

MODERNE METHODEN ZUR STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN*

W. SIMON und J. T. CLERC

Laboratorium für organische Chemie, ETH, Zurich, Switzerland

ABSTRACT

The increasing importance of instrumental methods in the elucidation of the structure of organic compounds forces analytical laboratories to introduce mechanized and/or automated methods of analysis. It is shown for the special case of elemental analysis that such an approach affects throughput, accuracy, and precision of the analytical laboratories. The most severe limitations in the routine application of instrumental methods for structure elucidation are too small sample size, low vapour pressure and insufficient solubility. It is shown how such problems can be overcome. Methods for coping with the ever-increasing flow of data in analytical laboratories are presented.

1. EINLEITUNG

In der gegenwärtigen Entwicklung der analytischen Chemie zeichnet sich die Tatsache ab, dass die Anzahl der jährlich durchgeführten analytischen Messungen deutlich stärker ansteigt, als die Anzahl der in den betreffenden Betrieben tätigen Forscher. Diese Entwicklung ist aus der in *Abbildung 1* wiedergegebenen Statistik deutlich ersichtlich. Eine weitere auffallende Tatsache bildet die in den letzten Jahren stark gestiegene Bedeutung der instrumentell aufwendigen Analysemethoden, wie dies die in *Tabelle 1* zusammengestellten Weltumsätze für einige Geräte zeigen.

Die Hauptursache für diese Entwicklungen dürfte darin liegen, dass die erschöpfende Auswertung aller mit Hilfe einer einzigen analytischen Messung erhaltenen Informationen dem kombinierten Einsatz unterschiedlicher Methoden weichen musste. Die Kombination von verschiedenen instrumentellen Analysemethoden kann dann zu einer ganz wesentlichen Erleichterung der Auswertung ihres Informationsgehaltes führen, wenn sich ihre Resultate teilweise überlappen und ergänzen. Redundante Information erlaubt eine leichte Kontrolle bzw. Bestätigung von Hypothesen, so dass oft eine weitgehende Auswertung der Daten ohne eigentliches Expertenwissen möglich wird. Dies gilt ganz besonders für den kombinierten Einsatz spektroskopischer Methoden (MS, IT, NMR, UV/VIS) zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen.

* Kurzfassung eines Vortrages anlässlich des VI. Internationalen Symposiums für Mikrochemie, Graz, 7.-11. September 1970.

Eine wesentliche Konsequenz dieser Entwicklung ist die zunehmende Belastung des Analytikers und das daraus resultierende ubiquitäre Personalproblem analytischer Laboratorien. Der einzige gegenwärtig realisierbare Lösungsweg für diese Probleme besteht in der möglichst weitgehenden Mechanisierung bzw. Automatisierung der analytischen Verfahren. Dieser Ausweg ist zwar meist recht kostspielig und im konkreten Fall oft auch keineswegs problemlos, doch können dabei neben erhöhter Produktivität auch Verbesserungen in der Qualität der Resultate realisiert werden, wie dies im folgenden am Beispiel der Elementaranalyse im einzelnen dargelegt werden soll.

2. ELEMENTARANALYSE

Trotz der stürmischen Entwicklung auf dem Gebiete der analytischen Instrumentierung (vgl. *Abbildung 1* und *Tabelle 1*) hat die eher klassische Elementaranalyse in den letzten Jahren keineswegs an Bedeutung verloren, wie dies aus

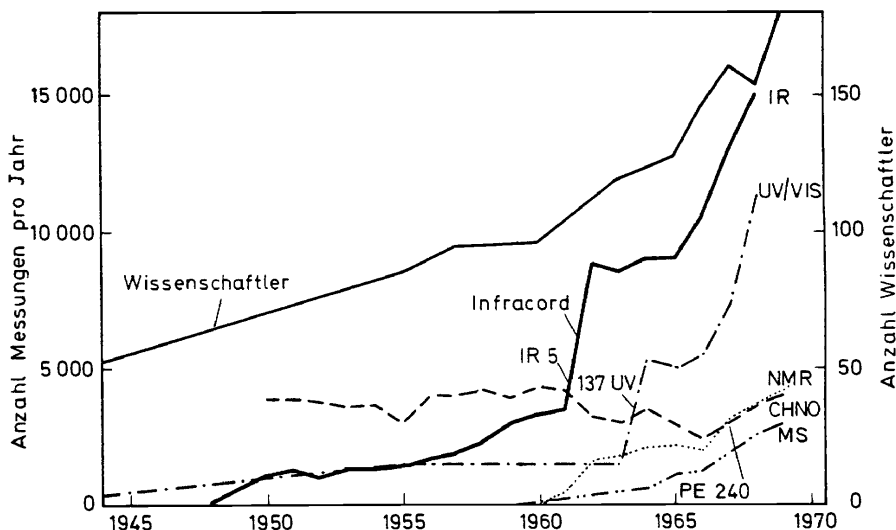


Abbildung 1. Anzahl der jährlich an Laboratorium für organische Chemie der ETH Zürich durchgeführten Messungen.

