

116. Absolute Konfiguration von Loroxanthin (= (3*R*, 3'*R*, 6'*R*)- β , ϵ -Carotin-3, 19, 3'-triol)

von Edith Märki-Fischer, Pierre-André Bütikofer, Richard Buchecker und Conrad Hans Eugster
Organisch-chemisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(30. III. 83)

Absolute Configuration of Loroxanthin (= (3*R*, 3'*R*, 6'*R*)- β , ϵ -Carotene-3, 19, 3'-triol)

Summary

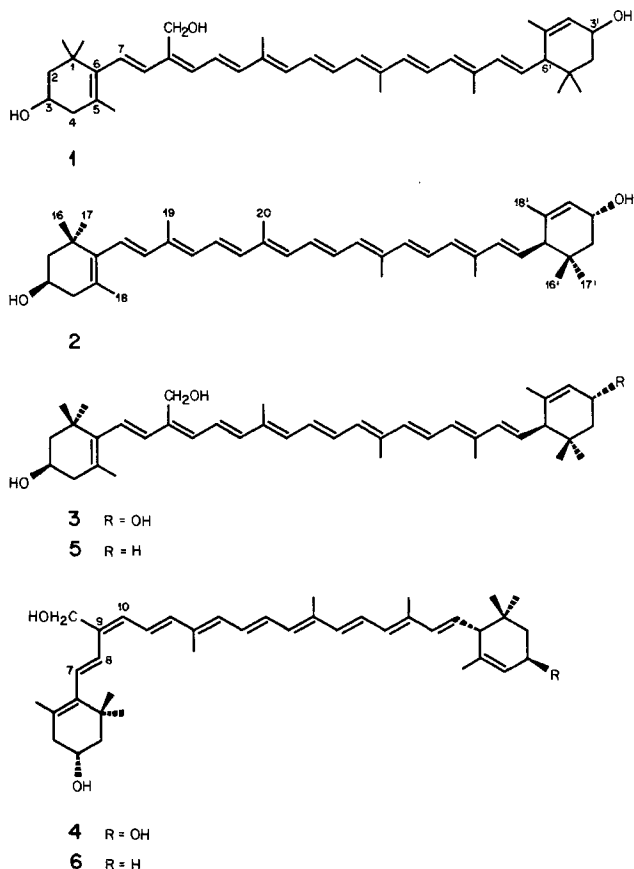
'Loroxanthin', isolated from *Chlorella vulgaris*, was separated by HPLC. methods in two major isomers, a mono-*cis*-loroxanthin and the all-*trans*-form. Solutions of the pure isomers easily set up again a mixture of the *cis/trans*-isomers. Extensive ¹H-NMR. spectral measurements at 400 MHz allowed to establish the 3', 6'-*trans*-configuration at the ϵ -end group in both isomers and the (9*E*)-configuration in the mono-*cis*-isomer. The absolute configurations at C(3) and C(6') were deduced from CD. correlations with synthetic (9*Z*, 3*R*, 6'*R*)- β , ϵ -carotene-3, 19-diol (5) and (9*E*, 3*R*, 6'*R*)- β , ϵ -carotene-3, 19-diol (6), respectively. Thus, all-*trans*-loroxanthin (3) is (9*Z*, 3*R*, 3'*R*, 6'*R*)- β , ϵ -carotene-3, 19, 3'-triol and its predominant mono-*cis*-isomer is (9*E*, 3*R*, 3'*R*, 6'*R*)- β , ϵ -carotene-3, 19, 3'-triol (4). Cooccurrence in the same organism and identical chirality at all centers suggest that loroxanthin is biosynthesized from lutein (2).

Loroxanthin, ein typisches Carotinoid aus gewissen Grünalgen [1] [2] wurde von *Strain et al.* charakterisiert und konstitutionell als β , ϵ -Carotin-3, 19, 3'-triol (1) erkannt [3]. Es gehört somit zur kleinen Gruppe von Carotinoiden mit oxygenierter Methylgruppe an der Polyenkette¹⁾. Die absolute Konfiguration von Loroxanthin, die für biogenetische Zusammenhänge von Bedeutung ist, konnte bis heute nicht festgelegt werden, da weder chemische noch chiroptische Korrelationen mit Lutein (2) möglich waren: Die Hydroxyfunktion an C(19) beeinflusst die *Cotton*-Effekte in unerwartet starker und bisher nicht rationalisierbarer Art und Weise [7]²⁾. Seit dem Nachweis von C(3')-epimeren Luteinen in der Natur [8] war auch der Konfiguration von C(3') in Loroxanthin besondere Beachtung zu schenken.

