

2-Oxy-3.4-dihydro-chinazolin (XV); 7-Oxy-4.5-benzo-[hept-1.2.6-oxdiazin] (VIII) wird in Äthanol mit Raney-Nickel katalytisch hydriert und wie üblich aufgearbeitet. Das beim Abdampfen des Lösungsmittels zurückbleibende Rohprodukt wird aus Wasser oder Alkohol umkristallisiert; weiße Prismen vom Schmp. 240°. Die Substanz besitzt einen charakteristischen „Phenolgeruch“. Sie ist in verd. Säuren gut löslich, in verd. Alkalien unlöslich.

$C_8H_9ON_2$  (148.1) Ber. C 64.87 H 5.44 N 18.91 Gef. C 65.04 H 5.51 N 19.03

Pikrat: Gelbe Nadeln vom Schmp. 156° (Zers.).

Kondensation von 7-Methyl-4.5-benzo-[hept-1.2.6-oxdiazin] (III) mit Benzaldehyd zu 7-Styryl-4.5-benzo-[hept-1.2.6-oxdiazin] (VII): Es werden je  $\frac{1}{100}$  Mol der Komponenten in wenig absol. Methanol gelöst; bei Zugabe von 5 ccm einer 10-proz. Kaliummethylat-Lösung tritt sofort unter Rotfärbung der Lösung eine Reaktion ein. Man erhitzt das Gemisch noch etwa 3 Stdn. auf dem Wasserbad und destilliert anschließend das Methanol weitgehend ab. Beim Verdünnen mit Wasser fällt das Kondensationsprodukt aus. Aus Methanol wird es in zitronengelben feinen Nadelchen vom Schmp. 188–189° erhalten. Der Misch-Schmelzpunkt mit der S. 1821 beschriebenen Verb. VII zeigt keine Erniedrigung.

$C_{16}H_{14}ON_2$  (248.2) Ber. C 77.41 H 4.84 N 11.30 Gef. C 77.59 H 5.02 N 11.39

## 284. Karl Freudenberg und Werner Fuchs: Anwendung radioaktiver Isotope bei der Erforschung des Lignins, IV<sup>1)</sup>

[Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Forschungsinstitut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide Heidelberg]

(Eingegangen am 27. September 1954)

Bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols wird zugesetzter 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol nicht einpolymerisiert. Die Synthese von 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol-[carbinol-<sup>14</sup>C] wird beschrieben. Weitere Versuche über die Herstellung von Coniferin-[carbinol-<sup>14</sup>C] und Coniferin-[ $\beta$ -<sup>14</sup>C], die in der III. Abhandlung verwendet wurden, werden mitgeteilt. Mit radioaktiver Essigsäure und Ameisensäure wurde festgestellt, daß bei der Extraktion des Holzes mit diesen Säuren keine irreversible Verbindung des Lignins mit dem Lösungsmittel entsteht.

Am Schluß wird die Synthese des 3-[4-Oxy-3-methoxy-phenyl]-propan-diols-(1.3) oder 3-Guajacyl-propan-diols-(1.3) (Hydrat des Coniferylalkohols) beschrieben.

In der III. Abhandlung sind Versuche an lebenden Fichten mit radioaktiv markiertem Coniferin-[carbinol-<sup>14</sup>C] beschrieben worden. Radioaktives D-Coniferin wird von Fichten zum Einbau in das Lignin verwendet, während radioaktives L-Coniferin ungenutzt bleibt. Die Herstellung der hierzu benötigten sowie einiger anderer Präparate soll hier geschildert werden.

Die Zusammensetzung des Coniferenlignins entspricht im wesentlichen einem Coniferylalkohol, der zwei oder vielleicht nicht ganz zwei Wasserstoff-

<sup>1)</sup> I. Abh.: K. Freudenberg u. F. Bittner, Chem. Ber. 86, 155 [1953];

II. Abh.: W. Stumpf, F. Weygand u. O. A. Großkinsky, Chem. Ber. 86, 1391 [1953];

III. Abh.: K. Freudenberg, H. Reznik, W. Fuchs u. M. Reichert, Naturwissenschaften 41 [1954], im Druck; dieselben, vorläufige Mitteilung, Angew. Chem. 66, 109 [1954]; in dieser Abhandlung muß die Zeile 16 von unten heißen: „Darüber wuchs im Laufe des Sommers nicht radioaktives Holz.“

atome verloren hat. In jedem Ligninmolekül, gleichgültig welcher Größe, ob verzweigt oder unverzweigt, muß ein Anfangs- und ein Endglied der Zusammensetzung eines Coniferylalkohols minus 1 H entsprechen. Eine Zusammensetzung Coniferylalkohol minus  $< 2$  H kann aber auch dann auftreten, wenn die Sauerstoff- und Kohlenstoff-Radikale, die bei der Dehydrierung des Coniferylalkohols zunächst entstehen, auch nicht dehydrierten Coniferylalkohol zur Polymerisation anregen oder einpolymerisieren<sup>2)</sup>. Um diese Frage zu prüfen, wurde der am Carbonyl-Kohlenstoff radioaktiv markierte 3,4-Dimethoxy-zimtalkohol verwendet. Er wird von den Phenolredoxasen nicht angegriffen, kann also nur durch echte Polymerisation eingebaut werden. In einem Ansatz von gleichen Teilen radioaktivem Dimethoxy-zimtalkohol und gewöhnlichem Coniferylalkohol mit Redoxase wurde ein Dehydrierungspolymerisat gewonnen, das nur 2–3% der eingesetzten radioaktiven Substanz enthielt. Der Versuch ist also negativ verlaufen. Wäre er positiv gewesen, so wäre die Einpolymerisation dieses nicht dehydrierbaren Bausteines nachgewiesen. Daß Coniferylalkohol als solcher einpolymerisiert werden kann, ist damit nicht widerlegt.

Die in der ersten Abhandlung beschriebene Synthese des D-Coniferins-[carbinol-<sup>14</sup>C] wurde in einigen Punkten verbessert. Auf die gleiche Weise wurde mit L-Glucose<sup>3)</sup> L-Coniferin-[<sup>14</sup>C] hergestellt. Es ist zweckmäßig, die Glucose möglichst früh einzuführen, d.h. vom Tetraacetyl-glucovanillin auszugehen und dieses mit Malonsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C] zu kondensieren. Dabei verliert man zwar durch Decarboxylierung die Hälfte der Radioaktivität der Malonsäure, aber die Gesamtausbeute dieses Weges ist trotzdem höher. Das entweichende <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> kann quantitativ wiedergewonnen werden, ebenso etwa entstehende Essigsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C]. In den Einzelheiten gestaltet sich dieser Syntheseweg wie nachstehend beim Coniferin-[ $\beta$ -<sup>14</sup>C] beschrieben.

