

KARL FREUDENBERG und MARGOT FRIEDMANN *)

Oligomere Zwischenprodukte der Ligninbildung

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

(Eingegangen am 10. Mai 1960)

Die mit H und J bezeichneten tri- und tetrameren Zwischenprodukte der Ligninbildung sind ätherartige Verbindungen zwischen dem sekundären Carbinol des Zwischenproduktes C (II) und dem Coniferylalkohol bzw. Dehydro-diconiferylalkohol A (I). Früher wurde vermutet, daß an der Ätherbindung die Propenole der beiden letztgenannten Substanzen beteiligt seien. Dies hat sich als irrtümlich erwiesen. In H und J nehmen die Phenolhydroxyle des Coniferylalkohols und Dehydro-diconiferylalkohols A an der Verätherung teil. H und J haben die Konstitution IV und V. Wenn Coniferylalkohol in Gegenwart von Phenol dehydriert wird, so entsteht neben den üblichen Dehydrierungsprodukten der Phenyläther VI. Die Konstitution dieser Substanzen wird durch ihre Hydrolyse und die Bildung von Derivaten ermittelt. Sie entstehen durch Addition der genannten Phenoole an das Chinonmethid C' (III). Neben der durch Dehydrierung erfolgenden Kondensation ist in diesem Additionsprinzip ein zweites Aufbauprinzip des Lignins verwirklicht. Außerdem ist die Verzweigung des Ligninmoleküls erklärt.

Wenn die Dehydrierung des Coniferylalkohols nach der Wegnahme eines Wasserstoffatoms unterbrochen wird, finden sich in der Mischung etwa 40 chromatographisch unterscheidbare Substanzen¹⁾, die sämtlich Zwischenprodukte der Bildung des biosynthetischen sowie des natürlichen Lignins sind²⁾. Elf von ihnen sind isoliert und aufgeklärt worden. Sie werden mit den Buchstaben A bis L gekennzeichnet¹⁻³⁾. Unter ihnen sind Dehydro-diconiferylalkohol I (A), DL-Pinoresinol (B) mit DL-Epipinoresinol (L) sowie Guajacylglycerin-coniferyläther II (C) der Menge nach die wichtigsten. Ihnen folgen an Menge zwei Zwischenprodukte H und J, die sich lange der Isolierung widersetzt haben. Mit Diazobenzolsulfonsäure kuppelt H mit violetter, J mit rotbrauner Farbe. Bei diesen hauptsächlich von B. LEHMANN und A. SAKAKIBARA^{1,4)} durchgeführten Vorversuchen hat sich gezeigt, daß unter der Wirkung sehr verdünnter Säure H in C (II) und Coniferylalkohol, J in C und Dehydro-diconiferylalkohol A (I) zerfällt. H wurde deshalb als ein Äther des Coniferylalkohols mit dem sekundären Carbinol der Substanz C angesprochen, während J als Äther von A und C erkannt wurde. Nachdem das Chinonmethid C' (III) als kurzlebiges Zwischenprodukt der Ligninbildung auf optischem Wege mit Sicherheit nachgewiesen war⁵⁾, lag

*) Wir danken dem VERBAND DER CHEMISCHEN INDUSTRIE, FONDS DER CHEMIE, für die Gewährung von Mitteln.

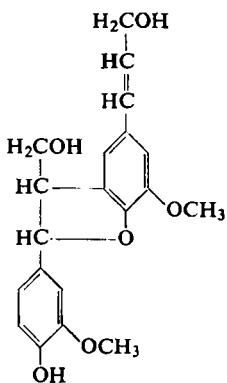
¹⁾ K. FREUDENBERG und B. LEHMANN, Chem. Ber. 93, 1354 [1960].

²⁾ K. FREUDENBERG, J. prakt. Chem. 10, 220 [1960].

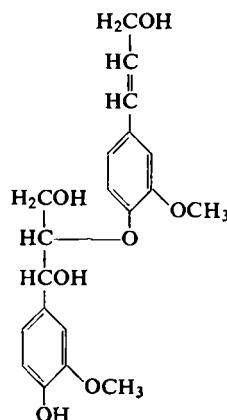
³⁾ K. FREUDENBERG, Chem. Ber. 92, LXXXIX [1959].

⁴⁾ K. FREUDENBERG und A. SAKAKIBARA, Liebigs Ann. Chem. 623, 129 [1959].

es auf der Hand, daß H und J als Addukte des Coniferyl-alkohols beziehungsweise des Dehydro-diconiferylalkohols A an C' aufzufassen sind.



I. Dehydro-diconiferyl-alkohol A



II. Guajacyl-glycerin-coniferylather C

Wenn man die Dehydrierung des Coniferylalkohols mit Laccase in Gegenwart überschüssiger Substanz A (I) vornimmt, entsteht weit mehr J als bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols allein. Auch diese Beobachtung deutet darauf hin, daß J ein Addukt von A an C' ist.

Wir haben geglaubt^{3,4)}, daß es das Hydroxyl der Zimtalkoholgruppen des Coniferylalkohols und der Substanz A sei, das sich an das Chinonmethid C' anlagere. Dies schien aus sterischen Gründen nahezuliegen; zudem verlief der Versuch wenig befriedigend, einen Phenyläther von C (II) zu fassen, als Coniferylalkohol in Gegenwart von Phenol durch Laccase dehydriert wurde. Wir haben zwar im Chromatogramm die Bildung einer neuen Substanz — offenbar des Adduktes von Phenol an C' — wahrgenommen⁶⁾, aber die Menge war verschwindend klein. Zugunsten aliphatischer Ätherbindungen sprach auch die weiter unten erörterte Feststellung, daß bei der Bildung der Ligninsulfonsäure kein oder nur ein geringer Zuwachs an Phenolhydroxyl wahrnehmbar ist⁷⁻⁹⁾, also keine Alkyl-aryläther in nennenswerter Menge gespalten werden. Infolgedessen haben wir bei der Bildung von H und J nicht die Addition der Phenolgruppen des Coniferylalkohols und der Substanz A an C' in Betracht gezogen.