Es gelang uns nun, «Loroxanthin», das aus der Grünalge *Chlorella vulgaris* isoliert wurde, durch präparative HPLC. in zwei Haupt-Isomere aufzutrennen

¹⁾ Literaturzusammenstellung s. [4] [5]; betr. Agelaxanthin C, das in einem marinen Schwamm entdeckt wurde, s. [6].

²⁾ CD.-Daten von «Loroxanthin» und «Tri-*O*-acetyl-loroxanthin», s. [7]; von «Tri-*O*-methyl-loroxanthin», s. [4]. Bei diesen Präparaten dürfte es sich um Gemische von *cis/trans*-Isomeren gehandelt haben.



(vgl. Fig. 1) und diese spektroskopisch und chiroptisch zu charakterisieren. Die reinen Isomeren sind labil und lagern sich in Lösung leicht ineinander um.

400-MHz-¹H-NMR-Spektren. – Chemische Verschiebungen, Resultate von Doppelresonanz- und NOE (nuclear Overhauser effect)-Experimenten³⁾ sind in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellt. Daraus können folgende, für das Strukturproblem relevante Schlüsse gezogen werden:

1) Pik 1 in Figur 1 gehört zu einem *cis*-Loroxanthin, Pik 2 entspricht der *all-trans*-Verbindung.

2) Eine Endgruppe von beiden Isomeren weist die charakteristischen Signale von Zeaxanthin [9] auf; die andere entspricht einer 3-Hydroxy- ϵ -Endgruppe. Zudem kann aus den chemischen Verschiebungen von H₃C(16'), H₃C(17') und von H-C(6') mit ²J = 10 Hz einwandfrei auf *trans*-Stellung von C(7') und HO-C(3') geschlossen werden⁴⁾.

³⁾ Einen Teil der Spektren sowie die Doppelresonanz- und NOE-Experimente verdanken wir Herrn Dr. G. Englert, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel.

⁴⁾ Vgl. die ¹H-NMR.-Daten von Lutein (2) und 3'-Epilutein [10].

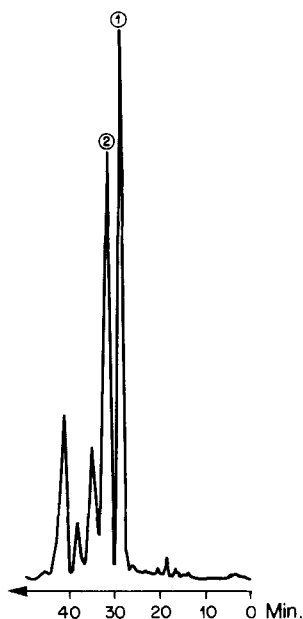


Fig. 1. HPLC.-Trennung von «Loroxanthin» aus *Chlorella vulgaris* (Stationäre Phase: *Spherisorb 5-CN*, Laufmittel Hexan + 0,1% Äthyldiisopropylamin/ CH_2Cl_2 + 1% MeOH 13:12; Fluss: 1,5 ml/Min.; ① = (9*E*)-Loroxanthin (4); ② = (9*Z*)-Loroxanthin (3))

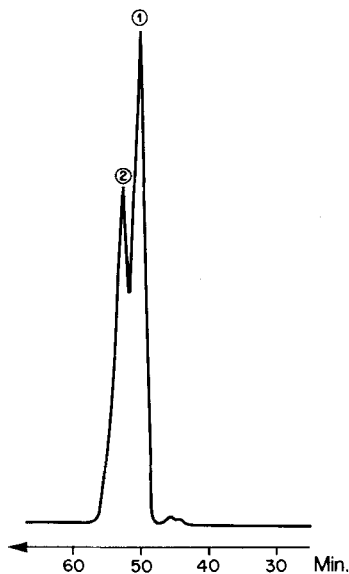


Fig. 2. HPLC.-Trennung der Modellverbindungen 5 und 6 (Stationäre Phase: *Spherisorb 5-CN*, Laufmittel Hexan + 0,1% Äthyldiisopropylamin/1,2-Dichloräthan + 1% CH_3OH 3:1; Fluss: 1,25 ml/Min.; ① = 6, ② = 5)

3) Die primäre Hydroxygruppe steht in beiden Isomeren an C(19).

