266. Über Pterinchemie

79. Mitteilung[1])

^{13}C- und ^{15}N-NMR.-spektroskopische Untersuchungen an der (6*RS*)-5,10-Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-L-folsäure[2]); eindeutiger Beweis ihrer Struktur

von **Roger Kalbermatten**[3]), **Werner Städeli, Jost H. Bieri** und **Max Viscontini**

Organisch-chemisches Institut der Universität, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

(7.X.81)

^{13}C- and ^{15}N-NMR.-Spectroscopic Studies on (6*RS*)-5,10-Methylene-5,6,7,8-tetrahydro-L-folic Acid; Unequivocal Proof of their Structure

Summary

The existence of a 5,10-methylene bridge in the title compound has been established with the help of ^{15}N-NMR. and ^{13}C-NMR. spectroscopy. The simultaneous coupling of $^{13}C(11)$ with $^{15}N(5)$ and $^{15}N(10)$ proves that C(11) must be bound as a methylene bridge to both N-atoms. Some other aspects of the NMR. spectra of the compound are discussed. Synthesis of the title product with the label ^{15}N is described.

1. Einleitung. – Im Jahre 1954 entdeckte *Blakley*, dass bei der enzymatischen Umwandlung von Glycin in Serin in der Leber eine reaktive Verbindung aus (6*S*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-folsäure[4]) (I) und Formaldehyd als Cofaktor benötigt wird. Für diese Verbindung wurde der Begriff «aktivierter Formaldehyd» eingeführt und als Struktur die (6*R*)-5,10-Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-L-folsäure[4]) (III) vorgeschlagen [3], obwohl auch (6*S*)-5-Hydroxymethyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-folsäure (II) als eine mögliche Struktur postuliert werden könnte [4].

Experimentelle Hinweise für die Existenz der Methylenbrückenstruktur III sind 1960 in [5] zusammengefasst worden. Seither wurden als wichtigste Hinweise für die

[1]) 78. Mitt., s. [1].

[2]) Teilweise von *R. K.* am 17. Oktober 1980 anlässlich der Herbstversammlung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft in Bern vorgetragen.

[3]) Teil der geplanten Dissertation von *R. K.*, Universität Zürich.

[4]) Die absolute Konfiguration an C(6) der natürlichen Tetrahydrofolsäure ist nach [2] gemäss der Sequenz-Regel mit *S* zu spezifizieren und diejenige an C(6) der natürlichen 5,10-Methylen-tetrahydrofolsäure mit *R*.

0018-019X/81/8/2627-09$01.00/0 © 1981 Schweizerische Chemische Gesellschaft

Richtigkeit von III zwei Befunde angeführt: *1)* Die Kinetik der Reaktion von Formaldehyd mit I [6]; *2)* Die ^{1}H-NMR.-Daten für die beiden Methylenprotonen an C(11) [7].

Zu *1):* Durch kinetische Untersuchungen wurden zwei geschwindigkeitsbestimmende Schritte bei der Bildung des Produktes nachgewiesen. Dieser Befund konnte als Beweis für die Brückenstruktur erachtet werden, denn diese muss über den folgenden Dreistufenmechanismus gebildet werden *(Schema 1): a)* basenkatalysierter Angriff von N(5) an den Formaldehyd unter Bildung von (6*S*)-5-Hydroxymethyl-5,6,7,8-tetrahydro-L-folsäure (II), *b)* säurenkatalysierte Wassereliminierung aus (II), und *c)* rascher, nicht messbarer Ringschluss durch Angriff von N(10) an das Carbocation C(11).

In der kinetischen Arbeit [6] wurde Formaldehyd im Überschuss eingesetzt unter der Annahme, dass immer nur ein Mol-Äquiv. addiert wird. Diese Voraussetzung trifft jedoch nicht zu, wie wir in der vorliegenden Arbeit durch ^{13}C-NMR.-Spektroskopie zeigen konnten. Somit stellt sich die Frage, ob in [6] tatsächlich die Kinetik der Reaktion von N(5) und N(10) mit Formaldehyd gemessen wurde.

Zu *2):* Für die beiden Methylenprotonen an C(11) wurden chemische Verschiebungen von 3,78 und 4,99 ppm sowie eine geminale Kopplungskonstante von 4 Hz gemessen. Die Autoren schlossen daraus, dass diese Methylengruppe asymmetrisch in einem Ring liegen müsste. Die beiden entsprechenden Methylenprotonen in der Struktur II sind aber ebenfalls diastereotop und könnten ähnliche Werte aufweisen. Das ^{1}H-NMR.-Argument verliert dadurch an Aussagekraft.

