

KARL FREUDENBERG *), KEITH JONES **)
und HANNELORE RENNER

Radioaktive Isotope und Lignin, IX¹⁾

Künstliches Lignin aus markiertem Coniferylalkohol

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

(Eingegangen am 11. Januar 1963)

Die Herstellung des Coniferylalkohols- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$ wird neu durchgearbeitet und seine Überführung in Dehydrierungspolymerisat beschrieben. Aus den Oxydationsprodukten des methylierten Dehydrierungspolymerisats wird reine Isohemipinsäure gewonnen. Die mol-spezifische Aktivität der Einheit des Dehydrierungspolymerisats verhält sich zu der der Isohemipinsäure wie 100:50. Die Säure kann in 2,3-Dimethoxy-5,6-dinitro-benzoesäure verwandelt werden.

Vor 7 Jahren wurde aus Coniferylalkohol, der am mittleren Kohlenstoffatom der Seitenkette radioaktiv markiert war, das Dehydrierungspolymerisat (DHP) hergestellt²⁾. Daraus haben wir, nach der Behandlung mit Alkali und Methylierung, radioaktive Isohemipinsäure (I) gewonnen und an ihr nahezu dieselbe mol-spezifische Radioaktivität wie an der Einheit des Ausgangsmaterials angetroffen. Wir verfügen heute über ungleich bessere Meßinstrumente und haben in der Zwischenzeit weitere Erfahrungen in der Trennung der Abbausäuren gewonnen³⁾; so schien es uns angezeigt, jene Versuche wieder aufzunehmen.

Die Radioaktivität der Isohemipinsäure (I) wurde bestätigt, aber nur halb so stark gefunden wie damals angegeben.

Ein geeignetes Verfahren, zwischen den beiden Carboxylgruppen der Isohemipinsäure (I) zu unterscheiden, bietet die Nitrierung und Decarboxylierung zur 2,3-Dimethoxy-5,6-dinitro-benzoesäure (II). Die gleiche Säure haben R. WEGSCHEIDER und A. KLEMENC⁴⁾ aus Hemipinsäure (III) erhalten; wir haben sie außerdem aus *o*-Veratramsäure (IV) hergestellt. Die Säure II läßt sich in Chinolin zu 1,2-Dimethoxy-4,5-dinitro-benzol⁵⁾ decarboxylieren.

*) Ich danke dem LANDESGEWERBEAMT BADEN-WÜRTTEMBERG für die Bereitstellung von Mitteln und Herrn Dr. E. JOST für freundliche Beratung.

**) Stipendiat der CIBA AG, Basel, für die Jahre 1959–1961, am Chemischen Institut der Univ. Heidelberg.

1) VIII. Mittel.: K. FREUDENBERG und F. NIEDERCORN, Chem. Ber. **91**, 591 [1958].

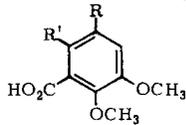
2) K. FREUDENBERG und F. NIEDERCORN (Radioaktive Isotope und Lignin, VII), Chem. Ber. **89**, 2168 [1956].

3) a) K. FREUDENBERG und C.-L. CHEN, Chem. Ber. **93**, 2533 [1960]; b) K. FREUDENBERG, C.-L. CHEN und G. CARDINALE, Chem. Ber. **95**, 2814 [1962].

4) Mh. Chem. **31**, 709 [1910].

5) W. MERCK, Liebigs Ann. Chem. **108**, 58 [1858]; J. J. BLANKSMA, Recueil Trav. chim. Pays-Bas **24**, 314 [1905].

Coniferylalkohol-[β - ^{14}C] ist zwar bereits verschiedentlich hergestellt worden^{1,6)}, aber es hat sich als zweckmäßig erwiesen, die Synthese erneut durchzuarbeiten. Die Ausbeute an Coniferylalkohol, bezogen auf Malonsäure, beträgt etwa 35%. Der aktive Coniferylalkohol wurde mit inaktivem stark verdünnt.



