

Über die Synthese von mit ^{14}C markierten Vorstufen und Abbauprodukten des Lignins*

Von

K. Kratzl, G. Billek, A. Graf und W. Schweers

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien

Mit 3 Abbildungen

(Eingelangt am 30. Dezember 1955)

Durch Äthanolyse nach *Hibbert* wurden sowohl von der Endstufe (DHP) als auch von einem Zwischenprodukt III (β -Coniferyläther des Guajacylglycerins) der Dehydrierungspolymerisation des Coniferylalkohols nach *Freudenberg* definierte Guajacylpropanketone (*Hibbertsches* Bausteine) erhalten. Auch ein DHP aus hochaktivem Coniferylalkohol ergab im Radioautogramm eindeutig die aktiven *Hibbertschen* Bausteine.

Um eventuell Anhaltspunkte für den Aufbau der Seitenkette des Coniferylalkohols in situ zu erhalten, wurden verschiedene Derivate des Guajakols, die in 4-Stellung Substituenten aller Oxydationsstufen tragen, in der Seitenkette markiert und in Form ihrer Glukoside oder als freie Phenole implantiert. Fast alle Phenole zeigten in den Cambiumzonen scharfe unauswaschbare Lokalisationsspuren.

Außerdem wurden die vermuteten Endstufen nach biologischer Umwandlung und Äthanolyse, die *Hibbertschen* Bausteine, in der Seitenkette markiert, um während der biologischen Vorgänge eventuell stattgefundenen Umlagerungen durch den Nachweis der lokalisierten Aktivität in den 3 C-Atomen der Seitenkette zu beweisen.

In unseren letzten Arbeiten^{1, 2, 3} haben wir die Synthesen des an verschiedenen Stellen der Seitenkette markierten Coniferins und

* Herrn Prof. Dr. A. Wacek in Dankbarkeit zu seinem 60. Geburtstag gewidmet.

¹ K. Kratzl und G. Billek, Mh. Chem. 84, 406 (1953).

² K. Kratzl und G. Billek, Holzforsch. 7, 66 (1953).

³ K. Kratzl und G. Billek, Mh. Chem. 85, 845 (1954).

Syringins beschrieben. Diese Glukoside sind als Inhaltsstoffe des Cambialsaftes weit verbreitet und können nach den Arbeiten *Freudenbergs*⁴ unmittelbare Vorstufen des Lignins darstellen. Das bisher in der Natur nicht aufgefundene p-Cumaralkoholglukosid^{2,3} erscheint als Progenitor namentlich des Monocotyledonenlignins zusätzlich zu den beiden bekannten Glukosiden durchaus wahrscheinlich⁵.

Diese Glukoside wurden in die Cambiumzonen von Fichtenästen implantiert und dort von der Pflanze lokal gebunden. Um aber einen Übergang in ligninartige Kondensationsprodukte nachweisen zu können, muß man vorerst beweisen, daß diese scharfe Lokalisation nicht durch hartnäckige Adsorptionsvorgänge vorgetäuscht wird. Im weiteren sollen chemische Abbauprodukte die Ligninähnlichkeit des *in vivo* gebildeten Kondensats zeigen.

Zu den chemischen Abbaumethoden zählt auch die Äthanolyse nach *Hibbert*, die den Übergang einer Zimtalkoholseitenkette in höhere Oxydationsstufen (Phenylglycerine) beweist. Der Nachweis dieses Überganges ist mit inaktivem Material *in vitro* bereits gelungen. Sowohl aus der Endstufe (Dehydrierungspolymerisat⁶) wie auch von einem Zwischenprodukt⁷ (III der Reihe *Freudenbergs*) wurden eindeutig die *Hibbertschen* Bausteine erhalten. Um diesen Übergang auch *in vivo* zu beweisen, wurden die aktiven Vorstufen implantiert. Die Aufarbeitung des Äthanolysats mittels Radioautographie des Papierchromatogramms gestattete wohl den Nachweis von aktiven niedermolekularen Abbauprodukten, deren Zuordnung zu den einzelnen *Hibbertschen* Bausteinen jedoch infolge geringer Aktivität und außerdem wegen des Auftretens eines starken Untergrundschleiers, sowie durch Überlagerungen am Chromatogramm sehr unsicher war. Bei der Äthanolyse eines Dehydrierungspolymerisats aus wenig aktivem Coniferylalkohol-(3-¹⁴C) ($1,6 \cdot 10^6$ Zerfälle/mMol · min) waren ähnliche Erscheinungen festzustellen. Wir haben deshalb zuerst Coniferylalkohol-(3-¹⁴C) besonders hoher Aktivität ($5 \cdot 10^8$ Zerfälle/mMol · min) hergestellt und enzymatisch nach *Freudenberg*⁸ dehydriert. Durch nachfolgende Äthanolyse konnten wir die *Hibbertschen* Körper in eindeutiger Form am Radioautogramm (Abb. 1) nachweisen.

