

230. Walter Stumpf, Friedrich Weygand und Otto-Alfred Großkinsky: Synthese von Dioxan-[¹⁴C] und Anwendung als Extraktionsmittel für lösliches Lignin

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg]

(Eingegangen am 19. August 1953)

Aus Oxalsäure-[¹⁴C]-dimethylester wurde mit LiAlH₄ Glykol-[¹⁴C] und daraus mit Schwefelsäure Dioxan-[¹⁴C] gewonnen. Mit dessen Hilfe wurde das von W. Stumpf angegebene Extraktionsverfahren für lösliches Lignin aus Fichtenholz mit Dioxan-Wasser-Chlorwasserstoff daraufhin untersucht, ob hierbei das Dioxan (unter evtl. Aufspaltung) mit dem Lignin reagiert. Dies ist praktisch nicht der Fall. Es wird also ein Lignin erhalten, das frei ist vom angewandten organischen Extraktionsmittel oder dessen Umwandlungsprodukten.

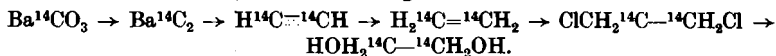
Dioxan ist als Lösungsmittel in seiner Stabilität mit Diäthyläther vergleichbar. Diese Stabilität macht es in reinem Zustand im Verein mit den günstigen Lösungseigenschaften für das Ligninextraktionsverfahren nach W. Stumpf¹⁾ geeignet, welches erlaubt, bei Zimmertemperatur größere Mengen an Lignin aus Nadel- oder Laubhölzern zu extrahieren, wenn dem Dioxan etwas Chlorwasserstoff und Wasser zugefügt wird. Während fast alle bisher gewonnenen Lignine – von dem neutral extrahierbaren Lignin nach F. Brauns²⁾ abgesehen – dunkel gefärbt und völlig unlöslich sind, liefert das neue Verfahren erstmalig gute Ausbeuten an einem wenig gefärbten Lignin.

Dieses Ergebnis war so überraschend, daß sofort der Verdacht auftauchte, es seien erhebliche Mengen des Dioxans in das extrahierte Lignin hineinkondensiert, wodurch es zwar löslich, aber für die Ligninforschung unbrauchbar wäre. Da das Lignin hochmolekular ist, ließ sich dieser Verdacht nicht durch die üblichen Reinheitskriterien für niedrigmolekulare Verbindungen widerlegen. In einem solchen Falle ermöglicht jedoch heute die Markierung mit dem radioaktiven Kohlenstoff ¹⁴C eine sichere Entscheidung.

Es war dazu notwendig, Dioxan-[¹⁴C] herzustellen und mit diesem Holz zu extrahieren. Die Untersuchung des extrahierten Lignins auf den ¹⁴C-Gehalt mußte dann entscheiden, ob bei dem neuen Extraktionsverfahren Dioxan oder Umwandlungsprodukte daraus in das Lignin eingetreten sind oder nicht.

Synthese von Dioxan-[¹⁴C]

Von den verschiedenen Möglichkeiten zur Synthese von Glykol-[¹⁴C], das unmittelbare Vorprodukt von Dioxan-[¹⁴C] ist, wurde die über Oxalsäure-[¹⁴C]³⁾ gewählt, da diese noch für andere Zwecke benötigt wurde. Die folgende Reaktionsreihe⁴⁾ hätte sicherlich eine höhere Ausbeute an Radioaktivität geliefert:



¹⁾ Angew. Chem. **62**, 447 [1950], **62**, 537 [1950]; Vortrag anläßl. der Hauptversammlung d. G.D.Ch. in Köln am 29. 9. 1951; Dtsch. Bundes-Pat. Nr. 836351 v. 5. 11. 1950.

²⁾ J. Amer. chem. Soc. **61**, 2120 [1939], **71**, 1297 [1949].

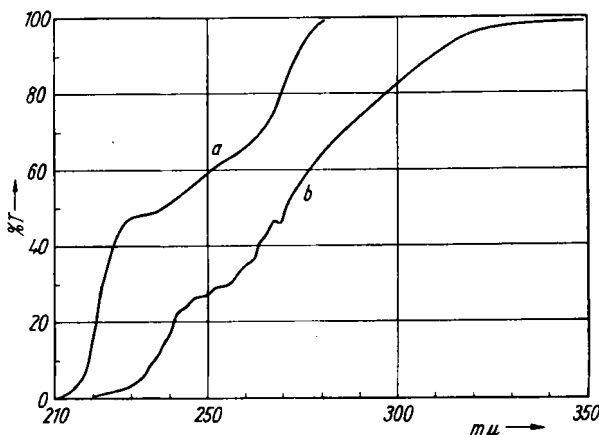
³⁾ F. Kögler, J. Halberstadt u. T. J. Barendregt, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **68**, 387 [1949].

⁴⁾ Vergl. F. Weygand u. H. Simon: Synthese isotopenhaltiger org. Verbindungen in Houben-Weil, Bd. IV, im Druck.

Bei dem von uns eingeschlagenen Weg der Reduktion von Oxalsäure- ^{14}C -dimethylester, der in hoher Ausbeute aus $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ zugänglich ist, traten Schwierigkeiten bei der Reduktion mit Lithiumaluminiumhydrid auf, und Glykol wurde nur in einer Ausbeute (an Radioaktivität) von rund 30% isoliert. Nach geeigneter Verdünnung mit nichtradioaktivem Glykol wurde die Überführung in Dioxan- ^{14}C mit Schwefelsäure vorgenommen.

Eine einmalige Destillation des Glykols mit konz. Schwefelsäure ergab nur eine geringe Ausbeute an Dioxan, weil ein beträchtlicher Teil des Glykols mitdestillierte. Daher wurde das Destillat fraktioniert und das unveränderte Glykol erneut auf Dioxan verarbeitet. Dies wurde so oft wiederholt (insgesamt 6mal), bis praktisch alles Glykol in Dioxan verwandelt war (verwendete Apparatur s. Versuchsteil).