Dies war ein Irrtum. Es ist uns nicht gelungen, bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols in Gegenwart von 3,4-Dimethoxy-zimtalkohol ein Addukt dieses Alkohols an C' nachzuweisen. Ebensowenig konnte bei einem früheren Versuch¹⁰⁾ radioaktiver 3,4-Dimethoxy-zimtalkohol bei der enzymatischen Dehydrierung des Coniferylalkohols in das biosynthetische Lignin eingebaut werden.

5) K. FREUDENBERG, G. GRION und J. M. HARKIN, Angew. Chem. 70, 743 [1958].

6) K. FREUDENBERG und G. GRION, Chem. Ber. 92, 1355 [1959].

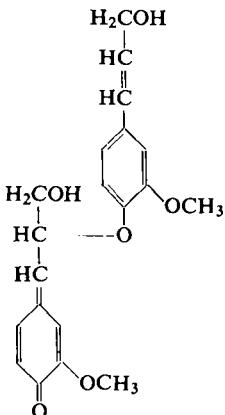
7) H. ERDTMANN, Techn. Assoc. Pulp an Paper Ind. (Tappi) 32, 346 [1949].

8) K. FREUDENBERG und K. DALL, Naturwissenschaften 42, 606 [1955].

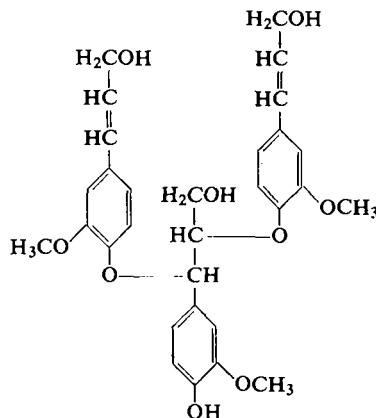
9) K. FREUDENBERG, K. SEIB und K. DALL, Chem. Ber. 92, 807 [1959].

10) K. FREUDENBERG und W. FUCHS, Chem. Ber. 87, 1824 [1954].

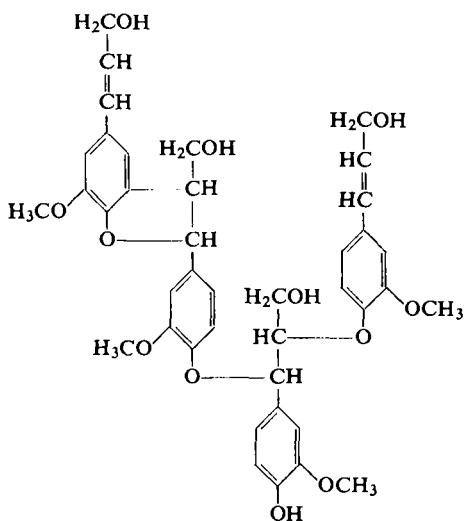
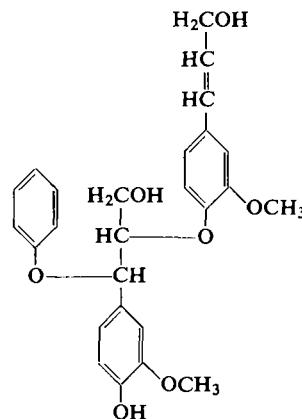
Wir haben jetzt H, J und das Phenoladdukt in der nötigen Menge isoliert und gefunden, daß alle nach *einem* Schema aufgebaut sind und nur *eine* durch Umsetzung mit Dinitrofluorbenzol nachweisbare Phenolgruppe enthalten. Damit ist die Konstitution von H und J im Sinne der Formeln IV und V aufgeklärt. Das Phenoladdukt an C' ist VI.



III. Chinonmethid C'



IV. Guajacylglycerin-bis-coniferyläther H

V. Guajacylglycerin- α -dehydro-diconiferyl- β -coniferyläther JVI. Guajacylglycerin- α -phenyl- β -coniferyläther

Es ist uns nicht gelungen, die gegen Hydrolyse empfindlichen Substanzen H (IV) und J (V) in reinem Zustande aus den Ansätzen zu isolieren, die aus Coniferylalkohol mit Laccase bereitet waren. Wenn dagegen Coniferylalkohol in Aceton mit Mangandioxyd⁶⁾ dehydriert wird, so entstehen H und J neben einem Teil der anderen Dehydrierungsprodukte in erheblicher Menge; C (II) tritt dabei nicht auf. Das ist erklärlich,

weil das für die Bildung von C aus C' nötige Wasser fehlt. H und J werden durch Säulenchromatographie aus dem Gemisch isoliert. Wenn Coniferylalkohol in Aceton in Gegenwart von Phenol mit Mangandioxyd dehydriert wird, entsteht neben einem Teil der anderen Produkte die Substanz VI. Sie läßt sich wie H (IV) und J (V) isolieren.

H, J und VI bilden in Aceton mit Dinitrofluorbenzol und Natriumhydrogen-carbonat Mono-dinitrophenyläther, die nicht mit Diazobenzolsulfonsäure reagieren, also keine freie Phenolgruppe mehr enthalten. Bei gelinder Hydrolyse mit wäßriger Toluolsulfonsäure (pH 3.5, 80°, 4–6 Stdn.) zerfällt ein Teil von H, J und VI in Substanz C und (im Falle H) in Coniferylalkohol oder (im Falle J) in Dehydro-diconiferylalkohol oder (im Falle VI) in Phenol. Auch die Hydrierungsprodukte von H, J und VI sind gebildet worden sowie deren Dinitrophenyläther. Der Dinitrophenyläther der hydrierten Verbindung VI bildet ein kristallisierendes Diacetat. Damit ist die Konstitution dieser Substanzen gesichert.