Andere, von uns ausgeführte Untersuchungen liessen Zweifel an der Existenz der Brückenstruktur aufkommen [8], darum haben wir in dieser Arbeit versucht, die korrekte Struktur des «aktivierten Formaldehyds» zu ermitteln. Die Überlegung war, dass die durch ^{15}N, ^{13}C-Kopplung verursachte Aufspaltung des C(11)-

Schema 1

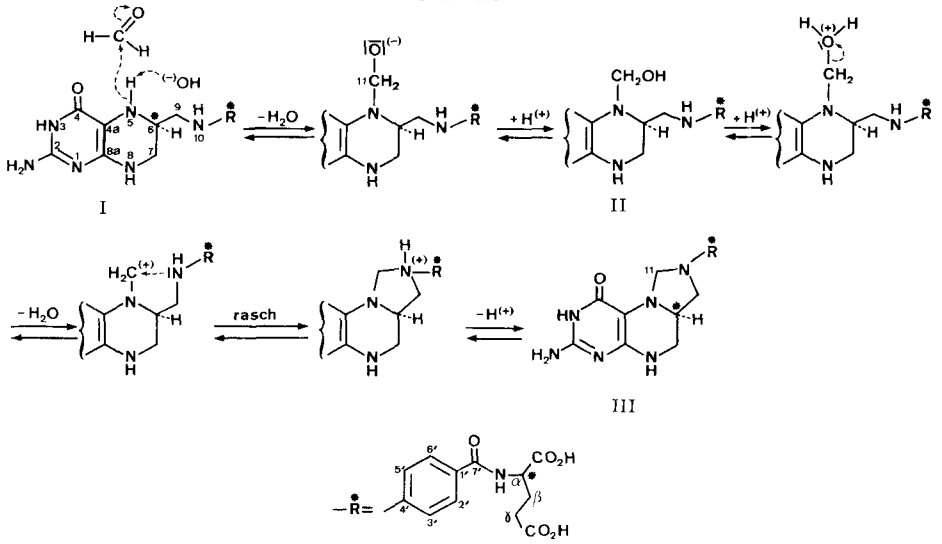


Tabelle 1. *Chemische Verschiebung der ^{13}C-NMR.-Signale von III*[a])

C-Atom	δ	C-Atom	δ	C-Atom	δ
C(β)	28,6	C(11)	67,4	C(8a)	152,0
C(γ)	34,4	C(4a)	98,2	C(2)	154,5
C(7)	39,2	C(3'), C(5')	111,3	C(4)	160,1
C(9)	48,5	C(1')	120,8	C(7')	169,5
C(6)	53,6	C(2'), C(6')	128,9	CO_2^-(α)	179,1
C(α)	55,9	C(4')	148,7	CO_2^-(γ)	182,2

[a]) δ-Werte in ppm relativ zu TMS. Lösungsmittel D_2O, pD *ca.* 7.

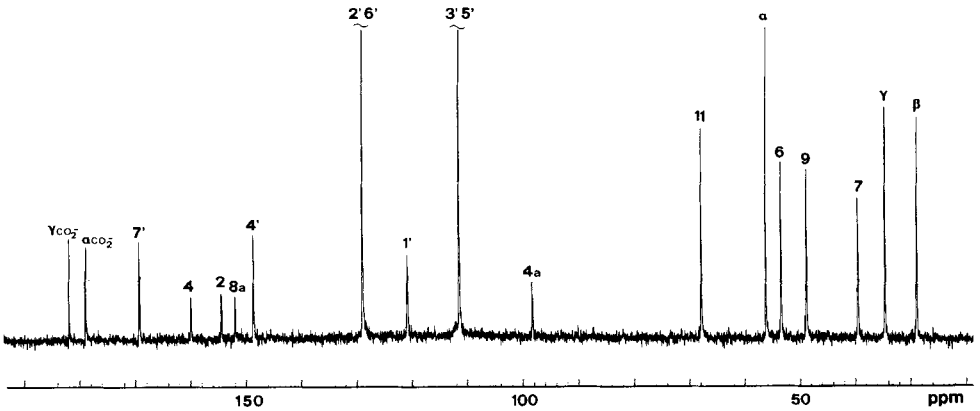


Fig. 1. *FT.-^{13}C-NMR.-Spektrum (50,4 MHz; in D_2O, pD = 7,0) von III (hergestellt aus 0,1 M I und 1 Mol-Äquiv. Formaldehyd)*

Resonanzsignals im ^{13}C-NMR.-Spektrum eine eindeutige Aussage über die Existenz der Methylenbrücke erlauben sollte.

2. ^{13}C-NMR.-Spektren der Addukte zwischen Tetrahydrofolsäure und Formaldehyd. – Zunächst wurde mit ^{13}C-NMR.-Spektroskopie gezeigt, dass durch die Umsetzung von I mit einem Mol-Äquiv. Formaldehyd ein einheitliches Addukt gebildet wird *(Tab. 1* und *Fig. 1)*. Die C(11)-Resonanz dieses Adduktes wurde durch Reaktion von I[5]) mit H^{13}CHO ermittelt; für die Zuordnung der anderen Resonanzen wurde das Spektrum von I [9] herangezogen.