Aus 1.95 mC $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ (1 mMol) wurden unter Ausnutzung der Ausbeutesteigerung durch Verdünnen mit inaktivem Material zunächst 2.78 g radioaktives Glykol und aus diesem nach weiterer Verdünnung mit nichtradioaktivem Glykol 10.4 g radioaktives Dioxan mit einer Ausbeute von 55.4% d.Th. gewonnen. Es war nicht so leicht rein zu erhalten wie beim Arbeiten in größerem Maßstab, da bei der kleinen Menge zur Vermeidung von Materialverlusten auf eine sorgfältige fraktionierte Destillation verzichtet wurde. Das UV-Absorptionsspektrum dieses Dioxans (Abbild. 1) zeigt, daß es nicht so



Abbild. 1. UV-Absorptionsspektren. a) Dioxan, reinst; b) Dioxan, aus radioaktivem Glykol synthetisiert und gereinigt

rein war wie die Fraktionen hochgereinigten Dioxans, die in viel größerem Maßstab gewonnen worden waren. Trotzdem war es für einen Extraktionsversuch an Fichtenholz zur Gewinnung von löslichem Lignin gut brauchbar.

Extraktion von Fichtenholz mit Dioxan- ^{14}C

1. Modellversuch mit inaktivem Dioxan

Zunächst wurde das Extraktionsverfahren mit inaktivem Dioxan eingeübt. 1 g Fichtenholzmehl wurde in der Apparatur Abbild. 3 (s. Versuchsteil) der Reihe nach mit Wasser, Dioxan-Wasser 9:1 und dann mit 0.2 n HCl-Dioxan-Wasser extrahiert. Der salzsaure Extrakt wurde mit festem Natriumcarbonat

neutralisiert und filtriert. 1 Tropfen der gelben Lösung wurde auf Filtrierpapier gebracht; nach Verdunsten des Dioxans wurden 2 Tropfen Phloroglucin-Salzsäure zugegeben. Es trat die für Lignin charakteristische Rotfärbung auf. Daraufhin wurde der Extrakt stark eingengt und mit der zehnfachen Menge Wasser versetzt. Das ausgefallene Lignin wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen, in Dioxan-Wasser 9:1 gelöst und wieder mit Wasser gefällt. Nach dem Trocknen betrug die Ligninmenge 2.9% vom Holzgewicht, entspr. 11% des Ligningehalts des Holzes.

2. Extraktion von Fichtenholzmehl mit radioaktivem Dioxan

In der gleichen Apparatur und auf die gleiche Weise wurde 1 g Fichtenholzmehl mit radioaktivem Dioxan-Wasser-Chlorwasserstoff-Gemisch extrahiert. Von der Synthese her lagen 10.4 g Dioxan-[¹⁴C] vor. Da diese Menge nach den Vorversuchen nicht ausreichte, wurde sie mit trockenem, reinen Dioxan im Verhältnis 1:1 verdünnt. Das radioaktive Dioxan wurde sodann mit Salzsäure auf die Konzentration 0.2 *n* gebracht und zusätzlich mit Wasser auf etwa 1.5% eingestellt. Das Holz wurde der Reihe nach mit bidestilliertem Wasser (Quarzapparatur) und dann mit inaktivem Dioxan-Wasser-Gemisch 9:1 erschöpfend extrahiert. Anschließend wurde mit dem radioaktiven Dioxan-Wasser-Chlorwasserstoff-Gemisch mit einer Tropfengeschwindigkeit von einem Tropfen in 2–3 Min. extrahiert. Nach Neutralisation des Extraktes mit festem Natriumcarbonat wurde das Dioxan im Vakuum abdestilliert, nochmals mit KOH und Natrium getrocknet und im Stickstoffstrom destilliert. Das zurückgewonnene Dioxan wurde erneut mit Salzsäure und Wasser auf die Konzentration 0.2 *n* und 1.5% Wassergehalt eingestellt und nochmals zur Extraktion verwendet. Es wurde wie beim ersten Male aufgearbeitet. Die vereinigten Ligninfraktionen wurden i. Vak. mit Wasser destilliert, um Dioxanreste zu entfernen, sodann wurde bis zur Trockne eingedampft, mit wenig wässrigem Dioxan gelöst und mit Wasser gefällt. Nach dem Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen lagen 23.2 mg Lignin vor.

3. Berechnungsgrundlagen

Aus dem zur Dioxansynthese verwandten Glykol wurde Glykol-dibenzoat hergestellt, das als Standardpräparat für alle Messungen diene.

In dem extrahierten Lignin mögen *x*% Dioxan enthalten sein. Die spezifische Aktivität und die Molekulargewichte werden wie folgt bezeichnet:

I_L Impulse des extrahierten Lignins/Min. mg/cm²

I_D „ „ Dioxans/Min. mg/cm²

I_G „ „ Glykol-dibenzoats/Min. mg/cm²

Molekulargewicht des Glykol-dibenzoats $C_{18}H_{14}O_4$: $M_G = 270.27$

„ „ Dioxans $C_4H_8O_2$: $M_D = 88.11$.