Die Synthese von Coniferin-[ $\beta$ -<sup>14</sup>C] erfordert mittelständig markierte Malonsäure. Diese kann dann mit Tetraacetyl-glucovanillin zu Tetraacetyl-glucoferulasäure kondensiert werden. Daraus wird das Säurechlorid bereitet und dieses zu Coniferin reduziert.

Die Reduktion des Tetraacetyl-glucoferulasäureesters zum Coniferin gelang nicht. Jedenfalls war es nicht möglich, aus den Reduktionsprodukten das sicher entstandene Coniferin mit brauchbarer Ausbeute zu isolieren. Der Vorteil des Säurechlorids liegt darin, daß die -COCl-Gruppierung viel rascher als die Estergruppe von Lithiumalanat angegriffen wird. Der gesamte Syntheseweg wurde im Zehntel-Millimol-Maßstab ausgearbeitet.

Inzwischen haben auch K. Kratzl und G. Billek die Synthese des Coniferins-[ $\beta$ -<sup>14</sup>C] auf dem gleichen Wege beschrieben<sup>4)</sup>. Sie arbeiten im hundertfachen größeren Maßstab, also mit Mengen von etwa einem Gramm, dafür mit geringerer spezifischer Aktivität. Sie gewannen die Malonsäure-[2-<sup>14</sup>C] durch Verseifung käuflichen Malonesters-[2-<sup>14</sup>C]. Für die bis dahin nicht bekannten Stufen von der Tetraacetyl-glucoferulasäure zum Coniferin geben sie eine nur

<sup>2)</sup> K. Freudenberg, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe [Wien] **11**, 64 [1954].

<sup>3)</sup> Hrn. O. P. Swoboda danken wir für die Bereitung der L-Glucose.

<sup>4)</sup> Mh. Chem. **84**, 406 [1953].

halb so große Ausbeute an, als sie nach der hier wiedergegebenen Arbeitsweise erhalten wurde. Trotzdem scheint dieser Teil der Synthese weiter verbesserungsfähig.

Bei allen Verfahren zur Isolierung von Lignin aus Holz mit Hilfe von organischen Lösungsmitteln muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß das Lignin dabei chemisch verändert wird oder in nicht zu übersehender Weise mit dem Lösungsmittel reagiert. Diese Gefahr besteht besonders bei der Extraktion in Gegenwart von Säuren oder Alkalien, oder wenn ein Extraktionsmittel mit leicht reagierenden Gruppen angewendet wird. Wie dies schon mit radioaktiv markiertem Dioxan geschehen ist<sup>1)</sup> (II. Abh.), sollte geprüft werden, ob bei der Extraktion des Holzes mit Essigsäure und mit Ameisensäure diese Lösungsmittel irreversibel in das Lignin einkondensiert werden. Bei Dioxan ist dies nicht der Fall.

Es wurde vermutet, daß mit Essigsäure isoliertes Lignin<sup>5)</sup> nach der Freilegung der acetylierten Oxygruppen mit Natronlauge noch geringe Mengen nicht wieder abspaltbare Essigsäure enthalte (1.5–2 %).

Durch Anwendung von <sup>14</sup>C-markierter Essigsäure läßt sich zeigen, daß keine nennenswerte Menge von Essigsäure gebunden wird. Da Absolutmessungen von <sup>14</sup>C-Präparaten nur unter besonderen Bedingungen möglich sind, wurde einfach die Aktivität in Impulsen je Minute und Milligramm des Acetyl-lignins mit der des entacetylierten Produktes in der gleichen Meßanordnung verglichen. Dieses Verhältnis betrug 5790 zu 36.

Da das Acetylignin etwa 11 % Acetyl enthält<sup>5)</sup>, zeigt dieser Abfall auf 0.62 % der ursprünglich vorhandenen Aktivität, daß höchstens 0.06 % Essigsäure im Essigsäurelignin verblieben sein können. Umgerechnet auf die C<sub>9</sub>-Einheit würde also auf höchstens jede 80. Einheit ein Essigsäuremolekül eingebaut sein können. Diese Grenze ergab sich aus der Meßgenauigkeit der spezifischen Aktivitäten unter den Versuchsbedingungen.

Ameisensäure ist in der Ligninchemie schon wiederholt verwendet worden<sup>6)</sup>, aber bisher noch nicht zur Extraktion von Fichtenholz bei Zimmertemperatur in Gegenwart von Salzsäure.

Die Menge gelösten Lignins nimmt zu mit steigender Konzentration der Ameisensäure und der Salzsäure. Der Einfluß der Salzsäure ist um so stärker ausgeprägt, je weniger Wasser die Ameisensäure enthält. Wochen- und monatelange Einwirkung der Säuren macht einen Teil des Lignins unlöslich und erniedrigt daher die Ausbeute. Bei Anwendung von 10 ccm wasserfreier Ameisensäure ist es am günstigsten, etwa 0.05 ccm 12.5*n*HCl auf 1 g Holz

<sup>1)</sup> Fr. Schütz u. W. Knackstedt, *Cellulosechemie* 20, 15 [1942]; K. Freudenberg u. E. Plankenborn, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 75, 857 [1942]; F. E. Brauns u. M. A. Buchanan, *J. Amer. chem. Soc.* 67, 648 [1945].

<sup>5)</sup> H. Staudinger u. E. Dreher, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 69, 1729 [1936]; F. Wright u. H. Hibbert, *J. Amer. chem. Soc.* 59, 125 [1937]; F. Wright, M. Lieff u. H. Hibbert, ebenda 61, 1477 [1939]; K. Freudenberg, A. Janson, E. Knopf u. A. Haag, *Ber. dtsh. chem. Ges.* 69, 1415 [1936]; K. Freudenberg u. R. Kraft, *Chem. Ber.* 83, 530 [1950]; K. Freudenberg, W. Siebert, W. Heimberger u. R. Kraft, ebenda 83, 533 [1950]; A. Bell u. G. F. Wright, *Canad. J. Res., Sect. B* 27, 572 [1949].

zu verwenden. Eine weitere Steigerung der Salzsäurekonzentration erhöht die Ligninausbeute nicht wesentlich.

Da vom Holz eine gewisse Menge Chlorwasserstoff aufgenommen wird<sup>7)</sup>, ist es zweckmäßig, die zugesetzte Menge Salzsäure auf das Holzgewicht zu beziehen. Dagegen ist die Salzsäurekonzentration, bezogen auf die angewendete Lösungsmittelmenge, von geringerer Bedeutung.