Die Behandlung von 0,1 M I mit einem mehrfachen Überschuss an Formaldehyd ergab eine andere Verbindung mit einem unterschiedlichen ^{13}C-NMR.-Spektrum (*Fig. 2;* chemische Verschiebungen im exper. Teil). Diese neue Verbindung scheint ein Addukt von I und 3 Molekeln Formaldehyd (C(11), C(12) und C(13)) zu sein. Die Zuordnung von C(12) und C(13) in der neugebildeten Molekel wird in einer späteren Mitteilung besprochen.

[5]) Synthetische 5,6,7,8-Tetrahydro-L-folsäure (I) und ihre Derivate lagen als Mischung von (6*RS*)-Diastereomeren vor.

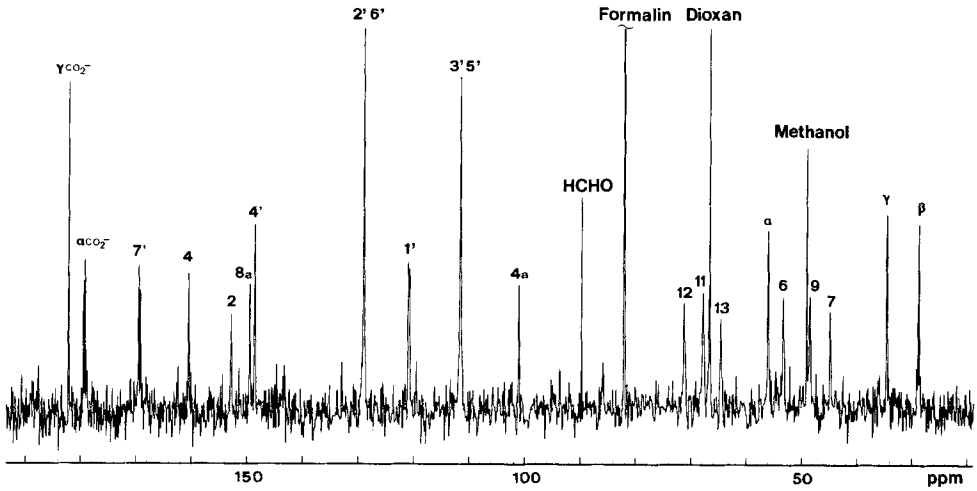
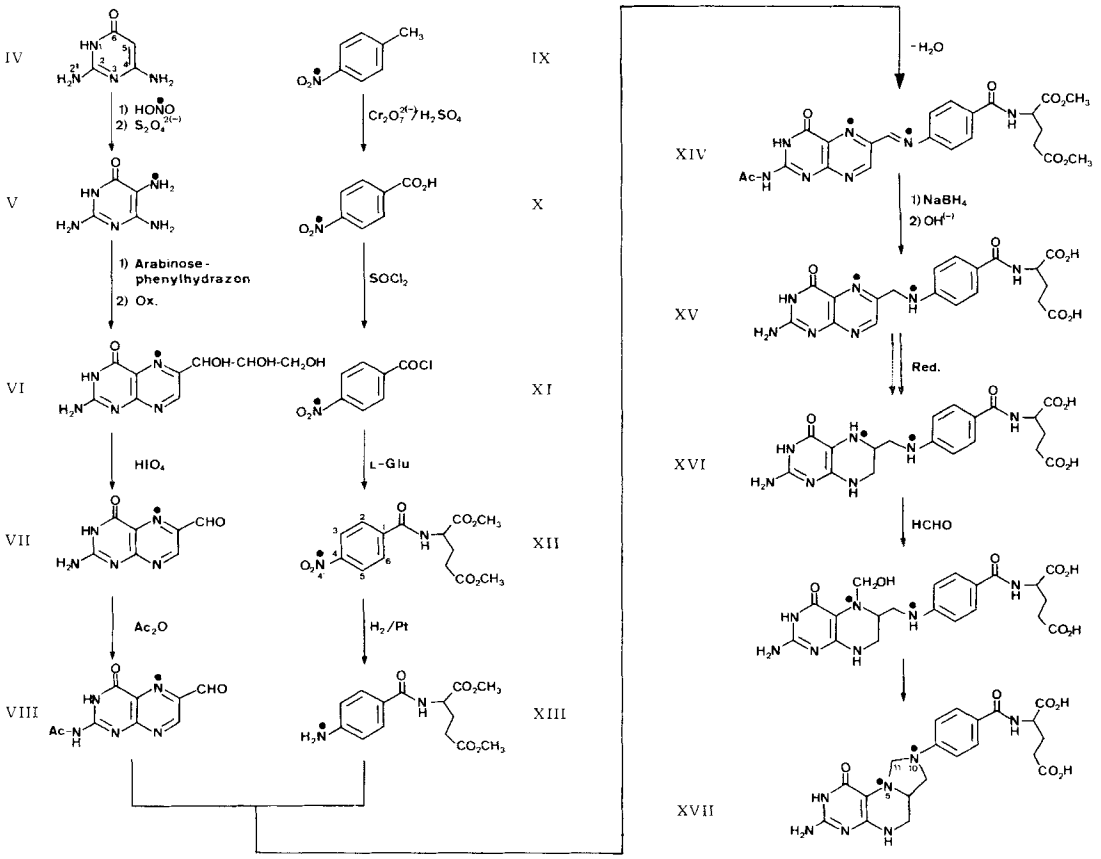