In 1 Mol Glykol-dibenzoat und in $\frac{1}{2}$ Mol Dioxan ist die gleiche Menge an radioaktivem Kohlenstoffisotop ¹⁴C enthalten. Daher verhalten sich die spezifischen Aktivitäten umgekehrt wie die Molekulargewichte:

$$\frac{I_G}{I_D} = \frac{M_D}{2 M_G} \quad I_D = \frac{2 M_G}{M_D} I_G.$$

Aus dem Glykol, aus dem das Dibenzoat hergestellt wurde, wurde das Dioxan synthetisiert und dann auf das Doppelte mit inaktivem Dioxan verdünnt. Daher gilt für die Aktivität des Dioxans:

$$I_D = \frac{M_G}{M_D} I_G.$$

Für die spezifische Aktivität gilt nun:

$$\frac{\text{Impulse des extrah. Lignins/Min.mg/cm}^2}{\text{Impulse des Dioxans/Min.mg/cm}^2} = \frac{x \% \text{ (Dioxan im extrah. Lignin)}}{100 \%}$$

$$\frac{I_L}{I_D} = \frac{x}{100} \quad x = 100 \cdot \frac{I_L}{I_D} = 100 \cdot \frac{I_L}{I_G} \cdot \frac{M_D}{M_G} \quad x = 32,60 \frac{I_L}{I_G}. \quad (1)$$

Durch diese Beziehung erhält man den Prozentsatz des in das Lignin eingetretenen Dioxans als Funktion allein der spezifischen Aktivität des Lignins und des Glykol-dibenzoats als Standardpräparat.

Bestimmung der Anzahl d der Dioxanmoleküle, die auf eine Lignineinheit (L.E.) mit dem Einheitsgewicht 189 eingetreten sind: Der Prozentgehalt x an Dioxan im Lignin ist nach Definition:

$$x \% \text{ Dioxan} = \frac{d \cdot M_D \cdot 100}{\text{L.E.} + d \cdot M_D} = 100 \cdot \frac{M_D}{M_G} \cdot \frac{I_L}{I_G}.$$

Hieraus ergibt sich

$$d = \frac{\text{L.E.} \cdot I_L}{M_G \cdot I_G - M_D \cdot I_L} = \frac{\text{L.E.}}{M_D} \cdot \frac{I_L}{\frac{M_G}{M_D} \cdot I_G - I_L} = \frac{189}{88,1} \cdot \frac{I_L}{\frac{270,3}{88,1} \cdot I_G - I_L}$$

oder

$$d = 2,148 \cdot \frac{I_L}{3,067 \cdot I_G - I_L}. \quad (2)$$

In unserem Versuch ist I_L sehr viel kleiner als I_G , so daß man setzen kann:

$$d = 0,701 \cdot \frac{I_L}{I_G} \quad I_L \ll I_G. \quad (3)$$

Führen wir aus Gl. (1) für $\frac{I_L}{I_G} = \frac{x}{32,60}$ in Gl. (2)

ein, so erhalten wir

$$d = 2,148 \cdot \frac{x}{100 - x}. \quad (4)$$

Durch dieselbe Substitution geht Gl. (3) über in

$$d = \frac{0,701}{32,60} \cdot x = 0,02150 \cdot x \quad d \ll 1. \quad (5)$$

4. Messungen

Das extrahierte Lignin wurde mit dem im Verhältnis 1:10 verdünnten Standard verglichen.

1. Messung: Die spezifische Aktivität des Standardpräparates ergab sich zu $I_G = 102.0$ Imp./Min.mg/cm², bei einer Belegung von 12.61 mg/cm², diejenige des Lignins zu $I_L = 0.830$ Imp./Min.mg/cm², bei einer Belegung von 12.20 mg/cm². Diese Werte entsprechen 0.265% Dioxan im Lignin oder 0.00570 Moll. Dioxan pro Lignineinheit.

2. Messung: Das mit radioaktivem Dioxan extrahierte Lignin aus der ersten Messung wurde in 0.20 ccm inaktivem Dioxan-Wasser 9:1 gelöst und mit 2.0 ccm Wasser gefällt. Nach Zugabe von 1 Tropfen Salzsäure wurde es abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet: 16.91 mg. Um festzustellen, ob durch dieses Umfällen anhaftendes radioaktives Dioxan entfernt worden war, wurde die Aktivität erneut gemessen. Die spezifische Aktivität des Standardpräparates ergab sich zu $I_G = 80.2$ Imp./Min.mg/cm² (Belegung 18.24 mg/cm²), diejenige des Lignins zu $I_L = 0.366$ Imp./Min.mg/cm² (Belegung 18.27 mg/cm²). Diese Werte entsprechen 0.149% Dioxan im Lignin oder 0.00320 Moll. Dioxan pro Lignineinheit. Der Dioxangehalt des Lignins war also durch das Umfällen auf nahezu die Hälfte zurückgegangen. Trotz sorgfältigem Auswaschen des Lignins war von diesem radioaktives Dioxan festgehalten worden.

3. Messung: Das Lignin wurde nochmals in der gleichen Weise zur Reinigung aus inaktivem, wäßrigen Dioxan mit Wasser umgefällt und wieder gemessen. Die spezifische Aktivität des Standardpräparates ergab sich zu $I_G = 173.8$ Imp./Min.mg/cm² (Belegung 6.36 mg/cm²), diejenige des Lignins zu $I_L = 0.784$ Imp./Min. mg/cm² (Belegung 6.38 mg/cm²). Diese Werte entsprechen 0.147% Dioxan im Lignin oder 0.00316 Moll. Dioxan je Lignineinheit. Da durch diese Reinigung der Gehalt an Dioxan im Lignin so wenig zurückgegangen war, wurde es nicht mehr weiter umgefällt.

5. Ergebnis

Ergebnisse der drei Messungen

	% Dioxan im extrahierten Lignin	Moleküle Dioxan je Lignin-Einheit (189)
1. Messung	0.265%	0.00570
2. Messung	0.149%	0.00320
3. Messung	0.147%	0.00316

Erst auf etwa 320 Einheiten des Lignins (vom „Mol.-Gew.“ 189) kommt 1 Mol. Dioxan, d.h. aber, daß praktisch kein Dioxan bei der Extraktion des Holzes in das Lignin eingetreten ist. Die geringe Radioaktivität im extrahierten Lignin dürfte auf der Reaktion einer im Dioxan-[¹⁴C] noch vorhandenen Verunreinigung beruhen, da das radioaktive Dioxan nicht so hoch gereinigt wurde wie sonst nichtradioaktives Dioxan. Das neue Extraktionsverfahren für Lignin mit Dioxan-Wasser-Chlorwasserstoff bei Raumtemperatur ist also brauchbar und liefert ein Lignin, das nicht mit dem als Lösungsmittel verwendeten Dioxan reagiert hat.

