehr viel größer als bei dem löslichen Enzym. Sie beträgt etwa das 80fache. Im Laufe von 3 Wochen hat sich die Aktivität eines bei +4° aufbewahrten Fermentpräparates nicht geändert. Durch Kochen wird das Ferment irreversibel inaktiviert. Der Coniferylalkohol wird auch durch diese Brenzcatechinoxidase oxydiert, allerdings nur sehr langsam. In 7 Tagen sind erst etwa 30% des zu seiner Oxydation erforderlichen Luftsauerstoffs aufgenommen. Durch Cyanwasserstoff wird auch dieses Ferment in Abhängigkeit von der Konzentration gehemmt. Bei den manometrischen Messungen im Warburg-Gerät wurde festgestellt, daß kein Gas entsteht oder aufgenommen wird, wenn kein Substrat zugesetzt ist. Nur nach Zugabe eines solchen wird O₂ verbraucht.

An Zellmaterial gebundene Peroxydase befindet sich in allen Gewebeteilen, genau so wie die lösliche. Sie kommt in verhältnismäßig hoher Stärke vor. Das reichliche Vorkommen der Peroxydase in dem in der Verholzung begriffenen Xylemteil erscheint besonders bedeutungsvoll. Das Ferment ist acetoneständig und getrocknet lange haltbar. Auch in wäBr. Medium suspendiert ist nach 3 Wochen bei einer Temperatur von +20° Aktivität nachweisbar. Durch Kochen sowie durch Blausäure wird die Peroxydase inaktiviert.

Dehydrierungspolymerisat (DHP) aus Coniferylalkohol

Mit der löslichen Brenzcatechinoxidase bildet sich bei Belüftung *in vitro* kein DHP. Das ist wohl in der geringen Lebensdauer des Fermentmaterials begründet. Mit dem acetongetrockneten Zellmaterial wird ein DHP erhalten.

250 mg Coniferylalkohol wurden in 250 ccm Phosphat-Lösung von p_H 6.0 gelöst. Dazu wurden 100 mg fermenthaltiges Gewebe (Rinde und Phloem, mit Aceton präpariert) gegeben. Die Mischung wurde bei 20° 14 Tage belüftet. Nach 14 Tagen wurden erneut 100 mg Gewebe zugesetzt und weitere 14 Tage belüftet. Das Zentrifugat wurde feucht mit 6 ccm Aceton versetzt und die filtrierte Lösung in 60 ccm sehr verdünnte Essigsäure eingetroppt. Der Niederschlag wurde nochmals aus sehr wenig Aceton entsprechend umgefällt. Es ist bekannt, daß bei diesem Verfahren ein großer Teil des DHP in Lösung bleibt. Der Niederschlag wog 14 mg und zeigte, soweit untersucht, keine Unterschiede gegen DHP, das mit Pilzferment gewonnen ist.

Coniferylalkohol und Peroxydase

Zu den Versuchen diente das Gemisch von Peroxydase und Brenzcatechinoxidase. Coniferylalkohol bildet in Puffer-Lösung mit verd. Wasserstoffperoxyd auch nach längerer Zeit keine Trübung oder Fällung. In Gegenwart von löslichem Ferment oder mit Aceton behandeltem Gewebe entsteht jedoch bei Zugabe von Wasserstoffperoxyd rasch eine erst milchige, dann flockige Fällung. Das Gewebe wird wie bei Anwendung der Brenzcatechinoxidase vom ausfallenden DHP umschlossen, wodurch die Ausbeute herabgesetzt wird. Am besten wird das ungetrocknete, mit Ammoniumsulfat gefällte Fermentpräparat verwendet.

250 mg Coniferylalkohol wurden in 250 ccm Phosphatpuffer von p_H 5.5 gelöst. Unter dauernder Belüftung wurde bei +20° der noch feuchte Ammoniumsulfat-Niederschlag aus 6 g Rinde und Bast zugesetzt. In Anteilen von 0.1 ccm wurden im Laufe von 13 Tagen insgesamt 4.7 ccm 0.5-proz. Wasserstoffperoxyd-Lösung zugegeben. Der abzentrifugierte Niederschlag wurde mit Aceton ausgezogen und das Filtrat mit Wasser versetzt. Trotz der damit verbundenen Verluste wurde noch 2mal aus Aceton und Wasser umgefällt; Ausb. 20 mg (Präparat I).