4) Das *cis*-Loroxanthin (aus Pik 1) ist (9*E*)-konfiguriert, denn H–C(8) ist gegenüber der *trans*-Verbindung um 0,47 ppm nach höherem und H₂C(19) um 0,14 ppm nach tieferem Feld verschoben. Weitere Merkmale für die (9*E*)-Konfiguration sind: getrennte Signale für H₃C(16) und H₃C(17) sowie die Verschiebung von H₃C(18) nach tieferem Feld, in Übereinstimmung mit Beobachtungen an (9*Z*)-Zeaxanthin [9] (Sequenzregel beachten!). NOE-Experimente mit Einstrahlung auf H₂C(19) ergaben signifikante Signalerhöhungen von H–C(7) und H–C(10)⁵⁾.

5) Die synthetischen, optisch aktiven Modellverbindungen 5 und 6 [11] liessen sich wie Loroxanthin, wenn auch mit erheblich grösseren Schwierigkeiten, durch HPLC. trennen (s. Fig. 2). Die reinen Isomeren zeigen im relevanten Strukturbereich chemische Verschiebungen übereinstimmend mit denjenigen von (9*Z*)-Loroxanthin und (9*E*)-Loroxanthin.

UV./VIS.-Spektren. – Sowohl im Paar (9*E*)-Loroxanthin/(9*Z*)-Loroxanthin als auch bei den Modellverbindungen 5/6 sind die erwarteten hypsochromen Verschiebungen um 3 bis 4 nm am Hauptmaximum beim Übergang von der *trans*- in

⁵⁾ Zusätzlicher Beweis für die Konfiguration an der C(9),C(10)-Doppelbindung in den ¹³C-NMR.-Spektren, s. [5] und vorangehende Arbeit [11].

Tabelle 1. Doppelresonanz- und NOE-Experimente an (9Z)-Loroxanthin (3) und (9E)-Loroxanthin (4)

Doppelresonanz		NOE	
Einstrahlungsort	Beobachtetes Signal	Einstrahlungsort	Beobachtungsort (Intensitätszunahme)
(9Z)-Loroxanthin (3)			
H-C(7), 6,353	H-C(8), 6,048 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16)	H ₃ C(18), 1,754	H-C(3): 6%; H-C(7): 2%; H-C(8): 4%
H-C(8), 6,048	H-C(7), 6,349 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16)	H ₃ C(19), 4,551	H-C(7): 11%; H-C(11): 8%
H-C(11), 6,707	H-C(10), 6,242 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)	H ₃ C(16), 0,999	H-C(4): 1,2%; H-C(8): 2%; H-C(6): 6%
H ₂ C(19), 4,55	H-C(12), 6,428 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)	H ₃ C(17), 0,849	H-C(3): 9%; H-C(7): 7,3%
H-C(8'), 6,138	H-C(10), 6,242 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)	H ₃ C(18'), 1,625	H-C(4): 11%
H-C(10'), 6,137	H-C(7'), 5,436 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> = 10, 16)	H ₃ C(19'), 1,910	H-C(7): 8%; H-C(11'): 6%
H-C(12'), 6,355	H-C(11'), 6,620 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> = 10, 16)		
	H-C(11''), 6,620 (<i>d</i> × <i>d</i> , <i>J</i> = 10, 16)		
(9E)-Loroxanthin (4)			
H ₂ C(19), 4,407	H-C(10), 6,242 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)	H ₂ C(19), 4,408	H-C(7): 7%; H-C(10): 7%
H-C(7'), 5,436	H-C(6'), 2,403 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)	H ₃ C(16'), 0,999	H-C(4): 2%; H-C(6'): 6%
H ₃ C(18'), 1,625	H-C(8'), 6,138 (<i>d</i> , <i>J</i> = 16)	H ₃ C(18'), 1,624	H-C(4'): 13%
H ₃ C(19'), 1,91	H-C(4'), 5,547 (<i>m</i>)	H ₃ C(19'), 1,910	H-C(4): 1,6%; H-C(7): 10%; H-C(11'): 3%
	H-C(10''), 6,137 (<i>d</i> , <i>J</i> = 10)		