Folgende Versuchsreihe ist kennzeichnend:

10	ccm	Ameisensäure lösten aus 1 g Holz bei Zugabe von
0	„	12.5nHCl 1.6% Lignin bezogen auf das Holzgewicht
0.005	„	„ 2.8% „
0.01	„	„ 3.2% „
0.05	„	„ 7.5% „

Es ist von Interesse, ob bei diesem Aufschlußverfahren die Ameisensäure noch anders als mit den Oxygruppen des Lignins reagiert.

Durch Verwendung von Ameisensäure-[<sup>14</sup>C] sollte zuerst festgestellt werden, ob die Säure bei der Extraktion des Lignins eingebaut wird. Gegenüber der entsprechenden Untersuchung beim Essigsäurelignin bestand vor allem folgende Schwierigkeit: Die Extraktion sollte bei Zimmertemperatur ausgeführt werden. Alle dafür verwendeten Verfahren erfordern aber große Mengen Lösungsmittel. Die Ausbeute an Lignin, bezogen auf die Lösungsmittelmenge, liegt meist unter 0.1%. Für radioaktive Arbeiten ist das untragbar.

Deshalb wurde der im experimentellen Teil beschriebene Mikroextraktor entwickelt, der zum Betrieb nur einen Tropfen Flüssigkeit mehr benötigt als vom Extraktionsgut kapillar festgehalten wird. Eine Veränderung des Lignins durch Oxydation ist bei der gewählten Arbeitsweise ausgeschlossen.

Ferner waren noch zwei weitere Mängel zu beseitigen, die bei der Entacetylierung des Essigsäurelignins aufgetreten waren. Bei der Behandlung mit Natronlauge, bei jedem Umfällen und Waschen bleiben kleine Mengen Lignin kolloidal in Lösung, die z.Tl. erst nach Wochen wieder ausflocken. Beim Arbeiten mit geringen Substanzmengen macht sich das sehr unangenehm bemerkbar. Weiter werden bei längeren Versuchsreihen die zur Radioaktivitätsmessung üblichen Meßplättchen von der Laboratoriumsluft angegriffen, so daß schließlich die Wägungen nicht mehr reproduzierbar sind.

Es wurden deshalb für die Messung des Ameisensäurelignins geeignete Glasplättchen geschliffen, von denen sich die Proben unverändert herunterlösen lassen. Dadurch wurde es möglich, die radioaktiven Formylgruppen ohne Anwendung von Natronlauge einfach durch Austausch mit inaktiver Ameisensäure zu entfernen.

Durch diese Verbesserungen wurde bei der gleichen eingesetzten Aktivitätsmenge die Genauigkeit der Methode vervielfacht.

Die Extraktion von Fichtenholz mit Ameisensäure-[<sup>14</sup>C] lieferte ein Lignin der spezifischen Aktivität von 6950 Imp/min mg. Nach der Behandlung mit inaktiver Ameisensäure fiel die spezifische Aktivität auf 34 Imp/min mg ab,

<sup>7)</sup> E. Hägglund, Svensk kem. Tidskr. 35, 2 [1923]; C. Pew, J. Amer. chem. Soc. 74, 2850 [1952].

also auf 0.49%. Das bedeutet, daß höchstens auf jede 105. C<sub>9</sub>-Einheit noch ein aus der Ameisensäure-[<sup>14</sup>C] stammendes Kohlenstoffatom entfallen könnte.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Unterstützung der Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

#### 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol-[carbinol-<sup>14</sup>C]

Die Synthese der inaktiven Verbindung wird demnächst beschrieben<sup>8)</sup>.

Aus Malonsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C]<sup>9, 9a)</sup> wurde durch Fällung mit Calciumchlorid Calciummalonat gewonnen.

Für die nachfolgende Kondensation mit Veratrumaldehyd ist es nicht erforderlich, die freie Malonsäure zu isolieren. Das Calciummalonat wird in der ber. Menge Salzsäure gelöst, dann läßt man einen geringen Überschuß heißer Ammoniumoxalatlösung zutropfen, neutralisiert wenn nötig mit Ammoniak und filtriert nach dem Erkalten von ausgeschiedenem Calciumoxalat ab. Das Filtrat wird eingedampft. Der Rückstand besteht im wesentlichen aus Ammoniummalonat-[carboxyl-<sup>14</sup>C]. Er wird in Pyridin gelöst und Veratrumaldehyd und je ein Tropfen Piperidin und Anilin hinzugegeben. Die Mischung wird 1 Tag auf 50° und dann noch 1 Stde. auf dem Dampfbad erwärmt. Das bei der Reaktion entstehende <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> wird in Natronlauge aufgefangen und in Bariumcarbonat übergeführt. Nach beendeter Kondensation säuert man die Pyridinlösung mit Salzsäure an, saugt den sich bildenden Niederschlag ab, löst das Alkalilösliche mit verd. Natronlauge vom Filter und läßt es in Salzsäure eintropfen. 3.4-Dimethoxy-zimtsäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C] vom Schmp. 180 bis 181° kristallisiert aus.

Vorversuche mit inaktivem Calciummalonat ergaben, daß bei dieser Arbeitsweise bei der Umsetzung mit der stöchiometrischen Menge Veratrumaldehyd oder einem geringen Überschuß im Durchschnitt 60% d.Th. an 3.4-Dimethoxy-zimtsäure erhalten werden.

Zur Überführung in den Äthylester wird die Säure in Trifluoressigsäure-anhydrid gelöst, die Lösung mit Kohlenäure-Aceton-Kältemischung eingefroren und Äthanol im Überschuß zugegeben. Nach Entfernung der Kühlmasse erwärmt man die Mischung unter Umschwenken auf Zimmertemperatur. Dann wird i. Vak. eingedampft und der Rückstand i. Hochvak. sublimiert. Badtemperatur 80 bis 100°. Ausb. 90% d.Th. an 3.4-Dimethoxy-zimtsäureäthylester vom Schmp. 61°.

3.4-Dimethoxy-zimtalkohol-[carbinol-<sup>14</sup>C] wird aus dem Äthylester durch Reduktion mit Lithiumalanat dargestellt. Der Alkohol läßt sich i. Hochvak. sublimieren (Badtemperatur 70 bis 80°). Ausb. etwa 80% d.Th.; Schmp. 79°.