Herrn Prof. K. Freudenberg danken wir für die Überlassung des radioaktiven Bariumcarbonats, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Bereitstellung von Mitteln des ERP.

Beschreibung der Versuche

Glykol-[¹⁴C]

197.3 mg Ba¹⁴CO₃, enthaltend 1.9 mC¹⁴C, wurden in NaH¹⁴CO₃ übergeführt (Ausb. 97%). Nach Hydrierung zu H¹⁴COONa wurde nach Zusatz von 3 mg Natriumoxalat durch Erhitzen (2½ Min.) im Metallbad von 430° Natriumoxalat hergestellt und dieses in Silberoxalat verwandelt (Ausb. 65.2%, ber. auf Ba¹⁴CO₃).

Mit Methyljodid stellte man dann den Dimethylester der Oxalsäure her, der mit nichtaktivem Oxalsäure-dimethylester verdünnt wurde (Ausb. an Radioaktivität ~100%). Es lagen 162 mg isotopisch verdünnter Ester vor.

Zur Reduktion von Oxalsäure-[¹⁴C]-dimethylester zu Glykol-[¹⁴C] diente eine Schlifffapparat, die aus einem 50-cm-Kölbchen, Tropftrichter und Rückflußkühler mit CaCl₂-Rohren und Rührwerk mit Quecksilberdichtung bestand.

320 mg LiAlH₄ wurden rasch gepulvert, in das Kölbchen gegeben und 10 ccm absol. Äther zugefügt. Es entstand keine klare LiAlH₄-Lösung. Der radioaktive Oxalsäure-dimethylester wurde in 5 ccm absol. Äther gelöst und tropfenweise zu der turbinieren LiAlH₄-Lösung gegeben. Anschließend wurde mit 5 ccm absol. Äther nachgespült. Unter weiterem Rühren wurde zum Sieden erhitzt. Nach ½ Stde. wurden noch 2 ccm einer 1.9 m ätherischen Lösung von LiAlH₄ zugesetzt und dann noch ¾ Stdn. im Sieden gehalten. Nach Stehenlassen über Nacht wurde mit Eis gekühlt und 10 ccm frisch destilliertes absol. Methanol, dem 0.775 ccm Wasser und 2 ccm frisch destilliertes Glykol beigemischt waren. Anschließend wurde unter weiterer Eiskühlung nach vorheriger Entfernung des Rührwerks, aus einer CO₂-Bombe 1½ Stdn. lebhaft CO₂ eingeleitet. Dabei entwich der größere Teil des Äthers durch den Kühler. Währenddessen wurde in einem 30-cm-Soxhlet-Extraktionsgerät eine Extraktionshülse mit reinem Methanol extrahiert. In die so gereinigte Hülse wurde das Methanol-Äther-Glykol-Gemisch mit dem Al(OH)₃ und Li₂CO₃ bzw. LiHCO₃ eingefüllt. Es wurde noch so viel absol. Methanol zugegeben, wie zur Extraktion gerade notwendig war, dann 8 Stdn. extrahiert. Nachdem alle Flüssigkeit aus der Hülse abgetropft war, wurde die Lösung in ein 50-cm-Kölbchen filtriert und das Filter mit dem von der Hülse abtropfenden Lösungsmittel nachgewaschen. Die Lösung hatte p_H 7. Auf das Kölbchen wurde ein 25 cm hoher Fraktionieraufsatz mit Widmer-Spirale aufgesetzt und auf dem Wasserbad sehr langsam Äther, dann Methanol abdestilliert. Das Methanol ging bei 65° über. Die auf 7 ccm eingeeengte Mischung wurde in ein 15-cm-Kölbchen filtriert und das Filter mit etwas abdestilliertem Methanol nachgewaschen. Nun wurde mit einem Ölbad erhitzt und weiterfraktioniert, bis eine Badtemperatur von 160° erreicht war. Dann befanden sich noch etwa 4 ccm Flüssigkeit im Kölbchen, und es ging nichts mehr über. Der Fraktionieraufsatz wurde gegen einen einfachen, kurzen Destillationsaufsatz mit Kapillare vertauscht und bei 13 Torr die ganze Flüssigkeit in eine eisgekühlte Vorlage abdestilliert. Nach sorgfältigem Vertreiben von radioaktivem Glykol aus dem oberen Teil des Destillationsaufsatzes mit freier Flamme wurde ½ ccm inaktives Glykol nachdestilliert. Im Kölbchen verblieben etwa 50 mg eines braunen Rückstandes. Das Destillat wurde in ein 10-cm-Destillationskölbchen gegossen, mit wenig Methanol aus dem Vorlauf nachgespült und mit aufgesetztem Thermometer auf dem Wasserbad Methanol in die eisgekühlte Vorlage abdestilliert, bis nichts mehr übergang. Das Wasserbad wurde gegen ein Schwefelsäurebad ausgewechselt und allmählich über 100° hinaus erhitzt. Es ging langsam ein Methanol-Wasser-Gemisch über. Als nichts mehr abdestillierte, wurde die Badtemperatur auf 210° gesteigert. Das siedende Glykol-[¹⁴C] stieg langsam im Hals des Destillierkölbchens hoch. Im oberen Teil des Kölbchenhalses sich kondensierendes Wasser wurde mit freier Flamme vertrieben. Als das hochsteigende Glykol-[¹⁴C] das Kühlerrohr erreicht hatte, zeigte das Thermometer 194°. Das Bad wurde rasch entfernt, der obere Teil des Kölbchenhalses und das Kühlerrohr mit Methanol durchgespült und dann trocken gesaugt. Nach Vorlagewechsel wurde das Glykol in die mit einem Calciumchlorid-Rohr gegen Feuchtigkeit geschützte Vorlage abdestilliert. Es ging völlig konstant bei 194° (195° korr.) über. 0.5 ccm inaktives Glykol wurde nachdestilliert. Das so erhaltene Glykol-(1.2-¹⁴C) wog 2.786 g, d. s. 82% des theo-

