

UNTERSUCHUNGEN ZUR STRUKTUR PERJODATOXYDIERTER RIBONUCLEOSIDE UND RIBONUCLEOTIDE

FRITZ HANSSKE UND FRIEDRICH CRAMER

*Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Chemie,
D 3400 Göttingen (Deutschland)*

(Eingegangen am 28 Juni 1976, angenommen am 8 September 1976)

ABSTRACT

Periodate oxidation converted adenosine, guanosine, cytidine, and uridine into the corresponding dialdehydes. No free dialdehydes are present in solution, but several hydrated species occur (i.r. and n.m.r.). In the solid state, the dialdehydes are completely polymerized. The mass molecular peaks corresponding to the free dialdehydes were of very low intensity. The c.d. spectra of adenosine- and cytidine-dialdehyde showed heavily diminished Cotton effects in comparison to the parent nucleosides. For uridine-dialdehyde, the signal intensity of the strongest transition was diminished by about one half, indicating a looser structure allowing free rotation of the base. By contrast, the c.d. signal of guanosine-dialdehyde was increased, indicating self-association of oligomers. The nucleoside-dialdehydes gave, with hydrazides, morpholine derivatives, which possess rigid, stable structures (c.d.).

ZUSAMMENFASSUNG

Adenosin, Guanosin, Cytidin und Uridin wurden mit Perjodat zu den entsprechenden Dialdehyden umgesetzt. I.r.- und N.m.r.-Spektren zeigen, daß in Lösung keine freien Dialdehyde sondern verschiedene hydratisierte Formen vorliegen und daß sie in festem Zustand völlig polymer sind. Die Massenspektren ergeben Molekül-Peaks der freien Dialdehyde von sehr geringer Intensität. Die C.d.-Spektren weisen im Vergleich mit den Nucleosiden bei Adenosin- und Cytidin-Dialdehyd stark verringerte Cotton-Effekte auf, bei Uridin-Dialdehyd ist die Intensität des stärksten Signals etwa auf die Hälfte reduziert. Dies zeigt beweglichere Strukturen an, zum Beispiel mit freier Rotation der Base. Dagegen ist bei Guanosin-Dialdehyd das C.d.-Signal verstärkt, was Assoziation der Oligomeren vermuten läßt. Reaktion der Nucleosid-Dialdehyde mit Hydraziden führt zu Morpholin-Derivaten, die nach ihren C.d.-Spektren starre stabile Strukturen haben.

EINLEITUNG

Schon bald nach der Entdeckung der Perjodatoxydation durch Malaprade¹ erlangte die Spaltung von α -Glycolen zu Aldehyden und Ketonen große analytische

Bedeutung Bedingt durch den quantitativen und einheitlichen Reaktionsverlauf wurde die Perjodat-oxidation zu einer wichtigen Hilfe in der Kohlenhydrat-, Nucleosid-³⁻⁵ und Nucleinsäurechemie⁶. Trotzdem weiß man noch recht wenig über die Reaktionsprodukte, die Dialdehyde.⁷ Phänomenologisch ist schon lange bekannt, daß die Dialdehyde mit großer Sicherheit nicht als solche vorliegen, da ihre I r-Spektren keine Carbonylbanden zeigen⁸⁻¹⁴. Ferner lassen sich auch durch polarographische Studien keine Aldehydgruppen nachweisen^{7,9}. Gegenüber Carbonylreagentien zeigen die Dialdehyde ebenfalls recht unterschiedliche Verhaltensweisen¹⁴⁻¹⁶. Bis heute ist es noch nicht gelungen den freien Dialdehyd eines Zuckers oder Nucleosids aus wässrigen Lösungen zu isolieren, sondern immer nur Substanzen, deren I r-Spektren frei von Carbonylbanden sind^{7,10-12}.

In dieser Arbeit wird über die Darstellung und die spektroskopischen Eigenschaften der durch Perjodat-oxidation erhaltenen Dialdehyde von Adenosin^{14,17}, Guanosin, Cytidin und Uridin berichtet.

ERGEBNISSE

Darstellung der Nucleosid-Dialdehyde — Die Isolierung des Adenosin-Dialdehyds (**5b**) wurde auf die von uns früher beschriebene Weise durchgeführt¹⁴, die begünstigt wird durch die Schwerlöslichkeit des Produktes in kaltem Wasser. Bei der Perjodat-oxidation von Guanosin (**1d**) tritt jedoch nach der Reaktion so starke Gelierung auf, daß sich bei einer Konzentration von 2% ein völlig steifes Gel bildet. Uridin-Dialdehyd (**5h**) dagegen ist sehr leicht wasserlöslich und fällt auch in hoher Konzen-

