

## ZUR KONFORMATION GESCHÜTZTER AMINOSÄUREN—I

### NMR-UNTERSUCHUNGEN VON t-BOC-GLYCIN

M. BRANIK und H. KESSLER\*

Institut für Organische Chemie der Universität, D-6 Frankfurt (M), Theodor Stern Kai 7

(Received in Germany 31 August 1973; Received in the UK for publication 30 October 1973)

**Abstract**—Z, E-Isomerism of the urethane bond of t-BOC-glycine was observed by <sup>1</sup>H- and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy at various temperatures in several solvents. The special stabilization of the Z isomer at low temperatures in CDCl<sub>3</sub> has been explained by intra- and intermolecular H-bond forming a 7-membered ring. Thermodynamic data have been determined for the ground state ( $\Delta H^\circ = -7$  kcal/mol,  $\Delta S^\circ = -25$  Clausius) as well as for the barrier of interconversion ( $\Delta G^\circ = 15.4$  kcal/mole for the deuterated title compound) in CDCl<sub>3</sub>. The equilibrium between the Z and the E conformation is shifted towards the E conformation in more polar solvents (acetonitril-d<sub>3</sub>, acetone-d<sub>6</sub>, DMSO-d<sub>6</sub>), in which cyclization of the Z conformation is not important.

t-BOC-Aminosäuren spielen in der Peptidsynthese eine grosse Rolle. Studien über die Konformationen dieser Verbindungen liegen bisher nur vereinzelt vor.<sup>1-3</sup> Wir untersuchten die Konformation von t-BOC-Glycin in verschiedenen Lösungsmitteln mit Hilfe der NMR-Spektroskopie.<sup>4</sup>

Das <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum von t-BOC-Glycin in CDCl<sub>3</sub> bei Raumtemperatur zeigt zwei relativ breite Signale unterschiedlicher Intensität für das NH-Proton<sup>5</sup>—ein Signal bei  $\delta = 6.6$  ppm (Signal Z)\*\* und ein weiteres bei  $\delta = 5.2$  ppm (Signal E), während das Signal für die CH<sub>2</sub>-Gruppe als etwas verbreitertes Dublett bei  $\delta = 3.95$  ppm und dasjenige der t-Butylgruppe als Singulett bei  $\delta = 1.44$  ppm erscheint (Abb. 1).

Die Integration ergibt, dass beide NH-Signale zusammen das richtige Intensitätsverhältnis zur Methylen- bzw. t-Butylgruppe ergeben. Die Verdoppelung des NH-Signals führen wir in Übereinstimmung mit J. L. Dimicoli und M. Ptak<sup>3</sup> auf die Rotationshinderung um die Urethan-C-N-Bindung zurück. Im Unterschied zu diesen Autoren sind wir jedoch der Ansicht, dass das Konformerengleichgewicht auf intra- und intermolekulare Effekte zurückzuführen ist und die Zuordnung der Signale umgekehrt sein sollte.

Mit abnehmender Temperatur verschiebt sich vor allem das NH-Signal Z und das Signal des Carboxylprotons nach tiefem Feld (Abb. 1, 2). Besonders stark hängt auch das Intensitätsverhältnis der beiden NH-Signale von der Temperatur ab (Tabelle 1). Mit abnehmender Temperatur steigt der Anteil von Z auf Kosten von E so stark an, dass bei  $-50^\circ\text{C}$  über 90% in der Z-

Form vorliegen, während bei  $+40^\circ\text{C}$  die E-Form mit ca. 80% überwiegt. Diese starke Verschiebung des Gleichgewichtes drückt sich in den daraus ermittelten thermodynamischen Daten aus:  $\Delta H^\circ = -7.0 \pm 1.2$  kcal/mol,  $\Delta S^\circ = -24.8 \pm 4.2$  Clausius.