Fig. 2. *FT.-^{13}C-NMR.-Spektrum (50,4 MHz) des Adduktes von I mit 4 Mol-Äquiv. Formaldehyd* (0,1M Lösung des Adduktes in D_2O, pD = 7)

Schema 2



3. ^{13}C-NMR.-Spektrum des ^{15}N-markierten Adduktes. – Als weiterer Schritt erfolgte die Synthese von (6*RS*)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-(5,10-$^{15}N_2$)folsäure (XVI) aus den Vorläufern IV (→ V–VIII) und IX (→ X–XIII) über XIV und XV (s. *Schema 2* und exper. Teil). Die (^{15}N(5), ^{15}N(10)) Tetrahydrofolsäure wurde dann mit (^{13}C)-Formaldehyd umgesetzt. Das Addukt XVII ergab für die ^{13}C(11)-Resonanz ein Dublett × Dublett mit Kopplungskonstanten von 4,7 und 10,8 Hz (*Fig. 3*, Spektrum rechts). Dass dieses Aufspaltungsmuster nicht teilweise durch die Anwesenheit der zwei (6*RS*)-Diastereomeren im Reaktanten XVI verursacht wird, zeigt die Resonanz von C(11) im Addukt, das mit Tetrahydro-L-folsäure I und einem Mol-Äquiv. ^{13}C-markiertem Formaldehyd erhalten wird: Trotz des Vorliegens dieser Diastereomeren, was zu Signalverdopplung der meisten ^{13}C-Resonanzen führt, wird für C(11) nur ein Signal beobachtet (*Fig. 3*, Spektrum links). Das Vorhandensein zweier N,C-Kopplungen in XVII beweist eindeutig das Vorliegen einer Methylenbrücke zwischen N(5) und N(10); somit kommt dem «aktivierten Formaldehyd» die Struktur III zu.