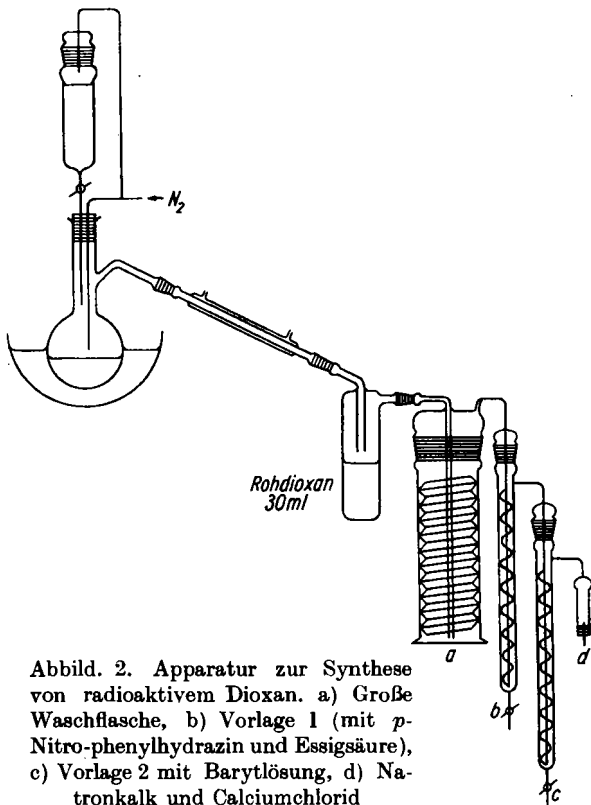
retisch isolierbaren Glykols. Der Verlust ist wohl zum größten Teil auf das zuletzt zuge-setzte inaktive Glykol zu beziehen. Ausbeute bei der Reduktion, bestimmt durch Messung der Radioaktivität an Glykol-(¹⁴C)-dibenzoat, das aus 0.014 ccm Glykol in 1 ccm Pyridin durch Umsetzung mit 0.12 ccm Benzoylchlorid hergestellt wurde, 30.2%.

Darstellung und Reinigung von Dioxan-(¹⁴C)

Jeder Schritt der Synthese wurde zunächst mit inaktivem Material so lange eingeübt, bis er völlig beherrscht und keine weitere Steigerung der Ausbeute mehr erzielt wurde.

2.65 g Glykol-(¹⁴C) wurden mit 23.85 g Glykol (Merck) auf das Zehnfache (26.50 g) verdünnt. Hiervon wurden 43.5 mg in das Dibenzoat übergeführt und der Rest von 26.46 g Glykol zur Dioxansynthese eingesetzt.

Die Synthese wurde nach einem entsprechenden Modellversuch mit inaktivem Glykol in der Apparatur nach Abbild. 2 durchgeführt. 5 ccm aktives Glykol wurden im Kolben vorgelegt und dazu 4% = 0.1 ccm konz. Schwefelsäure gegeben. Die Reaktion begann bei 190° Ölbadtemperatur und stieg zum Schluß der Reaktion bis auf 220°. Das restliche Glykol ließ man so langsam zutropfen, wie das Rohdioxan abdestillierte. Die erste Destillation dauerte 1½ Stdn. Der im Kolben zurückgebliebene schwarze, trockne und kohlige Rückstand wurde sorgfältig entfernt, das Rohdioxan hineingegeben und bei steigender Ölbadtemperatur von 110 bis 170° die tief siedende Fraktion abdestilliert. Zum Rückstand, der im wesentlichen aus Glykol bestand und etwa die Hälfte des Ausgangsmaterials betrug, wurden vier Tropfen konz. Schwefelsäure gegeben und wieder wurde bei steigender Ölbadtemperatur (Endtemperatur 220°) langsam abdestilliert. Es verblieb eine geringe Menge kohligler Rückstand. Das Verfahren wurde noch weitere fünf Male wiederholt, wobei aber nur noch ein Tropfen konz. Schwefelsäure hinzugefügt wurde. Danach ließ sich durch Destillation kein Glykol mehr abscheiden.



Abbild. 2. Apparatur zur Synthese von radioaktivem Dioxan. a) Große Waschflasche, b) Vorlage 1 (mit *p*-Nitrophenylhydrazin und Essigsäure), c) Vorlage 2 mit Barytlösung, d) Natriumkalk und Calciumchlorid

Das völlig farblose Rohdioxan wurde mit 5 g Kaliumhydroxydplättchen in einem kleinen Scheidetrichter geschüttelt, wobei sich zwei Schichten ausbildeten und allmählich braune Flocken ausschieden. Nach einem Tag wurde die untere braune Schicht abgetrennt. Das Gemisch machte einen erheblich stärker verunreinigten Eindruck als bei dem gleichen Modellversuch mit inaktivem reinstem Glykol. Daher wurde die obere Schicht, die sich nicht ganz scharf von der unteren abtrennen ließ, durch eine kleine

Glasfritte abgesaugt und dadurch von sehr feinen braunen Flocken geklärt. Noch vorhandene Reste der alkalischen Schicht wurden erneut abgetrennt. Die jetzt noch hellgelb gefärbte Dioxanlösung wurde mit 5 g Kaliumhydroxyd unter Rückfluß im Stickstoffstrom 1 Tag gekocht, um die noch vorhandenen Verunreinigungen zum Verharzen zu bringen. Dies war im Modellversuch nicht notwendig. Von der unteren Schicht wurde abgetrennt und destilliert: 18.0 g vom Sdp. 100°.