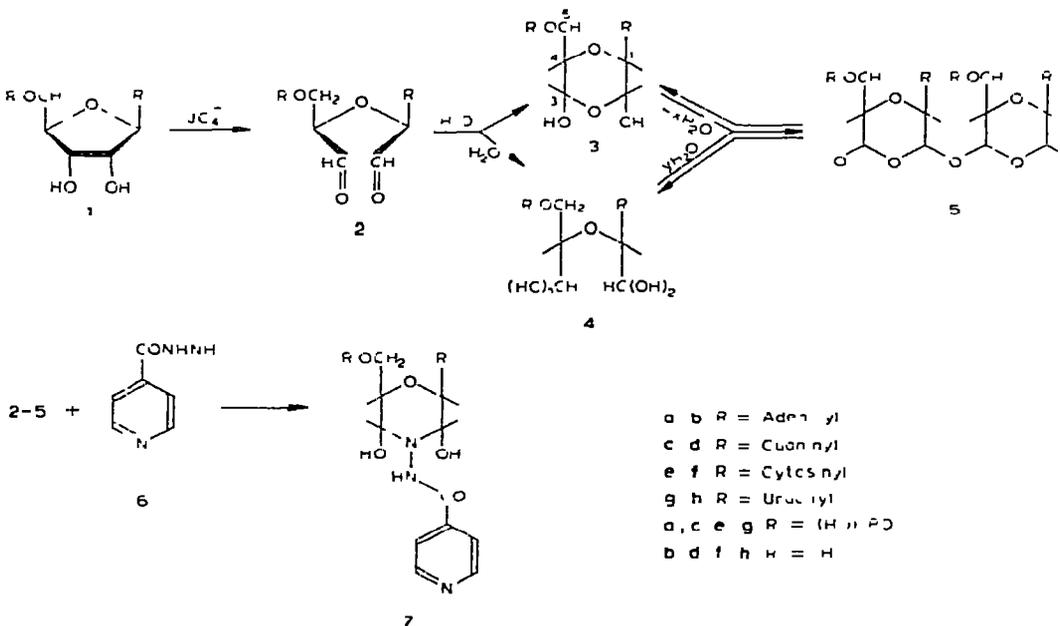


TABELLE I
EIGENSCHAFTEN DER NUCLEOSIDI-DIALDEHYDE

Eigenschaft	Dialdehyd von			
	Adenosin (5a)	Guanosin (5b)	Cytidin (5f)	Uridin (5h)
Formel	$C_{10}H_{11}N_4O_5 \cdot H_2O$	$C_{10}H_{11}N_4O_5 \cdot 2H_2O$	$C_9H_{11}N_3O_4 \cdot 2H_2O$	$C_9H_{10}N_2O_4 \cdot 1,5H_2O$
Mol Gew	283,26	317,26	277,23	269,31
Elementaranalyse ^a				
Ber C	42,20	37,86	38,99	40,15
H	4,63	4,77	5,45	4,87
N	24,70	22,08	15,16	10,41
Gef C	42,24	38,02	38,98	40,48
H	4,73	4,84	5,42	4,92
N	24,67	22,08	15,16	10,20
Dünnschichtchrom ^c (R _F)	0,40, 0,46	0,59, 0,67	0,79, 0,86	0,80, 0,83
UV-Spektren ^e				
λ_{max} (nm)	258	254	278	261
$[\epsilon$ (cm ² /mol)]	(14 560)	(11 690)	(9 250)	(9 670)
λ_{min} (nm)	231,5	280 ^d	242,5	232
$[\epsilon$ (cm ² /mol)]	(5 040)	(6 960)	(1 600)	(2 340)
Nmr-Daten (σ)	8,28 (s, 1H, H-8), 8,19 (s, 1H, H-2), 6,8 (s, 2H, NH ₂), 6,5-5,1 (m, 3H, H-1, H-2', H-3') 4,5-3,5 (m, 3H, H-4, 2 H 5)	In (D ₃ C) ₂ SO unlöslich, in D ₂ O gelöst	7,75 (m, 1H, H-6) 6,07 (d, 1H, J 7,5 Hz, H 5) 6,1-4,9 (m, 3H, H-1, H-2, H-3'), 4,4-3,5 (m, 3H, H 4, 2 H 5)	7,85 (d, 1H, J 8 Hz, H-6), 5,9 (d, 1H, J 8 Hz H-5), 5,9-5,0 (m, 3H, H 1', H 2, H 3'), 4,4-3,5 (m, 3H H-4, 2 H-5)
Lösungsmittel (Temp)	(D ₃ C) ₂ SO (80)	281 (M ⁺ , 4,5°)	D ₂ O (50)	D ₂ O (Zimm Temp)
M _s (mp)	265 (M ⁺ , 4,5°)	281 (M ⁺ , 4,5°)	241 (M ⁺ , 2°)	242 (M ⁺ , 1,5°)