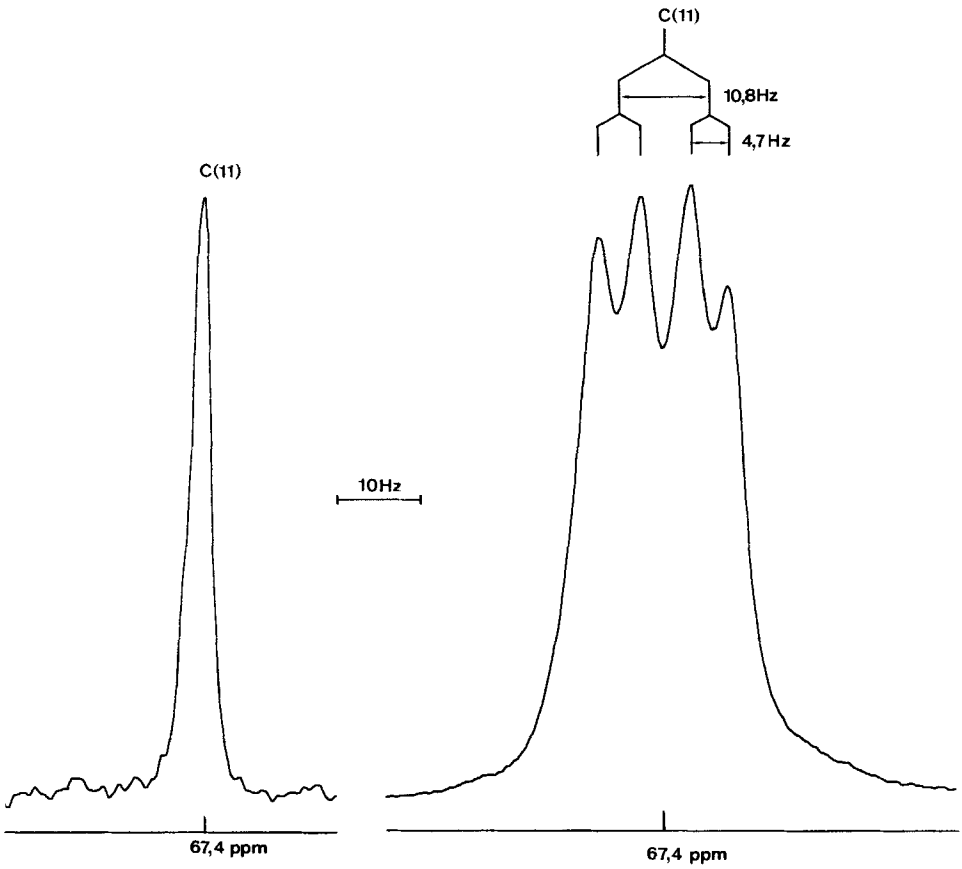


Fig. 3. *Ausschnitt aus dem FT.-^{13}C-NMR.-Spektrum (50,4 MHz; 0,1 M Lösung in D_2O, pD = 7) von (6RS)-5,10-(^{13}C)Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-L-folsäure* (links) *und (6RS)-5,10-(^{13}C)Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-L-(5,10-$^{15}N_2$)folsäure* (XVII; rechts) *im Bereich der C(11)-Resonanz*

4. ^{15}N-NMR.-Spektrum von I, III und XVII. – Die richtige Zuordnung der Kopplungen von C(11) mit N(5) und N(10) wurde mit Hilfe weiterer C,N-Kopplungskonstanten getroffen. Die ^{15}N-NMR.-Spektren von I, III und XVI *(Tab. 2* und *Fig. 4)* bestätigen ebenfalls die Richtigkeit der Formel III. Die Zuordnung der ^{15}N-Resonanzen von I und III in H_2O/D_2O 92:8 erfolgte mit Hilfe des ^{15}N-NMR.-Spektrums von I in 6N HCl [10], der bekannten Protonierungsinkremente für N(1) und für die NH_2-Gruppe [10] sowie für N(5) und N(10) [11]. Im ^{15}N-NMR.-Spektrum von III wurden nur sechs der erwarteten sieben Resonanzen gefunden. Es ist unwahrscheinlich, dass die fehlende Linie wegen eines ungünstigen 'nuclear-*Overhauser*'-Effektes oder extrem langer Relaxationszeit eines N-Atoms nicht gefunden wurde, da mehrere Spektren unter jeweils verschiedenen Bedingungen aufgenommen wurden. Der Vergleich des ^{15}N-NMR.-Spektrums von III mit denjenigen verwandter Verbindungen legt die Vermutung nahe, dass die Resonanz von N(8) mit derjenigen von N(10) zusammenfällt.

Die Resonanzen von N(5) und N(10) sind in III gegenüber I nach tieferem Feld verschoben ($\Delta\delta = +3{,}1$ bzw. 3,6 ppm, s. *Tab. 2*). Eine gleichgerichtete Verschiebung für die *N*-Resonanz wurde beim Übergang von Anilin zu *N*-Äthylanilin, sowie von Diäthylamin zu Triäthylamin ($\Delta\delta = +14{,}6$ bzw. +4,4 ppm) beobachtet [11]. Eine *N*-Methylierung von Anilin und Diäthylamin verursacht eine entgegengesetzte

Tabelle 2. *^{15}N-NMR.-chemische Verschiebungen von (6RS)-Tetrahydrofolsäure (I) und (6RS)-5,10-Methylentetrahydrofolsäure (III)*[a])

Verbindungen	N(1)	N(3)	NH–C(α)	NH_2–C(2)	N(8)	N(10)	N(5)
I[b])	−206,8	−240,4	−258,8	−302,0	−309,6	−312,0	−337,6
I[c])	−267,7	−242,8	−261,4	−295,5	−303,6	−319,7	−335,5
III[b])	−207,7	−240,5	−260,8	−298,5	−308,4	−308,4	−334,5

[a]) δ-Werte in ppm relativ zu externem CH_3NO_2.
[b]) In H_2O/D_2O 92:8, pH = 7.
[c]) In 6N HCl [10].

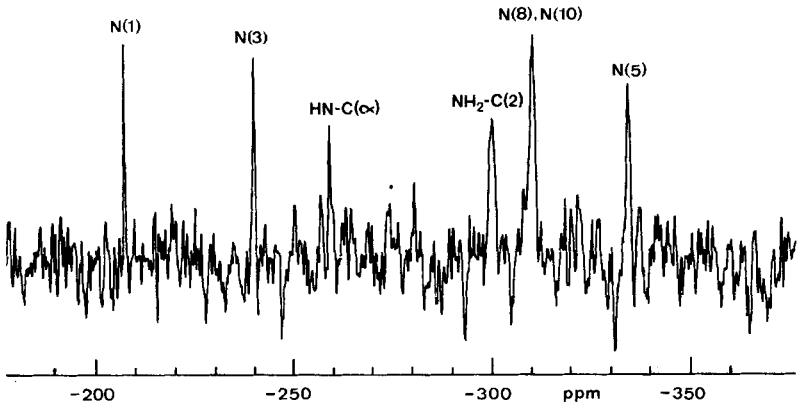


Fig. 4. *FT.-^{15}N-NMR.-Spektrum von III (0,8M in H_2O/D_2O 92:8; pH = 7) bei natürlicher Häufigkeit der Isotope* (δ-Werte [ppm] relativ zu externem CH_3NO_2)