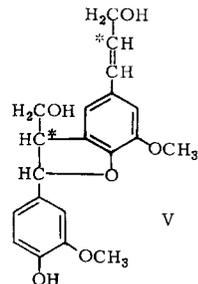
- I: R = CO₂H, R' = H
 II: R, R' = NO₂
 III: R = H, R' = CO₂H
 IV: R, R' = H

Zur Überführung in ein Dehydrierungspolymerisat wird mit Peroxydase und äußerst verdünntem Wasserstoffperoxyd dehydriert. Um ein gut flockendes, an Oligomeren armes Präparat zu erhalten, müssen nahezu zwei Moll. Wasserstoffperoxyd aufgewendet werden, die bei quantitativer Umsetzung gegen 4 Wasserstoffatome entfernen sollten. Die Umrechnung des entstandenen Dehydrierungspolymerisats auf die C₉-Einheit ergibt C₉H_{7.14}O₂(H₂O)_{0.38}(OCH₃)_{1.0}; (Mol.-Gew. 185). Das heißt, von den nahezu 4 Äquivalenten des Peroxyds haben nicht ganz 2 reagiert. Ob der Rest des Wasserstoffperoxyds einen kleinen, nicht einkondensierten Teil weiter dehydriert hat oder an der sehr großen Oberfläche des sich ausscheidenden Produkts zersetzt wurde, bleibt dahingestellt. Es ist auch denkbar, daß nach Verlust von ungefähr 2 Atomen Wasserstoff die Reaktion außerordentlich verlangsamt wird. Messungen sind wegen der Inhomogenität und extremen Verdünnung der Mischung nicht ausgeführt worden. Da der Wasserstoffverlust und die Wasseraufnahme genau denen eines natürlichen Lignins entsprechen, zweifeln wir nicht, daß dieses Dehydrierungspolymerisat für die Untersuchung geeignet ist. Die Ausbeute an polymerem DHP beträgt 26%, bezogen auf die Malonsäure. Aus 50 mg Malonsäure-[β - ^{14}C] (0.5 mC) wurden 6.9 g DHP-[β - ^{14}C] erhalten (0.129 mC).

Weil das DHP thermoplastisch ist, wird es zwecks Methylierung, Behandlung mit Alkali, erneuter Methylierung und Oxydation auf Bariumsulfat aufgetragen.

Zunächst wurde die Isohemipinsäure (I) untersucht. Der chromatographisch einheitliche Ester wurde verseift und die Säure erneut gereinigt. Ausbeute aus 5 g DHP 93 mg einwandfreie Isohemipinsäure, deren Radioaktivität nach erneuter Kristallisation konstant blieb. Die Aktivität/Mol. betrug 50% des DHP.

Der radioaktive Anteil von I entstammt ganz oder zum größten Teil dem in das Lignin eingebauten radioaktiven Dehydro-diconiferylalkohol (V). Wenn 15% V in das DHP eingebaut sind, könnten daraus maximal 9.4% des DHP an Isohemipinsäure (I) entstehen. Die Gesamtausbeute an I aus Coniferyl-DHP oder dem Coniferylanteil des Lignins beträgt 3%. 50% davon (= 1.5% der Gesamtausbeute) sind radioaktiv; das entspricht einer Ausbeute von 16% d. Th. aus dem in das DHP oder Lignin eingebauten Dehydro-diconiferylalkohol (V). Eine höhere Ausbeute ist bei der Art des Aufschlusses und der Oxydation nicht zu erwarten. 15% Komponente V im Lignin ist daher ein angemessener Schätzwert.



6) K. KRATZL und G. BILLEK, Mh. Chem. 84, 413 [1953].

Der inaktive Anteil der Isohemipinsäure (I) dürfte hauptsächlich den im DHP reichlich vorkommenden Biphenylverbindungen entstammen⁷⁾.

DHP aus *endständig* markiertem Coniferylalkohol- $[\alpha\text{-}^{14}\text{C}]$ ergab inaktive Isohemipinsäure (I)⁸⁾. Ein anderes Ergebnis ist auch nach unseren heutigen Vorstellungen nicht zu erwarten. Dagegen war der mit starker Mineralsäure abgespaltene Formaldehyd radioaktiv; er entstammt demnach dem endständigen Carbinol. Metahemipinsäure konnte mit den damaligen Mitteln aus dem DHP erst nach energischer Behandlung mit starker Salzsäure gewonnen werden⁸⁾. Ihre Radioaktivität entsprach einem Drittel derjenigen des DHP. Hier ist eine nachträgliche Kondensation im Spiele, an der das $\alpha\text{-C}$ -Atom beteiligt ist. Auch aus Pinoresinol entstehen mit starker Säure Produkte, die Metahemipinsäure liefern⁹⁾. Hier dürfte das $\gamma\text{-}$, vielleicht auch das $\alpha\text{-C}$ -Atom mitwirken.