^aB₂l Raumtemperatur 24 h *in vacuo* über P₂O₅ getrocknet / Dünnschichtchromatographie auf Cellulose (Merck) in 0,25M LiCl die erste Zahl gibt die R_F-Werte für die Nucleoside an / In 0,1M Ameisensäure, pH 2,4 / ^dSchulter

tration nicht aus, was bei Cytidin-Dialdehyd (5f) jedoch der Fall ist. Bei allen drei letztgenannten Produkten ist es sinnvoll, die Hauptmenge an Perjodat und Jodat durch Zugabe von Athanol auszufällen. Im Falle von Uridin-Dialdehyd (5h) ist es notwendig in reiner alkoholischer Lösung zu arbeiten. Bei all diesen Aufarbeitungen ist zu bedenken, daß die Dialdehyde in alkoholischer Lösung Halbacetale bilden¹⁸, welche durch Nachbehandlung mit Wasser wieder in die hydratisierten Dialdehyde überführt werden können. Durch Einengen und Gefriertrocknen erhält man die hydratisierten Dialdehyde. Nach Trocknen der Reaktionsprodukte zeigen die Dialdehyde die in Tabelle I angegebenen Hydratisierungsgrade.

Alternativ hierzu wurden die Nucleosid-Dialdehyde mit freier Perjodsäure oxydiert. Zur Entfernung von Perjodsäure und Jodsäure wurde die Reaktionslösung mit einem Anionenaustauscher in der Hydrogencarbonatform behandelt. Da diese Methode bei der Oxydation der 1,5-Anhydroalditole verwendet wurde¹⁹, soll hier nicht näher darauf eingegangen werden.

Die isolierten Festkörper zeigen unter dem Mikroskop einen amorphen Habitus und besitzen die für polymere Substanzen typischen gewölbten Bruchflächen.

Spektren — Wie schon früher für Adenosin-Dialdehyd (5b) gefunden wurde¹⁴, so zeigten auch die übrigen Produkte in ihren I r -Spektren kein Anzeichen für eine

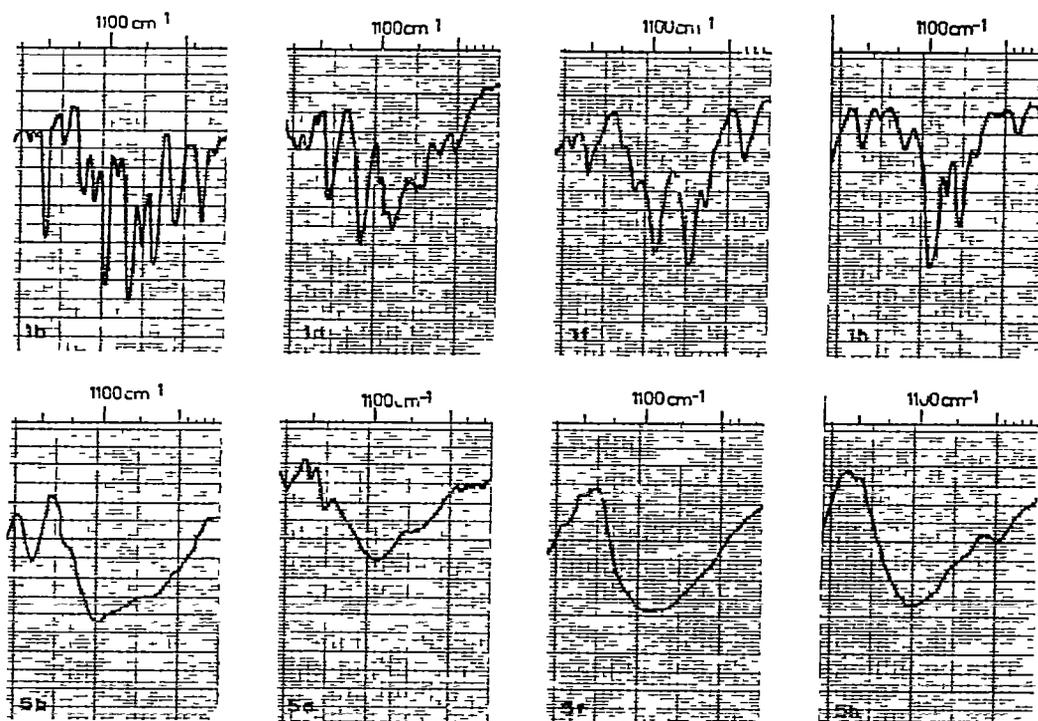


Abb 1 I r -Spektren der Nucleoside Adenosin (1b), Guanosin (1d), Cytidin (1f) und Uridin (1h) [oben], und der entsprechenden Nucleosid-Dialdehyde 5b, 5d, 5f und 5h [unten]