IR: Infrarotspektroskopie; NMR: Protonenresonanzspektroskopie; UV: Spektroskopie im ultravioletten und sichtbaren Spektralbereich; MS: Massenspektrometrie; CHNO: Elementaranalysen

Tabelle 1. Schätzung der Jahresweltumsätze einiger analytischer Instrumente (Schätzung 1967).

	Millionen US\$	Anzahl Geräte/Jahr
Massenspektrometer	11	—
Kernresonanzspektrometer	14	400
Infrarotspektrometer	28	3 000
UV/VIS-Spektrometer	42	—
Atomabsorptionsgeräte	12	2 000
Gaschromatographen	61	17 500
	168 (1967)	
	430 (1977)	

STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN

Tabelle 2 hervorgeht. Der dort ersichtliche Anstieg der Analysenzahlen mag unter anderem darauf zurückzuführen sein, dass die Elementaranalyse eine einfache, fundamentale Information zu liefern vermag, die ohne Expertenwissen erfolgreich eingesetzt werden kann und gegenüber den spektroskopischen Methoden mit geringem Kostenaufwand zu ermitteln ist. Die zunehmenden Analysenzahlen, personelle Probleme und die Tatsache, dass ein Spitzenanalytiker pro Tag mit klassischen Hilfsmitteln lediglich etwa 17 Simultanbestimmungen von Kohlenstoff und Wasserstoff durchzuführen vermag, führte recht frühzeitig zu Anstrengungen im Hinblick auf eine Mechanisierung bzw.

Tabelle 2. Anzahl der in einigen grösseren Laboratorien pro Jahr durchgeführten Elementaranalysen.

Laboratorium	Anzahl Elementaranalysen pro Jahr			
	1953	1960	1962	1967
Ciba (Basel)	—	25000	—	50000
Kodak (Rochester)	6500	21000	—	42000
Sandoz (Basel)	—	—	100%	185%

Automatisierung des Bestimmungsprozesses¹⁻⁵. In Anlehnung an frühere Arbeiten^{1, 4} sind mittlerweile Geräte verfügbar geworden, die in 13 Minuten Simultanbestimmungen von C, H und N an Probemengen von 0.5 bis 3.0 mg ermöglichen, wobei die Probe manuell einzuwägen und in den Analysentrakt einzuschieben ist. Mit Ausnahme der Auswertung werden die übrigen Operationen vom Analysator übernommen. Zur Zeit finden sich etwa 500 derartige Geräte im Betrieb. Aus den in *Abbildung 2* und *Tabelle 3* wiedergegebenen Daten geht hervor, dass durch die Einführung dieser Analysatoren sowohl die Präzision der Messergebnisse als auch die Leistungsfähigkeit der

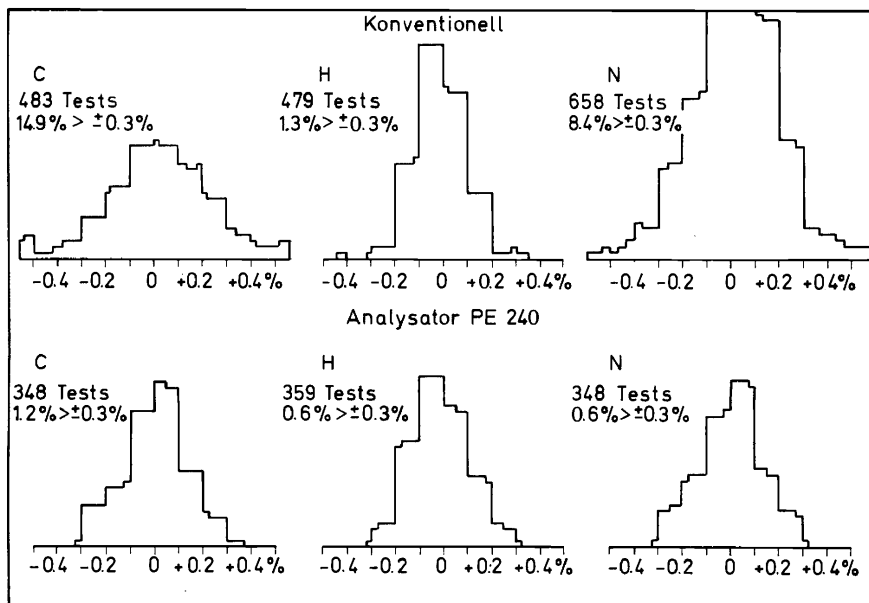


Abbildung 2. Präzision von Ergebnissen von Elementaranalysen.