Über die Biogenese des Coniferins selbst ist bisher nichts bekannt. Es wurde daher eine Reihe von Verbindungen in markierter Form synthe-

⁴ K. *Freudenberg*, H. *Reznik*, W. *Fuchs* und M. *Reichert*, Naturwiss. 42, 29 (1955).

⁵ K. *Freudenberg* und G. *Gehrke*, Chem. Ber. 84, 443 (1951). — K. *Kratzl* und W. *Schweers*, Chem. Ber., im Druck.

⁶ K. *Kratzl* und W. *Schweers*, Mh. Chem. 85, 1166 (1954).

⁷ W. *Schweers*, Dissertation Universität Wien (1955).

⁸ K. *Freudenberg* und H. *Schlüter*, Chem. Ber. 88, 617 (1955).

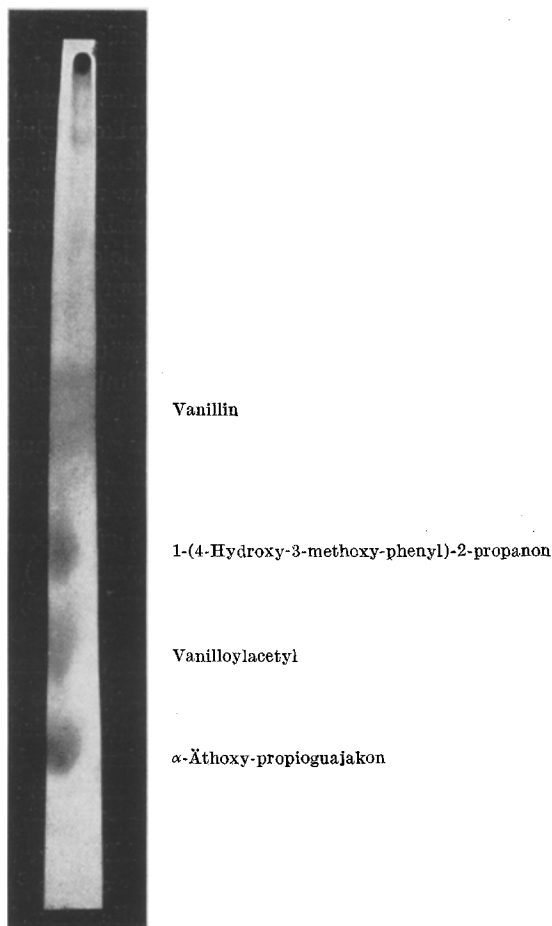
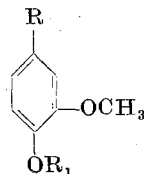
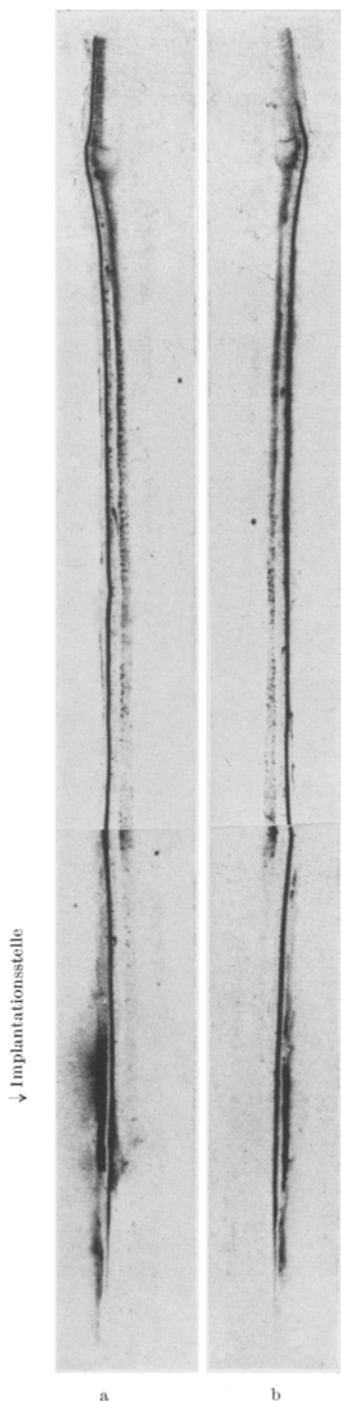


Abb. 1. Radioautographie eines Papierchromatogramms des Äthanolysates eines DHP aus markiertem Coniferylalkohol

tisiert, die nach Einbau in pflanzliches Gewebe Rückschlüsse, insbesondere auf den Aufbau der Seitenkette, möglich erscheinen lassen. Es sind dies Derivate des Guajakols, die in Stellung 4 Substituenten aller Oxydationsstufen tragen und sowohl als freie Phenole (I bis IV, $R_1 = H$) als auch in Form ihrer Glukoside (V bis VIII, $R_1 = C_6H_{11}O_5$) Anwendung fanden:

- I: Kreosol-(methyl- ^{14}C) ($R = *CH_3$)
- II: Vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) ($R = *CH_2OH$)
- III: Vanillin-(carbonyl- ^{14}C) ($R = *CHO$)
- IV: Vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C) ($R = *COOH$)





Von dieser Reihe wurde bisher lediglich das Glukovanillin von *Freudenberg*⁹ für pflanzenphysiologische Versuche herangezogen und hierbei festgestellt, daß dieses in das Lignin eingebaut wird*. Es ist bemerkenswert, daß zahlreiche der in folgender Arbeit markierten Substanzen, die konstitutionsmäßig recht weit von den Ligninprogenitoren entfernt

⁹ K. Freudenberg, H. Reznik, W. Fuchs und M. Reichert, *Angew. Chem.* **66**, 109 (1954).

* Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen wurde eine Arbeit von S. A. Brown und A. C. Neish, *Canad. J. Biochem. Physiol.* **33**, 948

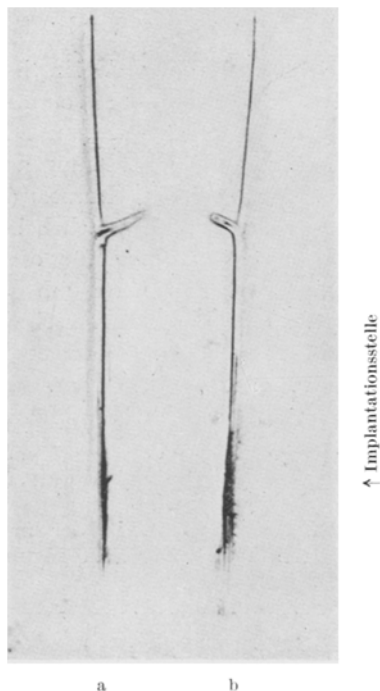


Abb. 2 u. 3. Radioautographien von Implantaten je 2 mg markierten Kreosols (Abb. 2) und Vanillylalkohols (Abb. 3) im 2jähr. Seitenzweige der Fichte. Radialer Längsschnitt 7 Tage auf Kodak X-ray no-screen. Linke Zweighälfte (a) wurde ohne weitere Behandlung, rechte Hälfte (b) nach je 6stünd. Extraktion mit Benzol-Aceton, Äthanol und Wasser auf den Film gelegt

sind, ebenfalls scharfe und nicht wieder auswaschbare Spuren hinterließen (Abb. 2 und 3).

Diese Substanzen wurden auch auf vorher verschiedenartig verändertes Holzgewebe einwirken gelassen, um über die Adsorptionsverhältnisse Auskunft zu erhalten. Über diese Versuche wird demnächst an anderer Stelle berichtet werden. Hier sei nur erwähnt, daß ein beträchtlicher Teil dieser Verbindungen lediglich an lebendem Gewebe besonders stark festgehalten wird.

Bekäme man aus den Äthanolysaten dieser Verbindungsgruppe definierte *Hibbertsche* Körper, so wäre ein Aufbau der C_3 -Seitenkette bewiesen; eine Möglichkeit, die *Freudenberg*⁴ bereits andeutete. Zum Nachweis dieses Vorganges war die Synthese der *Hibbertschen* Bausteine in markierter Form notwendig. Denn in jenem komplexen, biologisch äußerst aktiven System wachsender und verholzender Cambiumzellen sind etwaige Umlagerungen keinesfalls auszuschließen. Um diese zu erkennen, ist die Lokalisierung des ^{14}C an den einzelnen Stellen der Endprodukte notwendig. Methoden zum Nachweis der Aktivität für jedes einzelne C-Atom der Seitenkette sind an Hand eindeutig markierter *Hibbertscher* Bausteine ausgearbeitet worden. Diese werden demnächst veröffentlicht¹⁰.

Verlauf der Synthesen

Die Synthese des Coniferylalkohol-(3- ^{14}C), ausgehend vom Vanillin-(carbonyl- ^{14}C)², folgt dem von uns bereits angegebenen Weg¹. Der Einsatz einer sehr geringen Substanzmenge (100 mg Vanillin) erforderte jedoch gewisse apparative Änderungen (siehe exper. Teil).

Die Synthese des Kreosols (I) durch Reduktion des Vanillins nach *Clemmensen*¹¹ ließ sich auch bei geringen Ansatzmengen verwenden und wurde ohne Änderung für die markierte Verbindung herangezogen. Hingegen war die bisher unbekannte Glukosidierung des Kreosols mit gewissen Schwierigkeiten verbunden. Die Umsetzung mit Acetobromglukose nach bekannten allgemeinen Methoden¹² lieferte in jedem Fall nur sehr geringe Ausbeuten. Erst die Kondensation mit Pentaacetylglukose mittels Bortrifluorid¹³ verlief befriedigend.

Vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) (II) wurde aus Vanillin-(carbonyl- ^{14}C) durch katalytische Hydrierung mit *Raney-Nickel* hergestellt. Da die

(1955), veröffentlicht, in der markiertes Vanillin und Vanillinsäure verschiedenen Pflanzen zur Verfügung gestellt und von diesen aufgenommen wurde.