Einstweilen ist das an den markierten Ligninbausteinen gewonnene Bild noch unvollständig. Erst wenn entsprechende Versuche mit DHP aus Coniferylalkohol- $[\gamma\text{-}^{14}\text{C}]$ vorliegen, wird ein vollständiges Bild über die Entstehung der methoxylierten Benzolcarbonsäuren gezeichnet werden können.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Den früheren Angaben über die Chromatographie der hier behandelten Säuren sei hinzugefügt: Die Chromatogramme werden im ultravioletten Licht erst vor, dann nach der Behandlung mit Ammoniakdampf betrachtet. Säureester und Phenolacetate werden mit Natriummethylat besprüht und erneut im UV betrachtet; auf dem Papier hydrolysierte Phenolacetate werden mit wenig diazotierter Sulfanilsäure¹⁰⁾ in 2-proz. wäbr. Natriumcarbonatlösung besprüht.

Acetylferulasäure: Die Mischung von 1.2 g *Acetyl-vanillin* (1.3facher Überschuß) und 0.5 g *Malonsäure* wird im Schliffkolben mit 3 ccm trockenem Pyridin übergossen, mit 4 Tropfen Piperidin und einem trockenen Siedesteinchen versetzt und unter Feuchtigkeitsabschluß 8 Stdn. auf 60° erwärmt. Pyridin, gebildetes Wasser und Piperidin werden bei 30° i. Vak. abdestilliert. Der Rückstand wird nochmals mit 3 ccm Pyridin und 2 Tropfen Piperidin versetzt und auf 60° gehalten, danach wieder eingedampft, in Gegenwart von 1 ccm 40-proz. Natriumhydrogensulfatlösung in der Reibschale gut zerrieben, zweimal mit 5 ccm Eiswasser gewaschen, getrocknet, in 4 ccm Eisessig warm gelöst und tropfenweise mit warmem Wasser bis zur beginnenden Trübung versetzt. Nach dem Erkalten wird weiteres Wasser, im ganzen 15 ccm, zugegeben. Die Mutterlaugen werden vereinigt und mehrmals mit je 5 ccm Äther extrahiert, der zweimal mit 1 ccm Natriumhydrogensulfatlösung ausgeschüttelt und mit Natriumsulfat getrocknet wird. Der Rückstand wird aus der gerade nötigen Menge warmer, 25-proz. Essigsäure umkristallisiert. Schmp. 195–198° (reine Acetylferulasäure 199°). Das einmal umkristallisierte Produkt ist rein genug für die weitere Verarbeitung, Ausb. 60%, bezogen auf Malonsäure. Aus der Säure kann das *Acetylferulasäure-chlorid* nach der früheren Vorschrift hergestellt werden¹⁾. Die Lösung des Rohproduktes in der 10fachen Menge

7) I. c. ^{3b)}, S. 2819.

8) K. FREUDENBERG und F. BITTNER (Radioaktive Isotope und Lignin, I), Chem. Ber. **86**, 155 [1953].

9) K. FREUDENBERG, Ind. Engng. Chem. **49**, 1384 [1957]; vgl. H. RICHTZENHAIN, Acta chem. scand. **4**, 206, 589 [1950]; Svensk Papperstidn. **53**, 644 [1950].

10) In einzelnen Fällen, wie Syringasäure, versagt die Reaktion, wenn ein Überschuß an diazotierter Säure verwendet wird.

Benzol wird i. Vak. bei gewöhnlicher Temperatur eingeengt, bis die Kristallisation beginnt. Schwach gelbe Nadeln, Schmp. 134–135°, Ausb. 90%. Das Chlorid muß sofort verarbeitet werden. Wenn es wie der Acetylsinapinsäure-äthylester¹¹⁾ und der Acetylferulasäure-methylester (s. unten) bei tiefer Temperatur reduziert wird, erhält man eine Ausbeute an Coniferylalkohol von 60%, bezogen auf die Säure, während bei höherer Temperatur die Ausbeute wesentlich geringer ist. Wir haben den folgenden Weg vorgezogen.