#### DHP aus Coniferylalkohol und 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol-[carbinol-<sup>14</sup>C]

20 mg 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol-[carbinol-<sup>14</sup>C] der spezif. Aktivität 825 Imp/mg min und 20 mg inakt. Coniferylalkohol wurden in wenig Aceton gelöst, 8 ccm Wasser, 1 ccm Citratpuffer, p<sub>H</sub> 6, und 1 ccm Fermentlösung (entspr. 2.8 mg Champignon-Trockenferment) hinzugefügt. Bei 20° wurde der Ansatz 3 Tage mit Sauerstoff belüftet. Nach 30 Stdn. wurde nochmals die gleiche Menge Ferment zugegeben. Das ausgefallene Dehydrierungspolymerisat (DHP) wurde abgesaugt, in wenig Aceton gelöst und mit der zehnfachen Menge Wasser wieder ausgefällt. Es wurden 9 mg Polymerisat mit einer spezif. Aktivität von 19 Imp/mg min erhalten. Die Aktivität des Präparates blieb nach mehrtägigem Waschen mit Benzol unverändert.

Die Mutterlauge des DHP-Ansatzes wurde mit Essigester ausgeschüttelt. Der nach dem Abdampfen des Essigesters verbliebene Rückstand wurde i. Hochvak. sublimiert. Er lieferte 6.9 mg Sublimat der spezif. Aktivität 650 Imp/mg min. Nach dem Umkri-

<sup>8)</sup> K. Freudenberg u. G. Schumacher, Chem. Ber. 87, 1882 [1954].

<sup>9)</sup> J. A. McCarter, Science [Washington] 115, 552 [1952]; J. Amer. chem. Soc. 73, 483 [1951]. <sup>9a)</sup> N. Weiner, Org. Syntheses 18, 50 [1938].

stallisieren aus Äther-Petroläther stieg die spezif. Aktivität auf 860 Imp/mg min. Die Kristalle wurden durch Mikroschmelzpunktsbestimmung als 3.4-Dimethoxy-zimtalkohol vom Schmp. 79° identifiziert.

#### D- und L-Coniferin-[carbinol-<sup>14</sup>C]

Aus 4.9 mMol Bariumcarbonat-<sup>[14C]</sup> mit einer Radioaktivität von 3.9 mC wurde Kaliumcarbonat und daraus nach der Vorschrift von J. A. McCarter Natriumcyanid dargestellt<sup>9)</sup>. Bei diesem Verfahren (Umsetzung einer Mischung von Kaliumcarbonat und Zinkstaub mit Ammoniak bei 650°) werden auch bei einem sehr langsamen Ammoniakstrom merkbare Mengen radioaktiven Cyanids aus dem die Substanz enthaltenden Schiffchen herausgetragen. Deshalb befand sich das Schiffchen im Inneren eines etwa 12 cm langen Supremaxrohres. Diese Anordnung läßt sich durch einen an das Supremaxrohr angeschmolzenen Stab gut in das äußere Quarzrohr einführen. Die aus dem Schiffchen herausgetragenen Anteile setzten sich weitgehend in dem Supremaxrohr ab. Deshalb wurde es zusammen mit dem Schiffchen zur anschließenden Destillation der Cyanwasserstoffsäure in den Destillationskolben übergeführt.

Aus dem Natriumcyanid-<sup>[14C]</sup> wurde auf dem von K. Freudenberg und F. Bittner angegebenen Wege<sup>1)</sup> Acetylferulasäure-[carboxyl-<sup>14</sup>C] dargestellt. Zur Veresterung wurde sie in Trifluoressigsäure-anhydrid gelöst und unter Kühlung mit einem Überschuß Äthanol versetzt. Der nach dem Abdampfen der flüchtigen Stoffe verbleibende Ester wurde i. Hochvak. sublimiert.

117 mg Acetylferulasäureester wurden mit 50 mg LiAlH<sub>4</sub> reduziert<sup>1)</sup>. Nach dem Zersetzen der Reduktionslösung mit Wasser wurde mit festem Kohlendioxyd angesäuert, die Ätherphase abgetrennt, zweimal nachgeäthert und der vereinigte Ätherauszug über Magnesiumsulfat getrocknet. Diese den Coniferylalkohol enthaltende Lösung wurde halbiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde mit je 35 mg Kaliumcarbonat und 110 mg D-Acetobromglucose bzw. L-Acetobromglucose (aus L-Glucose<sup>10)</sup>) nach M. Barzai-Martos und F. Korösy<sup>11)</sup> in Aceton-Wasser glucosidiert<sup>12)</sup>.

Nach 36 Stdn. wurde das Aceton i. Vak. abdestilliert, das ausgeschiedene Öl in 5 ccm Benzol aufgenommen und im Kapillarscheidetrichter dreimal mit je 0.5 ccm 1*n* NaOH und dreimal mit 0.5 ccm Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen über Magnesiumsulfat kristallisierten aus der im Zentrifugenglas eingeengten Benzollösung durch Petroläther-zusatz 29 mg D- bzw. 30 mg L-Triacetylconiferin aus. Es wurde in Methanol mit 0.15 mMol Natriummethylat verseift (1 Stde. bei 20°). Nach Zusatz von 1 Tropfen Wasser wurde das Methanol bei 50° durch einen Kohlendioxydstrom vertrieben, der getrocknete Rückstand mit heißem Dioxan extrahiert und aus der eingeengten Dioxanlösung das Coniferin mit Benzol gefällt (20 bzw. 20.5 mg) und anschließend aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 183–185°.

#### Coniferin-[β-<sup>14</sup>C]

Ausgehend von 147 mg Bariumcarbonat-<sup>[14C]</sup> (0.95 mC) wurde über Methanol, Methyljodid und Acetonitril Natriumacetat-[2-<sup>14</sup>C] dargestellt<sup>13)</sup>.

Die von J. D. Cox und H. S. Turner angegebene Ampulle zur Darstellung des Methyljodids<sup>14)</sup> läßt sich i. Hochvak. öffnen, wenn man beim Zuschmelzen der Ampulle die Spitze exzentrisch auszieht (s. Abbild. 1). Zum Öffnen ritzt man sie bei A an und führt sie in den am Vakuumverteilungsrohr (engl. manifold) befindlichen Mantelschliff ein. Oberhalb des Schliffes ist ein Dorn D eingedrückt. Nach dem Evakuieren des Rohres

<sup>10)</sup> J. C. Sowden u. H. O. L. Fischer, J. Amer. chem. Soc. 69, 1963 [1947].

<sup>11)</sup> Nature [London] 165, 369 [1950].

<sup>12)</sup> K. Freudenberg u. F. Bittner, Chem. Ber. 83, 603 [1950].