¹⁰ K. Kratzl und G. Billek, unveröffentlicht.

¹¹ R. Schwarz und H. Hering, Org. Synth. **33**, 17 (1953).

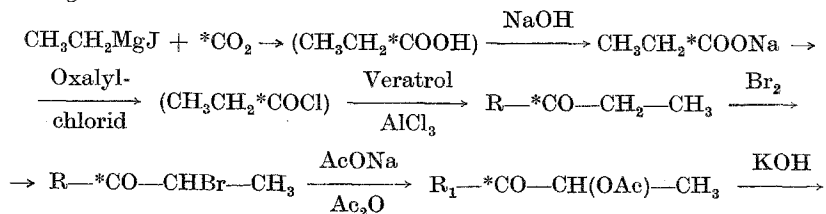
¹² K. Freudenberg und G. Gehrke, Chem. Ber. **84**, 443 (1951). — F. Mauthner, J. prakt. Chem. **124**, 318 (1930). — L. Reichel und R. Schickle, Ann. Chem. **553**, 98 (1942).

direkte Glukosidierung des Vanillylalkohols in zahlreichen Versuchen nicht zum Ziele führte, wurde das vom Glukovanillin ausgehende Verfahren von *Tiemann*¹⁴ herangezogen. Tetraacetyl-glukovanillin-(carbonyl- ^{14}C)² wurde nach *Zemplen*¹⁵ verseift und mit Natriumamalgam reduziert. Die Aufarbeitung mußte wegen des Einsatzes geringer Substanzmengen gegenüber *Tiemann* modifiziert werden.

Die freie Vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C) erhielten wir aus der bereits von uns hergestellten Benzylvanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C)². Die Glukovanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C) war vom Tetraacetyl-glukovanillin-(carbonyl- ^{14}C)² durch Oxydation¹⁶ und Abspaltung der Acetylreste zugänglich.

Die Synthese der markierten *Hibbertschen* Bausteine führte über das 2-Hydroxy-propioquajakon-(3- ^{14}C) (IX) zu dessen Äthoxyderivat (X) und zu dem Vanilloylacetyl-(3- ^{14}C) (XI). Dazu wurde Propionsäure-(carboxyl- ^{14}C)¹⁷ hergestellt und als Natriumsalz isoliert. Natriumpropionat-(carboxyl- ^{14}C) konnte in einer Stufe mittels Oxalylchlorid zum Propionylchlorid und weiter mit Veratrol und Aluminiumchlorid zum Propioquajakon-(3- ^{14}C) umgesetzt werden. Diese Variante einer Synthese nach *Friedel-Crafts* besitzt für die Herstellung carbonyl-markierter Ketone allgemeine Bedeutung¹⁸. Aus dem Propioquajakon-(3- ^{14}C) wurde schließlich über das 2-Brom-propioquajakon-(3- ^{14}C)¹⁹ und 2-Acetoxy-propioquajakon-(3- ^{14}C)-acetat das 2-Hydroxy-propioquajakon-(3- ^{14}C) (IX)²⁰ erhalten.

Die Synthesen des 2-Äthoxy-propioquajakon-(3- ^{14}C) (X)²¹ und des Vanilloylacetyl-(3- ^{14}C) (XI)²² konnten analog bekannten Methoden durchgeführt werden.



¹³ *H. Bretschneider* und *K. Beran*, Mh. Chem. **80**, 262 (1949).

¹⁴ *F. Tiemann*, Ber. dtsch. chem. Ges. **18**, 1597 (1885).

¹⁵ *G. Zemplen*, Ber. dtsch. chem. Ges. **62**, 1613 (1929).

¹⁶ *K. Kratzl* und *M. Nelböck-Hochstetter*, Mh. Chem. **83**, 792 (1952).

¹⁷ *M. Calvin*, Isotopic Carbon, S. 176. New York: J. Wiley and Sons Inc. 1949.

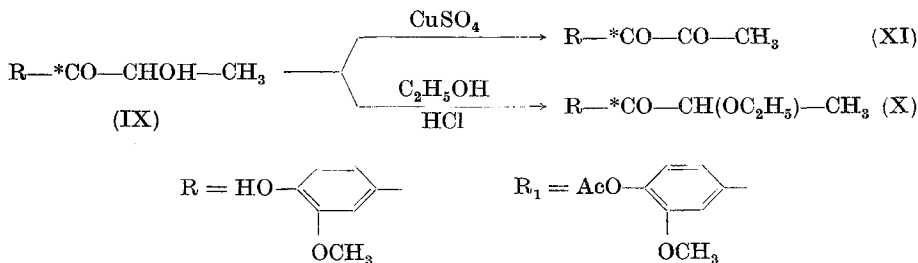
¹⁸ *G. Billek*, unveröffentlicht.