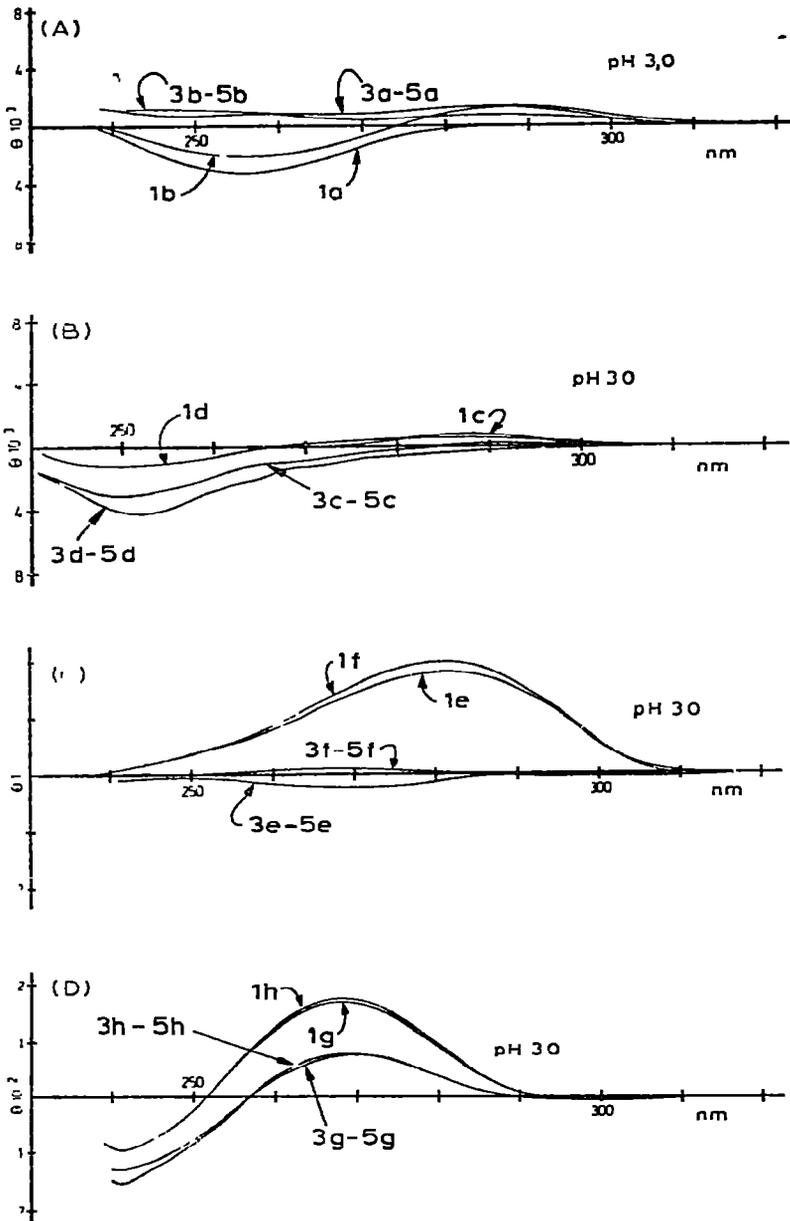


Abb 2 C d-Spektren in 0,1M Natriumformiat-Puffer (pH 3,0) von (A) Adenosin (1b) Adenosin-Dialdehyd (3b-5b), AMP (1a) und AMP-Dialdehyd (3a-5a) (B) Guanosin (1d), Guanosin-Dialdehyd (3d-5d), GMP (1c) und GMP-Dialdehyd (3c-5c) (C) Cytidin (1f), Cytidin Dialdehyd (3f-5f), CMP (1e) und CMP-Dialdehyd (3e-5e) (D) Uridin (1h), Uridin-Dialdehyd (3h-5h), UMP (1g) und UMP-Dialdehyd (3g-5g)

Carbonylgruppe ($\sim 1725\text{ cm}^{-1}$) bzw. Absorptionen für Aldehydprotonen (~ 2855 , 2740 cm^{-1}). Dagegen werden bei allen Dialdehyden starke, für polymerisierte Dialdehyde charakteristische breite Banden um 1100 cm^{-1} beobachtet, die von Ätherbindungen C-O-C herrühren und die Feinstrukturlinien der Nucleoside in diesem Bereich überlagern (Abb. 1, 5b, 5d, 5f und 5h).