Acetylferulasäure-methylester: Die Lösung von 2.0 g *Acetylferulasäure* in 60 ccm reinem Dioxan von 50° wird rasch gekühlt und vor der Kristallisation tropfenweise mit alkoholfreier¹²⁾ ätherischer *Diazomethanolösung* versetzt, bis die gelbe Farbe erhalten bleibt. Die Lösung steht noch 10 Min. bei 0° und wird i. Vak. eingedampft. Der kristallisierte Rückstand wird aus wenig Methanol umkristallisiert. Farblose Platten, Schmp. 122–123°, Ausb. 1.8 g. Der *Ester* ist chromatographisch rein, die Mutterlauge gibt noch eine zweite Fraktion von 0.13 g, zusammen 93% d. Th.

Coniferylalkohol: Der Acetylferulasäure-methylester wird in derselben Weise bei –20° reduziert wie der Acetylsinapinsäure-äthylester¹¹⁾. Zur Verwendung kommen 5 g *Acetylferulasäuremethylester* und 2.5 g *Lithiumaluminiumhydrid*. Wenn die Reduktion beendet und Dithionit zugesetzt ist, wird die Ätherschicht, die nur Ausgangsmaterial enthält, entfernt und die wäßr. Flüssigkeit mit 50 ccm Essigester¹³⁾ umgeschüttelt. Nach 5 Min. wird festes Kohlendioxyd zugegeben, bis die gelbe Farbe verschwunden ist. Jetzt wird 5 mal mit je 50 ccm Essigester¹³⁾ ausgeschüttelt, wobei nach den zwei ersten Ausschüttelungen erneut Kohlendioxyd zugegeben wird. Die Auszüge werden vereinigt, mit Natriumsulfat getrocknet und nach 15 Stdn. unter Stickstoff i. Vak. eingedampft. Der kristallisierte rohe Coniferylalkohol wird in einer möglichst geringen Menge warmen Methylenchlorids gelöst und nach dem Erkalten mit leichtsiedendem Petroläther bis zur Trübung versetzt. Im Eisschrank kristallisiert der *Coniferylalkohol* innerhalb von 3 Tagen aus. 2.6 g (68% d. Th.), Schmp. 71–73°. Die Ausbeute, bezogen auf Malonsäure, beträgt 36% d. Th.

Dehydrierungspolymerisat aus Coniferylalkohol: 4 mg kristallisierte *Peroxydase* werden in einer Mischung von Citratpuffer (12 ccm, pH 5.5)¹⁴⁾ und 400 ccm Wasser von 20° gelöst. Unter Rühren werden durch zwei Tropftrichter gleichzeitig tropfenweise zugegeben: 1. die Lösung von 0.8 g *Coniferylalkohol* in 5 ccm Aceton und 400 ccm Wasser, 2. 400 ccm einer 0.025-proz. *Hydroperoxydlösung*. Das Zutropfen (ungefähr 30 ccm stündlich von jeder Lösung) dauert einen Tag. Die trübe Reaktionsmischung wird über Nacht gerührt. Am nächsten Tag werden 3 mg Peroxydase in 10 ccm Pufferlösung und wieder tropfenweise dieselben Lösungen von Coniferylalkohol und Wasserstoffperoxyd unter Rühren zugegeben. Über Nacht wird gerührt. Am dritten Tag werden 2.5 mg Peroxydase in 10 ccm Pufferlösung sowie tropfenweise 420 mg Coniferylalkohol in 210 ccm Wasser und 210 ccm Hydroperoxydlösung zugefügt. Danach werden während dreier Tage und Nächte 2 l der 0.025-proz. Wasserstoffperoxydlösung tropfenweise zugegeben. Jeden Morgen werden 1.5 mg frisches Enzym in 5 ccm Pufferlösung zugesetzt. Die bei dieser Reaktion verwendete verdünnte Lösung des Wasserstoffperoxyds wird einem Vorrat entnommen, der nicht länger als 1 Woche vorher mit Jod und Thiosulfat eingestellt worden ist. Die feine Suspension wird i. Vak. unter Stickstoff auf ungefähr 150 ccm eingeengt. Der Niederschlag wird abzentrifugiert, im Zentrifugenglas mit 30 ccm Wasser aufgerührt, am nächsten Morgen erneut abzentrifugiert und nach Ab-

¹¹⁾ K. FREUDENBERG und H. H. HÜBNER, Chem. Ber. 85, 1181 [1952].

¹²⁾ H. BREDERECK, R. SIEBER und L. KAMPHENKEL, Chem. Ber. 89, 1169 [1956].