Tabelle 3. Während 7 Monaten abgelieferte Elementaranalysen (Dr. H. Wagner, J. R. Geigy AG, Basel).

	Apparaturen	Analytiker	Einzelwerte*	Einzelwerte pro Analytiker und Tag
Konventionell	7.5	7.5	20000	18 (Maximum: 30)
C,H,N-Analysator PE 240	3	3	24600	56 (Maximum: 90)

* Eine Simultanbestimmung von C und H bzw. C,H und N liefert zwei bzw. drei derartige Einzelwerte.

Laboratorien drastisch gesteigert werden können*. Mittlerweile sind Rechner verfügbar geworden, die direkt an derartige Analysatoren angeschlossen werden können, so dass nach Eingabe des Probengewichtes die Prozente C, H und N in digitaler Form präsentiert werden (Abbildung 3, vgl. auch² und⁵). Mit Hilfe von Elektrowaagen lässt sich eine manuelle Eingabe des Probengewichtes leicht umgehen.

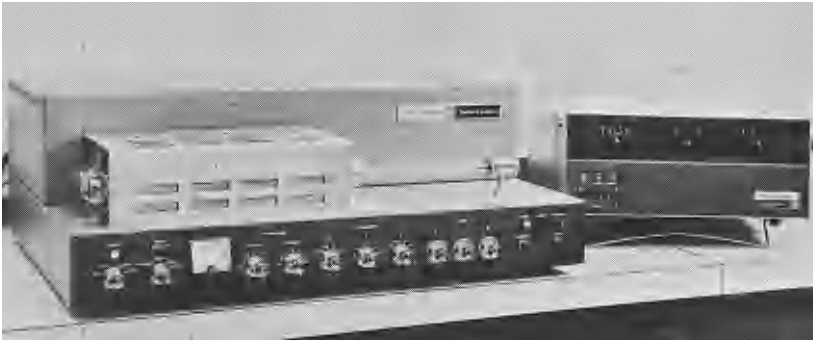


Abbildung 3. Analysator mit Rechner zur Simultanbestimmung von C, H und N mit digitaler Anzeige der Prozente C, H und N.

3. TENDENZEN IM KOMBINIERTEN EINSATZ SPEKTROSKOPISCHER METHODEN IN DER STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN

Der kombinierte Einsatz der Infrarot-, Kernresonanz-, Massen- und Elektronenspektroskopie in der Strukturaufklärung organischer Verbindungen ist derart schlagkräftig und hat eine solche Verbreitung gefunden, dass eine Behandlung dieser Arbeitsmethodik im Rahmen der obligatorischen Ausbildung organischer Chemiker nicht mehr aus dem Ausbildungsprogramm von Hochschulen wegzudenken ist. Die entsprechenden Instrumente sind jedoch mittlerweile in ihren mechanischen, optischen und vor allem elektronischen Gegebenheiten so komplex geworden, dass der durchschnittliche Chemiker gezwungen ist, auf ein tiefgreifendes Verständnis der instrumentellen Grenzen und Idiosynkrasien zu verzichten und die Geräte der 'Black Box'-Philosophie

* Herrn Dr. H. Wagner, J. R. Geigy AG, Basel, danken wir für Überlassung der Daten in Tabelle 3 und Abbildung 2.

STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN

einzusetzen⁵ (Abbildung 4). Demnach wird sich der organische Chemiker vorwiegend auf die Interpretation der anfallenden Daten konzentrieren müssen⁵.

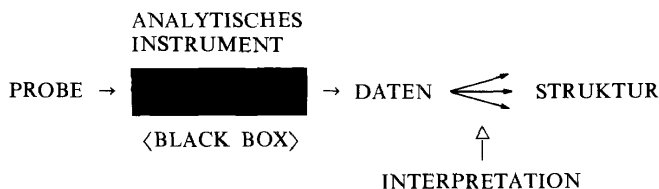


Abbildung 4. 'Black Box'-Philosophie im Einsatz analytischer Instrumente.