Oberhalb von  $30^\circ\text{C}$  verbreitern sich die NH-Signale so stark, dass man das Hineinwandern des sich verkleinernden Z-NH-Signales in das E-NH-Signal nicht mehr exakt beobachten kann. Allein auf Basis dieser Spektren kann man nicht beweisen, dass es sich hier um ein Koaleszenzphänomen durch chemischen Austausch<sup>5-7</sup> handelt. Der chemische Austausch wäre auf die einsetzende CN-Rotation oder den intermolekularen Austausch der NH-Protonen oder auf beide Vorgänge zurückzuführen.

Die Messungen in 1,2-Dideutero-tetrachloräthan ergeben weiteren Aufschluss über die Natur des Prozesses. Das Raumtemperaturspektrum von t-BOC-Glycin in diesem Lösungsmittel entspricht dem Spektrum in CDCl<sub>3</sub>; der höhere Siedepunkt ermöglicht jedoch ein Erwärmen bis auf  $100^\circ\text{C}$ . Das

Tabelle 1. Temperaturabhängigkeit des Z,E-Isomerenverhältnisses von t-BOC-Glycin in CDCl<sub>3</sub>\*

T [K]	Pz/PE [%]	T [K]	Pz/PE [%]
223	95:5	283	48:52
233	92:8	293	38:62
243	89:11	303	25:75
253	83:17	313	21:79
263	72:28	323	7:93 <sup>b</sup>
273	62:38		

\*\*Zuordnung siehe unten.

<sup>a</sup>0.22 molar; <sup>b</sup>Linien schon stark verbreitert.

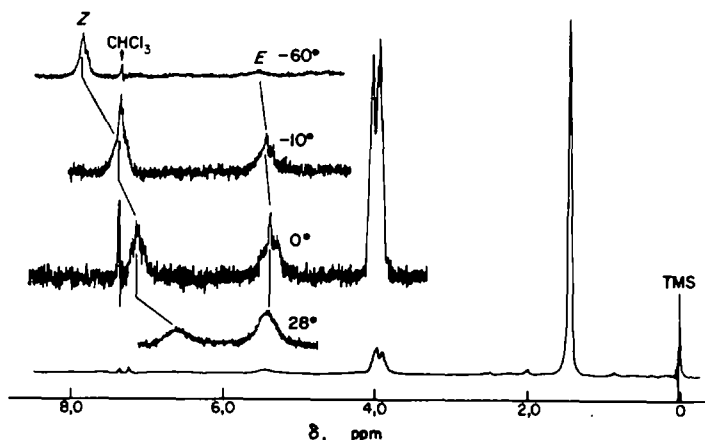


Abb. 1.  $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum von *t*-BOC-Glycin in  $\text{CDCl}_3$  (60 MHz, ohne COOH-Proton).

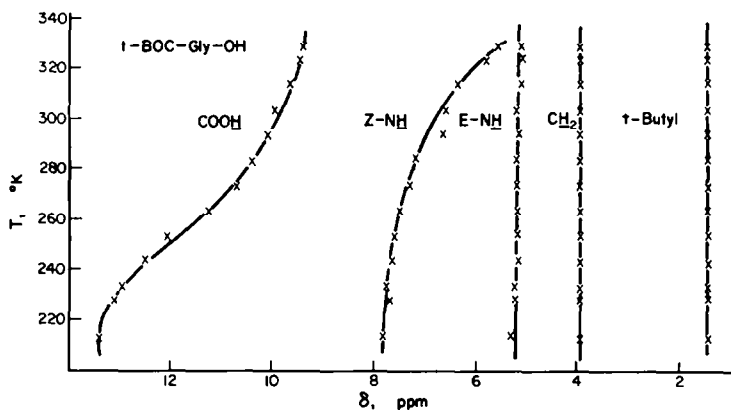


Abb. 2. Chemische Verschiebungen der Protonen von *t*-BOC-Glycin als Funktion der Temperatur (0-22 molar in  $\text{CDCl}_3$ , 90 MHz).

Z-NH-Signal wandert mit steigender Temperatur ebenso wie in  $\text{CDCl}_3$  in das E-NH-Signal und das NH-Signal behält dann eine endliche Breite (18 Hz bei 60 MHz). Die  $\text{C}_\alpha\text{H-NH}$ -Kopplung ist auch bei  $100^\circ\text{C}$  an der Dublettstruktur des  $\text{CH}_2$ -Signals noch erkennbar. Das schliesst einen schnellen Austausch der NH-Protonen als Ursache des Temperaturverhaltens aus.