¹⁹ *K. Kratzl*, Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 895 (1943).

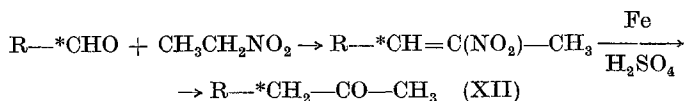
²⁰ *A. B. Cramer* und *H. Hibbert*, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 2204 (1939).

²¹ *K. A. West*, *W. L. Hawkins* und *H. Hibbert*, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 3038 (1941).

²² *L. Brickman*, *W. L. Hawkins* und *H. Hibbert*, J. Amer. Chem. Soc. **62**, 2149 (1940).



Guajacylaceton-(3-¹⁴C) (XII) wurde aus Vanillin-(carbonyl-¹⁴C) über dessen Kondensationsprodukt mit Nitroäthan mit nur unwesentlichen Änderungen gegenüber der Synthese von *Hibbert*²³ hergestellt.



Experimenteller Teil

Coniferylalkohol-(3-¹⁴C)

Ferulasäure-(3-¹⁴C). 100 mg Vanillin-(carbonyl-¹⁴C) einer Aktivität von $5 \cdot 10^8$ Zerfällen/mMol · min werden in 0,33 ccm Pyridin und 0,02 ccm Anilin gelöst, mit 160 mg Malonsäure versetzt und 7 Stdn. auf 65° erwärmt. Nach dem Erkalten wird der Kolbeninhalt mit 0,5 ccm Salzsäure in 2,3 ccm Wasser verdünnt und gut gekühlt. Ausbeute 104 mg (= 83%) vom Schmp. 170°.

Acetylferulasäure-(3-¹⁴C). 104 mg vorstehender Säure werden mit 0,35 ccm Pyridin und 0,25 ccm Essigsäureanhydrid 1 Std. auf 100° erwärmt, im Vak. zur Trockene gedampft, der kristalline Rückstand in 1 ccm Essigsäure gelöst und in ein Zentrifugenröhrchen filtriert. Nach dem Versetzen mit 2 ccm Wasser wird zentrifugiert. Die überstehende Lösung entfernt man durch Absaugen mit einer Injektionsspritze. Schließlich wird das Röhrchen samt Inhalt in einem Exsikkator getrocknet. Ausbeute 76 mg (= 58%).

Acetylferulasäurechlorid-(3-¹⁴C). Das Zentrifugenröhrchen mit der trockenen Säure wird mit 0,5 ccm Thionylchlorid beschickt und mit einem „cold finger“ versehen. Eine Wattedichtung bietet genügend Schutz vor Luftfeuchtigkeit. Nach 1 Stund. Erhitzen in einem Bad von 90° wird der Röhrcheninhalt durch Überleiten von trockenem Stickstoff eingedampft und im Exsikkator völlig getrocknet. Die Ausbeute an hellgelbem, kristallinem Säurechlorid ist praktisch quantitativ.

Coniferylalkohol-(3-¹⁴C). Das Säurechlorid vorstehender Stufe wird im Zentrifugenröhrchen durch gelindes Erwärmen in 1 ccm absol. Benzol gelöst und mit 3 ccm absol. Äther versetzt. Als Rührvorrichtung dient ein breitgequetschter Glasstab und als Führung ein T-Stück, das mittels eines Gummistöpsels auf das Röhrchen aufgesetzt ist. Durch das horizontale Rohr des T-Stückes wird Stickstoff eingeleitet. Der Röhrcheninhalt wird mittels flüssiger Luft eingefroren, wobei zum Schutz vor Feuchtigkeit die Rührvorrichtung vorerst lose aufgesetzt ist. Danach fügt man 40 mg LiAlH₄ hinzu, überschichtet dieses mit 3 ccm absol. Äther und klemmt dann den

²³ M. Kulka und H. Hibbert, J. Amer. Chem. Soc. **65**, 1180 (1943).

Stöpsel fest. Die flüssige Luft wird durch ein Eis-Kochsalzbad ersetzt. Sobald der Röhrcheninhalt hinreichend flüssig geworden ist, wird durch langsames Heben und Senken des Glasstabes $\frac{1}{2}$ Std. gerührt. Schließlich wird auf Zimmertemp. erwärmen gelassen und dann zentrifugiert. Die überstehende Lösung wird mittels Injektionsspritze abgesaugt, der kristalline Niederschlag 2mal mit je 5 ccm absol. Äther aufgerührt, jeweils zentrifugiert und die Lösung entfernt. Man fügt nun neuerlich 5 ccm Äther und dann, zur Zersetzung des Komplexes, 3 ccm einer 5%igen Ammoniumkarbonatlösung zu und rührt kräftig. Nach dem Trennen der beiden Schichten wird die obere vorsichtig abgesaugt und in einen *Erlenmeyer*-Kolben überführt. Die Extraktion der wäßr. Phase wird noch 3mal mit je 10 ccm Äther wiederholt, die vereinigten Ätherlösungen mit Natriumsulfat getrocknet, filtriert, in einem Bad von 30° durch Überleiten von Stickstoff eingeeengt, in ein kleineres Gefäß überführt und schließlich in einem Exsikkator völlig eingedampft. Das zurückbleibende hellgelbe Öl (44 mg = 76%) wird in absol. Chloroform gelöst und mit Petroläther versetzt. Ausbeute 32 mg (= 55%) einer Aktivität von $5 \cdot 10^8$ Zerfällen/mMol $\cdot$ min, das ist $0,225 \text{ mC/mMol}$ bzw. $2,77 \cdot 10^6$ Zerfälle/mg $\cdot$ min.