Beim gleichzeitigen Vorliegen eines Infrarot-, Kernresonanz-, Massen- und Elektronenspektrums ist es bei nicht zu hohen Molekulargewichten (kleiner etwa 250) oft möglich, ohne Zusatzinformation die Struktur der fraglichen Verbindung abzuleiten. Schwierigkeiten ergeben sich vor allem bei schwerflüchtigen und/oder schwerlöslichen Proben bzw. bei Limitierungen in der Probemenge (vgl. Tabelle 4). Ein Ausweg bietet die Fourier-Transformations-Spektroskopie⁶. In *Abbildung 5* ist das Infrarotspektrum von Polystyrol wiedergegeben, das mit Hilfe eines Fourier-Transformations-IR-Spektrometers*

Tabelle 4. Routineanwendung spektroskopischer Methoden zur Strukturaufklärung organischer Verbindungen

Methode	Probemenge	Anschaffungspreis für Instrumentierung (US\$)	Probenlimitierung
Protonenresonanzspektroskopie	2–20 mg	25 000–250 000	in geeignetem Lösungsmittel löslich (mindestens 0.01M)
Massenspektrometrie	~0.05 mg	25 000–150 000	flüchtig (Dampfdruck > 10 ⁻⁶ Torr)
Infrarotspektroskopie	1–5 mg	3 000– 40 000	—
Elektronenspektroskopie (UV/VIS)	0.1–3 mg	4 000– 40 000	in geeignetem Lösungsmittel löslich

aufgenommen wurde. Es handelt sich dabei um eine Überlagerung von zwei in jeweils 0.5 sec aufgenommenen Spektren. Gegenüber den konventionellen Dispersionsgeräten lässt sich die Aufnahmezeit bzw. Probemenge grundsätzlich um einen Faktor von etwa 300 reduzieren*. Damit dürfte unter anderem die Möglichkeit einer direkten instrumentellen Kopplung der Gaschromatographie mit der Infrarotspektroskopie gegeben sein.

Ähnliche Entwicklungen zeichnen sich auf dem Gebiete der Kernresonanzspektroskopie ab⁷. Bedingt durch die gegenüber dem Proton geringere inhärente Empfindlichkeit von ¹³C und als Folge der kleinen natürlichen Häufigkeit von ¹³C werden Kohlenstoffresonanzmessungen an Verbindungen

* Modell FTS-14 der Firma Digital Inc. (Block Engineering, Inc.), 237 Putnam Avenue, Cambridge, Mass., USA.

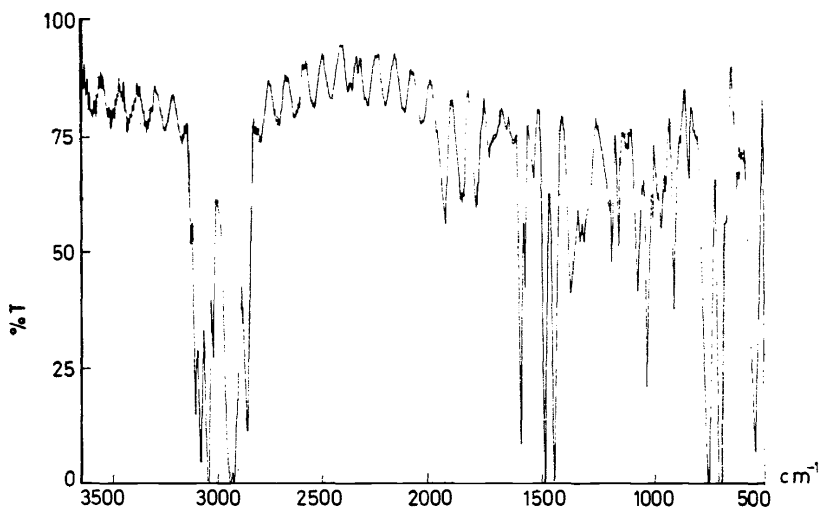


Abbildung 5. Überlagerung von zwei in jeweils 0.5 sec aufgenommenen Infrarotspektren von Polystyrol (FTS-14).