<sup>13)</sup> E. Nystrom, W. J. Skraba u. R. G. Mansfield, Nucleonics, Sept. 1950, S. 54; neuere Vorschrift: D. E. Pack u. B. M. Tolbert, Sept. 1952, Berkeley, Calif. Radiation Lab. Contr. Nr. W-7405-eng-48 UCRL-1957.

<sup>14)</sup> J. chem. Soc. [London] 1950, 3175 (Abbild. 6); 3167.

bricht man die Spitze durch Drehen der Ampulle ab. Dieses Verfahren hat sich auch bei anderen Umsetzungen gut bewährt.

Aus 25 mg Natriumacetat-[2-<sup>14</sup>C] wurde mit trockenem Chlorwasserstoff die Essigsäure freigemacht<sup>14)</sup> und in ein Bombenröhrchen kondensiert, das 0.25 ccm Brom, 80 mg Essigsäure-anhydrid, 0.5 mg roten Phosphor und eine Spur Pyridin enthielt. Das Röhrchen wurde i. Hochvak. abgeschmolzen und 2 Stdn. im Ölbad auf 125° erhitzt. Nach dem Abkühlen auf -80° wurde es geöffnet und langsam auf Zimmertemperatur erwärmt. Reste von Bromwasserstoff und Brom wurden durch einen Kohlendioxyd-Strom vertrieben. Nach Zugabe von 80 mg Natriumhydroxyd in wenig Wasser wurde mit 300 mg Natriumcyanid umgesetzt<sup>15)</sup> und die entstandene Cyanessigsäure im geschlossenen Rohr verseift. Die Malonsäure wurde als Calciumsalz isoliert. Daraus wurde, wie bei der Synthese des 3,4-Dimethoxy-zimtalkohols beschrieben, Ammoniummalonat erhalten.

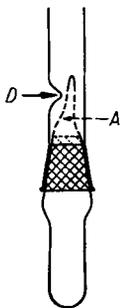


Abbildung 1

Seine Lösung in Pyridin wurde mit einem Überschuß Tetraacetylgluco-vanillin und einer Spur Piperidin und Anilin einige Tage bei Zimmertemperatur stehengelassen. Zur Vervollständigung der Kondensation wurde schließlich 30 Min. auf dem Dampfbad erwärmt. Durch vorsichtigen Zusatz von Wasser und Salzsäure kristallisierte die Tetraacetyl-glucoferulasäure in ausreichender Reinheit aus. In einem Fall war es jedoch nötig, sie über das Natriumsalz zu reinigen.

180 mg Tetraacetyl-glucoferulasäure wurden in Benzol gelöst und mit Thionylchlorid 2 Stdn. auf dem Wasserbad erwärmt. Nach Entfernen der Lösungsmittel i. Vak. löste man das zurückgebliebene rohe Säurechlorid in Tetrahydrofuran und ließ es unter kräftigem Rühren zu einer stark gekühlten Lösung von 1.5 mMol Lithiumalanat in Tetrahydrofuran zutropfen. Dann wurde 20 Min. auf Zimmertemperatur erwärmt. Zur Zerlegung der gebildeten Komplexsalze wurden 6 mMol Wasser und 6 mMol Essigsäure unter Kühlung und kräftigem Rühren zugegeben, nach einer weiteren halben Stde. 1 ccm Pyridin und 1.5 ccm Acetanhydrid. Anschließend wurde das Tetrahydrofuran im Verlauf einiger Stunden i. Vak. entfernt. Der zurückgebliebene Salzbrei wurde mit weiteren 4 ccm Acetylierungsgemisch über Nacht stehengelassen und dann einen Tag im Vakuumexsiccator über Kaliumhydroxyd und Schwefelsäure aufbewahrt, um das überschüssige Acetylierungsgemisch weitgehend zu entfernen. Der Rückstand wurde in Benzol und verd. Salzsäure gelöst. Die Benzollösung hinterließ nach dem Ausschütteln mit Natriumhydrogencarbonatlösung und Trocknen mit Magnesiumsulfat ein Gemisch ölig, gelegentlich aber auch kristallisierter Acetate, die mit Bariummethylat zu Coniferin verseift wurden. Die Isolierung des Coniferins erfolgte wie beim Coniferin-[carbinol-<sup>14</sup>C] beschrieben. Ausb. 45 bis 50% d. Th., bez. auf Tetraacetyl-glucoferulasäure.

In der III. Mitteilung sind verschiedene Radioautographien abgebildet, die mit Hand- und Mikrotomschnitten von Pflanzenmaterial nach Zufuhr der radioaktiven Glucoside hergestellt waren.

Von den Präparaten wurde ein Teil mit Alkohol, ein anderer mit Benzol-Alkohol behandelt. Die Benzolextraktion bezweckte die Abtrennung der geringen in harzartigen Anteilen festgelegten Aktivität. Bei der Alkohol-Extraktion wurde alles nicht umgesetzte Coniferin ausgewaschen. Man kann nach dieser Manipulation damit rechnen, daß die verbliebene Strahlung der Ligninfraction entstammt<sup>11)</sup>.

Um Übersichtsaufnahmen zu erhalten, wurden die Schnittpräparate im Kopierrahmen gegen handelsübliche Feinkornschichten gepreßt. Die Belichtungszeiten betragen einige Tage bis Wochen. Unter den bisher erprobten Emulsionen eignete sich besonders der Kleinbildfilm Adox KB 14 wegen seiner guten Auflösung und Empfindlichkeit.

Zur genauen Lokalisation der Radioaktivität dienen „Kodak Radioautographic Plates“ (stripping film). Sie wurden entsprechend der Gebrauchsanweisung verarbeitet. Dickere Schnitte wurden auf die mit Chrom-Gelatine überzogenen Objektträger zusätz-

<sup>15)</sup> G. A. Ropp, J. Amer. chem. Soc. 72, 4459 [1950]; N. Weiner, l. c. <sup>9a)</sup>.

lich mit Eiweiß aufgeklebt. Die Präparate mußten einige Tage bis 8 Wochen exponiert werden. Sie wurden in dieser Zeit mit Blaugel als Trockenmittel in Petrischalen lichtdicht verpackt aufbewahrt. Entwickelt wurde mit Kodak D-19 4 Min. bei 20°. Dem Fixierbad wurde gegen Ende des Fixierens Natriumsulfat zugesetzt, um die Quellung der Emulsion zu reduzieren<sup>16)</sup>. Die fertig behandelten Präparate wurden durch die photographische Emulsion hindurch beobachtet und photographiert. So sind die Schwärzungen den darunter liegenden Gewebestrukturen ohne weiteres zuzuordnen.