Kreosol-(methyl- ^{14}C) (I)

125 mg Vanillin-(carbonyl- ^{14}C)² werden in 2 ccm Äthanol und 2,5 ccm konz. Salzsäure mit 2,6 g amalgamiertem Zink nach *Clemmensen*¹¹ reduziert. Nach Destillation im Kugelrohr erhält man 60 mg (= 55%).

Gluko-kreosol-(methyl- ^{14}C) (V)

Tetraacetyl-gluko-kreosol. 920 mg Kreosol, 3,9 g Pentaacetylglukose werden in 20 ccm absol. Benzol gelöst und mit 6 ccm einer Lösung von Bortrifluorid¹³ in Anisol (480 mg BF_3) 2 Stdn. geschüttelt. Die Lösung wird danach mit 60 ccm 0,5 n NaOH, dann mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel dampft man unter vermindertem Druck ab und kristallisiert den Rückstand aus 10 ccm Äthanol um. Ausbeute 1,31 g (= 42%) vom Schmp. 145 bis 147° .

$\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_{11}$. Ber. C 56,40, H 6,02. Gef. C 56,43, 56,32, H 6,15, 6,18.

Gluko-kreosol. 1,0 g Tetraacetyl-gluko-kreosol wird in 8 ccm absol. Methanol gelöst und mit 2 ccm 0,5 n Lösung von Natriummethylat in Methanol nach *Zemplen*¹⁵ verseift. Aus Wasser umkristallisiert, werden 510 mg (= 80%) vom Schmp. 169 bis 170° erhalten, wobei das Glukosid nach Trocknen bei Zimmertemp. über Calciumchlorid mit 1 Mol Kristallwasser anfällt.

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Ber. C 52,82, H 6,97. Gef. C 52,83, 52,90, H 6,97, 7,08.

Trocknen im Hochvak. bei 70° entfernt das Kristallwasser nur zum Teil.

$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{O}_7 \cdot \frac{1}{3} \text{H}_2\text{O}$. Ber. C 54,90, H 6,80. Gef. C 54,84, 54,77, H 6,89, 6,96.

Gluko-kreosol-(methyl- ^{14}C). Für die Darstellung dieser Verbindung wurde obiger Syntheseweg mit einer Ansatzmenge von 80 mg Kreosol-(methyl- ^{14}C) genau nachgearbeitet und hierbei 45 mg Gluko-kreosol-(methyl- ^{14}C) einer Aktivität von $31,6 \cdot 10^6$ Zerfällen/mMol $\cdot$ min erhalten.

Vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) (II)

47,8 mg Vanillin-(carbonyl- ^{14}C) werden in 10 ccm Äthanol gelöst und mit *Raney*-Nickel bei Normaldruck und Zimmertemp. hydriert. Danach

wird vom Katalysator filtriert und die Lösung unter vermindertem Druck eingeeengt. Der Vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) scheidet sich in großen Kristallen in einer Ausbeute von 25,3 mg (= 53%) aus. Aktivität: $31,6 \cdot 10^6$ Zerfälle/mMol $\cdot$ min.

In einem inaktiven Ansatz, ausgehend von 2,0 g Vanillin, werden 1,54 g (= 77%) Vanillylalkohol erhalten.

Gluko-vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) (VI)

135 mg Gluko-vanillin-(carbonyl- ^{14}C) werden in 10 ccm Wasser gelöst und mit 3 g 3%igem Natriumamalgam reduziert¹⁴. Nach Beendigung der Wasserstoffentwicklung wird das Quecksilber abgetrennt und die alkalische Lösung über einen Kationenaustauscher (Lewatit S 100) filtriert. Nach Eindampfen der Lösung unter vermindertem Druck werden 80 mg (= 60%) amorpher Gluko-vanillylalkohol-(carbinol- ^{14}C) erhalten. Ein Umkristallisieren aus absol. Äthanol ist verlustreich.

Vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C) (IV)

100 mg Benzyivanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C)² werden in 1 ccm Äthanol gelöst und mit 2 ccm konz. Salzsäure versetzt. Diese Mischung wird $1\frac{1}{2}$ Stdn. in einem Bad von 120° unter Rückfluß erhitzt. Nach Einengen im CO_2 -Strom wird die ausgefallene Säure abgesaugt und über Kaliumhydroxyd getrocknet. Aus 1,8 ccm Wasser 43 mg (= 66%) vom Schmp. 202 bis 205° .