Beim Abkühlen der  $\text{CDCl}_3$ -Lösung erhalten die NH-Signale eine Triplet-Struktur. Das Signal der Methylengruppe verändert seine Feinstruktur: bei  $-7^\circ\text{C}$  (90 MHz) erkennt man beispielsweise deutlich ein verdoppeltes Dublett (Abb. 3.).

Aus dem Intensitätsverhältnis, der Grösse der Aufspaltung und durch Entkopplung der NH-Signale lässt sich beweisen, dass das Z-NH-Signal mit dem Hochfeld- $\text{CH}_2$ -Dublett und das E-NH-Signal mit dem Tieffeld- $\text{CH}_2$ -Dublett koppelt. Die Kopplungskonstanten betragen für das Z-NH-Signal  $^3J = 4.0$  Hz, für das E-NH-Signal  $^3J = 5.5$  Hz (Deutung s.u.).

Das  $^1\text{H}$ -entkoppelte  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum von *t*-

BOC-Glycin in  $\text{CDCl}_3$  zeigt beim Abkühlen eine Verdoppelung der Signale. Lediglich die Methylgruppen des *t*-BOC-Substituenten spalten nicht auf (Abb. 4.).

Die temperaturabhängige Änderung des Intensitätsverhältnisses erlaubt durch den Vergleich mit den Protonenspektren eine eindeutige Signaluordnung zu den Rotameren. Beim Erwärmen über  $+35^\circ\text{C}$  ist eine Koaleszenz aller verdoppelten C-Signale erkennbar.

Die Kinetik der Rotation um die partielle CN-Doppelbindung wurde im Spektrum des H/D-ausgetauschten *t*-BOC-Glycin in  $\text{CDCl}_3$  untersucht. Beim Abkühlen unterhalb  $+14^\circ\text{C}$  spaltet das  $\text{CH}_2$ -Signal in zwei durch die  $\text{C}_\alpha\text{H-ND}$ -Kopplung etwas verbreiterte Singulets auf, die bei weiterem Abkühlen aufeinander zuwandern. Die auf den Koaleszenzpunkt extrapolierte chemische Verschiebung ohne Austausch ( $\Delta\nu$ ) beträgt 4.5 Hz. Nach dem üblichen Verfahren<sup>5-7</sup> erhält man  $\Delta G^\ddagger$  zu 15.4 kcal/mol. Auf eine Linienformanalyse wurde wegen der geringen Aufspaltung verzichtet. Die

Grösse der Barriere entspricht einer Rotation um die Urethanbindung.<sup>6,8-10</sup> Zum Vergleich haben wir die Barriere in *t*-BOC-Sarcosin anhand der Aufspaltung der *t*-Butylgruppe und der CH<sub>2</sub>-Gruppe in CDCl<sub>3</sub> bestimmt (s. Tabelle 2).

In allen Fällen beobachtet man einen  $\Delta G^\ddagger$  Wert von 15–16 kcal/mol, der in Übereinstimmung mit den Erwartungen einige kcal/mol geringer ist, als der  $\Delta G^\ddagger$  Wert für die Rotation um eine Amidbindung.<sup>6,8</sup>

Die beiden Rotameren um die Urethanbindung haben verschiedene Möglichkeiten zur Ausbildung inter- und intramolekularer Wasserstoffbrücken. Als Wasserstoffbrücken-Donatoren können die COOH- und die NH-Gruppe in Betracht kommen,

während die Carboxyl- und die Urethan-Carbonyl-Gruppe als Acceptoren dienen können. Damit ergeben sich für jedes Rotamere vier Kombinationen (A-D):

	Donator	Acceptor
A	COOH	COOH
B	COOH	Urethan-Carbonyl
C	Urethan-NH	COOH
D	Urethan-NH	Urethan-Carbonyl

Solange die Carboxylgruppe nicht zu einer anderen H-Brückenbildung benötigt wird, haben wir in dem von uns untersuchten Konzentrationsbereich (0.1 bis 1 molar) die übliche Dimerisierung der Carbonsäuren (A) anzunehmen.