#### Darstellung des Essigsäurelignins mit radioaktiver Essigsäure

Essigsäure-[1-<sup>14</sup>C] wurde nach bekannten Methoden im 2-Millimol-Maßstab dargestellt. Nach R. M. Lemmon<sup>17)</sup> wurde im geschlossenen Hochvakuumssystem aus Bariumcarbonat-[<sup>14</sup>C] entwickeltes Kohlendioxyd mit Methylmagnesiumjodid umgesetzt. Das als Nebenprodukt entstehende Aceton wurde durch Fällung mit Nesslers Reagenz isoliert<sup>18)</sup>. Die Essigsäure wurde durch Wasserdampfdestillation über Silbersulfat gereinigt. Nach dem Verdünnen mit inaktiver Essigsäure auf die zum späteren Holzaufschluß verwendete Menge von 8.25 mMol wurde mit Natronlauge neutralisiert und aus dem i. Hochvak. getrockneten Natriumacetat mit trockenem Chlorwasserstoff die Essigsäure freigesetzt. Die überschüss. Salzsäure wurde durch eine Ein-Boden-Destillation<sup>14)</sup> entfernt, bis bei einem Apparatevolumen von etwa 200 ccm der Dampfdruck über der Essigsäure bei 195° K 0.06 Torr betrug ( $p_{\text{HCl, 195° K}}$  1165 Torr). Die 8.25 mMol Essigsäure enthielten also weniger als 10<sup>-3</sup> mMol Chlorwasserstoff.

Damit wurden 172 mg vorher mit Benzol von Harzen befreiter Fichtenholzsägespäne 10 Stdn. unter Zusatz von 5 mg MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O aufgeschlossen<sup>19)</sup>. Die Temperatur wurde durch einen Thermostaten auf 116° gehalten. Der Aufschluß wurde in einen Extraktor nach C. A. Dubbs<sup>20)</sup> übergeführt, nach dem Abdestillieren der Hauptmenge der Essigsäure i. Hochvak. wurde Aceton eindestilliert und i. Vak. mit Aceton extrahiert. Aus dem eingengten Extrakt wurde das Acetylignin mit Wasser gefällt und essigsäurefrei gewaschen.

Die Aktivität des Präparates betrug bei einer Belegung von

1.131 mg	5825 Imp/min,	für Selbstabsorption korrigiert	5790 Imp/min
1.53 mg	7395	„	5720 „
2.10 mg	9190	„	5500 „

Zur Entacetylierung wurde das Lignin in  $n/2$  NaOH gelöst und in einer Stickstoffatmosphäre stehengelassen. Nach 6 Stdn. wurde mit Salzsäure gefällt und mit dest. Wasser gewaschen. Nach erneutem Umfällen aus Natronlauge und Waschen fiel die Aktivität auf im Mittel 36 Imp/min mg ab.

Bei einem zweiten in gleicher Weise bei 80° ausgeführten Aufschluß betrug das Verhältnis der korrigierten spezif. Aktivitäten 2400 zu 15. Zur Aktivitätsmessung waren die Proben auf Meßplättchen von 1.75 cm<sup>2</sup> Oberfläche aufgebracht.

#### Darstellung von Ameisensäurelignin mit radioaktiver Ameisensäure

Ameisensäure-[<sup>14</sup>C] wurde durch Druckhydrierung von NaHCO<sub>3</sub> dargestellt<sup>21)</sup>. Aus 0.864 mMol Ba<sup>14</sup>CO<sub>3</sub>, entspr. 0.57 mC, wurde mit konz. Schwefelsäure Kohlendioxyd freigebracht und in das mit flüssigem Stickstoff gekühlte Hydriergefäß einkondensiert, in dem 1.75 ccm  $n/2$  NaOH vorgelegt waren. Das Gefäß war durch einen Hahn verschließbar und konnte so vom Hochvakuumssystem abgenommen werden. Nach dem Auftauen

<sup>16)</sup> G. Meulemans u. G. Mignone, C. A. 47, 7933e [1953].

<sup>17)</sup> „Isotopic Carbon“, John Wiley & Sons, Inc. [New York], S. 178 [1949].

<sup>18)</sup> Cam. Gillet, Bull. Soc. chim. Belgique 18, 170 [1897]; N. J. Bougault u. R. Gros, Bull. Soc. chim. France [4] 31, 1348 [1922]; 33, 465 [1923]; Cam. Gillet u. E. Monignie, ebenda 43, 1115 [1928].

<sup>19)</sup> Siehe l. c.<sup>5)</sup>.

<sup>20)</sup> Analytic. Chem. 21, 1273 [1949].

<sup>21)</sup> G. Bredig u. S. R. Carter, Ber. dtsh. chem. Ges. 77, 541 [1914]; D. Melville, J. Rachele u. E. Keller, J. biol. Chemistry 169, 419 [1947].

der Natronlauge wurde unter gelegentlichem Umschütteln bis zur vollständigen Absorption des Kohlendioxyds 2 Stdn. stehengelassen. Durch Druckmessung bei  $-80^{\circ}$  konnte festgestellt werden, daß die Absorption vollständig war. Das eigentliche Hydriergefäß wurde dann vom Hahn abgeschnitten. Die Hydrogencarbonatlösung wurde nach Zugabe von Palladiumschwarz nach J. Tauß und N. Putnok<sup>22)</sup> 3 Tage im 50-cm-Schüttelautoklaven bei  $70^{\circ}$  und 120 atü mit gereinigtem Wasserstoff hydriert. Nach dem Erkalten unter Wasserstoffdruck wurde rasch vom Katalysator abgesaugt und mit Wasser gewaschen, bis der Katalysator keine merkliche Aktivität mehr besaß. Die wäßrige Lösung wurde i. Hochvak. bei tiefer Temperatur zur Trockne gedampft und noch 10 Stdn. bei Zimmertemperatur i. Hochvak. getrocknet.

Auf das Gemisch von  $\text{HCO}_2\text{Na}$ ,  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  wurden 1.8 ccm  $\text{HCO}_2\text{H}$  und 0.072 ccm konz. Salzsäure destilliert. Nach erfolgter Umsetzung wurde das freigesetzte Kohlendioxyd von der salzsäurehaltigen Ameisensäure durch fraktionierte Kondensation getrennt. Es wurden 4.5 mg, gleich 10% des eingesetzten Kohlendioxyds, wiedergewonnen. Die Ameisensäure wurde dann in den Mikroextraktor destilliert, in dem sich 360 mg entgaste Holzbeleg befanden.