Tabelle 2. 400-MHz-¹H-NMR.-Daten von (9Z)-Loroxanthin (3), (9E)-Loroxanthin (4), (9Z)-Modellverbindung 5 und (9E)-Modellverbindung 6^{a)}

Protonen	3	4	5	6
H ₃ C(16), H ₃ C(17)	1,08	1,08/1,09	1,07	1,08/1,09
H ₃ C(16'), H ₃ C(17')	1,00/0,85	1,00/0,85	0,91/0,81	0,91/0,82
H ₃ C(18')	1,63	1,63	1,59	1,60
H ₃ C(18)	1,74	1,78 $\Delta\delta = 0,04$	1,73	1,78 $\Delta\delta = 0,05$
H ₃ C(19')	1,91	1,91	1,91	1,91
H ₃ C(20), H ₃ C(20')	1,96	1,96	1,95	1,96
H _{ax} -C(4)	2,07	2,07	2,05	2,05
H _{äq} -C(4)	2,38 $d \times d (J = 6, 16)$	2,42	2,38	2,38
H-C(6')	2,40 $d (J = 10)$	2,40	2,17	2,16
H-C(3)	4,03 m	4,03	4,01	4,01
H-C(3')	4,25 m	4,25		
H ₂ C(19)	4,55 s	4,41 $\Delta\delta = -0,14$	4,54	4,40 $\Delta\delta = -0,14$
H-C(4')	5,547 m	5,547	5,40	5,40
H-C(7')	5,436 $d \times d (J = 10, 16)$	5,436	5,52	5,52
H-C(8)	6,048 $d (J = 16)$	6,514 $\Delta\delta = 0,466$	6,03	6,50 $\Delta\delta = 0,47$
H-C(8')	6,138 $d (J = 16)$	6,138	6,09	6,09
H-C(10')	6,137 $d (J = 10)$	6,135	6,11	6,11
H-C(10)	6,242 $d (J = 10)$	6,284 $\Delta\delta = 0,044$	6,22	6,26 $\Delta\delta = 0,04$
H-C(14')	6,256 $d (J = 10)$	6,254	6,24	6,23
H-C(14)	6,288 $d (J = 10)$	6,286	6,26	6,26
H-C(7)	6,349 $d (J = 16)$	6,286 $\Delta\delta = -0,063$	6,31	6,25 $\Delta\delta = -0,06$
H-C(12')	6,355 $d (J = 16)$	6,353	6,32	6,32
H-C(12)	6,428 $d (J = 16)$	6,413 $\Delta\delta = -0,015$	6,41	6,39 $\Delta\delta = -0,02$
H-C(11')	6,620 $d \times d (J = 10, 16)$	6,619	6,60	6,60
H-C(15), H-C(15')	6,64	6,64	6,62	6,62
H-C(11)	6,707 $d \times d (J = 10, 16)$	6,696	6,69	6,68

^{a)} Lösungsmittel: gereinigtes, säurefreies CDCl₃; Kopplungskonstanten J in Hz; $\Delta\delta = \delta(4) - \delta(3)$ bzw. $\delta(6) - \delta(5)$. Für 4-6 wurden praktisch identische Kopplungskonstanten wie für 3 gemessen.

die *cis*-Form zu beobachten. Der peripheren Lage der *cis*-Doppelbindung entspricht jeweils ein schwacher *cis*-Pik.

CD.-Spektren. – In *Figur 3* sind die CD.-Kurven der isomeren Loroxanthine und der Modellverbindungen 5 und 6, gemessen bei RT. und -180° , dargestellt. Der Vergleich der Kurven von *trans*-Loroxanthin (= (9Z)-Loroxanthin; 3) mit denen von 5 bzw. von (9E)-Loroxanthin (4) mit 6 zeigt eine so gute Übereinstimmung in Kurvenverlauf und Vorzeichen, dass wir auf identische Konfiguration an C(3) und C(6') schliessen. Erfahrungsgemäss sind diese für die Cotton-Effekte von ausschlaggebender Bedeutung [7] [10].