Gluko-vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C) (VIII)

Tetraacetyl-gluko-vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C). 400 mg Tetraacetyl-gluko-vanillin-(carbonyl- ^{14}C)² werden in 7,5 ccm Aceton gelöst und unter Rühren mit 0,3 g Kaliumpermanganat und 0,04 g Kaliumhydroxyd in 10 ccm Wasser oxydiert¹⁶. Nach Beendigung der Reaktion wird vom Mangandioxyd filtriert und das Aceton unter vermindertem Druck entfernt. Die wäßr. Lösung wird filtriert, gekühlt und mit Salzsäure schwach angesäuert. Die Säure fällt erst klebrig aus und wird nach guter Kühlung kristallin. Ausbeute 160 mg (= 40%) vom Schmp. 173 bis 178° .

Gluko-vanillinsäure-(carboxyl- ^{14}C). 160 mg vorstehender Säure und 1 g $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$ werden in 20 ccm Wasser suspendiert und 12 Stdn. gerührt. Die filtrierte Lösung wird durch einen Kationenaustauscher (Lewatit S 100) von Bariumionen befreit und im Vak. eingeengt. Ausbeute 55 mg (= 50%) vom Schmp. 198 bis 204° .

2-Hydroxy-propioquajakon-(3- ^{14}C) (IX)

Natrium-propionat-(carboxyl- ^{14}C). Aus 1,97 g Bariumcarbonat- ^{14}C einer Aktivität von 150 μC werden nach einer allgemeinen Methode¹⁷ 710 mg (= 74%) Natrium-propionat-(carboxyl- ^{14}C) erhalten.

Propioquajakon-(3- ^{14}C). Eine Schliffeprouvette wird mit 710 mg Natrium-propionat-(carboxyl- ^{14}C) und 3 ccm Schwefelkohlenstoff beschickt, mit einem Dimroth-Kühler versehen und auf -10° gekühlt. 0,9 ccm Oxalylehlorid werden mittels eines Trichters (kapillar verjüngte Eprouvette), dessen Rohr durch den Kühler bis in die Schliffeprouvette reicht, rasch einfließen gelassen. Man entfernt das Kühlbad, erwärmt langsam auf 70° und hält das Gemisch weitere 15 Min. bei dieser Temp. Danach ist die Gasentwicklung fast völlig abgeklungen. Nach Kühlen werden 4,2 g Aluminiumchlorid rasch eingebracht;

anschließend wird zur besseren Durchmischung kurz zum Sieden erhitzt und wieder gekühlt. Bei Zimmertemp. fügt man innerhalb 1 Min. durch den Trichter eine Lösung von 1,4 ccm Veratrol in 2,5 ccm Schwefelkohlenstoff zu. Diese rasche Zugabe bewirkt ein ausreichendes Mischen der Reaktionspartner, so daß ein mechanisches Rühren bei einem kleinen Ansatz nicht notwendig ist. Das Gemisch wird bei einer Badtemp. von 70° 1 Std. unter Rückfluß erhitzt und danach bei Zimmertemp. über Nacht stehen gelassen.

Zur Zersetzung werden 10 ccm Wasser und 3 ccm konz. Salzsäure unter Kühlung eintropfen gelassen. Es wird mit insgesamt 50 ccm Äther ausgeschüttelt, der Ätherlösung werden die Phenole mit 40 ccm 1 n NaOH entzogen. Nach Ansäuern dieser Lösung wird erneut ausgeäthert, getrocknet und nach Einengen in einem Kugelrohr mit Stickstoff zur Trockene geblasen.

Zum Entfernen des gebildeten Guajakols wird das gesamte Kugelrohr bei einem Druck von 10 Torr 15 Min. auf 100° erhitzt. Danach wird das Propioguajakon-(3- ^{14}C) bei 0,001 Torr und 110 bis 120° Luftbad destilliert. Ausbeute 790 mg (= 60%) hellrotes Öl, das langsam kristallisiert.

2-Brom-propioguajakon-(3- ^{14}C). Eine kräftig gerührte Lösung von 790 mg Propioguajakon-(3- ^{14}C) in 70 ccm trockenem Chloroform wird bei Zimmertemp. innerhalb von 15 Min. mit 0,23 ccm Brom in 15 ccm Chloroform versetzt. Im Vak. zur Trockene gedampft, erhält man 1,062 g (= 94%) hellrote Kristalle, die nicht weiter gereinigt werden.

2-Acetoxy-propioguajakon-(3- ^{14}C)-acetat. 1,062 g vorstehender Verbindung werden mit 2,1 g wasserfreiem Natriumacetat und 7,5 ccm Essigsäureanhydrid 4 Stdn. am siedenden Wasserbad erhitzt, in 80 ccm Wasser gegossen und mechanisch bis zur völligen Kristallisation des ausgeschiedenen Öles gerührt. Ausbeute 898 mg (= 78%), die, aus 1,5 ccm Äthanol umkristallisiert, 483 mg (= 42%) ergeben, wobei das Filtrat nach Zusatz von inaktiver Substanz für einen Ansatz geringer Aktivität verwendet wird.