Zur wäBr. zentrifugierten Lösung wurden ohne weitere Belüftung 8 ccm 0.5-proz. Wasserstoffperoxyd-Lösung in Anteilen von 1 ccm während weiterer 13 Tage zugegeben.

Nach 2maliger Fällung aus Aceton-Wasser wurden weitere 71 mg DHP erhalten (Präparat II). Beide Präparate waren rahmfarben; sie enthielten nur Spuren von Stickstoff. Nach Abrechnung der Asche (3–4%) ergab die Elementaranalyse:

| | | | |
|----------------------------|--------|-------|-----------------------|
| DHP I | C 66.7 | H 6.3 | OCH ₃ 16.7 |
| DHP II | „ 64.5 | „ 6.1 | „ 17.3 |
| DHP aus Pilzenzym | „ 66.9 | „ 5.9 | „ 16.8 |
| Acetonlignin nach Brauns : | „ 65.5 | „ 5.8 | „ 16.0 |

Bei einem weiteren, frühzeitig unterbrochenen Versuch wurde der krist. Dehydrodiconiferylalkohol in einer Ausbeute von 10% erhalten.

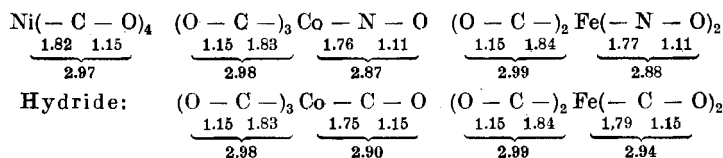
113. Walter Hieber, Fritz Seel und Hermann Schneider: Raumchemie und Konstitution der Metallcarbonylwasserstoffe*) **) (XLIX. Mitteil. über Metallcarbonyle***)

[Aus dem Anorganisch-chemischen Laboratorium der Technischen Hochschule München]
(Eingegangen am 26. Februar 1952)

Es wurden die Dichte und die Oberflächenbehandlung von Kobalt- und Eisencarbonylwasserstoff bestimmt und hieraus das Molvolumen und der Parachor dieser Verbindungen berechnet.

Die Molvolumina von $\text{Co}(\text{CO})_4\text{H}$ und $\text{Fe}(\text{CO})_4\text{H}_2$ sind kleiner als das Molvolumen von $\text{Ni}(\text{CO})_4$. Hieraus ergibt sich die überraschende Tatsache, daß der Eintritt von Wasserstoffatomen auf den Komplex $\text{Me}(\text{CO})_4$ kontrahierend wirkt. Auch aus dem Parachor der Metallcarbonylhydride ist auf eine besondere Bindungsart des Wasserstoffs zu schließen. Unter Berücksichtigung der Ergebnisse von Brockway und Mitarbeitern¹⁾ lassen sich die beobachteten Anomalien valenztheoretisch deuten und Aussagen über die Konstitution der Carbonylhydride machen.

Die Anordnung der schweren Atome von Nickelcarbonyl, Kobalt-nitrosylcarbonyl, Eisennitrosylcarbonyl, Kobaltcarbonylwasserstoff und Eisencarbonylwasserstoff ist durch die Elektronenbeugungsversuche von Brockway und Mitarbeitern¹⁾ genauestens ermittelt worden. Es handelt sich hier um tetraedrisch gebaute Moleküle mit den nachfolgend in Å angegebenen Abständen zwischen den einzelnen Atomen:



*) Heinrich Wieland zum 75. Geburtstag.

) Vergl. a. W. Hieber, K. Ries u. G. Bader, *Ztschr. anorgan. Chem.* **190, 215 [1930].

***) XLVIII. Mitteil.: W. Hieber u. E. Böckly, *Ztschr. anorgan. Chem.* **262**, 344 [1950].

¹⁾ L. O. Brockway u. P. C. Cross, *Journ. chem. Physics* **3**, 828 [1935]; L. O. Brockway u. J. St. Anderson, *Trans. Faraday Soc.* **33**, 1233 [1937]; R. V. G. Ewens u. N. W. Lister, *Trans. Faraday Soc.* **35**, 681 [1939].