Auffallend ist der Unterschied der CD.-Spektren von (9Z)-Loroxanthin (3) und von Lutein (2); s. *Fig. 3*. Dies bedeutet, dass die Hydroxygruppe an C(19) einen erheblichen Einfluss auf den CD. ausübt und zwar auf die all-*trans*- und die (9E)-Form. Die Gründe können sowohl elektronischer als auch sterischer Art (Beeinflussung der Konformation der Polyenkette durch eine intramolekulare H-Brücke) sein. Bemerkenswert ist, dass die CD.-Kurven von 3 und 5, die einem konservativen Typus [12] nahestehen, beim Übergang zu denjenigen der *cis*-Verbindungen 4 und 6

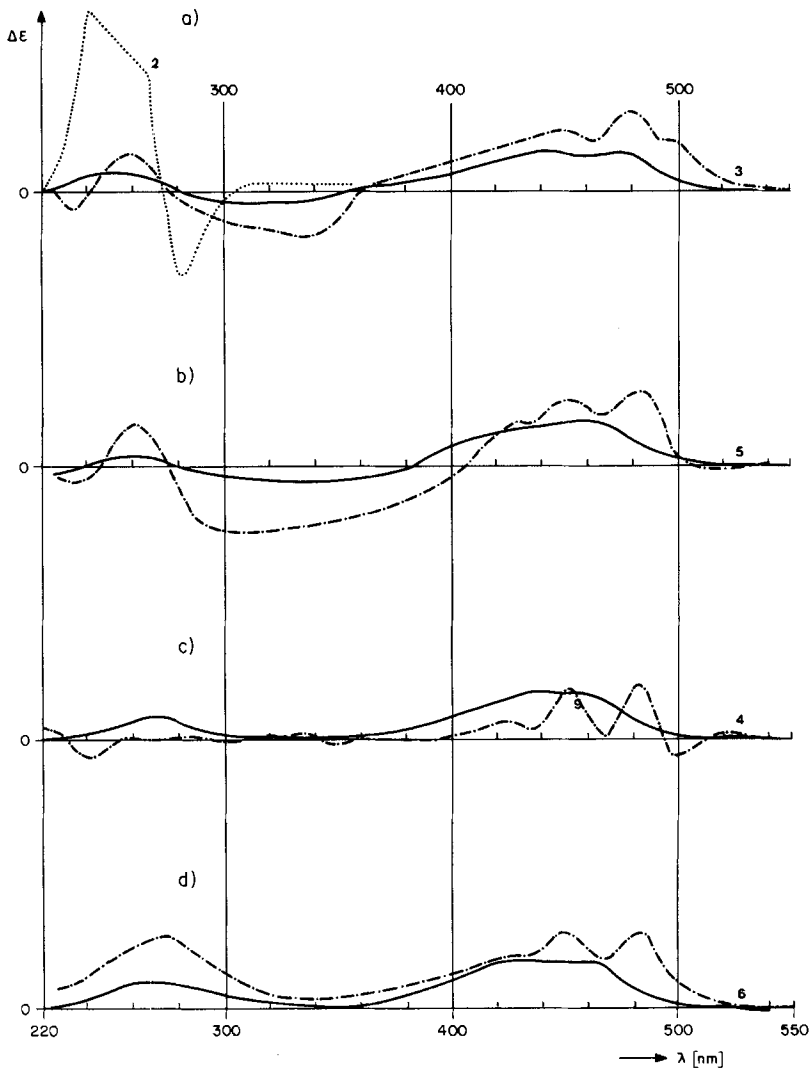


Fig. 3. CD.-Spektren von a) Lutein (2, ..., RT.) und (9Z)-Loroxanthin (3); b) (9Z)-Modellverbindung 5; c) (9E)-Loroxanthin (4); d) (9E)-Modellverbindung 6 (Qualitative Messungen in Et₂O/Isopentan/EtOH 5:5:2 (=EPA) bei RT. (—) und bei -180° (- - - -))

nicht wie üblich das Vorzeichen der Cotton-Effekte wechseln [7] [12–14], sondern in einen eindeutig nicht-konservativen Typus übergehen. Dieses, in der Carotinoidreihe bisher nicht beobachtete Phänomen, muss ebenfalls auf den Einfluss der Hydroxygruppe an C (19) zurückgeführt werden.