2-Hydroxy-propioguajakon-(3- ^{14}C) (IX). 483 mg 2-Acetoxy-propioguajakon-(3- ^{14}C)-acetat in 5 ccm absol. Methanol werden mit 0,5 g Kaliumhydroxyd in 5 ccm Methanol 15 Min. zum Sieden erhitzt, filtriert und im N_2 -Strom auf $\frac{1}{3}$ des Volumens eingengt. Nach gutem Kühlen wird das Kaliumsalz (411 mg) abgesaugt.

Die Lösung des Kaliumsalzes in 1 ccm Wasser wird mit 0,3 ccm 40%iger Schwefelsäure angesäuert. Das ausgefallene hellgelbe Öl erstarrt bald, wird abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen. Ausbeute 296 mg (= 87%) vom Schmp. 105° . Die Messung der Aktivität ergab $32,9 \cdot 10^6$ Zerfälle/mMol $\cdot$ min, das ist $14,8 \mu\text{C/mMol}$.

2-Äthoxy-propioguajakon-(3- ^{14}C) (X)

200 mg 2-Hydroxy-propioguajakon-(3- ^{14}C) werden in 6 ccm absol. Äthanol. Salzsäure (3%ig) gelöst, 14 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt und im CO_2 -Strom unter vermindertem Druck zur Trockene gedampft. Das rot-braune Öl wird in 10 ccm Äther gelöst, in ein Kugelrohr filtriert und bei 0,001 Torr und 125 bis 130° Luftbad destilliert. Ausbeute 116 mg (= 51%) hellgelbes Öl.

Nach der gleichen Vorschrift kann auch 2-Acetoxy-propioguajakon-acetat zum 2-Äthoxy-derivat umgesetzt werden⁷.

Vanilloylacetyl-(3- ^{14}C) (XI)

180 mg 2-Hydroxy-propioguajakon-(3- ^{14}C) werden in einer warmen Lösung von 520 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ in 0,8 ccm Pyridin und 0,4 ccm Wasser 2 Stdn.

auf 100° erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 6 ccm Wasser und 2 ccm konz. Salzsäure verdünnt und ausgeäthert. Der Rückstand dieser Lösung wird bei 0,005 Torr und 120° Badtemp. destilliert. Ausbeute 130 mg (= 73%) gelbes Öl, das rasch kristallisiert. Schmp. 65°.

1-(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl)-2-propanon-(1-¹⁴C) (XII)

1-(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl)-2-nitro-propen-(1-¹⁴C). 250 mg Vanillin-(carbonyl-¹⁴C) werden mit 0,25 ccm absol. Methanol, 10 mg Methylamin-chlorhydrat, 8 mg Natriumkarbonat und 0,15 ccm Nitroäthan bei Zimmertemp. 5 Tage stehen gelassen. Nach Kühlen wird der Kristallbrei abgesaugt, auf der Nutsche mit 5%iger Schwefelsäure, dann mit Wasser gewaschen und getrocknet. Aus 0,4 ccm Äthanol 200 mg (= 58%) vom Schmp. 102 bis 103°.

1-(4-Hydroxy-3-methoxy-phenyl)-2-propanon-(1-¹⁴C). 200 mg vorstehender Verbindung werden in 2,2 ccm Äthanol und 5,5 ccm Wasser mit 450 mg Eisenpulver, 20 mg Eisen(III)-chlorid und 0,2 ccm konz. Salzsäure 5 Stdn. unter Rückfluß zum Sieden erhitzt, filtriert und mit heißem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird durch Eindampfen vom Äthanol befreit und mit Benzol extrahiert. Diese Lösung wird zur Trockene gedampft und der Rückstand mit 4 ccm 7 n Schwefelsäure zwecks Verseifung des gebildeten Oxims 24 Stdn. bei Zimmertemp. und dann 4 Stdn. bei 40° stehen gelassen. Es wird neuerlich mit Benzol extrahiert und der Rückstand im Kugelrohr bei 0,01 Torr und 120° destilliert. Ausbeute 110 mg (= 64%) fast farbloses Öl.

Die Mikroanalysen wurden im mikroanalytischen Laboratorium unseres Institutes von Herrn Dr. W. Padowetz ausgeführt. Herrn Prof. Dr. E. Broda und Dr. O. Suschny danken wir für einige Messungen der Radioaktivität.

Herrn Prof. Dr. J. Kisser und Herrn G. Linhardt (Hochschule für Bodenkultur in Wien) sind wir für die Diskussion botanischer Fragen zu besonderem Dank verpflichtet.

Der Österr. Gesellschaft für Holzforschung danken wir auch an dieser Stelle für die Bereitstellung von Mitteln.