Mit diesem so vorgereinigten Dioxan wurde die eigentliche Reinigung durchgeführt. Es wurde mit 1.8 ccm 1 *n* Salzsäure versetzt und im Stickstoffstrom 10 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Dabei wurde der Stickstoff durch den Kühler bis etwa 5 mm über den Flüssigkeitsspiegel geleitet, um den gebildeten Acetaldehyd aus dem Gasraum zu entfernen. Die Abgase wurden durch dieselben Waschflaschen geleitet wie bei der Apparatur Abbild. 2, um den Acetaldehyd zu absorbieren. Nach dem Erkalten wurden 5 g Kaliumhydroxydplättchen hinzugefügt, und nach einem Tag wurde die untere Schicht abgetrennt. Da das Dioxan noch immer gefärbt war, wurde es über Kaliumhydroxyd destilliert, wobei braune Verunreinigungen zurückblieben. Anschließend wurde nochmals über Kaliumhydroxyd 10 Stdn. unter Rückfluß gekocht, das Rohdioxan abdestilliert, mit 1 g Natriumdraht 1 Tag stehengelassen, dann 1 1/2 Tage mit Natrium unter Rückfluß und unter Stickstoff gekocht, abdestilliert, mit frischem Natrium versetzt, nochmals 1/2 Tag unter Rückfluß und unter Stickstoff gekocht und dann destilliert. Es wurden so 10.4 g aktives Dioxan vom Sdp. 100° erhalten statt 26.46·88.10/124.14 = 26.46·0.710 = 18.76 g. Das entspricht einer Ausbeute von 55.4% d.Th. Im Modellversuch mit inaktivem Glykol wurden 15.2 g = 79% d.Th. Dioxan erhalten. Das UV-Absorptionsspektrum, Abbild. 1, zeigt, daß die radioaktive Verbindung nicht so rein war wie die aus technischem Dioxan und in größerer Menge gereinigten und sorgfältig fraktionierten Destillate. Sie wurde trotzdem ohne weitere Reinigung für die Extraktionsversuche zur Ligningewinnung aus Fichtenholz benutzt.

Darstellung der Standardpräparate

Um später alle Aktivitätsmessungen einheitlich auf ein gut haltbares Standardpräparat beziehen zu können, wurde sowohl aus dem hoch aktiven Ausgangsglykol als auch aus dem verdünnten Glykol, das als Ausgangsmaterial für die Synthese des radioaktiven Dioxans diente, je eine Probe Glykol-dibenzoat hergestellt.

Zu 89.6 mg Ausgangsglykol wurden 1 ccm Pyridin und unter Rühren mit einem Glasstab 405 mg = 0.33 ccm Benzoylchlorid (d 1.229) gegeben. Es trat unter merklicher Erwärmung sofortige Kristallisation ein. Nach 1/2 Stde. wurde das Reaktionsgemisch in Natriumhydrogencarbonat-Lösung gegossen, nach 3 Stdn. abgesaugt., mit Wasser gewaschen und getrocknet.

43.5 mg des im Verhältnis 1:10 verdünnten Glykols wurden in 0.5 ccm Pyridin gelöst und 0.16 ccm Benzoylchlorid tropfenweise hinzugefügt. Die Aufarbeitung geschah wie vorher. Dibenzoyl-(glykol-[¹⁴C]): Feine, farblose Nadelchen vom Schmp. 71.5°.

Extraktion von Lignin aus Fichtenholz im Mikromaßstab als Modellversuch für die Extraktion mit radioaktivem Dioxan

Es wurde die Apparatur Abbild. 3 benutzt. Das Extraktionsgefäß besaß unten eine Glasfritte. 1.106 g Fichtenholz, das bis zu einer Spanlänge von etwa 2 mm gemahlen worden war, mit 10.6% Wassergehalt, entspr. 0.988 g trockenem Holz, wurden bei einer Tropfengeschwindigkeit von vier Tropfen pro 10 Min. der Reihe nach mit 10 ccm zweimal destilliertem Wasser, 10 ccm Dioxan-Wasser 9:1 und 40 ccm etwa 0.2 *n* Dioxan-Wasser-Salzsäure-Gemisch extrahiert. Das salzsaure, wäßrige Dioxan wurde dadurch erhalten, daß je 20 ccm Dioxan mit 0.5 ccm konz. Salzsäure geschüttelt wurden und nach einem halben Tag die untere Schicht abgetrennt wurde. Der salzsaure Extrakt wurde mit wasserfreiem Natriumcarbonat neutralisiert und zugleich weitgehend entwässert. In den 40 ccm Extraktionsmittel waren 8.0 mMol HCl enthalten. Da im Holz etwa 10% = 100 mg oder rund 3 mMol HCl gebunden werden, enthielt der Extrakt rund 5 mMol

HCl, für die sich zur Neutralisation 265 mg Na_2CO_3 berechnen. Es wurde die doppelte der berechneten Menge zugegeben und kräftig umgeschüttelt, bis Merckscher Universal-Indikator keine Farbänderung mehr zeigte. Die praktisch neutrale Lösung zeigte nach Filtration positive Ligninreaktion mit Phloroglucin-Salzsäure. Die Lösung wurde i. Vak. bis auf wenige Tropfen eingeeengt. Die Menge war so klein, daß sie nicht in Wasser eingegossen werden konnte; es mußten 2 ccm Wasser zur Ligninlösung hinzugefügt werden. Nach Absaugen der ausgefallenen, sehr hellen Flocken und Waschen mit Wasser wurde das Lignin in 2 Tropfen Dioxan-Wasser 9:1 gelöst und mit 2 ccm Wasser gefällt. Nach Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen wurden 28.7 mg Lignin von der hellen Farbe des Holzes erhalten. Ausb. $0.0287/0.988 \cdot 100 = 2.91\%$ vom Holz oder 11% vom Lignin.