Absolute Konfiguration von Loroxanthin. – Aus der Kombination der spektroskopischen und chiroptischen Argumente folgt, dass Loroxanthin Struktur 3 hat und somit als 19-Hydroxylutein oder (9Z, 3R, 3'R, 6'R)- β , ϵ -Carotin-3, 19, 3'-triole zu

bezeichnen ist. Daraus darf wiederum geschlossen werden, dass Loroxanthin durch Hydroxylierung von Lutein entsteht. Diesen, auf stereochemischen Argumenten beruhenden Schluss, konnten wir durch Isolierung von reinem Lutein (2) aus demselben Organismus stützen (s. *Exper. Teil*).

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. Der Fa. Sandoz AG, Basel, danken wir für die leihweise Überlassung von Fermentatoren, den Herren Dr. T. Weilemann, ehemals Institut für allgem. Botanik der ETH und Herrn Dr. R. Stadelmann für vielfältige Beratung bei der Aufzucht der Algen, Herrn Dr. G. Englert, Zentrale Forschungseinheiten, F. Hoffmann-La Roche & Co. AG, Basel, und der Fa. Spectrospin AG, Fällanden, für ^1H -400-MHz-Spektren.

Experimenteller Teil

Allgemeines. S. [15].

1. *Verwendete Organismen und Isolierung der Carotinoide.* *Chlorella vulgaris*, Stamm 211-11 h, Sammlung von Algenkulturen, Pflanzenphysiologisches Institut, Universität Göttingen, wurde in einem modifizierten Kessler-Medium⁶⁾ vermehrt [4]. Aus 370 g Frischzellen wurden durch Gefrier-trocknung 87,6 g Trockenzellen erhalten. Nach Extraktion mit $\text{Et}_2\text{O}/\text{MeOH}$ 1:2, Eindampfen der Extrakte, Verseifung mit 10proz. KOH in MeOH während 24 Std. bei RT. und üblicher Aufarbeitung wurden die erhaltenen Rohcarotinoide zwischen Hexan und 90proz. MeOH verteilt. Die hypophysischen Anteile wurden isoliert und an MgO ('Seasorb') mit Petroläther (Sdp. 60–80°)/2-Propanol 10:1 säulen-chromatographisch in 4 Zonen mit steigender Polarität getrennt.

1) Spuren von Zeaxanthin.

2) *Lutein* (2). Aus der Hauptzone wurden 395 mg Lutein isoliert, Smp. 174–178° ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$). – UV./VIS. (EtOH): 267 (28970), 332 (8300), 423 (106150), 447 (155400), 475 (143300). – CD.: in Übereinstimmung mit [17]. – ^1H -NMR. (100 MHz, CDCl_3): 0,87 (s, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(16')$); 1,02 (s, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(17')^7)$); 1,09 (s, 6 H, $\text{H}_3\text{C}(16)$, $\text{H}_3\text{C}(17)$); 1,65 (s, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(18')$); 1,76 (s, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(18)$); 1,98 (s, 9 H, $\text{H}_3\text{C}(19)$, $\text{H}_3\text{C}(20)$, $\text{H}_3\text{C}(20')$); 1,92 (s, 3 H, $\text{H}_3\text{C}(19')$).

3) *Violaxanthin* (nicht isoliert).

4) «*Loroxanthin*» und *Neoxanthin*. Diese am stärksten haftende Zone wurde gemeinsam eluiert und durch erneute Chromatographie an Aluminiumoxid (*Woelm*, Akt. III) mit Dichloräthan/2-Propanol 100:3 getrennt. Die «*Loroxanthin*»-Fraktion wurde darauf durch HPLC. getrennt; s. *Figur 1.* (9*Z*)-*Loroxanthin* (3): UV./VIS. (EPA, relative Extinktionen): 263 (0,27), 328 (0,12), 422 (0,73), 441 (1,00), 468 (0,88). – CD.: s. *Figur 3.* – ^1H -NMR.: s. *Tabellen 1* und 2.

(9*E*)-*Loroxanthin* (4): UV./VIS. (EPA): 262 (0,26), 326 (0,15), 418 (0,74), 438 (1,00), 465 (0,85). – CD.: s. *Figur 3.* – ^1H -NMR.: s. *Tabellen 1* und 2.