Verschiebung ($\Delta\delta = -3{,}7$ bzw. $-5{,}1$ ppm) [11]. Man könnte daraus schliessen, dass bei der Bildung des Formaldehydadduktes die H-Atome sowohl an N(5) als auch an N(10) je durch einen Substituenten CH_2–X (Methylenbrücke: N(5)–CH_2–N(10), oder Hydroxymethylierung: N(5)–CH_2–OH) ersetzt worden sind. Eine zweifache Hydroxymethylierung kann aufgrund der Zugabe von nur einem Mol-Äquiv. Formaldehyd zu I ausgeschlossen werden. Folglich ist die einzige Teilstruktur, die für das Addukt III in Betracht gezogen werden kann, jene einer Methylenbrücke.

Im ^{15}N-NMR.-Spektrum von XVII erscheinen für N(5) und N(10) durch das Vorliegen zweier Diastereomeren je zwei Resonanzlinien ($\Delta\delta = 0{,}24$ ppm), die durch eine $^2J(N,N)$-Kopplungskonstante von 2 Hz je in ein Dublett aufgespalten sind, deren Auftreten ein weiterer Hinweis für die Methylenbrücke ist.

5. Zuordnung der ^{15}N, ^{13}C-Kopplungskonstanten. – Grosse Kopplungskonstanten zeigen die zu N(10) benachbarten Kohlenstoffatome C(9) und C(4′) (9,9 bzw. 16,0 Hz; *Tab. 3*). Die Kopplungskonstante von 10,8 Hz im Resonanzsignal von C(11) *(Fig. 3)* wird somit von N(10) verursacht, während der kleinere Wert von 4,7 Hz typisch ist für die Kopplung zwischen einem sp^3-C-Atom und einem annähernd sp^3-hybridisierten N-Atom, wie ein Vergleich mit Methylamin zeigt ($^1J(N,C) = 4{,}5$ Hz [11]).

6. Konformation von III. – Aus den N,C-Kopplungskonstanten von N(10) mit C(11), C(9) und C(4′) in XVII liess sich nach [13] der Hybridisierungsindex von N(10) abschätzen. Es ergab sich ein s-Anteil von $34 \pm 3\%$; N(10) ist also ein sp^2-

Tabelle 3. *^{13}C, ^{15}N-Kopplungskonstanten im ^{13}C-NMR.-Spektrum von XVII* (in Hz ± 0,2 Hz)

J(N(5), C(4a)) = 8,0	J(N(10), C(4′)) = 16,0
J(N(5), C(6)) = 3,6	J(N(10), C(9)) = 9,9
J(N(5), C(9)) = 2,0	J(N(10), C(11)) = 10,8
J(N(5), C(11)) = 4,7	

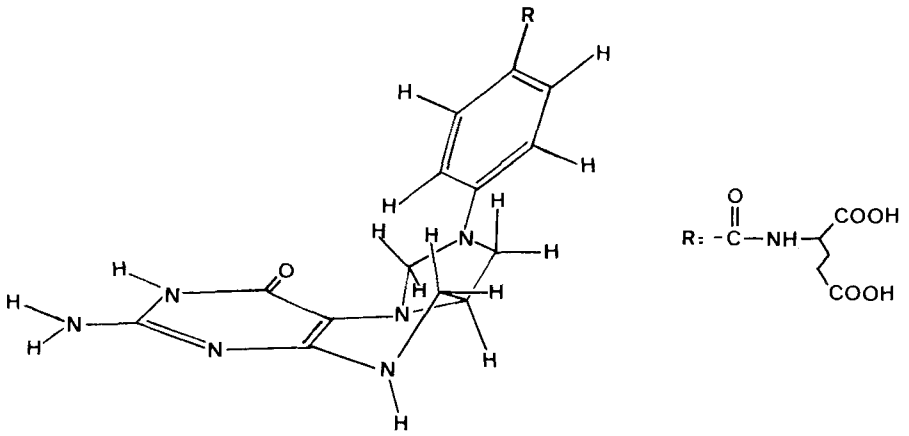


Fig. 5. *Räumliche Darstellung der (6*R*)-5,10-Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-*L*-folsäure* (III)

hybridisiertes Anilin-N-Atom. Aufgrund des Vorliegens eines sp^3-hybridisierten N(5) und eines sp^2-hybridisierten N(10) kann für III die in *Figur 5* abgebildete Konformation vorgeschlagen werden. *Poe et al.* [14] haben in ihrer Konformationsanalyse des Imidazolidinrings von III aufgrund von ^{1}H-NMR.-Daten eher ein sp^3-hybridisiertes N(10) angenommen.