In den Hydrierungsprodukten von H, J und VI ist der Phenylcarbinol-aryläther gegen weitere Hydrierung auffallend resistent.

Wie erwähnt, sind IV (H) und V (J) normale Zwischenprodukte der Ligninbildung bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols mit Laccase. VI entsteht neben den übrigen Zwischenprodukten, wenn Phenol anwesend ist. Aber die Dehydrierung kommt bald zum Stillstand. Offenbar schwächt das Phenol die Laccase. Es wurde besonderer Wert auf den Nachweis gelegt, daß die mit Mangandioxyd gewonnenen Produkte mit den durch Laccase gebildeten übereinstimmen. Hierfür lassen sich folgende Gründe anführen:

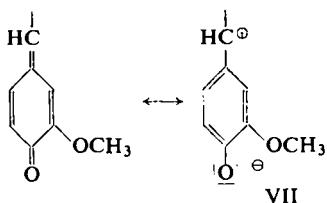
H, J und Substanz VI, nach beiden Verfahren hergestellt, zeigen entsprechende Färbungen mit Diazobenzolsulfonsäure. Die R_F -Werte, in zwei verschiedenen Lösungsmittelgemischen gemessen, entsprechen einander. Substanzen von beiderlei Herstellung zerfallen hydrolytisch in C (II) und Coniferylalkohol oder A oder Phenol. In Lösung erwärmt, entstehen bei 40° und darüber dieselben Zerfallsprodukte, jedoch statt C (II) eine hydroxylärmere, gelbbraun kuppelnde Substanz, die sich auch aus C allein in der Wärme bildet und sich mit sehr verdünnter wäßriger Säure in gelinder Wärme in C zurückverwandelt. In den Ansätzen beider Art bildet sich J in verstärktem Maße, wenn A zugesetzt wird. Der einzige Unterschied zwischen beiden Verfahren fand sich bei H. Im Zutropf-Verfahren und besonders im Zulauf-Verfahren¹¹⁾ mit Laccase gewonnen, zeigt es im Gemisch II (siehe unten) im Chromatogramm zwei dicht beieinander liegende Flecke, offenbar von stereoisomeren Formen herrührend. Mit Mangandioxyd hergestellt, tritt H dagegen fast einheitlich auf.

Vermischt man den Coniferylalkohol mit Guajacol oder Pyrogallol-1,3-dimethyläther, so entstehen nach der Behandlung mit Mangandioxyd im Papierchromatogramm nachweisbare, dem Phenyläther VI entsprechende methoxylierte Aryläther. Die Raumfüllungsmodelle erlauben den Bau der entsprechenden α - β -Diaryläther des Phenylglycerins; allerdings sind die Gebilde gedrungen und einzelne Aryle in der Drehung behindert.

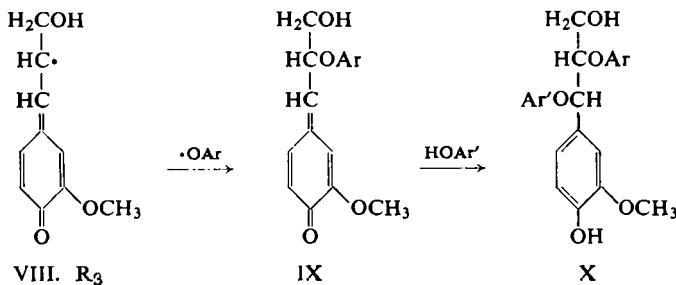
Auch Essigsäure wird addiert. Das Chinonmethid reagiert wie ein Zwitterion VII.

¹¹⁾ K. FREUDENBERG, Angew. Chem. 68, 508 [1956].

Es ist bereits früher darauf hingewiesen worden, daß bei der Bildung des Lignins die mit Dehydrierung verbundene Kondensation durch die Addition von Coniferylalkohol und oligomeren Zwischenprodukten an die zwischendurch gebildeten Chinonmethide ergänzt wird. C' (III) ist bestimmt nicht das einzige Chinonmethid, das bei der Ligninbildung eine Rolle spielt. Von den kurzlebigen Radikalen und Chinonmethiden abgesehen, sind die oligomeren Zwischenprodukte des Lignins allesamt



Phenole. Sie werden von der Laccase ihrerseits dehydriert, zuvorderst zu Aroxylen. Auch können sich Radikale, wie frisch hinzutretender dehydrierter Coniferylalkohol, mit diesen Phenolen ins Gleichgewicht setzen; sie bilden aus ihnen Radikale und werden dabei selbst teilweise zu Phenolen regeneriert. Es ist daher verständlich, daß in den Ansätzen verschiedene Aroxyle (ArO) nebst Mesomeren vorhanden sind. Diese Aroxyle können oligomeren oder polymeren Zwischenprodukten angehören. Wenn sie sich mit der wichtigsten Form des dehydrierten Coniferylalkohols R_β (VIII) absättigen, entsteht ein Chinonmethid (IX), in dem Ar ein hohes Aggregat sein kann. An IX addiert sich ein Phenol $\text{Ar}'\text{OH}$, das gleichfalls eine beachtliche Molekülgröße haben kann. So entsteht der Bis-aryläther X des Guajacylglycerins. R_β übernimmt somit die Funktion eines Bindemittels zwischen den Aggregaten Ar und Ar.