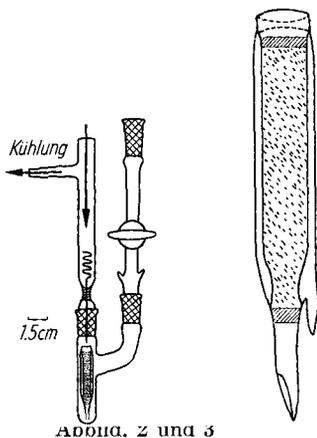


Abb. 2 und 3

Der Mikroextraktor besteht aus einem zweischenkligen Gefäß (Abb. 2), dessen einer Schenkel durch einen Hahn verschließbar ist und dessen anderer einen Kühldraht trägt. Das Extraktionsgut befindet sich in einer mit Asbestwolle lose verschlossenen Hülse (Abb. 3). Sie ist als evakuiertes Doppelmantelgefäß ausgeführt, um das Sieden des Lösungsmittels im Extraktionsgut zu vermeiden. Als Kühlfinger wurde ein mit  $\text{AgCl}$  hochvakuumdicht eingekitteter Silberdraht verwendet. Er hat vor einem Kühlfinger aus Glas den Vorteil, daß sich an ihm nicht mehr als ein Flüssigkeitstropfen hält, während auf der größeren Oberfläche eines Glaskühlfingers, die dazu noch schlechter benetzt wird, eine größere Zahl von Lösungsmittel-

tropfen sich dem Kreislauf entzieht. Da das Extraktionsmittel i. Hochvak. eindestilliert wird, enthält der Extraktor keine Fremdgase.

Wenige Grade Temperaturdifferenz zwischen Draht und Gefäßboden genügen, um den Kreislauf des Lösungsmittels zu bewirken: das Extraktionsmittel verdampft am Boden des Gefäßes, kondensiert sich am Kühldraht und tropft durch das Extraktionsgut zurück.

Im vorliegenden Versuch wurden 360 mg vorher mit Benzol von Harzen befreiter Fichtenholzsägespäne 17 Tage mit Ameisensäure bei Zimmertemperatur extrahiert. Der Silberdraht des Extraktors wurde mit Leitungswasser gekühlt. Dann wurde die überschüssige Ameisensäure abdestilliert (1.99 g). Der Rückstand im Extraktor wurde mit Petroläther digeriert, um eingedrungenes Schliffett zu entfernen. Dann wurde er in 1 ccm Aceton-Wasser 10:1 aufgenommen, von unlöslichen Hemicellulosen abzentrifugiert und die klare Lösung mit 10 ccm Wasser gefällt. Fast weißes Ameisensäurelignin fiel aus.

Nach dem Waschen mit Wasser und Petroläther wurden 20.2 mg Lignin, gleich 5.6% des eingesetzten Holzgewichtes, auf ein Meßplättchen übergeführt und i. Hochvak. getrocknet. Die Messung der  $\beta$ -Strahlung dieses Präparates ergab 14900 Imp/min bei unendlicher Schicht.

Zur Abspaltung der radioaktiven Formylgruppen wurde das Lignin dreimal in je 2 ccm inaktiver Ameisensäure gelöst und das Lösungsmittel im Stickstoffstrom wieder abgedampft. Dabei sank die Aktivität bei unendlich dicker Belegung auf 73 Imp/min ab.

<sup>22)</sup> Ber. dtsh. chem. Ges. 53, 1576 [1919].

Die Meßplättchen waren aus Glas und besaßen zur Aufnahme der Substanz eine kreisrunde Vertiefung von 0.5 mm Tiefe und einer Oberfläche von 0.786 cm<sup>2</sup>.

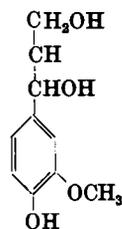
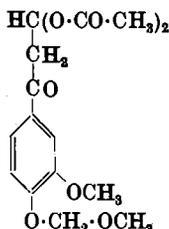
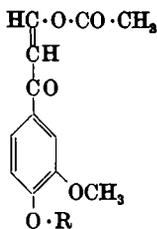
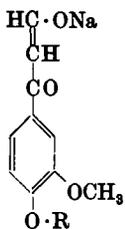
Acetovanillon-methoxymethyläther wird durch Umsetzung stöchiometrischer Mengen von Acetovanillon-natrium und Chlormethyläther gewonnen. Ausb. 50 bis 60%. Nadeln vom Schmp. 53–54° aus Petroläther oder Benzol-Petroläther.

C<sub>11</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> (210.2) Ber. C 62.84 H 6.71 OCH<sub>3</sub> 29.71 Gef. C 62.96 H 6.77 OCH<sub>3</sub> 29.71

Ausstöchiometrischen Mengen Acetovanillon-methoxymethyläther, Ameisensäureäthylester und Natriumalkoholat in absol. Äther entsteht das Enolat (I). Der Versuch, dieses Enolat mit einem Gemisch aus 10 cem Eisessig, 10 cem Acetanhydrid und 1 Tropfen konz. Schwefelsäure in das gewünschte 1-Acetoxy-3-[3-methoxy-4-acetoxy-phenyl]-propen-(1)-on-(3) (II) zu überführen, gelang nicht. Es entstanden uneinheitliche Produkte. Darunter befand sich bei nur kurzer Einwirkung des Acetolysegemisches eine Substanz vom Schmp. 85 bis 86.5°, deren Analyse dem 1.1-Diacetoxy-3-[3-methoxy-4-methoxymethoxy-phenyl]-propan-on-(3) entspricht (III).

C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>8</sub> (340.3) Ber. C 56.46 H 5.92 OCH<sub>3</sub> 18.25 Gef. C 56.49 H 5.86 OCH<sub>3</sub> 18.42

An Hand chemischer Reaktionen wurde die Konstitution nicht überprüft. An Stelle des Acetovanillon-methoxymethyläthers wurde für weitere Versuche der Benzyläther des Acetovanillons verwendet.



I: R = CH<sub>2</sub>·OCH<sub>3</sub>    II: R = CO·CH<sub>3</sub>  
IV: R = CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>    V: R = CH<sub>2</sub>·C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

III

VI

Acetovanillon-benzyläther wird durch Erhitzen von Acetovanillon, Kaliumcarbonat und Benzylchlorid in Aceton dargestellt. Ausb. 45%. Nadeln vom Schmp. 86.5° (Methanol).

C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>3</sub> (256.3) Ber. OCH<sub>3</sub> 12.10 Gef. OCH<sub>3</sub> 12.14

Das nicht umgesetzte Acetovanillon kann fast vollständig wiedergewonnen werden.