Führt man die Perjodatoxydation der Ribonucleoside und -nucleotide in Deuteriumoxyd durch und nimmt anschließend ihre N.m.r.-Spektren auf, so können keine Signale erhalten werden, die auf Aldehydprotonen schließen lassen. Die N.m.r.-Spektren der isolierten Nucleosid-Dialdehyde lassen ebenfalls keine Aldehydgruppen erkennen. Infolge der Zerstörung der Asymmetriezentren an C-2' und C-3' tritt im Bereich der Zuckerprotonen eine sehr starke Verbreiterung der Signale auf, da durch Acetalisierung bzw. Cyclisierung vier neue Isomere entstehen können, die für diese Strukturvielfalt verantwortlich sind. Die von der D-Ribose stammenden Protonen waren gegenüber den Protonen ihrer Ausgangsnucleoside generell zu niedrigeren Feldstärken verschoben. Beim Vorliegen der geöffneten Strukturen 2 und 4 sollten dagegen scharfe Signale erhalten werden, da hier keine neuen Isomeriezentren vorliegen.

Im Gegensatz zu den bisher besprochenen spektroskopischen Untersuchungen erhält man von den Perjodatoxydationsprodukten unter massenspektroskopischen Bedingungen ($> 200^\circ$, 10^{-6} Torr) Molekülsignale für die freien Dialdehyde von sehr geringer Intensität (1,5–4,5%) bezogen auf das Basissignal, repräsentiert durch die jeweilige Base (Tabelle I).

Die U.v.-Spektren der Dialdehyde in wässrigen Lösungen geben ebenfalls keine Hinweise auf freie Carbonylgruppen und zeigen gegenüber den Nucleosiden keine wesentlichen Veränderungen an (Tabelle I).

Vergleicht man dagegen die C.d.-Spektren der Ribonucleoside und Ribo-

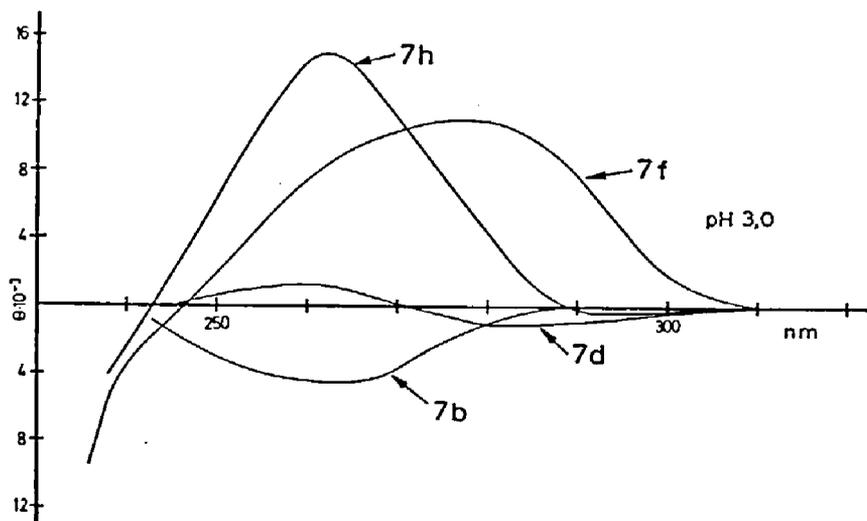


Abb. 3. C.d.-Spektren der Morpholin-Derivate 7b, 7d, 7f und 7h, in 0,1M Natriumformiat-Puffer (pH 3,0).

nucleotide mit ihren perjodatoxydierten Produkten, so wurde ein fast völliges Erlöschen der C.d.-Signale nach der Spaltung der 2',3'-Bindungen bei Adenosin-5'-phosphat-Dialdehyd (3a-5a), Adenosin-Dialdehyd (3b-5b), Cytidin-5'-phosphat-Dialdehyd (3e-5e) und Cytidin-Dialdehyd (3f-5f) (Abb. 2) beobachtet. Bei Uridin-5'-phosphat-Dialdehyd (3g-5g) und Uridin-Dialdehyd (3h-5h) fiel das Hauptsignal um etwa die Hälfte ab, während bei Guanosin-5'-phosphat-Dialdehyd (3c-5c) und Guanosin-Dialdehyd (3d-5d) ein verstärkter negativer Cotton-Effekt beobachtet werden konnte.