Im Spreitungsversuch, ausgeführt an der Ligninsulfonsäure¹²⁾, erweist sich das Lignin als verzweigt. Die α,β -Bis-aryläther des Guajacylglycerins sind das Verzweigungsglied; das Phenolhydroxyl des Guajacylrestes vermag unter Dehydrierung weiter zu reagieren. Durch Wechselwirkung zwischen den Chinonmethiden und den Polysacchariden der Zellwand wird das Lignin auf die Polysaccharide gepropft. Über diesen schon geschilderten Vorgang⁶⁾ wird in einer späteren Arbeit genauer berichtet werden^{13).}

Polymoleküle können durch Anfügen einer Einheit nach der anderen entstehen. Auch können schon gebildete Oligomere oder Polymere zu größeren Aggregaten zusammenwachsen. Nach beiden Prinzipien baut sich das Lignin auf. Dazu kommt als drittes Prinzip die soeben geschilderte Verkittung größerer Aggregate durch die sich einschaltende Einheit.

¹²⁾ K. FREUDENBERG und E. BRAUN, in K. FREUDENBERG, F. SOHNS, W. DÜRR und CHR. NIEMANN, Cellulosechemie 12, 263 [1931].

¹³⁾ K. FREUDENBERG und J. M. HARKIN, Chem. Ber. 93, [1960], im Druck.

Man sollte erwarten, daß aus den Gruppierungen H und J, nachdem sie in das Lignin eingebaut sind, beim Sulfitaufschluß zusätzliche Phenolgruppen freigelegt werden. Die Benzyl-aryl-ätherbindung in H und J wird ohne Zweifel stabilisiert, wenn beim weiteren Wachstum dieser Oligomeren das Phenolhydroxyl veräthert wird. Die Reaktion zwischen Lignin und Hydrogensulfit wird in der Praxis nicht zu Ende geführt, sondern abgebrochen, sobald das Lignin in lösliche Sulfonsäure verwandelt ist. In diesem ersten Stadium werden die freien Phenylcarbinole und ihre aliphatischen Äther umgesetzt, zu denen auch die Bindung an die Polysaccharide gehört. Bei der üblichen Kochung werden 0.3 bis 0.4 Sulfongruppen pro Einheit aufgenommen. Nach fortgesetzter Kochung treten mehr Sulfongruppen pro Einheit ein. Jetzt müssen notwendigerweise auch neue Phenolgruppen auftreten.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Guacylglycerin-bis-coniferyläther H (IV) und Guacylglycerin- α -dehydro-diconiferyl- β -coniferyläther J (V): Die Lösung von 10 g Coniferylalkohol in 2 l Aceton (über KMnO₄ und K₂CO₃ frisch destilliert) wird mit 30 g Mangandioxyd^{14,6,1)} versetzt und unter Belüftung bei Raumtemperatur gerührt. Nach etwa 4½ Stdn. ist der Coniferylalkohol verschwunden (Chromatogramm). Das Mangandioxyd wird abzentrifugiert, die hellbraune Lösung i. Vak. unter N₂ auf 100 ccm eingeengt und nochmals zentrifugiert. Nach Zusatz von 20 ccm Dimethylformamid wird das restliche Aceton i. Vak. abdestilliert. Zur Chromatographie auf Papier dient die Vorschrift von FREUDENBERG und LEHMANN¹⁾ mit dem Unterschied, daß die Probe in ihrer Lösung in Xylo/Dimethylformamid aufgetragen wird und die Chromatogramme vor der Besprüfung mit Diazobenzolsulfonat nicht bei erhöhter Temperatur getrocknet werden. In diesem Stadium der Dehydrierungsreaktion enthält die Mischung außer H und J nur wenig A (I) und B (Pinoresinol).

Zur Auf trennung dient die früher¹⁾ beschriebene 6teilige kleine Cellulosesäule. Sie wird trocken mit Papierpulver — Whatman standard grade — gestopft und zuerst mit 2 l Dimethylformamid und anschließend mit 4 l Gemisch I (Xylo¹⁵⁾: Dimethylformamid 9:2) gewaschen.

Das in 20 ccm Dimethylformamid enthaltene Gemisch wird mit so viel Papierpulver versetzt, daß ein dicker Brei entsteht. Unter Rühren werden 90 ccm Xylo hinzugefügt. Der bräunlich gefärbte Papierbrei und die Lösung werden auf die Säule gegeben, die mit Gemisch I eluiert wird.

550 Fraktionen von jeweils 20 ccm werden aufgefangen (Tropfgeschwindigkeit 20 ccm in 20 Min.). Sie werden unmittelbar chromatographiert, und zwar in Gemisch I und Gemisch II, Laufzeit 15—20 Stdn.

Fraktionen	Substanzen	Fraktionen	Substanzen
1—45	leer	170—174	H (IV) und J (V)
46—66	Coniferylalkohol und B	175—445	J (V) — rotbraun
67—100	A — rot-kuppelnd	446—460	J (V) und Substanz 24 ¹⁾ — violett
101—108	A und H (IV)	461—520	Substanz 24 — violett
109—169	H (IV) — rot-violett		

¹⁴⁾ J. ATTENBURROW, A. F. B. CAMERON, A. B. A. JANSEN und T. WALKER, J. chem. Soc. [London] **1952**, 1094.

¹⁵⁾ Das Xylo muß über einem sauren Austauscher von Spuren von Anilin befreit werden. Andernfalls tritt mit Dinitrofluorbenzol das ziegelrote 2,4-Dinitrodiphenylamin auf; Schmp. 156—157°; R_F Gemisch I = 0.82; Gemisch II = 0.93.

Durch Eindampfen der Fraktionen 67—100 und nach Kristallisation aus Methanol/Wasser werden 0.875 g A (Schmp. 159—160°)¹⁶⁾ erhalten.