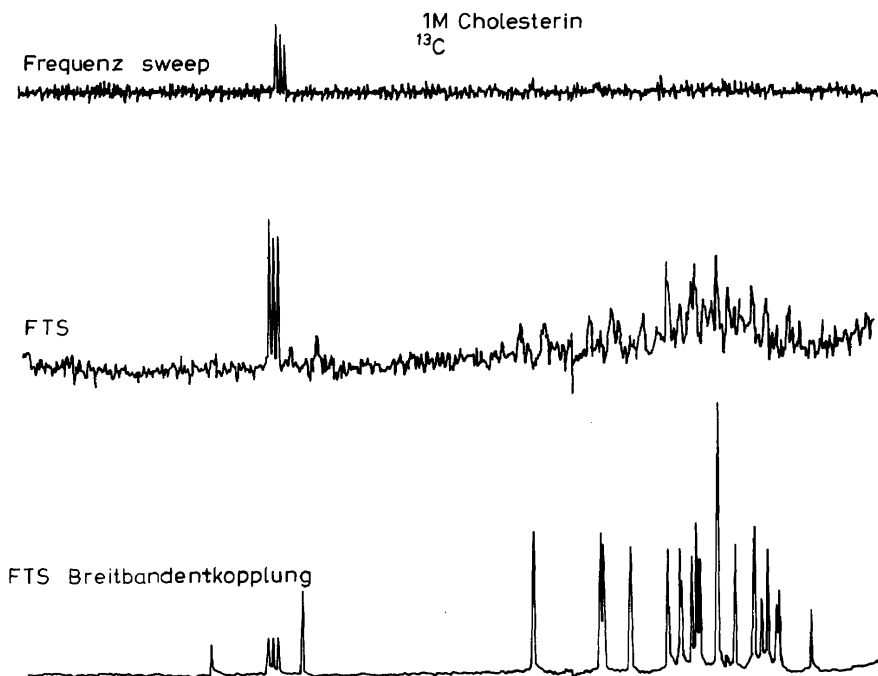


Abbildung 6. ^{13}C -Resonanzspektren von Cholesterin (1M in Benzol- D_6) bei einer Aufnahme-dauer von jeweils etwa 10 Minuten (Varian XL-100).
 Oben: Konventioneller Frequency Sweep; Mitte: Fourier-Transformations-Spektrum ohne Breitbandentkopplung; unten: Fourier-Transformations-Spektrum mit Breitbandentkopplung; (Dreiliniens-Signal links durch Lösungsmittel bedingt).

STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN

hohen Molekulargewichts stark erschwert*. Die *Abbildung 6†* zeigt jedoch, dass mit Hilfe der Fourier-Transformations-Spektroskopie und bei gleichzeitiger Entkopplung sämtlicher Protonen von den ^{13}C -Kernen (Breitband-Entkopplung bzw. Rausch-Entkopplung) selbst für Cholesterin (1 M Lösung) brauchbare Ergebnisse erhalten werden können.

Besonders schwerwiegende Probleme ergeben sich bei der Analyse schwerflüchtiger Verbindungen. Ein Ausweg besteht darin, die Proben thermisch zu fragmentieren, die Produkte gaschromatographisch aufzutrennen und massenspektrometrisch zu identifizieren, so dass schliesslich Rückschlüsse auf die Struktur des Ausgangsproduktes gezogen werden können. Diese Pyrolyse-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (*Abbildung 7*⁸) kann jedoch nur

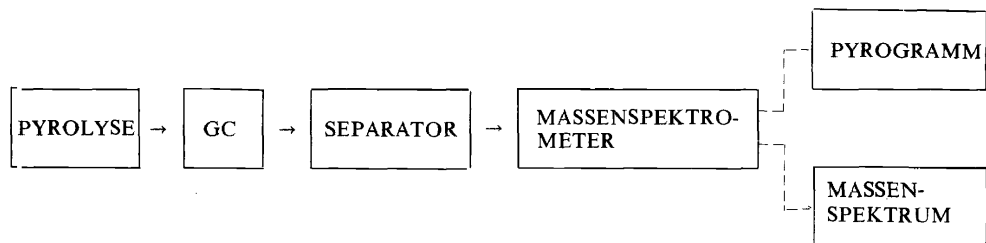


Abbildung 7. Schematische Darstellung der Messanordnung für die Pyrolyse-Gaschromatographie-Massenspektrometrie.

dann erfolgreich zur Strukturaufklärung eingesetzt werden, wenn die anfallenden Fragmente genügend gross sind. Dementsprechend sind bei schwerflüchtigen Ausgangsverbindungen oft relativ schwerflüchtige Fragmente wünschenswert. Diese erschweren jedoch die gaschromatographische Trennung. In der in *Abbildung 8* wiedergegebenen Messanordnung wird auf eine

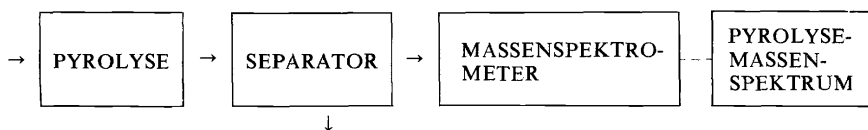


Abbildung 8. Schematische Darstellung der Messanordnung für die Pyrolyse-Massenspektrometrie.

Auftrennung der Fragmente zugunsten des Massenspektrums des Gemisches der Pyrolysefragmente verzichtet (Pyrolyse-Massenspektrometrie (PMS))⁹. Die Interpretation von Pyrolyse-Massenspektren ist zwar schwieriger als jene der Massenspektren einzelner Verbindungen, sie ist jedoch nicht hoffnungslos⁹. In *Tabelle 5* sind die Ergebnisse der Pyrolyse einiger Modellverbindungen und in *Tabelle 6* Resultate von Untersuchungen an Pigmentfarbstoffen wiedergegeben.