1-Acetoxy-3-[3-methoxy-4-benzyloxy-phenyl]-propen-(1)-on-(3) (V): 0.1 Mol frischbereitetes trockenes Natriumalkoholat wird in einem mit Rührwerk versehenen Literkolben in etwa 200 cem absol. Äther suspendiert. Durch einen seitlichen Ansatz läßt man eine Lösung von 0.1 Mol Acetovanillon-benzyläther und 0.1 Mol Ameisensäure-äthylester in wenig Tetrahydrofuran (THF) zutropfen. Die Kondensation beginnt nach wenigen Minuten unter leichter Erwärmung. Nach 1 Stde. wird das in THF lösliche Natriumsalz (IV) durch Zugabe von weiteren 500 cem absol. Äthers ausgefällt. Bei kleineren Ansätzen kann auf die THF-Zugabe von vornherein verzichtet werden.

Das gelbliche Natriumsalz wird rasch abgesaugt, zweckmäßigerweise in einer trockenen Stickstoffatmosphäre und mit absol. Äther gewaschen. Zur weiteren Umsetzung wird es in den Reaktionskolben zurückgebracht und unter Wasserkühlung 30 cem Acetanhydrid zugegeben (für kleine Ansätze eignet sich auch Acetylchlorid). Man rührt einige Minuten kräftig, bis alle Klumpen verschwunden sind und sich Nadeln von Natriumacetat auszuschcheiden beginnen. Der in der Lösung noch vorhandene Äther wird durch Evakuieren mit der Wasserstrahlpumpe entfernt. Dann läßt man unter ständigem Rühren und wenn erforderlich unter Kühlung einige Tropfen Pyridin und 300 cem Wasser zutropfen. Dabei scheidet sich das Acetat in weißen Nadeln ab. Ausb. 86% d.Th., bezogen auf Acetovanillon-benzyläther. Prismen vom Schmp. 148 bis 149° aus Benzol.

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub> (326.3) Ber. C 69.92 H 5.56 OCH<sub>3</sub> 9.50 Gef. C 69.91 H 5.67 OCH<sub>3</sub> 9.57

3-[4-Oxy-3-methoxy-phenyl]-propan-diol-(1.3) (3-Guajacyl-propan-diol-(1.3)) (VI) ist voraussichtlich durch Reduktion und Abspaltung der schützenden Gruppen aus der vorstehend beschriebenen Verbindung IV zugänglich. Diese Reaktion wurde aber nicht ausgeführt, da VI sich aus dem von K. A. West und H. Hibbert<sup>23)</sup> beschriebenen 1-Acetoxy-3-[4-oxy-3-methoxy-phenyl]-propan-on-(3) durch Reduktion mit LiAlH<sub>4</sub> herstellen ließ.

Das Ausgangsmaterial wird abweichend von den Angaben Hibberts aus viel Cyclohexan umkristallisiert.

36 mMol des Ketons werden mit 55 mMol LiAlH<sub>4</sub> (ber. 45 mMol) in absol. Äther und unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluß 5 Stdn. bei Zimmertemp. reduziert. Dann wird mit Wasser zersetzt. Die Ätherphase wird verworfen, die verbleibende wäßr. Lösung mit festem Kohlendioxyd angesäuert und mit *n*-Butanol ausgeschüttelt. Den Verlauf der Extraktion kann man gut verfolgen, da der gesuchte Alkohol die gleiche rotviolette Farb-reaktion mit konz. Schwefelsäure gibt wie Coniferylalkohol. Bricht man die Extraktion rechtzeitig ab, so verbleibt der größte Teil der bei der Reduktion entstandenen Nebenprodukte im Wasser. Nach dem Abdestillieren des Butanols i. Vak. hinterbleibt der Alkohol als fast farblose zähe Masse. Er löst sich leicht in Wasser, Aceton, Methanol, Dioxan, Pyridin, Butanol und sublimiert bei Drucken unter 10<sup>-2</sup> Torr erst bei Badtemperaturen über 150° unter teilweiser Zersetzung.

Die R<sub>F</sub>-Werte in Wasser (mit Benzol gesättigt) auf Whatman No. 1 betragen bei aufsteigender Chromatographie für

Verbindung VI .....	0.79
1.4-Bis-[3-methoxy-4-oxy-phenyl]-2.3-bis-oxymethyl-butandiol-(1.4) <sup>24)</sup>	0.73

Anm. b. d. Korr.: Inzwischen ist der dritte dimere Baustein des Lignins (Guajacyl-glycerin-β-coniferyläther) isoliert und synthetisiert worden. Der R<sub>F</sub>-Wert ist unter den obigen Bedingungen 0.63.

## 285. Karl Freudenberg und Martin Reichert: Anwendung radioaktiver Isotope bei der Erforschung des Lignins, V<sup>1)</sup>

[Aus dem Chemischen Institut der Universität und dem Forschungsinstitut für die Chemie des Holzes und der Polysaccharide Heidelberg]

(Eingegangen am 4. Oktober 1954)

Die Synthese des Vanillins-[carbonyl-<sup>14</sup>C] und seines D- und L-Glucosides sowie des Syringaaldehyds-[carbonyl-<sup>14</sup>C] wird mitgeteilt. Wird ein Gemisch von Coniferylalkohol und radioaktivem Vanillin der Wirkung von Pilzredoxase ausgesetzt, so entsteht ein inaktives Dehydrierungspolymerisat, während das Vanillin unverändert bleibt. Im Anschluß an die IV. Mitteil. werden Einzelheiten über die von uns angewendete Meßtechnik mitgeteilt.

In der III. Abhandlung<sup>2)</sup> dieser Reihe sind Versuche mit radioaktiv markiertem D- und L-Glucovanillin beschrieben worden. Es hat sich gezeigt, daß im Gegensatz zum L-Glucosid das D-Glucosid von der Fichte in das in der Verholzung begriffene Gewebe eingebaut wird. Hier sollen die Bereitung

<sup>23)</sup> J. Amer. chem. Soc. **65**, 1171 [1943].

<sup>24)</sup> K. Freudenberg u. H. Dietrich, Chem. Ber. **86**, 1157 [1953].

<sup>1)</sup> IV. Mitteil.: K. Freudenberg u. W. Fuchs, Chem. Ber. **87**, 1824 [1954], vorstehend.

<sup>2)</sup> a) K. Freudenberg, H. Reznik, W. Fuchs u. M. Reichert, Naturwissenschaften **41**, Nov. [1954]; b) dieselben, Angew. Chem. **66**, 109 [1954]; c) K. Freudenberg, M. Reichert u. L. Knof, Naturwissenschaften **41**, 231 [1954].