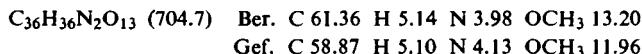
Die gesammelten Fraktionen von H und J werden bei etwa 0.5 Torr und 30—35° unter N₂ auf 10 ccm eingedampft. Bei höherer Temperatur erscheint neben viel unverändertem H und J im Papierchromatogramm die oben erwähnte bräunlichgelb kupplende, im normalen Dehydrierungsgemisch nicht auftretende Substanz, deren R_F-Wert im Gemisch I bei 0.18 kurz unterhalb von A, im Gemisch II bei 0.35 zwischen Coniferylalkohol und B liegt. Daneben entsteht aus H ein wenig Coniferylalkohol und aus J wenig A. Bei etwa 0.5 Torr und 30—35° läßt sich das Dimethylformamid fast völlig entfernen; von H werden bestenfalls 300 mg, von J 1.5—1.8 g helles, zähes Öl erhalten. Im Eisschrank lassen sich beide Verbindungen, in Dimethylformamid gelöst, einige Zeit ohne Veränderung aufbewahren.

Zur Hydrolyse von H und J wird zweimal über eine Cellulosesäule gereinigtes Material verwendet. Jeweils 0.5 ccm der dimethylformamidhaltigen Lösungen werden mit 1—2 ccm Wasser und so viel Dimethylformamid versetzt, daß die Lösungen gerade klar bleiben. Mit wenig p-Toluolsulfosäure wird auf pH 3.5 eingestellt und am Steigrohr 4 Stdn. auf 80° erwärmt. Die Papierchromatogramme in Gemisch I und in Gemisch II zeigen neben H Coniferylalkohol und C (II); bei J erscheinen C und A (I).

2.4-Dinitro-phenyläther von H: 30 ccm Dimethylformamid, die 1 g H enthalten, werden mit 900 mg 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 400 mg festem Natriumhydrogencarbonat bei Raumtemperatur gerührt. Nach 30 Stdn. tritt mit Diazobenzolsulfosäure keine Färbung mehr auf. Das Salz wird abfiltriert und die Lösung bis zur Ausscheidung eines gelben, flockigen Niederschlags mit Eiswasser versetzt. Nach einigen Stunden wird die amorphe Substanz abzentrifugiert, mit Wasser verrieben und mehrmals mit Wasser ausgewaschen. Nach dem Trocknen im Vakuumexsikkator über P₂O₅ erhält man 1.2 g eines festen Harzes. Im Papierchromatogramm (Gem. I), Laufzeit 4½ Stdn., hat der Dinitrophenyläther den R_F-Wert 0.28, darunter liegt ein hell fluoreszierender Fleck. Daneben sind noch viel 2.4-Dinitro-fluorbenzol (R_F Gem. I = 0.77; Gem. II = 0.83) und 2.4-Dinitro-phenol (bleibt im Start sitzen) vorhanden.

Für die Auf trennung des Gemisches ist eine Säule mit Kieselsäure und Chloroform/Essigester als Eluierungsmittel wirksam. 20 g Kieselsäure (Mallinckrodt 100 mesh) werden mit 3 g Celite 535 gut verrührt und mit Chloroform in eine Säule (Ø 16 mm) eingeschlämmt. Zunächst läßt man 100 ccm Chloroform durchlaufen und bringt dann das Substanzgemisch, gelöst in wenig Chloroform, auf. Erst wird mit Chloroform eluiert und in Fraktionen von 4—5 ccm aufgefangen (Tropfgeschwindigkeit: 5 ccm in 30 Min.). Nach 90 Fraktionen werden dem Chloroform steigende Mengen Essigester zugesetzt. Die ersten 65 Fraktionen sind leer, die Fraktionen 66—75 sind gelb gefärbt und enthalten 2.4-Dinitro-fluorbenzol sowie aus diesem nachgebildetes 2.4-Dinitro-phenol; in den nächsten 16 Fraktionen ist neben wenig 2.4-Dinitro-phenyläther des Coniferylalkohols der 2.4-Dinitro-phenyläther von H vorhanden. Reinen Äther enthalten die Fraktionen 92—181. Diese werden gesammelt, filtriert und i. Vak. bei Raumtemperatur vom Lösungsmittel befreit; als Rückstand bleiben 240 mg hellgelbes, festes Harz.

Die 2.4-Dinitro-phenyläther sind auf dem Papier im langwelligen UV-Licht als dunkle Flecke auf hellem Grund zu sehen. Im Sonnenlicht entstehen auf dem Papier sichtbare gelbe Flecke.



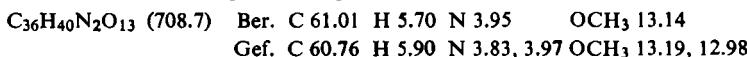
Da diese Analyse nicht befriedigte, wurde das stabilere Hydrierungsprodukt hergestellt.

¹⁶⁾ K. FREUDENBERG, J. M. HARKIN, M. REICHERT und T. FUKUZUMI, Chem. Ber. 91, 589 [1957], geben 161—162° an.

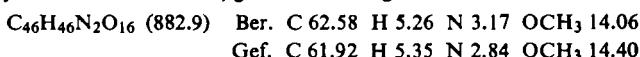
Hydrierung von H: 40 ccm Dimethylformamid, in denen etwa 600 mg chromatographisch reines H enthalten sind, werden mit 300 mg Pd/BaSO₄-Katalysator (5% Pd)¹⁷⁾ hydriert. Nach 1 Stde. kommt die Wasserstoffaufnahme zum Stillstand. Nach 40 Stdn. Laufzeit liegt im Papierchromatogramm das Hydrierungsprodukt in Gem. I und Gem. II unmittelbar unterhalb von H.