Experimenteller Teil

1. *Allgemeines.* Die FT.-^{15}N- und FT.-^{13}C-NMR.-Spektren (für die instrumentellen Daten vgl. [10]) wurden auf einem *Varian*-XL-100-15- bzw. -XL-200-Spektrographen aufgenommen; δ-Werte auf $\pm$0,4 ppm genau. Die Proben wurden unter Ar gemessen. Für die Aufnahme der ^{15}N-NMR.-Spektren wurden bei natürlicher Häufigkeit des Isotops bei einer Messkonzentration von 0,9M 12000 Akkumulationen verwendet (Resonanzfrequenz 10,1 MHz, 70° 'Flip'-Winkel, 10 s Pulsabstand). Alle unter N_2 ausgeführten Arbeiten erfolgten in einem Handschuhkasten.

2. *Synthese von 2,4,5-(C(5)-^{15}N)Triamino-6-hydroxy-pyrimidinium-sulfat (V · H_2SO_4).* Die Synthese erfolgte nach [15] unter Verwendung von $Na^{15}NO_2$ (95% ^{15}N, *Stohler-Isotope-Chemicals*) mit IV, jedoch in äquimolarer Menge.

3. *Synthese von* L-*(5-^{15}N)-Neopterin (VI).* Nach [16] [17], wobei jedoch V · HCl [16] nicht isoliert wurde.

4. *Synthese von 6-Formyl-(5-^{15}N)pterin (VII).* Nach [18].

5. *Synthese von* N*(2')-Acetyl-6-formyl-(5-^{15}N)pterin (VIII).* Nach [19].

6. *Synthese von* p-*(^{15}N)Nitrobenzoesäure (X).* Nach [20] aus *p*-(^{15}N)Nitrotoluol (IX; 95% ^{15}N, *CEA*), jedoch bei einer Kühlwassertemperatur von 55°.

7. *Synthese von* p-*(^{15}N)Nitrobenzoylchlorid (XI).* Nach [21], jedoch unter Verwendung der 10fachen Lösungsmittelmenge.

8. *Synthese von* N-(p-*(^{15}N)Nitrobenzoyl)*-L-*glutaminsäure-dimethylester (XII).* Eine Lösung von 2,5 g (11,8 mmol) L-Glutaminsäure-dimethylester-hydrochlorid und 2,0 g $NaHCO_3$ in 30 ml H_2O wurde langsam zu einer Lösung von 1,15 g (6,2 mmol) XI in 30 ml Aceton gegeben und 3 Std. gerührt. XII fiel nach Abdestillieren des Acetons aus. Dann wurde die Wasserphase mit $CHCl_3$ extrahiert, der Extrakt mit $NaHCO_3$-Lösung gewaschen und zur Trockene eingedampft. Der ölige Rückstand wurde mit Wasser zur Kristallisation gebracht, abfiltriert und 4 Std. bei 22°/0,01 Torr getrocknet. Das nicht reagierte X wurde durch Ansäuern der Wasserphasen zurückgewonnen, zu XI umgesetzt und erneut mit L-Glutaminsäure-dimethylester-hydrochlorid zur Reaktion gebracht: 1,15 g (56,8%) XII.

9. *Synthese von* N-(p-*(^{15}N)Aminobenzoyl)*-L-*glutaminsäure-dimethylester (XIII).* Eine Lösung von 1,15 g (3,52 mmol) XII in 200 ml Äthanol wurde über 100 mg PtO_2 hydriert (25°/750 Torr, 1 Std.). Nach beendeter H_2-Aufnahme wurde abfiltriert, das Äthanol abdestilliert und XIII 4 Std. bei 22°/0,01 Torr getrocknet: 1,05 (100%) XIII.

10. *Synthese von* N-{p-*[(*N*(2')-Acetyl-(5-^{15}N)pterin-6-yl)methyliden(^{15}N)amino]benzoyl}-*L-*glutaminsäure-dimethylester (XIV).* Kondensation nach [22] von äquimolaren Mengen VIII und XIII. Umkristallisation von XIV aus CH_3CN.

11. *Synthese von* L-*(5,10-$^{15}N_2$)Folsäure (XV).* Die Reduktion und Hydrolyse von XIV zu XV erfolgte nach [19].

12. *Synthese von (6*RS*)-5,6,7,8-Tetrahydro-*L-*(5,10-$^{15}N_2$)folsäure (XVI).* Die Reduktion von XV zu XVI erfolgte mit $Na_2S_2O_4$ und $NaBH_4$ nach [9] [23].