* Äquimolare Lösungen von Kohlenstoff natürlicher Isotopenhäufigkeit zeigen gegenüber Wasserstoff eine um den Faktor 1.6×10^{-4} verringerte Empfindlichkeit im Kernresonanzexperiment.

† Herrn Dr. U. Scheidegger, Varian AG, Zug, Schweiz, danken wir für die Überlassung der mittels eines Gerätes modell XL-100 (Varian) registrierten Spektren der *Abbildung 6*.

Tabelle 5. Pyrolyse-Massenspektren von Modellverbindungen

VERBINDUNG	BASISPEAK (100 %) m/e	HAUPTPRODUKTE $M^+ > 10\%$	NEBENPRODUKTE $M^+ < 10\%$
	78		
	91		
	154		—
	108		—
	78		
	112		
	78		
	78		

4. DATENVERARBEITUNG

Der Anfall an analytischen Daten steigt derart rasch an (vgl. *Abbildung 1* und *Tabelle 2*), dass eine Reihe von Laboratorien auf dem besten Wege zur Erstellung beachtlicher Datenfriedhöfe sind. Zweifellos ist ein Wunschtraum des Chemikers die Erweiterung des als 'Black Box' aufgefassten analytischen Instrumentes (vgl. *Abbildung 4*) durch eine weitere 'Black Box', in der die Daten direkt zu brauchbaren Strukturvorschlägen verarbeitet werden (*Abbildung 9*). Mit den heute zur Verfügung stehenden Methoden und Mitteln der elektronischen Datenverarbeitung scheint dieses Ziel nicht mehr unerreichbar.

Es zeigen sich heute zwei grundsätzlich verschiedene Wege, um aus den spektralen Daten einer unbekanntem Verbindung sinnvolle Strukturvorschläge zu erhalten. Eine Möglichkeit besteht darin, den bei der Interpretation durch den Analytiker ablaufenden Denk- und Entscheidungsprozess möglichst getreu auf den Computer zu übertragen, den Analytiker also auf dem Computer zu simulieren. Die Realisierung dieses Lösungsweges scheidet aber daran, dass

STRUKTURAUFKLÄRUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN

auch die grössten heute existierenden Computersysteme in ihrer Leistungsfähigkeit bei der Bewältigung von komplexen Entscheidungsvorgängen dem menschlichen Gehirn um viele Grössenordnungen unterlegen sind. Dementsprechend haben die bis heute bekannt gewordenen Versuche in dieser Richtung trotz teilweise beängstigend hohem Aufwand ein an der

Tabelle 6. Pyrolyse-Massenspektren von Pigmentfarbstoffen

TEILSTRUKTUR	SUBSTITUENTEN Z	HAUPTPRODUKT	NEBENPRODUKTE
	- Cl - (Cl) ₂ - Cl ; -CH ₃		 NITRILE
	-CH ₃ - Cl - Cl ; -CH ₃ - (OCH ₃) ₂ - Cl ; - (OCH ₃) ₂		 NITRILE
	- Cl ; -CH ₃		 NITRILE
	-CH ₃ - OCH ₃		NITRILE
	2x -CH ₃ 2x -Cl		—
	2x -Cl		—
	2x -Cl		
	-OH		—
	-OH		—

Leistungsfähigkeit eines Analytikers gemessen bemerkenswert bescheidenes Resultat erbracht¹⁰. Zudem kann das Computersystem nur über jene Korrelationen verfügen, die vom Programmierer explizit ins Programm eingebaut wurden. Nicht ganz eindeutig mathematisch formulierbare Zusammenhänge, wie sie im semiempirischen Einsatz spektroskopischer Methoden häufig vorkommen, sind daher von vornherein von jeder Verwertung ausgeschlossen.

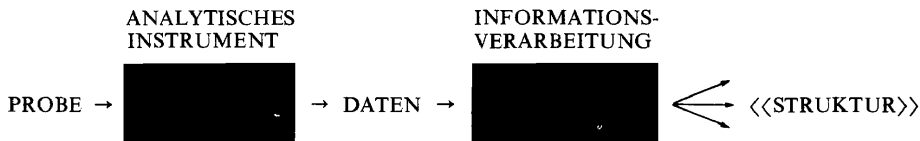


Abbildung 9. Wunschtraum des organischen Chemikers.