2.4-Dinitro-phenyläther des hydrierten H: 540 mg Hydrierungsprodukt werden in 40 ccm Dimethylformamid mit 190 mg 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 100 mg festem Natriumhydrogencarbonat versetzt. Das Gemisch wird 30 Stdn. gerührt und während dieser Zeit zweimal mit 50 mg Natriumhydrogencarbonat versetzt. Jetzt färbt sich eine Probe nicht mehr mit Diazobenzolsulfosäure. Dann wird bis zur beginnenden Abscheidung eines bräunlichgelben Öls mit Eiswasser versetzt und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Das Öl wird abgetrennt und mehrere Tage im Vak.-Exsikkator über P₂O₅ getrocknet. Das Papierchromatogramm (Gem. I, Laufzeit 4^{1/2} Stdn.) zeigt neben dem Dinitrophenyläther mit R_F-Wert 0.38 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 2.4-Dinitro-phenol.

Die Reinigung erfolgt auf einer Säule mit 15 g Kieselsäure und 3 g Celite 535. Als Eluierungsmittel dient Chloroform/Essigester und Essigester. Es werden Fraktionen von 5 ccm in 15 Min. aufgefangen und unmittelbar chromatographiert (Gem. I). Die ersten 50 Fraktionen enthalten keine Substanz, die folgenden 10 Fraktionen Dinitrofluorbenzol und Dinitrophenol. In den Fraktionen 60–74 ist neben dem 2.4-Dinitro-phenyläther von hydriertem H eine im Papierchromatogramm schneller laufende, im UV-Licht hell fluoreszierende Substanz vorhanden. Die Fraktionen 75–136 liefern reinen Dinitrophenyläther (Eluierungsmittel Chloroform/Essigester 1:1). Sie werden gesammelt, filtriert und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Es hinterbleiben 425 mg eines hellgelben festen Harzes.



2.4-Dinitro-phenyläther von J: Die Lösung von 600 mg J in 30 ccm Dimethylformamid wird mit 190 mg 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 150 mg Natriumhydrogencarbonat gerührt. Nach 50 Stdn. tritt keine Reaktion mit Diazobenzolsulfosäure mehr auf. Das Salz wird abfiltriert und die stark gelb gefärbte Lösung auf Eiswasser gegossen. Der flockige, gelbe Niederschlag wird abzentrifugiert und mit Wasser gewaschen. Im Papierchromatogramm (Gem. I, Laufzeit 4^{1/2} Stdn.) hat der Dinitrophenyläther von J den R_F-Wert 0.15. Außerdem sind 2.4-Dinitro-fluorbenzol, 2.4-Dinitro-phenol und geringe Mengen der 2.4-Dinitro-phenyläther von A¹⁸⁾ und C¹⁹⁾ vorhanden. Zur Reinigung bringt man das Gemisch, gelöst in wenig Chloroform, auf eine Säule von 15 g Kieselsäure und 4 g Celite 535 und eluiert mit Chloroform und dann mit Essigester. Nach kurzer Zeit bilden sich drei gelbe Zonen aus. Es werden Fraktionen von je 5 ccm pro 30 Min. aufgefangen. Mit Chloroform erhält man 20 Fraktionen, die nur 2.4-Dinitro-fluorbenzol und 2.4-Dinitro-phenol enthalten, nach 20 leeren Fraktionen folgen etwa 50 mg 2.4-Dinitro-phenyläther von A. Zur weiteren Eluierung ist reiner Essigester geeignet. Aus 25 Fraktionen sind 245 mg chromatographisch reiner 2.4-Dinitro-phenyläther von J als festes, gelbes Harz zu gewinnen.



Hydrierung von J: Die Lösung von 1.4 g J in 60 ccm Dimethylformamid wird mit 700 mg Pd/BaSO₄ (5% Pd) hydriert. Nach 1 Stde. entspricht die aufgenommene Wasserstoffmenge

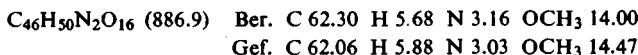
¹⁷⁾ K. FREUDENBERG und H. DIETRICH, Chem. Ber. 86, 9 [1953], nach E. SCHMIDT, Ber. dtsch. chem. Ges. 52, 409 [1919].

¹⁸⁾ K. FREUDENBERG und H. H. HÜBNER, Chem. Ber. 85, 1181 [1952].

¹⁹⁾ K. FREUDENBERG und H. SCHLÜTER, Chem. Ber. 88, 617 [1955].

2 Doppelbindungen. Wird das Papierchromatogramm 40 Stdn. mit Gemisch I entwickelt, so liegt die hydrierte Substanz unmittelbar unterhalb von J.

2.4-Dinitro-phenyläther der hydrierten Substanz J: Die Lösung von 1.2 g hydriertem J und 350 mg 2.4-Dinitro-fluorbenzol in 50 ccm Dimethylformamid wird mit 250 mg festem Natriumhydrogencarbonat 2 Tage gerührt. Danach verläuft der Kupplungsversuch negativ. Die filtrierte Lösung wird in Eiswasser gegossen, dabei scheidet sich ein zähes Öl ab. Das Papierchromatogramm (Gem. I, Laufzeit $4\frac{1}{2}$ Stdn.) zeigt den gesuchten Dinitrophenyläther mit dem R_F -Wert 0.23 neben 2.4-Dinitro-fluorbenzol, 2.4-Dinitro-phenol und zwei weiteren Substanzen. Zur Reinigung dient eine Säule mit 25 g Kieselsgärte und 4.5 g Celite 535; entwickelt wird mit Chloroform und Essigester. Fraktionen von 5 ccm in 20 Min. werden aufgefangen und unmittelbar chromatographiert. Aus 60 Fraktionen werden 550 mg reines Produkt gewonnen.



R_F -Werte der 2.4-Dinitro-phenyläther (Laufzeit 4– $4\frac{1}{2}$ Stdn.)