Es ist bekannt, dass Urethanbindungen im Gegensatz zu Peptidbindungen nicht zu Wasserstoffbrückenbildung neigen.<sup>11</sup> Die Alternative D, die für die *E*-Konformation ohne Berücksichtigung der Carbonsäuredimerisierung A zu cyclischen Dimeren und für die *Z*-Konformation zu Polymeren führen sollte, ist nach unserer Meinung daher auszuschliessen.

Eine zur Möglichkeit C analoge Wasserstoffbrücke, die intermolekular zur Bildung eines 5-Ringes führen sollte, wurde von Néel in Dipeptiden diskutiert.<sup>12</sup>

Sie wäre jedoch für beide Rotameren um die Urethanbindung (*Z* und *E*) gleichberechtigt, während wir aus dem NMR-Spektrum nur eine H-Brücke aus der Tieffeldverschiebung eines NH-Signals entnehmen können. Der relativ große Un-

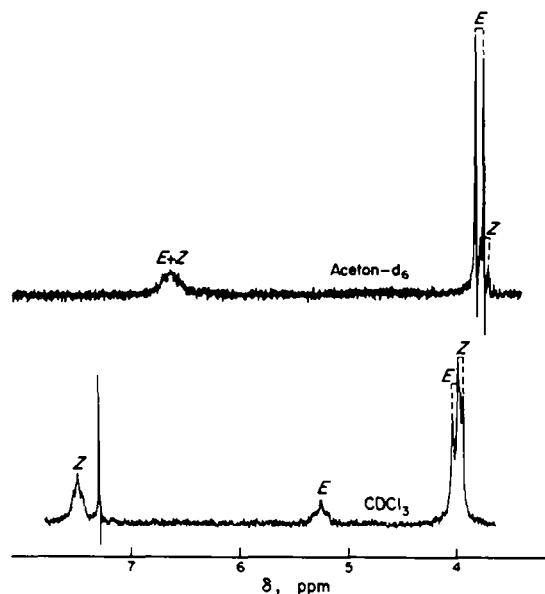


Abb. 3. *t*-BOC-Glycine in CDCl<sub>3</sub> und CD<sub>3</sub>COCD<sub>3</sub> bei -7°C (90 MHz) im Bereich von 3.5 bis 8.0 ppm.

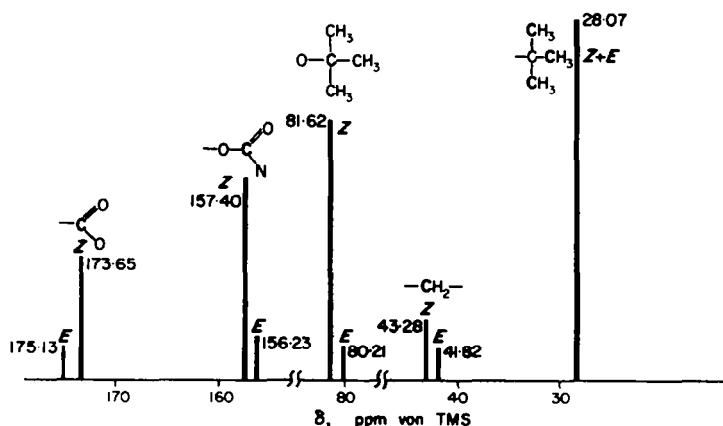
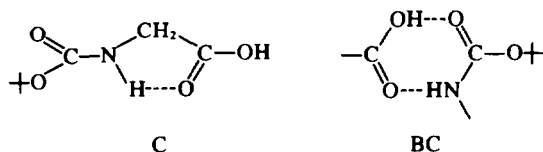
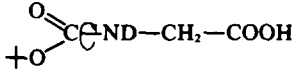
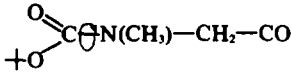
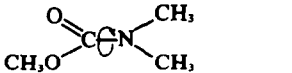
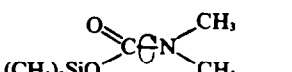


Abb. 4. <sup>13</sup>C-FT-NMR-Spektrum von *t*-BOC-Glycine in CDCl<sub>3</sub> bei -19°C.