13. *Synthese von (6*RS*)-5,10-Methylen-5,6,7,8-tetrahydro-*L-*(5,10-$^{15}N_2$)folsäure (XVII).* Das pD einer Lösung von 100 mg (0,21 mmol) XVI in 2,1 ml 0,2N NaOD in D_2O wurde mit NaOD auf 7 eingestellt. Nach Zugabe von 16 µl (0,21 mmol) Formaldehyd (37–40%, *Fluka AG*) *in situ* wurden die Spektren gemessen *(Fig. 1).*

14. *Reaktion von XVI mit einem viermolaren Überschuss an Formaldehyd.* Herstellung analog zu XVII, jedoch unter Zugabe von 64 µl (0,84 mmol) Formaldehyd. – ^{13}C-NMR. (D_2O, δ-Werte (ppm) relativ zu TMS; *Fig. 2*): 28,6 (C(β)); 34,4 (C(γ)); 44,7 (C(7)); 48,4 (C(9)); 53,2 (C(6)); 56,0 (C(α)); 64,5 (C(13)); 67,6 (C(11)); 71,0 (C(12)); 100,7 (C(4a)); 111,3 (C(3'), C(5')); 120,7 (C(1')); 128,8 (C(2'), C(6')); 148,4 (C(4')); 149,3 (C(8a)); 152,6 (C(2)); 160,4 (C(4)); 169,3 (C(7')); 179,0 (CO_2^-(α)); 182,0 (CO_2^-(γ)).

LITERATURVERZEICHNIS

[1] 78.Mitt.: *S. Antoulas & M. Viscontini*, Helv. Chim. Acta *64*, 1134 (1981).
[2] *J.C. Fontecilla-Camps, C.E. Bugg, C. Temple, J.D. Rose, J.A. Montgomery & R.L. Kisliuk*, J. Am. Chem. Soc. *101*, 6114 (1979).
[3] *R.L. Błakley*, Biochem. J. *58*, 448 (1954).
[4] *R.L. Kisliuk & W. Sakamai*, J. Am. Chem. Soc. *76*, 1456 (1954).
[5] *M.J. Osborn, P.T. Talbert & F.M. Huennekens*, J. Am. Chem. Soc. *82*, 4921 (1960).
[6] *R.G. Kallen & W.P. Jenks*, J. Biol. Chem. *241*, 5851 (1966).
[7] *C.M. Tatum, P.A. Benkovic, S.J. Benkovic, R. Potts, E. Schleicher & H.G. Floss*, Biochemistry *16*, 1093 (1977); *S.J. Benkovic*, Acc. Chem. Res. *11*, 314 (1978).
[8] *M. Viscontini & J.H. Bieri*, Helv. Chim. Acta *55*, 21 (1972).
[9] *W. Frick, R. Weber & M. Viscontini*, Helv. Chim. Acta *57*, 2658 (1974); *J.A. Lyon, R.B. Dunlap & P.D. Ellis*, J. Magn. Reson. *18*, 293 (1975).
[10] *W. Schwotzer, J.H. Bieri, M. Viscontini & W. v. Philipsborn*, Helv. Chim. Acta *61*, 2108 (1978).
[11] *G.C. Levy & R.L. Lichter*, in: 'Nitrogen-15-NMR. Spectroscopy', Wiley-Interscience, New York 1979.
[12] *J.A. Blair & K.J. Saunders*, Anal. Biochem. *34*, 376 (1970).
[13] *G. Binsch, J.B. Lambert, B.W. Roberts & J.D. Roberts*, J. Am. Chem. Soc. *86*, 5564 (1964).
[14] *M. Poe, L.M. Jackman & S.J. Benkovic*, Biochemistry *18*, 5527 (1979).
[15] *C.K. Cain, M.F. Mallette & E.C. Taylor*, J. Am. Chem. Soc. *68*, 1996 (1946).
[16] *A. Albert*, J. Appl. Chem. *3*, 521 (1953).
[17] *M. Viscontini, R. Provenzale, S. Ohlgart & J. Mallevialle*, Helv. Chim. Acta *53*, 1202 (1970).
[18] *M. Viscontini & J.H. Bieri*, Helv. Chim. Acta *54*, 2291 (1971).
[19] *J.H. Bieri & M. Viscontini*, Helv. Chim. Acta *56*, 2905 (1973).
[20] *G. Lockemann & H. Rein*, Chem. Ber. *80*, 485 (1947).
[21] *P. Carré & D. Libermann*, C.R. Hebd. Séances Acad. Sci. *199*, 1422 (1934).
[22] *E. Khalifa, P.K. Sengupta, J.H. Bieri & M. Viscontini*, Helv. Chim. Acta *59*, 242 (1976).
[23] *H.J. Furrer, J.H. Bieri & M. Viscontini*, Helv. Chim. Acta *61*, 2744 (1978).