TABELLE II

DÜNNSCHICHTELEKTROPHORESE VON RIBONUCLEOSIDEN UND -NUCLEOTIDEN UND DEN DURCH PERJODATOXYDATION ERHALTENEN DIALDEHYDEN^a

<i>Verbindung</i>	<i>Relative Mobilität bezogen auf 2g-5g</i>
AMP (1a)	0,24 (+)
2a-5a	0,79 (+)
GMP (1c)	0,35 (+)
2c-5c	0,79 (+)
CMP (1e)	0,23 (+)
2e-5e	0,77 (+)
UMP (1g)	0,48 (+)
2g-5g	1,0 (+)
	<i>Relative Mobilität bezogen auf 1f</i>
Adenosin (1b)	0,56 (-)
2b-5b	0,56 (+)
Guanosin (1d)	0,41 (-)
2d-5d	0,84 (+)
Cytidin (1f)	1,0 (-)
2f-5f	0,36 (+)
Uridin (1h)	0,59 (-)
2h-5h	0,94 (+)

^aIn 0,1M Natriumhydrogensulfit-Puffer^{2,3} (pH 4,7).

TABELLE III

DÜNNSCHICHTELEKTROPHORESE DER MORPHOLINDERIVATE 7a-7h^a

<i>Derivat</i>	<i>Relative Mobilität^b</i>
7a	0,1 (-)
7c	0,03 (+)
7e	0,23 (-)
7g	0,19 (+)
7b	0,39 (-)
7d	0,27 (-)
7f	0,75 (-)
7h	0,33 (-)

^aIn 0,1M Natriumformiat-Puffer (pH 3,5) auf Cellulose (Merck). ^bBezogen auf 6 [1,0 (-)].

Reaktion der Nucleosid-Dialdehyde mit Hydraziden und Hydrogensulfit — Bringt man die Dialdehyde mit einem Carbonsäurehydrazid, z B Isonicotinsäurehydrazid (6), zur Reaktion, so werden Morpholinderivate (7) gebildet, die eine definierte Struktur besitzen^{14,17 20} Diese Fixierung einer bestimmten Struktur macht sich deutlich in den C d-Spektren bemerkbar (Abb 3) Im Gegensatz zu den Carbonsäurehydraziden reagieren die Dialdehyde mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin zu den Dihydrazonen¹⁵ Wie aus den dunnschichtelektrophoretischen Daten hervorgeht, bilden die hydratisierten Dialdehyde Hydrogensulfitaddukte wie die normalen aliphatischen Aldehyde (Tabelle II)

DISKUSSION

Die hier wiedergegebenen Ergebnisse decken sich mit der bekannten Tatsache, daß aliphatische Dialdehyde in Gegenwart von Wasser sehr leicht polymerisieren²¹ Jungste N m r.-Untersuchungen an Glutardialdehyd²² und dem Perjodatoxydationsprodukt von 1,5-Anhydropentitol¹⁹ bestätigen dies ebenfalls So liegt Glutardialdehyd bei 25° zu 85% in cyclischen Formen vor, die durch konzentrationsabhängige Gleichgewichte miteinander verbunden sind²² Im Fall der 1,5-Anhydropentitole wird nach der Perjodatspaltung ein Sirup isoliert, der polymerisiert ist und infolgedessen keine Reaktionen mit *p*-Nitrobenzoylchlorid und 2,4-Dinitrophenylhydrazin gibt¹⁹

Fasst man die geschilderten Ergebnisse zusammen, so ergibt sich folgendes Bild: Bringt man das *cis*-Diol des D-Ribosids (1) mit Perjodat, so hydratisiert der entstehende Dialdehyd (2) sofort unter Bildung von Hemiacetalhydrat (3), wenig dihydratisiertem Dialdehyd (4) und Oligo- bzw Polymeren (5), wobei 3 und 5 durch die Bildung von Sechsringen energetisch begünstigt sein durften Das Vorliegen derartiger Strukturen erklärt auch die Abwesenheit von Aldehydgruppen in der Lösung (N m r) wie im festen Zustand (I r) Im festen Zustand liegt ausschließlich 5 vor, da die isolierten Produkte im Hochvakuum bei 80° ihr Kristallwasser verlieren und formale Elementaranalysen für die freien Dialdehyde geben, ihre I r- und N m r-Spektren aber unverändert bleiben Zwischen den einzelnen Formen 3, 4 und 5 bestehen Gleichgewichte, die von Temperatur, pH und Konzentration abhängig sind Die Löslichkeit nimmt mit steigender Temperatur und mit fallendem pH-Wert zu, und bei erhöhter Konzentration verschiebt sich das Gleichgewicht zu Gunsten von 5

EXPERIMENTELLER TEIL

Allgemeine Methoden — Für die Dunnschichtelektrophorese wurde die Apparatur von Desaga (Heidelberg) verwendet Die U v-Spektren wurden mit einem Shimadzu UV-200 aufgenommen, die Extinktionswerte an einem Zeiss PMQ II Spektrophotometer bestimmt Für die Aufnahme der N m r-Spektren wurde das Gerät Bruker HX-60 verwendet, sie erfolgte, wenn nicht anders angegeben, bei 23° In [²H₆]MeSO wurde Me₄Si, in D₂O Natrium ([2,2,3,3-²H₄]trimethylsilyl)propionat

als interner Standard verwendet. Die Massenspektren wurden an einem MS-9-Gerät (AEI) aufgenommen (GMBF, Braunschweig-Stockheim). Die C d -Spektren wurden mit einem Cary 61-Spektrometer bei 23° aufgenommen.