Der zweite Lösungsweg besteht darin, auf eine Simulation des Analytikers auf dem aufgrund seiner logischen Struktur dazu wenig geeigneten Computer zu verzichten und statt dessen ein den Stärken und Schwächen elektronischer Datenverarbeitungssysteme besser angepasstes System zu verwenden. Ein erster Schritt in dieser Richtung ist beispielsweise das automatische Aufsuchen von Referenzverbindungen mit ähnlichen spektralen Merkmalen wie die Unbekannte durch Vergleich ihres Spektrums mit einer im Computer gespeicherten Sammlung von Referenzspektren¹¹. Um dieses Problem mit vertretbarem Aufwand lösen zu können, ist es notwendig, die Verschlüsselung der spektralen Daten, die Organisation ihrer Speicherung sowie die Suchstrategie für diesen Anwendungsbereich zu optimieren. Eine Speicherung der gesamten Information, die im Kurvenzug eines analog registrierten Spektrums enthalten ist, kann aus wirtschaftlichen Erwägungen nicht in Betracht gezogen werden, wie dies die folgende Überschlagsrechnung zeigt.

Der Informationsgehalt eines Infrarotspektrums ergibt sich bei einer Auflösung der Wellenlängenskala von etwa 1:4000 und einem dynamischen Bereich der Intensitätswerte von 1:250 ($1:2^8$) zu rund 32000 Bit. Für die übrigen Spektren liegt der Speicherbedarf in der gleichen Grössenordnung. Damit ergäbe sich für eine voll dokumentierte Referenzverbindung (4 Spektren, Struktur, Name, Quelle etc.) ein Speicherbedarf von mindestens 150000 Bit. Das neue Rechenzentrum der ETH Zürich verfügt mit einem Doppelsystem CDC 6400/6500 und einem Zusatz-Kernspeicher (Extended Core Storage) über etwa 630 K Worte Kernspeicher à 60 Bit. Darin liessen sich theoretisch also rund 250 Referenzverbindungen unterbringen, eine für die Praxis völlig ungenügende Zahl. Auch die Speicherung auf einem Plattenspeicher führt zu unsinnigen Grössenordnungen. Am ehesten realisierbar wäre die Speicherung auf Magnetbändern. Dabei wird aber die Zugriffszeit und damit die Verarbeitungszeit untragbar gross. Dementsprechend muss aus praktischen Gründen zum vornherein auf einen beträchtlichen Teil der spektroskopischen Information verzichtet werden. Man wird demnach aus der Fülle der spektroskopischen Merkmale jene herausgreifen, von denen eine besonders hohe Aussagekraft erwartet werden kann. Diese Auswahl muss mit besonderer Sorgfalt erfolgen, da die Brauchbarkeit einer solchen Referenzspektrumsammlung entscheidend von der richtigen Wahl der codierten Merkmale abhängt.

Der Verzicht auf den vollen Informationsgehalt der Spektren zugunsten einer überschaubaren Anzahl sorgfältig ausgewählter spektraler Merkmale erlaubt auch, die zum eigentlichen Vergleichen der Spektren notwendige Rechenzeit drastisch zu verkürzen. Indem die Vergleiche der einzelnen Merkmale nicht sequentiell, sondern nach einer solchen Prioritätsordnung erfolgt, die den in der Datenbank nur selten vorkommenden Merkmalen ein besonders hohes Gewicht zumisst, können eklatante Unterschiede in den zu vergleichenden Spektren schon früh erkannt werden. Dann wird der Vergleichsprozess vorzeitig abgebrochen, so dass keine Rechenzeit an hoffnungslosen Fällen vergeudet wird.

Praktische Versuche mit einem solchen Suchsystem für Referenzspektren am organisch-chemischen Laboratorium der ETH haben ermutigende Ergebnisse gezeigt. Einstweilen enthält die Datenbank etwa 1000 Kernresonanzspektren. Sie sind so codiert, dass die Lage eines Signals sowie seine Struktur je ein spektroskopisches Merkmal bilden. Erstaunlicherweise hat sich gezeigt, dass eine Unterteilung der Signalformen in scharfe Singletts einerseits und aufgespaltene Signale andererseits völlig genügend ist. Eine feinere Unterteilung führt zu keiner Verbesserung des Recalls, lässt aber die zum Vergleichen notwendige Rechenzeit stark ansteigen. Im gegenwärtigen Zeitpunkt werden trotz transparenter Programmierung und dementsprechend keineswegs optimaler Wirksamkeit nur rund 20 sec zum Vergleichen von 10000 Spektren benötigt. Wird auf die prioritätsabhängige Sequenzierung der Einzelvergleiche und damit auf das vorzeitige Abbrechen des Vergleichsprozesses bei schlechter Übereinstimmung verzichtet, so steigt die benötigte Rechenzeit auf etwa 50 sec pro 10000 Spektren an.