¹³⁾ Nach einem Vorschlag von H. NIMZ.

¹⁴⁾ D'ANS-LAX, Taschenbuch für Chemiker und Physiker, S. 1592, Springer-Verlag, Berlin 1943.

gießen des Wassers im Zentrifugenglas im Exsikkator getrocknet. Eine Probe wird in Xylol/Dimethylformamid (9:2 Vol.) auf einem Papier, das mit Dimethylformamid imprägniert worden ist¹⁵⁾, chromatographiert. Es enthält nur noch Spuren von Oligomeren. Zur Analyse wird eine Probe in wenig Dioxan/Wasser (9:1 Vol.) aufgerührt; nach einigen Stunden wird durch tropfenweisen Zusatz von Wasser das Gelöste mit dem Ungelösten ausgefällt. Es wird abzentrifugiert und erst bei gewöhnlicher Temperatur, dann 3 Tage bei 50° über Phosphor-pentoxid getrocknet. Die Zusammensetzung ist oben mitgeteilt. Die Ausbeute beträgt 1.5 g oder 75% der erwarteten (26%, bezogen auf Malonsäure).

Verteilung auf Bariumsulfat: Zur Verarbeitung auf Abbausäuren werden 5 g *inaktives DHP* bei gewöhnlicher Temperatur in 400 ccm einer Lösung von Wasser und Dioxan (1:9 Vol.) suspendiert und umgeschüttelt, wobei sich das Präparat zum größten Teil löst. Die trübe Mischung wird nach 1 Stde. mit 240 g gefällttem *Bariumsulfat* versetzt, umgeschüttelt und nach 4 Stdn. i. Vak. unter Stickstoff eingedampft. Der Rückstand wird im Mörser fein zermahlen. Das Gemisch wird 15 Stdn. mit überschüss. *Diazomethan* in Äther gerührt. Nach der Entfernung des Äthers wird mit Alkali behandelt, methyliert und oxydiert, wie wenn es sich um 20 g methyliertes Holz handelte³⁾. Auch die Aufarbeitung der Oxydationsmasse und die Fraktionierung wird nach den früheren Vorschriften vorgenommen³⁾. Bei der Fraktionierung auf der Säule werden die Anteile aufgefangen, die *Isohemipinsäure (I)* enthalten. Die rohe Isohemipinsäure (I) wird mit kaltem Benzol gewaschen und im Zentrifugenglas, das in warmes Wasser getaucht wird, aus wenig Wasser umkristallisiert. Dabei wird die Lösung von Ungelöstem abzentrifugiert und abgossen. Die Mutterlaugen werden erneut auf Isohemipinsäure verarbeitet, das Rohprodukt wird mit Diazomethan verestert und der Ester über einer Säule von neutralem Aluminiumoxyd gereinigt. Zur Elution dient Äther. Beim Verdampfen hinterbleibt ein Öl, das bald kristallisiert. Die Masse wird in einer Packung von Filtrierpapier bei 250 at ausgepreßt, im Zentrifugenglas in wenig Methanol gelöst und durch Zentrifugieren von Fasermaterial befreit. Die Methanollösung wird mit der 3fachen Menge Wasser versetzt und im offenen Gefäß der Kristallisation überlassen. Die farblosen Kristalle schmelzen bei 54–56°. Die öligen, im Filtrierpapier verbliebenen Anteile werden mit Äther extrahiert, mit den Mutterlaugen eingedampft und die Rückstände erneut über eine kleine Aluminiumoxydsäule geführt. Die Ausbeute beträgt 100 mg. Weitere 50 mg (geschätzt) befinden sich in unreinen Fraktionen.

2.3-Dimethoxy-5.6-dinitro-benzoessäure (II): 1 g *I* wird ohne Kühlung mit 2 ccm *rauchender Salpetersäure* (*d* 1.52) übergossen und die sich bald klärende Lösung mit 100 ccm Wasser verdünnt. Die Mischung bleibt 3 Tage im Eisschrank stehen. Die hellgelben Kristalle (Ausb. 69%) werden aus Aceton/Benzol umkristallisiert. Die Substanz zersetzt sich gegen 195°. WEGSCHEIDER und KLEMENC⁴⁾ geben 195–196° an.