2. *Trennung und Spektren von (9*Z*, 3*R*, 6'*R*)- β , ϵ -Carotin-3, 19-diol (5) und (9*E*, 3*R*, 6'*R*)- β , ϵ -Carotin-3, 19-diol (6).* Synthese des Gemisches, s. [11]. Die Trennung erfolgte durch präp. HPLC., s. *Figur 2.* Isomerenverhältnis 5/6 = 0,7:1. 5: UV./VIS. (EPA): 266 (0,20), 329 (0,13), 417 (0,76), 441 (1,00), 468 (0,85). – CD.: s. *Figur 3.* – ^1H -NMR.: s. *Tabelle 2.*

6: UV./VIS. (EPA): 264 (0,16), 328 (0,13), 417 (0,76), 437 (1,00), 464 (0,84). – CD.: s. *Figur 3.* – ^1H -NMR.: s. *Tabelle 2.*

6) Abgeändert durch Dr. Weilemann: Harnstoff (1,05 g/l), NaCl (0,47 g/l), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (0,47 g/l), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ (0,36 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (0,25 g/l), «Spurenelemente» (1 ml/l), «Fe(III)-EDTA-Komplex» (1 ml/l). Spurenelemente-StammLösung: $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (14,0 g/l), $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/l), H_3BO_3 (0,5 g/l), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (0,2 g/l), $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ (0,02 g/l); «Fe(III)-EDTA-Komplex»: 26,1 g EDTA-III in 268 ml 1,0*N* KOH lösen, dann Zugabe von 24,9 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, auf 1 l auffüllen und über Nacht belüften (1 ml dieser StammLösung pro 1 l Nährmedium ergibt eine Konzentration von 5 ppm; pH der Nährlösung 6,4 (nach Autoklavieren 7,4). Weitere Details für die Kulturbedingungen s. [4]; sie sind auf Anfrage bei C. H. E. erhältlich.

7) Zuordnung der geminalen CH_3 -Gruppen in ϵ -Endgruppen, s. [16].

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] *T.W. Goodwin*, 'The Biochemistry of the Carotenoids', Vol. 1, Chapman & Hall, London 1980, S. 208.
- [2] *S. Liaaen-Jensen*, in 'Marine Natural Products', Herausgeber P. Scheuer, Vol. 2, Academic Press, London 1978, S. 32.
- [3] *K. Aitzetmüller, H.H. Strain, W.A. Svec, M. Grandolfo & J.J. Katz*, *Phytochemistry* 8, 1761 (1969).
- [4] *P.-A. Bütikofer*, Diplomarbeit, Univ. Zürich 1975.
- [5] *P.-A. Bütikofer*, Dissertation, Univ. Zürich 1982.
- [6] *R. Buchecker, C.H. Eugster & C. Litchfield*, *Helv. Chim. Acta* 60, 2780 (1977).
- [7] *S. Hertzberg, G. Borch & S. Liaaen-Jensen*, *Acta Chem. Scand. B* 33, 42 (1979).
- [8] *R. Buchecker & C.H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 62, 2817 (1979).
- [9] *G. Englert*, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Herausgeber G. Britton & T.W. Goodwin, Pergamon Press, London 1982, S. 107.
- [10] *R. Buchecker, C.H. Eugster & A. Weber*, *Helv. Chim. Acta* 61, 1962 (1978).
- [11] *P.-A. Bütikofer & C.H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 66, 1148 (1983).
- [12] *V. Sturzenegger, R. Buchecker & G. Wagnière*, *Helv. Chim. Acta* 63, 1074 (1980).
- [13] *K. Noack & A.J. Thomson*, *Helv. Chim. Acta* 62, 1902 (1979).
- [14] *R. Buchecker, U. Marti & C.H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 65, 896 (1982).
- [15] *E. Märki-Fischer, R. Buchecker, C.H. Eugster, G. Englert, K. Noack & M. Vecchi*, *Helv. Chim. Acta* 65, 2198 (1982).
- [16] *C.H. Eugster*, in 'Carotenoid Chemistry and Biochemistry', Herausgeber G. Britton & T.W. Goodwin, Pergamon Press, London 1982, S. 8, 9.
- [17] *R. Buchecker, P. Hamm & C.H. Eugster*, *Helv. Chim. Acta* 57, 631 (1974).