Extraktion von Fichtenholz mit radioaktivem Dioxan

In der Apparatur nach Abbild. 3 wurden 1.101 g feuchtes Fichtenholzmehl mit 10.63% Wassergehalt = 0.983 g trocknes Holz der Reihe nach mit

a) 10 ccm 2mal destilliertem Wasser, b) 10 ccm Dioxan (inaktiv)-Wasser 9:1, c) 20 ccm radioaktivem Dioxan-Chlorwasserstoff-Wasser-Gemisch extrahiert, das bezüglich der Säure $0.2 n$ war und 1.5% Wasser enthielt. Dieses Gemisch war folgendermaßen bereitet worden: 10.4 g radioaktives Dioxan wurden mit inaktivem, trockenem und reinem Dioxan im Verhältnis 1:1 verdünnt, mit 0.5 ccm konz. Salzsäure geschüttelt, nach einem halben Tag die untere Schicht (0.5 ccm) abgetrennt, zur oberen Schicht 0.10 ccm Wasser gegeben. Mit einer Tropfengeschwindigkeit von einem Tropfen in 2 bis 3 Min. wurde extrahiert. Der Extrakt wurde mit 250 mg wasserfreiem Natriumcarbonat geschüttelt, bis die Lösung gegen Merck'schen Universal-Indikator neutral reagierte, filtriert, i. Vak. bis zur Trockne abdestilliert. Das Dioxan wurde über Kaliumhydroxyd, dann über Natriumdraht getrocknet, im Stickstoffstrom destilliert, mit 0.25 ccm konz. Salzsäure geschüttelt. Nach einem halben Tag wurde die untere Schicht (0.15 ccm) abgetrennt, 1 Tropfen Wasser hinzugefügt und wieder extrahiert:

d) mit 10.5 ccm Dioxan-Chlorwasserstoff-Wasser-Gemisch ($0.2 n$ HCl, 1.5% Wasser). Es wurde wie unter c) aufgearbeitet.

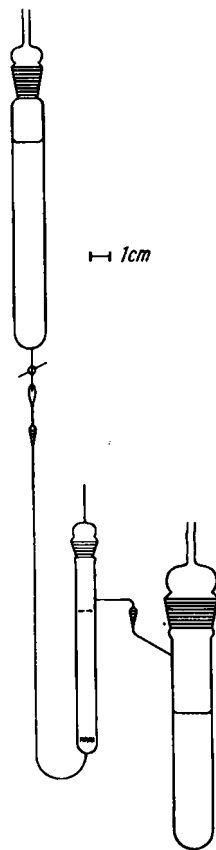
Die vereinigten Ligninfraktionen wurden i. Vak. mit Wasser destilliert, um Dioxanspuren zu entfernen. Nach dem Eindampfen zur Trockne wurde das Lignin in 0.3 ccm Dioxan-Wasser 9:1 gelöst und mit 3 ccm zweimal dest. Wasser gefällt. Ein sehr kleiner Tropfen Salzsäure wurde hinzugegeben, wodurch das Lignin besser flockte und sich sehr gut absetzte. Nach dem Absaugen, Waschen mit Wasser und Trocknen: 23.2 mg.

Ausb. $0.0232/0.983 \cdot 100 = 2.4\%$ vom Holz oder 9% vom Lignin. Bei dieser Extraktion war das Extraktionsgemisch zu feucht. Die Extraktionen wurden ohne Ausschluß von Luft ohne Schutzmaßnahmen gegen Peroxybildung durchgeführt.

Messungen⁵⁾

Die Präparate wurden auf Messingschälchen von 1.0 cm \varnothing und $F = 0.7854 \text{ cm}^2$ Grundfläche aufgetragen und mit einem Geiger-Zählrohr, Meßgerät FH 44 von Friessecke & Hoepfner, Erlangen-Bruck, Fensterzählrohr mit 1.8 mg/cm^2 , gemessen.

⁵⁾ Präparat und Nulleffekt wurden abwechselnd jeweils 5 Min. gemessen bis zu den angegebenen Gesamtmeßzeiten.



Abbild. 3. Apparatur zur Extraktion von Lignin aus Holz mit radioaktivem Dioxan

1. Messung: In einem Schälchen wurden 8.80 mg Lignin, das mit radioaktivem Dioxan-Chlorwasserstoff-Wasser-Gemisch extrahiert worden war, in einem anderen 9.90 mg des im Verhältnis 1:10 verdünnten Standardpräparates eingewogen und gemessen. Die Belegungen betragen also:

für das Lignin:	8.80 mg/0.785 cm ² = 11.20 mg/cm ²
für das Standardpräparat:	9.90 mg/0.785 cm ² = 12.61 mg/cm ²
Lignin:	593 Impulse in 25 Min. = 23.7 Imp./Min.
Nulleffekt:	431 Impulse in 30 Min. = 14.4 Imp./Min.
Lignin korrigiert:	= 9.3 Imp./Min.
Standard:	26011 Impulse in 20 Min. = 1300.6 Imp./Min.
Nulleffekt:	= 14.4 Imp./Min.
Standard korrigiert:	= 1286.2 Imp./Min.

Spezifische Aktivitäten:

$$\text{Lignin: } I_L = 9.3/11.20 = 0.830 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2$$

$$\text{Standard: } I_G = 1286.2/12.61 = 102.0 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2$$

$$\% \text{ Dioxan im Lignin: } x = 32.60 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 32.60 \cdot \frac{0.830}{102.0} = 0.265\%$$

$$\text{Mol. Dioxan/Lignin-Einheit: } d = 0.701 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 0.701 \cdot \frac{0.830}{102.0} = 0.00570$$

2. Messung: Das Lignin aus der ersten Messung wurde in 0.20 ccm Dioxan-Wasser 9:1 gelöst, mit 2.0 ccm Wasser gefällt, 1 Tropfen Salzsäure hinzugegeben, abgesaugt, mit Wasser gewaschen, getrocknet: 16.91 mg.