Methylester: 500 mg *II* werden in 30 ccm Äther mit *Diazomethan* methyliert. Schmp. 87–88° aus Methanol. 4 g *o-Veratrumsäure (IV)* werden unter Rühren portionsweise in 40 ccm einer Mischung von konz. *Salpetersäure* (*d* 1.4) und *Schwefelsäure* (1:1 Vol.) innerhalb von 10 Min. eingetragen. Die goldgelbe, trübe Flüssigkeit wird 30 Min. gerührt, mit 200 ccm Wasser versetzt und 15 Stdn. auf Eis gestellt. Kristalle, 4.4 g, Schmp. nach der Kristallisation aus Aceton/Benzol bei 196–202° (Zers.). Mit *Diazomethan* wird der *Methylester* erhalten. Er schmilzt, aus Methanol umkristallisiert, bei 54–57°, erstarrt wieder und schmilzt dann bei 88–89° (Mischprobe⁴⁾). Die Identität wird außerdem durch Chromatographie und Infrarotspektrum bestätigt.

1.2-Dimethoxy-4.5-dinitro-benzol: Die Mischung von 400 mg *II* mit 2 ccm frisch dest. *Chinolin* wird auf 130–150° erhitzt, bis die Kohlendioxydentwicklung beendet ist (etwa

¹⁵⁾ K. FREUDENBERG und B. LEHMANN, Chem. Ber. 93, 1360 [1960].

30 Min.). Das Chinolin wird von der roten Reaktionsmischung an der Ölpumpe abdestilliert, der Rückstand in Aceton aufgenommen, durch eine Säule mit neutralem Aluminiumoxyd geführt und vom Lösungsmittel befreit. Jetzt wird auf einer zweiten Säule von Aluminiumoxyd in Benzol/Chloroform (9:1 Vol.) chromatographiert und dabei eine schneller laufende gelbe und eine langsamer laufende orangerote Fraktion erhalten. Die schneller laufende Substanz wird 3 mal aus Methanol umkristallisiert. Schmp. 128–129°, in Übereinstimmung mit der Literatur⁵⁾.

Radioaktives Dehydrierungspolymerisat: Die Lösung von 50 mg (0.5 mC) *Malonsäure- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$* in 15 ccm Aceton wird mit 3 g *inaktiver Malonsäure* verdünnt, in 6 gleiche Teile geteilt und eingedampft. Nach der Verarbeitung jeder einzelnen Probe auf *Acetylferulasäure* wird zu den Mutterlaugen jeder Kristallisation eine geringe Menge reiner, *inaktiver Acetylferulasäure* gegeben, um den Rest an aktiver Säure zu gewinnen. Zur *Methylierung* werden je 3 dieser Teile vereinigt, zu den Mutterlaugen jeder der 2 *Methylesterproben* wird *inaktiver Methylester* gegeben. Die *Reduktion* zu *Coniferylalkohol- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$* wird wiederum in 3 Portionen vorgenommen und bei jeder Aufarbeitung *inaktives Material* zugesetzt. 8 g *Coniferylalkohol* werden in 3 Teile geteilt, die einzeln dehydriert werden. Aus 0.5 mC *Malonsäure- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$* werden 0.129 mC *DHP- $[\beta\text{-}^{14}\text{C}]$* erhalten. Das Mol.-Gewicht der Einheit ist 185. Ausb. 6.9 g. Gesamtausb., auf radioaktive *Malonsäure* bezogen, 25.8%.

Aktivität

DHP (Mol.-Gew. 185)

$$0.0199 \mu\text{C} \times 185/1.061 \text{ mg} = 3.47$$

$$0.0173 \mu\text{C} \times 185/0.890 \text{ mg} = 3.60$$

$$\text{Mittel} = 3.54 \mu\text{C/mMol}$$

Isohemipinsäure (I) (Mol.-Gew. 226.2)

$$0.0156 \mu\text{C} \times 226.2/1.628 \text{ mg} = 2.17$$

$$0.0071 \mu\text{C} \times 226.2/0.909 \text{ mg} = 1.77$$

Nach Zusatz von *inaktiver Isohemipinsäure* umkristallisiert (Faktor 5.11)

$$0.00359 \mu\text{C} \times 226.2 \times 5.11/2.383 \text{ mg} = 1.75$$

$$0.00625 \mu\text{C} \times 226.2 \times 5.11/4.757 \text{ mg} = 1.70$$

$$\text{Mittel} = 1.73 \mu\text{C/mMol} \\ \text{oder } 49\% \text{ des DHP}$$