Adenosin-Dialdehyd (5b) — Natrium-metaperjodat (9,72 g, 45,48 mmol) wird in Wasser (150 ml) gelöst. Unter Eiskühlung und Rühren gibt man portionsweise Adenosin (12,15 g, 45,46 mmol) zu, welches dabei vollständig in Lösung geht. Nach 15 min wird das Kältebad entfernt und bei Raumtemperatur 6 h weitergerührt. Der weiße Niederschlag wird abgenutscht und mit Eiswasser jodatfrei (Jodatprobe $\text{JO}_3^- + 5\text{J}^- + 6\text{H}^+ \rightarrow 3\text{J}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$) gewaschen. Durch Konzentration der Mutterlauge *in vacuo* bei 25–30° auf 100 ml kann eine weitere Fraktion gewonnen werden (Ausbeute 10,6 g, 88%), (s. Tabelle I).

Guanosin-Dialdehyd (5d) — In Wasser (1000 ml) wird Natrium-metaperjodat (2,1 g, 10 mmol) gelöst und anschließend unter Rühren Guanosin (2,83 g, 10 mmol) zugesetzt. Nach 4–5 h Reaktionszeit bei Raumtemperatur ist die Lösung klar geworden und man bewahrt den Ansatz 24 h bei 4° auf. Nach Konzentration der Lösung *in vacuo* bei 25–30° auf ~300 ml setzt man Athanol (1000 ml) zu und fällt somit den größten Teil der anorganischen Salze aus. Der Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat *in vacuo* bei 25–30° auf 50 ml eingeeengt und über eine Ion-Retardation-Resin-Säule (20 × 6 cm, AG 11 A-8, 50–100 mesh, Bio-Rad) gegeben. Falls die Lösung zu gel-artig ist, verflüssigt man etwas durch Alkoholzugabe. Die jodatreien Eluate (Jodatprobe) werden eingeeengt und mehrfach unter den oben genannten Bedingungen mit Wasser eingeeengt. Das Guanosin-Dialdehyd geliert dabei aus und wird lyophilisiert (Ausbeute 2,4 g, 76%), (s. Tabelle I).

Cytidin-Dialdehyd (5f) — In Wasser (100 ml) wird Natrium-metaperjodat (4,87 g, 22,75 mmol) gelöst und im Dunkeln unter Eiskühlung und Rühren portionsweise mit Cytidin (5,33 g, 22,75 mmol) versetzt. Nach 15 min wird das Kühlbad entfernt und der Reaktionsansatz über Nacht bei Raumtemperatur aufbewahrt. Danach fugt man Athanol (200 ml) hinzu, wobei der größte Teil des Natriumjodats ausgefällt wird. Die verbleibende Lösung wird *in vacuo* bei 25–30° auf 30 ml eingeeengt und 4 h bei 4° aufbewahrt. Der weiße Niederschlag wird abgesaugt und mit wenig kaltem Wasser jodatfrei gewaschen (Ausbeute 4,6 g, 73%) (s. Tabelle I).

Uridin-Dialdehyd (5h) — In Wasser (80 ml) wird Natrium-metaperjodat (9,0 g, 42 mmol) gelöst und unter Eiskühlung mit Uridin (9,77 g, 40 mmol) versetzt. Nach 15 min wird die Kühlung entfernt und der Reaktionsansatz 6 h bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschließend kühlt man 2 h bei 0° und saugt das dabei ausfallende Natriumjodat ab. Über Nacht fällt bei 4° eine weitere Jodatfraktion aus. Durch diese Ausfällung werden 7,4 g (89%) Jodat entfernt. Zur Mutterlauge gibt man etwa das gleiche Volumen Athanol. Der sich bildende Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat *in vacuo* bei 20–30° auf 30–40 ml eingeeengt und mit dem gleichen Volumen Äthanol versetzt. Nach zwei Tagen Aufbewahrung bei 4° wird abgesaugt und die Lösung fast bis zur Trockne *in vacuo* eingeeengt. Der Rückstand wird in Athanol (150 ml) aufgenommen und ~ eine Woche bei 4° aufbewahrt. Nach Filtration durch ein feines analytisches Filter wird stark eingeeengt und in Wasser (100 ml)

aufgenommen, auf 50° erwärmt und *in vacuo* eingeengt. Zweimal wird noch in Wasser (70 ml) aufgenommen und *in vacuo* stark eingeengt. Anschließend erfolgt Lyophilisation (Ausbeute 6,7 g, 62%), (s. Tabelle I)