Lignin:	14.34 mg/0.785 cm ² = 18.27 mg/cm ²
Standard:	14.32 mg/0.785 cm ² = 18.24 mg/cm ²
Lignin:	574 Imp. in 25 Min. = 23.0 ± 0.96 Imp./Min.
Nulleffekt:	1222 Imp. in 75 Min. = 16.3 ± 0.36 Imp./Min.
Lignin korrigiert:	6.7 ± 1.3 Imp./Min.
Standard:	36982 Imp. in 25 Min. = 1479.3 ± 41.5 Imp./Min.
Nulleffekt:	= 16.3 ± 0.36 Imp./Min.
Standard korrigiert:	= 1463.0 ± 41.9 Imp./Min.

Spezifische Aktivitäten:

$$\text{Lignin: } I_L = 6.7/18.27 = 0.366 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2$$

$$\text{Standard: } I_G = 1463/18.24 = 80.2 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2$$

$$\% \text{ Dioxan im Lignin: } x = 32.64 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 32.64 \cdot \frac{0.366}{80.2} = 0.149\%$$

$$\text{Mol. Dioxan/Lignin-Einheit: } d = 0.701 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 0.701 \cdot \frac{0.366}{80.2} = 0.00320$$

3. Messung: Umfällung des Lignins wie bei zweiter Messung beschrieben. Es wurden 13.28 mg Lignin erhalten.

Lignin:	5.01 mg/0.785 cm ² = 6.38 mg/cm ²
Standard:	4.99 mg/0.785 cm ² = 6.36 mg/cm ²
Lignin:	4264 Imp. in 210 Min. = 20.3 ± 0.1 Imp./Min.
Nulleffekt:	2827 Imp. in 185 Min. = 15.3 ± 0.1 Imp./Min.
Lignin korrigiert:	= 5.0 ± 0.2 Imp./Min.
Standard:	112018 Imp. in 100 Min. = 1120.2 ± 16.6 Imp./Min.
Nulleffekt:	= 15.3 ± 0.1 Imp./Min.
Standard korrigiert:	= 1104.9 ± 16.7 Imp./Min.

Spezifische Aktivitäten:

$$\text{Lignin: } I_L = 5.0/6.38 = 0.785 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2 \pm 4.0\%$$

$$\text{Standard: } I_G = 1105/6.36 = 173.8 \text{ Imp./Min.} \cdot \text{mg/cm}^2 \pm 1.5\%$$

$$\% \text{ Dioxan in Lignin: } x = 32.64 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 32.64 \cdot \frac{0.784}{174} = 0.147\% \pm 0.008 (\pm 5.5\%)$$

Mol. Dioxan/Lignin-Einheit (189):

$$d = 0.701 \cdot \frac{I_L}{I_G} = 0.701 \cdot \frac{0.784}{174} = 0.003\ 16 \pm 0.000\ 17$$

Formel (2) ergibt denselben Wert: $d = 2.15 \cdot \frac{I_L}{3.07 I_G - I_L} = 0.003\ 16$.

Demnach kommt auf etwa 320 Lignin-Einheiten vom „Mol.-Gew.“ 189 ein Mol. Dioxan, d. h. es tritt praktisch kein Dioxan bei dem Extraktionsverfahren mit Dioxan-Chlorwasserstoff-Wasser in das Lignin ein.

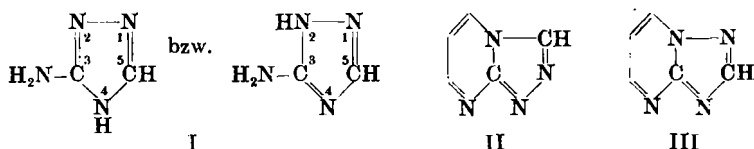
231. Emil-Joachim Birr und Werner Walther*): Zur Konstitution der Triaza-indolizine**)

[Aus der Filmfabrik Agfa Wolfen]

(Eingegangen am 13. Juli 1953)

Durch Synthese der Triaza-indolizine über die Hydrazinopyrimidine wird gezeigt, daß bei der Kondensation von 3-Amino-1.2.4-triazol mit Verbindungen, die in β -Stellung zwei reaktionsfähige Gruppen enthalten, 2.3.4-Triaza-indolizine entstehen.

Bei der zuerst von C. Bülow¹⁾ beschriebenen Kondensation von 3-Amino-1.2.4-triazol mit einer Verbindung, die in β -Stellung zwei reaktionsfähige Substituenten (Keto-, Aldehyd-, Nitril- oder Ester-Gruppen) enthält, können zwei verschiedene Triaza-indolizine entstehen, da das an Ringstickstoff gebundene Wasserstoffatom im 3-Amino-1.2.4-triazol wegen der Tautomeriemöglichkeiten, von denen zwei in der Formel I wiedergegeben sind, nicht einem einzelnen Stickstoff-Atom zugeschrieben werden kann. Es bestehen daher im Falle einer Kondensation die beiden nachfolgenden Möglichkeiten (II und III), je nachdem die Reaktion über das N²- oder N⁴-Atom eintritt.



Bisher war es nicht gelungen, das entstehende Produkt einer dieser beiden Möglichkeiten zuzuordnen, sondern man hatte mit Bülow die Bildung von 1.3.4-Triaza-indolizinen (III) angenommen. Eine Entscheidung über die Konstitution des entstehenden Triaza-indolizins wurde auf dem folgenden Wege herbeigeführt. Durch Verkochen von Methylthiouracil oder besser seinen

*) Über die technische Bedeutung der Aza-indolizine: E.-J. Birr, *Z. wiss. Photogr., Photophysik Photochem.* **47**, 2–27 [1952]; C. 1953, 320.

**) Diese Arbeit ist ein Teil der Dissertation des einen von uns. Wir danken auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. F. Runge, Halle, für die Übernahme des Referats und für das dieser Arbeit entgegengebrachte Interesse.

¹⁾ C. Bülow und Mitarbb., *Ber. dtsch. chem. Ges.* **42**, 2208, 2487, 2594, 3555, 4429, 4638 [1909], **43**, 375, 1975 [1910].