Substanzen	Gem. I	Gem. II
2.4-Dinitro-phenyläther von H	0.28	0.47
2.4-Dinitro-phenyläther von H hydr.	0.38	0.56
2.4-Dinitro-phenyläther von J	0.15	0.26
2.4-Dinitro-phenyläther von J hydr.	0.23	0.33
2.4-Dinitro-phenyläther von C	0.33	0.24
2.4-Dinitro-phenyläther von C hydr.	0.43	0.29

Guajacylglycerin- α -phenyl- β -coniferyläther (VI)⁶⁾: Die Lösung von 5 g Coniferylkalkohol und 20 g Phenol in 1 l Aceton wird bei Raumtemperatur unter Belüftung mit 5 g MnO₂ gerührt. Nach $2\frac{1}{2}$ Tagen ist der Coniferylkalkohol fast völlig verschwunden. Das Papierchromatogramm (Xylol/Dimethylformamid 3:1) vereinfacht sich im Laufe der Reaktion. Zunächst entstandenes H und J verschwindet nach etwa 30 Stdn. Der Phenyläther kuppelt mit rotbrauner Farbe und hat den R_F -Wert 0.40, daneben ist A, wenig B und viel Phenol vorhanden. MnO₂ wird abzentrifugiert, die Lösung i. Vak. unter N₂ bis auf 100 ccm eingeengt, nochmals zentrifugiert und ganz eingedampft. Als Rückstand bleibt ein helles Öl. Ein großer Teil des Phenols kann durch mehrmaliges Auswaschen mit Cyclohexan entfernt werden. Dann wird mit 10 ccm Dimethylformamid aufgenommen, von restlichem Cyclohexan i. Vak. befreit und wie bei H und J auf einer Cellulosesäule aufgetrennt. Als Lösungsmittel dient Xylol/Dimethylformamid 9:1, die Tropfgeschwindigkeit ist 10 ccm in 18 Min.

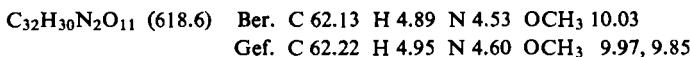
Faktionen	Substanzen
1–20	leer
21–34	Phenol und B
35–54	Phenol und Coniferylkalkohol
55–96	Phenyläther (VI), braunrot kupplend, wenig Phenol
97–101	Phenyläther (VI) und A (I)
102–155	A (I)

Die Fraktionen 55–96 werden bei 0.5 Torr und 35° eingedampft. Der ölige, farblose Rückstand wird mehrmals mit Cyclohexan ausgezogen und i. Vak. getrocknet (2.1 g). Durch Eindampfen der Fraktionen 102–155 lassen sich 1.5 g A (I) gewinnen.

Der Phenyläther (VI) hat in Xylool/Dimethylformamid 9:1 den R_f -Wert 0.12, in Xylool/Dimethylformamid 9:2 0.30 und in Xylool/Dimethylformamid 3:1 0.40.

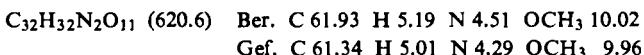
Hydrolyse des Phenyläthers VI: 50 mg chromatographisch reiner Phenyläther werden mit 3 ccm Wasser und so viel Dimethylformamid versetzt, bis die Lösung klar ist. Mit wenig *p*-Toluolsulfinsäure wird auf pH 3.5 eingestellt und 6 Stdn. im Wasserbad auf 80° erhitzt. Das Papierchromatogramm (Gem. I) zeigt außer Ausgangsmaterial C und Phenol.

2,4-Dinitro-phenyläther von VI: Die Lösung von 1.1 g Phenyläther und 470 mg 2,4-Dinitro-fluorbenzol in 40 ccm Dimethylformamid wird mit 250 mg festem Natriumhydrogen-carbonat gerührt. Nach 20 Stdn. hört die Kupplungsreaktion der stark gelb gefärbten Lösung auf, sie wird langsam mit Wasser versetzt und dann auf Eiswasser gegossen. Zunächst entsteht eine milchige Trübung, nach Zusatz von NaCl fällt die Substanz in hellgelben Flocken aus. Diese werden abzentrifugiert und i. Vak. getrocknet. Im Papierchromatogramm (Xylool/Dimethylformamid 9:1) hat der Dinitrophenyläther den R_f -Wert 0.38. Zur Abtrennung der Verunreinigungen wird über Kieselsäure chromatographiert (Chloroform/Essigester). 440 mg chromatographisch reiner Äther werden als festes, gelbes Schaumharz erhalten.

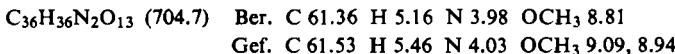


Hydrierung des Phenyläthers VI: Die Lösung von 1 g Phenyläther in 40 ccm Dimethylformamid wird mit 500 mg Pd/BaSO₄ (5% Pd) hydriert. Nach 1 Stde. kommt die Wasserstoffaufnahme zum Stillstand. Der R_f -Wert des hydrierten Phenyläthers beträgt in Gemisch I 0.35, in Xylool/Dimethylformamid 3:1 0.45.

2,4-Dinitro-phenyläther des hydrierten Phenyläthers: Die Lösung von 600 mg des hydrierten Phenyläthers in 30 ccm Dimethylformamid wird mit 250 mg 2,4-Dinitro-fluorbenzol und 120 mg festem Natriumhydrogencarbonat 27 Stdn. bei Raumtemperatur gerührt. Danach wird vom Salz abfiltriert und auf Eiswasser gegossen. Nach einigen Stunden wird das abgeschiedene Öl abgetrennt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Im Papierchromatogramm (Xylool/Dimethylformamid 9:1) hat die Substanz den R_f -Wert 0.45, daneben sind 2,4-Dinitro-fluorbenzol und 2,4-Dinitro-phenol vorhanden. Zur Reinigung dienen eine Säule mit 20 g Kieselsäure und 4 g Celite 535 sowie Chloroform und Chloroform/Essigester als Eluierungsmittel. Fraktionen von jeweils 10 ccm werden in 18 Min. aufgefangen und chromatographiert. 310 mg chromatographisch reiner 2,4-Dinitro-phenyläther werden als festes Harz gewonnen.