Stammlösungen perjodatoydierter Nucleoside und Nucleotide — Für Untersuchungen im analytischen Maßstab verwendet man 10mm Lösungen perjodatoydierter Nucleoside. Diese werden durch die Reaktion äquimolarer Mengen Perjodat mit dem entsprechenden Nucleosid dargestellt (Tabelle II). Im Falle der perjodatoydierten Nucleotide vereinnigt man bei Bedarf gleiche Volumina 20mm Nucleoldlösung und 20mm Natriumperjodatlösung und bewahrt die Lösung bei 4° auf (Tabelle II)

Reaktion perjodatoydierter Nucleoside mit Hydraziden im analytischen Maßstab — Äquivalente Mengen der oben beschriebenen 20mm Nucleosid- oder Nucleotid-Dialdehyd-Lösungen werden mit einer 20mm Lösung von Isonicotinsäurehydrazid zur Reaktion gebracht. Nach 4 h Reaktion bei 23° wird dunnschicht-elektrophoretisch in den Systemen Cellulose(Merck)-0,1M Ammoniumformiatpuffer (pH 3,5) und Silicagel (Woelm)-0,1M Natriumcitratpuffer (pH 6,5) aufgetrennt (Tabelle III). Nach Elution der Reaktionsprodukte mit 0,1M Natriumformiatpuffer konnten so die in Abb. 3 wiedergegebenen Cd-Spektren erhalten werden. Bei Verwendung saurer Hydrazidlösungen wird die jodathaltige Lösung vor der Zugabe des Hydrazids mit einem aminfreien Puffer auf pH 6-7 eingestellt (im stärker sauren Bereich wird das Hydrazid durch Jodat zur Carbonsäure umgesetzt)

LITERATUR

- 1 L. MALAPRADE, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 43 (1923) 683-693
- 2 P. KARRER UND T. HIROHATA, *Helv. Chim. Acta*, 16 (1933) 959-962
- 3 J. DAVOLL, B. LYTGOE UND A. R. TODD, *J. Chem. Soc.*, (1946) 833-839
- 4 F. W. LICHTENTHALER, *Angew. Chem.*, 76 (1964) 84-97
- 5 F. W. LICHTENTHALER UND H. ZINKE, *J. Org. Chem.* 37 (1972) 1612-1621
- 6 P. WHITFIELD UND R. MARKHAM, *Nature (London)* 171 (1953) 1151-1152
- 7 R. D. GUTHRIE, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 16 (1961) 105-158
- 8 J. W. ROWEN, F. H. FORZIATI UND R. E. REEVES, *J. Am. Chem. Soc.*, 73 (1951) 4484-4487
- 9 C. D. HURD, P. J. BAKER, JR., R. P. HOLYSZ UND W. H. SANDERS, JR., *J. Org. Chem.*, 18 (1953) 186-191
- 10 J. M. BOBBITT, *Adv. Carbohydr. Chem.*, 11 (1956) 1-41
- 11 R. D. GUTHRIE UND J. HONEYMAN, *J. Chem. Soc.*, (1959) 2441-2448
- 12 R. D. GUTHRIE, *Methods Carbohydr. Chem.*, 1 (1962) 445-447
- 13 J. ELTING, C.-C. HUANG UND R. MONTGOMERY, *Carbohydr. Res.* 28 (1973) 387-389
- 14 F. HANSSKE, M. SPRINZL UND F. CRAMER, *Bioorg. Chem.*, 3 (1974) 367-376
- 15 J. A. KHYM UND W. E. COHN, *J. Am. Chem. Soc.*, 82 (1960) 6380-6386
- 16 F. HANSSKE UND F. CRAMER, *Carbohydr. Res.*, 41 (1975) 366-369
- 17 F. HANSSKE, Dissertation Technische Universität Braunschweig (1976)
- 18 Z. FIALKIEWICZOWA UND M. KALMANOVA, *Rocz. Chem. A*, 41 (1967) 51-60
- 19 H. R. GREENBERG UND A. S. PERLIN, *Carbohydr. Res.* 35 (1974) 195-202
- 20 F. HANSSKE UND F. CRAMER, in Vorbereitung
- 21 A. W. JOHNSON, C. E. DALGLIESH, W. E. HARVEY UND C. BUCHANAN, in E. H. RODD (Ed.), *Chemistry of Carbon Compounds*, Vol. 1A, Elsevier, Amsterdam, 1951, S. 715
- 22 A. H. KORN, S. H. FEARHELLER UND E. M. FILACHIONE, *J. Mol. Biol.*, 65 (1972) 525-529
- 23 O. THEANDER, *Acta Chem. Scand.* 11 (1957) 717-723