Tabelle 2. Rotationsbarrieren um Urethanbindungen in  $\text{CDCl}_3$ .

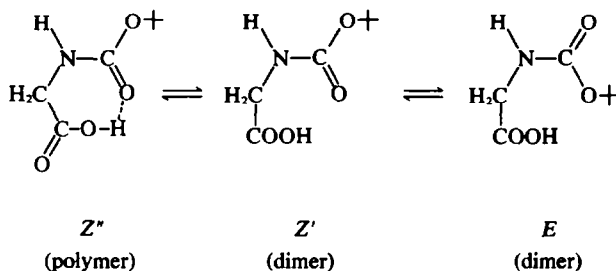
	Signal	$\Delta\nu$ [Hz]	Tc [°C]	$\Delta G^\ddagger$ [kcal/Mol]	Literatur
	$\text{CH}_2$	4.5	+14	15.4	diese Arbeit
	t-Bu $\text{CH}_2$	4.5 7.0	+23 +32	16.0 16.1	diese Arbeit
	$\text{CH}_3$	3.7	+10	14.8	9
	$\text{CH}_3$	16	+5	15.8	10

terschied der chemischen Verschiebung der beiden NH-Signale wäre nach diesem Modell kaum verständlich.

Eine intermolekulare Assoziation BC, in der gleichzeitig zwei H-Brücken gebildet werden, führt zu einer Stabilisierung der *E*-Konformation.<sup>3</sup> Wir nehmen aber an, dass eine cyclische 7-Ring-Konformation *Z''* im *Z*-Rotameren bei tiefer Temperatur vorliegt (Wasserstoffbrücke B).

man für die  $\text{CH}_2$ -Gruppe in der cyclischen *Z''*-Form eine Hochfeldverschiebung gegenüber der *E*-Form. Damit müsste man auch das Tieffeld-NH-Signal der *Z''*-Form zuordnen (s.o.). Die Aufspaltung der  $\text{CH}_2$ -Signale ist allerdings sehr klein.

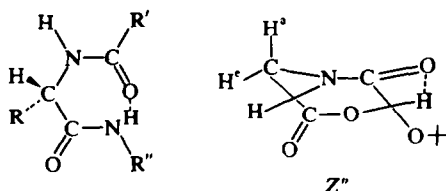
2. Die Kopplungskonstante des Tieffeld-NH-Signals beträgt bei  $-7^\circ\text{C}$  4.0 Hz. Für die cyclische Konformation berechnet man nach dem Dreiding-



Diese Konformation *Z''* entspricht der gefalteten Dipeptidenstruktur,<sup>11,13</sup> lediglich die *t*-Butyloxygruppe und die OH-Gruppe der Carbonsäure sind varriert.

Modell unter Zugrundelegung der für  $\text{C}_2\text{H}_5$ -NH-Kopplung modifizierte Karpluskurve<sup>11,15-18</sup>

$$\begin{aligned} \text{H}^a: \theta = 95^\circ \quad {}^3J &= 0.6 \text{ Hz} \\ \text{H}^c: \theta = 25^\circ \quad {}^3J &= 7.8 \text{ Hz} \end{aligned}$$



Für die Annahme der cyclischen Struktur, die zu einer entgegengesetzten Zuordnung der *Z,E*-Isomeren wie die BC-Struktur<sup>3</sup> führt, sprechen folgende Argumente:

1. Bei Zugrundelegung des Paulsenschens Modells der Anisotropie der Amidgruppe<sup>14</sup> erwartet

Als Mittelwert ergibt sich  ${}^3J = 4.2$  Hz, bzw. unter Korrektur für das Glycin  ${}^3J = 4.1$  Hz.<sup>16</sup> Dieser Wert liegt nahe bei dem beobachteten, der allerdings nach weiter unten zu besprechenden Argumenten einen Mittelwert von ca 70% cyclischer Form *Z''* neben ca 30% acyclischer *Z'*-Form darstellt. Bei der Struktur "BC" erwartet man wegen der nicht wesentlich gehinderten Rotation um die N-C $\alpha$ -Bindung eine eher gemittelte, deutlich grössere Kopplungskonstante.<sup>11</sup> Dies zeigt sich beispielsweise bei der gegenüber in Chloroform deutlich grösseren Kopplungskonstante für die *Z*-Konformation in Aceton- $d_6$  oder Acetonitril- $d_3$  (s.u.).

3. Die Energieverhältnisse bei *t*-BOC- $\beta$ - und

- $\gamma$ -Aminocarbonsäuren unterscheiden sich von denjenigen der *t*-BOC- $\alpha$ -Aminosäuren durch kleinere Entropien.<sup>19</sup> Dies kann für die Cyclisierung der *t*-BOC- $\alpha$ -Aminosäuren nach dem Schema  $Z' \rightarrow Z''$  erwartet werden; dieser Effekt sollte jedoch bei der Konformation "BC" nicht auftreten.

Bei der Cyclisierung  $Z' \rightarrow Z''$ , die NMR-spektroskopisch nicht *direkt* beobachtbar ist, weil dieser Prozess zu schnell verläuft, muss die Energie zur Spaltung der dimeren Carbonsäurestruktur aufgebracht werden.

Andererseits wird in der cyclischen  $Z''$ -Form das NH saurer und die Carbonylgruppe des Säurerestes basischer sein, so dass nun die Möglichkeit zur Polymerisation besteht. Bezogen auf jedes Molekül werden damit zwei H-Brücken in der  $Z''$ -Form, jedoch jeweils nur eine H-Brücke in der *E*- und in der  $Z'$ -Form (Carbonsäuredimere) gebildet. Die Polymerisation von  $Z''$  erklärt zwanglos die stark negative Entropie der *Z*-Konformation im Vergleich zur *E*-Konformation.

Die hier angeführten Argumente werden durch die Messungen in anderen Lösungsmitteln unterstützt. In Acetonitril, einem polaren, aprotischen Solvens, werden Wasserstoffbrücken ungünstiger. Die <sup>1</sup>H-NMR-Messungen zeigen dementsprechend nur eine geringe Tieffeldverschiebung beider NH-Signale beim Abkühlen und die *E*-Form überwiegt im Gleichgewicht.

Das *Z,E*-Isomerenverhältnis bei  $-35^\circ\text{C}$  beträgt in  $\text{CD}_3\text{CN}$  30:70, in  $\text{CDCl}_3$  dagegen 90:10. Die Zuordnung der Signale erfolgte durch Zugabe steigender Acetonitrilmengen zur Chloroformlösung (Abb. 5). Das Signal für die *Z*-Konformation in  $\text{CD}_3\text{CN}$  sollte überwiegend der acyclischen  $Z'$ -Form zukommen (Kopplungskonstante  $^3J_{\text{C,H-NH}} = 6$  Hz). Die starke Tieffeldverschiebung des *Z*-Signals beim Abkühlen in  $\text{CDCl}_3$  führen wir demgemäß auf die Cyclisierung  $Z' \rightarrow Z''$  und die damit verbundene Assoziation zurück. Unter der vereinfachten Annahme, dass die chemische Verschiebung der acyclischen  $Z'$ -Form in  $\text{CDCl}_3$  und in Acetonitril gleich sind, würde sich damit der Anteil der  $Z''$ -Form aus dem Grad der Tieffeldverschiebung in  $\text{CDCl}_3$  bestimmen lassen.