Diacetat des Dinitrophenyläthers des hydrierten Phenyläthers VI: 180 mg 2,4-Dinitro-phenyläther des hydrierten Phenyläthers werden mit 1.75 ccm Pyridin und 1.5 ccm Acetanhydrid 2 Tage bei Raumtemperatur aufbewahrt. Beim Eingießen in Eiswasser fällt das Acetat als Öl aus, das beim Verreiben mit Eisessig kristallisiert. Fast farblose Nadeln aus Methanol, Schmp. 117–118°.



Dehydrierung des Coniferylalkohols in Gegenwart von 3,4-Dimethoxy-zimtalkohol²⁰⁾: Die Lösung von 250 mg Coniferylalkohol und 1 g 3,4-Dimethoxy-zimtalkohol²⁰⁾ in 50 ccm Aceton wird mit 250 mg MnO₂ unter Belüftung gerührt, bis der Coniferylalkohol nach etwa 12 Stdn. verschwunden ist. Es werden alle 30 Min. Proben entnommen; zur Chromatographie dienen Gem. I und Gem. II. Außer den üblichen violetten und roten Flecken tritt kein neuer auf.

²⁰⁾ K. FREUDENBERG und G. SCHUHMACHER, Chem. Ber. 87, 1882 [1954].

Dehydrierung des Coniferylalkohols in Gegenwart von Guajacol: 500 mg Coniferylalkohol und 2 g Guajacol, gelöst in 50 ccm Aceton, werden mit 1.5 g MnO₂ versetzt und unter Belüftung gerührt. Es werden laufend Proben genommen und in Xylo/Dimethylformamid 3:1 chromatographiert. Nach 1 Stde. ist neben Coniferylalkohol, J, H, A und B eine mit Diazobenzolsulfosäure gelbrot kuppelnde Substanz entstanden. Nach 20 Stdn. ist der Coniferylalkohol verbraucht, J und H verschwinden im Laufe der Reaktion fast völlig, dafür entsteht viel Guajacyläther. Dieser liegt im Chromatogramm zwischen A ($R_F = 0.31$) und Coniferylalkohol ($R_F = 0.48$) und hat den R_F -Wert 0.41 (Xylo/Dimethylformamid 3:1).

Dehydrierung des Coniferylalkohols in Gegenwart von Pyrogallol-1,3-dimethyläther: Eine Lösung von 250 mg Coniferylalkohol in 25 ccm Aceton wird mit 1 g Pyrogallol-1,3-dimethyläther und 750 mg MnO₂ unter Belüftung gerührt. Nach 1 Stde. zeigt das Papierchromatogramm viel Coniferylalkohol, A und wenig H, daneben eine mit Diazobenzolsulfosäure rot kuppelnde Verbindung mit dem R_F -Wert 0.36 (Xylo/Dimethylformamid 3:1).

(Ein Blindversuch mit Pyrogallol-1,3-dimethyläther und MnO₂ zeigt, daß Pyrogallol-1,3-dimethyläther verändert wird. Es entsteht eine braune Lösung, die nicht mit Diazobenzolsulfosäure reagiert. Wahrscheinlich entsteht durch Oxydation ein substituiertes Diphenon-chinon²¹⁾.)

Dehydrierung des Coniferylalkohols in Gegenwart von Essigsäure: In 60 ccm Aceton werden 500 mg Coniferylalkohol, 400 mg Eisessig und 500 mg MnO₂ bei Raumtemperatur gerührt und belüftet. Das Papierchromatogramm zeigt nach 1 Stde. viel Coniferylalkohol und A, wenig von den übrigen anderen Flecken, daneben aber eine mit Diazobenzolsulfosäure gelbrot kuppelnde Substanz mit R_F -Wert 0.42 (Xylo/Dimethylformamid 3:1).

Versuche zur Hydrogenolyse

Hydrierung des Phenyläthers VI mit Pd: In einer Schüttelente werden 300 mg VI in 20 ccm Essigester mit Pd aus 100 mg PdCl₂ hydriert. Nach Aufnahme von 1.5 mMol Wasserstoff (3 Stdn.) kommt die Reaktion zum Stillstand. Im Papierchromatogramm (Xylo/Dimethylformamid 3:1) ist außer dem hydrierten Phenyläther und Phenol eine neue, rotkuppelnde Substanz mit R_F -Wert 0.62 nachweisbar. Auch nach 8 stdg. Hydrierzeit ist noch hydrierter Phenyläther vorhanden.

Hydrierung von V (J) mit Pd: In 20 ccm Dimethylformamid werden 50 mg reine Substanz V (J) mit Pd hydriert. Nach 4 Stdn. erfolgt keine Wasserstoffaufnahme mehr. Das Papierchromatogramm (Xylo/Dimethylformamid 3:1) zeigt die hydrierte Substanz V und hydrierte Substanz A (I) sowie die gleiche rotkuppelnde Substanz $R_F = 0.62$, die bei der Hydrierung des Phenyläthers mit Pd entsteht.

Weitere oder nochmalige Hydrierung führt nicht zum völligen Verschwinden der hydrierten Substanz J (V).

Hydrierung von Substanz C (II) mit Pd: Die dimethylformamidhaltige Lösung von C wird zunächst mit Pd/BaSO₄ (5% Pd) (Hydrierung der Doppelbindung) und anschließend mit Pd hydriert. Im letzteren Fall erfolgt keine Wasserstoffaufnahme mehr. Das Papierchromatogramm zeigt nur hydriertes C. Auch bei Verwendung von Dioxan als Lösungsmittel wird nur hydriertes C beobachtet.

²¹⁾ A. W. HOFMANN, Ber. dtsch. chem. Ges. **11**, 335 [1878]. Beilstein, Bd. VIII, S. 537.