5. AUSBLICK

Oft führen die spektroskopischen Methoden bei der Strukturaufklärung organischer Verbindungen nicht zum Ziel. Man wird dann versuchen, die unbekannte Substanz durch chemische Umwandlungen in solche Produkte überzuführen, die einer Strukturaufklärung mittels instrumenteller Methoden besser zugänglich sind. Oft helfen auch spezielle instrumentelle Methoden wie z.B. ESCA¹², deren Leistungsfähigkeit und Grenzen heute noch nicht voll erkundet sind. Mehr und mehr findet die Röntgenstrukturanalyse Eingang in die Praxis der Strukturaufklärung organischer Verbindungen. Die Röntgenstrukturanalyse liefert zwar vollständige Angaben über die Architektur einer Verbindung; eine echte Routinemethode ist sie bis jetzt nicht geworden, da die Untersuchung und vollständige Auswertung der Daten für eine organische Verbindung mittleren Molekulargewichtes beim Vorliegen eines genügend grossen Einkristalls immer noch etwa 1 bis 2 Monate dauert und Zugang zu einem leistungsfähigen programmgesteuerten Grossrechner voraussetzt.

Die vorliegende Arbeit wurde vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung unterstützt.

LITERATURVERZEICHNIS

- ¹ W. Simon, P. F. Sommer und G. H. Lyssy. *Microchem. J.* **6**, 239 (1962).
- ² H. Weitkamp und F. Korte. *Chem. Ing. Tech.* **35**, 429 (1963).
- ³ F. Salzer. *VI. Internationales Symposium für Mikrochemie Graz 7–11 September 1970.*

- ⁴ J. T. Clerc, R. Dohner, W. Sauter und W. Simon. *Helv. Chim. Acta* **46**, 2369 (1963).
J. T. Clerc und W. Simon. *Microchem. J.* **7**, 422 (1963).
- ⁵ W. Simon. *Pure Appl. Chem.* **18**, 97 (1969).
- ⁶ M. J. D. Low. *Anal. Chem.* **41**, No. 6, 97A (1969).
- ⁷ R. R. Ernst. *Advances in Magnetic Resonance* Vol. 2, Ed. J. S. Waugh, Academic Press, Inc., New York, London, 1966.
- ⁸ J. Völlmin, P. Kriemler, I. Omura, J. Seibl und W. Simon. *Microchem. J.* **11**, 73 (1966).
- ⁹ R. Flückiger und W. Simon. *Helv. Chim. Acta* in Vorbereitung
- ¹⁰ M. Barbes, P. Powers, M. J. Wallington, W. A. Wolstenholme. *Nature* **212**, 784 (1966);
K. Biemann, C. Cone, B. R. Webster. *J. Amer. Chem. Soc.* **88**, 2597 (1966);
K. Biemann, C. Cone, B. R. Webster, G. P. Arsenault. *J. Amer. Chem. Soc.* **88**, 5598 (1966);
B. Petterson, R. Ryhage. *Arkiv Kemi* **26**, 293 (1967);
Shin-Ichi Sasaki, Hidetsugu Abe, Tatsumi Ouki, Masayoshi Sakamoto, Shukichi Ochiai.
Anal. Chem. **40**, 2220 (1968);
M. Senn, R. Venkataraghavan, F. W. McLafferty. *J. Amer. Chem. Soc.* **88**, 5593 (1966);
R. Venkataraghavan, F. W. McLafferty, G. E. Van Lear. *Organic Mass Spectrometry* **2**, 1 (1969);
J. Lederberg, G. L. Sutherland, B. G. Buchanan, E. A. Feigenbaum, V. A. Robertson, A. M. Duffield, C. Djerassi. *J. Amer. Chem. Soc.* **91**, 9273 (1969);
A. M. Duffield, A. V. Robertson, C. Djerassi, B. G. Buchanan, G. L. Sutherland, E. A. Feigenbaum, J. Lederberg. *J. Amer. Chem. Soc.* **91**, 2977 (1969);
G. Schroll, A. M. Duffield, C. Djerassi, B. G. Buchanan, G. L. Sutherland, E. A. Feigenbaum, J. Lederberg. *J. Amer. Chem. Soc.* **91**, 7440 (1969);
A. Buchs, A. B. Delfino, A. M. Duffield, C. Djerassi, B. G. Buchanan, E. A. Feigenbaum, J. Lederberg. *Helv. Chim. Acta* **53**, 1394 (1970);
B. Sheldrick, *Quart. Rev.* **24**, 454 (1970).
- ¹¹ J. T. Clerc und F. Erni, *Chimia*, **24**, 388 (1970).
- ¹² K. Siegbahn *et al.* *ESCA Applied to Free Molecules*. North-Holland Publishing Co., Amsterdam-London (1969). *ESCA, Atomic, Molecular and Solid State Structure Studied by Means of Electronic Spectroscopy*. Almqvist & Wiksells; Uppsala (1967).