Eine quantitative Abschätzung der Tieffeldverschiebung ( $\delta_Z = 7.8$  ppm = Grenzwert bei tiefer Temperatur in  $\text{CDCl}_3$ ) ergibt thermodynamische Werte des  $Z', Z''$ -Gleichgewichtes ( $\Delta H^\circ \approx -6$  kcal/mol und  $\Delta S^\circ \approx -23$  Clausius), die überraschend gut mit den oben angeführten Daten für das *Z,E*-Gleichgewicht übereinstimmen. Damit zeigt sich, dass die  $Z' \rightarrow Z''$  Cyclisierung den stabilisierenden Faktor für 2 bei tiefer Temperatur darstellt.

In Aceton- $d_6$  beobachtet man ein ähnliches Verhalten wie in Acetonitril- $d_3$ . Bei successivem Zusatz von Deuteroaceton zur  $\text{CDCl}_3$ -Lösung von *t*-BOC-Glycin bei  $+10^\circ\text{C}$  wandern die NH-Signale aufeinander zu. Die Intensität des *Z*-NH-Signals

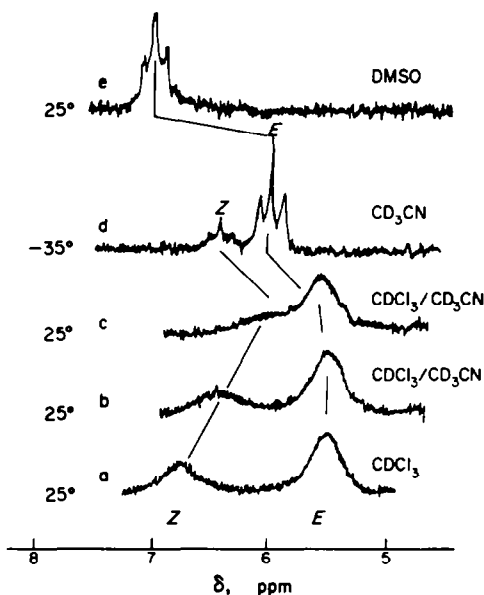


Abb. 5. <sup>1</sup>H-NMR-60 MHz-Spektrum von *t*-BOC-Glycin im Bereich von 4.5 bis 7.5 ppm gemessen in verschiedenen Lösungsmitteln (in der Reihenfolge a, b, c steigende Menge Acetonitril- $d_3$ ).

nimmt dabei ab. In reinem Aceton- $d_6$  findet man nur ein NH-Signal bei  $\delta = 6.25$  ppm, das sich beim Abkühlen nach tiefem Feld verschiebt (z.B.  $\delta_{\text{NH}} = 7.13$  bei  $-90^\circ\text{C}$ ). Die Koexistenz beider Urethan Rotameren gibt sich durch die Aufspaltung des  $\text{CH}_2$ -Dubletts zu erkennen (Abb. 3). Eindeutig ist erkennbar, dass die *E*-Konformation überwiegt und dass die Kopplungskonstanten mit  $^3J_{\text{C,H-NH}} = 6.2$  Hz für beide Rotameren gleich sind. Wir schließen daraus, dass in Aceton keine Cyclisierung der  $Z'$ - zur  $Z''$ -Konformation erfolgt. Damit wird auch indirekt das oben angeführte Argument 2 für die von uns vorgeschlagene Cyclisierung gestützt.

Aceton ist ein stärkerer H-Brücken-Acceptor als Acetonitril, wodurch sich die grössere Tieffeldverschiebung des NH-Signals erklärt. Dieser Trend tritt beim stark basischen Dimethylsulfoxid- $d_6$  noch mehr in Erscheinung. Wiederum beobachtet man nur ein NH-Signal, das durch Zumischung von  $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$  zu der  $\text{CDCl}_3$ -Lösung als zur *E*-Form gehörig identifiziert wurde. Die *Z*-Form lässt sich in diesem Lösungsmittel nicht nachweisen. Der hohe Schmelzpunkt des Solvens erlaubt allerdings auch keine Abkühlung unter  $+6^\circ\text{C}$ . Das NH-Signal ist in Dimethylsulfoxid- $d_6$  ( $\delta = 7.0$  ppm bei Normaltemperatur *ca*  $25^\circ\text{C}$ ) noch stärker verschoben als in Aceton- $d_6$ . Dies wird zwanglos durch die stärkere Wasserstoffbrückenbildung des Substrates mit dem Lösungsmittel erklärt.

Tieftemperatur-IR-Messungen sowie osmometrische Molekulargewichtsbestimmungen sollen weiteren Aufschluss über Assoziationen und Konzentrationseffekte geben.

## EXPERIMENTELLER TEIL

Die t-BOC-Derivate der Aminosäuren wurden nach der Methode von Schnabel<sup>20</sup> hergestellt.

Die NMR-Spektren wurden an den Geräten Bruker HX 90 und Varian T 60 gemessen. Die chemischen Verschiebungen sind auf internes TMS bezogen. Die Temperaturen wurden aus dem Linienabstand der Signale einer internen Methanolkapillare bestimmt.<sup>21</sup>

*Danksagung*—Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemischen Industrie für Sachbeihilfen. Herrn G. Soti danken wir für die Durchführung der Messungen am Varian-T 60-Gerät.

## LITERATUR

- <sup>1</sup>R. Garner und W. B. Watkins, *Chem. Commun.* 386 (1969)
- <sup>2</sup>C. M. Deber, F. A. Bovey, J. P. Carver und E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **92**, 6191 (1970)
- <sup>3</sup>J. L. Dimicoli und M. Ptak, *Tetrahedron Letters* 2013 (1970)
- <sup>4</sup>M. Branik, Diplomarbeit, Frankfurt (M), 1972; vorgetragen von einem von uns (H.K.) am 12.6.1973 an der Universität Zürich, ref. *Chimia* **27**, 444 (1973)
- <sup>5</sup>G. Binsch, *Topics in Stereochem.* **3**, 97 (1968)
- <sup>6</sup>H. Kessler, *Angew. Chem.* **82**, 237 (1970); *Angew. Chem. Internat. Edit.* **9**, 219 (1970)
- <sup>7</sup>I. O. Sutherland, *Ann. Rep. NMR Spectroscopy* **4**, 71 (1972)
- <sup>8</sup>T. H. Siddall und W. E. Stewart, *Chem. Rev.* **70**, 517 (1970)
- <sup>9</sup>E. Lustig, W. R. Benson und N. Duy, *J. Org. Chem.* **32**, 851 (1967)
- <sup>10</sup>C. H. Yoder, A. Komoryia, J. E. Kochanowski und F. H. Suydam, *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 6515 (1971)
- <sup>11</sup>V. F. Bystrov, S. L. Portnova, V. I. Tsetlin, V. T. Ivanov und Yu. A. Ovchinnikov, *Tetrahedron* **25**, 493 (1969)
- <sup>12</sup>J. Néel, *Pure a. Appl. Chem.* **31**, 201 (1972)
- <sup>13</sup>S. Mizushima, T. Shimanouchi, M. Tsuboi und T. Arakawa, *J. Am. Chem. Soc.* **79**, 5357 (1957)
- <sup>14</sup>H. Paulsen und K. Todt, *Chem. Ber.* **100**, 3397 (1967)
- <sup>15</sup>V. F. Bystrov, S. L. Portnova, T. A. Balashova, V. I. Tsetlin, V. T. Ivanov, P. V. Kostetzky und Yu. A. Ovchinnikov, *Tetrahedron Letters* 5283 (1969)
- <sup>16</sup>G. N. Ramachandran, R. Chandrasekaran und K. D. Kopple, *Biopolymers* **10**, 2113 (1971)
- <sup>17</sup>V. F. Bystrov, *Uspechi Khimii* **3**, 512 (1972)
- <sup>18</sup>M. Barfield und H. L. Gearhart, *J. Am. Chem. Soc.* **95**, 641 (1973)
- <sup>19</sup>M. Branik und H. Kessler, unveröffentlicht.
- <sup>20</sup>E. Schnabel, *Liebigs Ann. Chem.* **702**, 188 (1967)
- <sup>21</sup>A. L. van Geet, *Analytical Chemistry* **42**, 679 (1970)