

Darstellung und Eigenschaften von Verbindungen der Glutarsäure mit Hydroxylamin

R. KARLÍČEK und V. JOKL

Lehrstuhl für Analytische Chemie der Pharmazeutischen Fakultät
der Karls-Universität, 501 65 Hradec Králové

Eingegangen am 14. März 1980

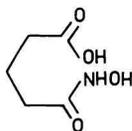
In der Arbeit wird die Darstellung der *N*-Hydroxyglutaramsäure, des *N*-Hydroxyglutarimids und der Glutarodihydroxamsäure beschrieben; es werden ihre ultravioletten und infraroten Spektren und Dissoziationskonstanten angeführt. In der Lösung der Glutarodihydroxamsäure wurde die Zyklisierung zum *N*-Hydroxyglutarimid nachgewiesen.

The preparation of *N*-hydroxyglutaramic acid, *N*-hydroxyglutarimide and glutarodihydroxamic acid is described. The u.v. and i.r. spectra as well as the dissociation constants of the prepared substances are presented. The cyclization of glutarodihydroxamic acid in solution to form *N*-hydroxyglutarimide has been confirmed.

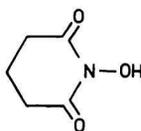
В работе описывается синтез *N*-гидроксиглутарамовой кислоты, *N*-гидроксиглutarимида и глutarодигидроксамовой кислоты. Приводятся их УФ и ИК спектры и константы диссоциации. В растворе глutarодигидроксамовой кислоты была доказана циклизация до *N*-гидроксиглutarимида.

Die „Hydroxamreaktion“ wird häufig zum Nachweis und zur Bestimmung verschiedener funktioneller Derivate der Karbonsäuren benutzt. Beim Studium der Reaktion der zyklischen Imide mit Hydroxylamin stießen wir auf die Notwendigkeit der Darstellung und des Studiums der Eigenschaften einiger Verbindungen der Glutarsäure mit Hydroxylamin [1]. In dieser Arbeit werden einfache Methoden der Darstellung und die Eigenschaften von drei Verbindungen beschrieben.

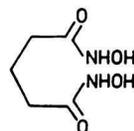
- I. *N*-Hydroxyglutaramsäure
II. *N*-Hydroxyglutarimid
III. Glutarodihydroxamsäure



I



II



III

Experimenteller Teil

Geräte und Chemikalien

Zur Messung des pH-Wertes wurde der pH-Meter PHM-52 mit der kombinierten Elektrode GK 2321C (Radiometer) benutzt; zur Regulierung des pH-Wertes der Lösungen wurde karbonatfreies 0,1 und 1 M-NaOH bzw. 0,1 und 1 M-HClO₄, die mit einer Kolben-Mikrobürette ABU 12 (Radiometer) zugegeben wurden, benutzt.

Die spektrophotometrischen Messungen wurden am Registrier-Spektrophotometer Unicam SP 1700 mit Drucker unter Verwendung von Küvetten mit 1 cm Schichtdicke und von speziellen Quarzküvetten mit einem Fassungsvermögen von 100 ml für die gleichzeitige Regulierung und Messung des pH-Wertes der gemessenen Lösung [2] durchgeführt. Die infraroten Spektren wurden in Kaliumbromid-Tabletten am Spektrophotometer Perkin—Elmer 577 gemessen. Lösung von Fe(III): 13,5 g FeCl₃·6H₂O gelöst in 100 ml 1,4 M-HCl und mit Wasser auf 1000 ml ergänzt.

Alle benutzten Chemikalien waren analytisch rein.

Darstellung der *N*-Hydroxyglutaramsäure

3,3 g (0,029 Mol) des Anhydrids der Glutarsäure wurden 24 Stunden mit 30 ml einer 4 M methanolischen Lösung des Hydroxylamins bei normaler Temperatur gemischt. Das gewonnene Produkt wurde aus Äthanol umkristallisiert, die Ausbeute betrug 2,6 g, d. h. 79% bezogen auf das Anhydrid. Durch Umkristallisieren aus Methyläthylketon wurde eine reine Substanz in Form farbloser Nadeln mit einer Schmelztemperatur von 122—123°C (nach [3] 122—124°C) gewonnen.

Für C₅H₉NO₄ (147,1) berechnet: 40,83% C, 6,17% H, 9,52% N; gefunden: 40,67% C, 6,22% H, 9,35% N.

Darstellung des *N*-Hydroxyglutarimidis

2,5 g (0,017 Mol) der *N*-Hydroxyglutaramsäure werden auf dem Ölbad bei herabgesetztem Druck (400 Pa) zwei Stunden auf 120—130°C erhitzt. Die gewonnene gelbliche Substanz von öltartiger Konsistenz wird zweimal aus einem Gemisch von Methyläthylketon und Xylol (1 : 1) umkristallisiert. Es werden feine Nadeln mit einer Schmelztemperatur von 107—108°C (nach [3] 108—109°C) gewonnen. Die Ausbeute betrug 1,7 g, d. h. 70%.

Für C₅H₇NO₃ (129,1) berechnet: 46,52% C, 5,46% H, 10,84% N; gefunden: 46,38% C, 5,52% H, 10,68% N.

Darstellung der Glutarodihydroxamsäure

4 g (0,025 Mol) des Dimethylesters der Glutarsäure und 30 ml einer 4 M methanolischen Lösung des freien Hydroxylamins werden bei Raumtemperatur 24 Stunden gemischt. Nach dem Abkühlen im Kühlschrank scheiden farblose Kristalle aus. Die Ausbeute beträgt 3,0 g, d. h. 75%. Das Rohprodukt wird zweimal aus 80%igem Methanol umkristallisiert. Die

gewonnene farblose kristalline Substanz ist sehr gut in Wasser löslich, löslich in Äthanol, unlöslich in Äther, Schmelztemperatur 157—158°C.

Für $C_5H_{10}N_2O_4 \cdot H_2O$ (180,2) berechnet: 33,33% C, 6,72% H, 15,59% N, 10,0% H_2O ; gefunden: 33,70% C, 6,69% H, 15,23% N, 9,90% H_2O .

Bestimmung der Dissoziationskonstanten

Bei der potentiometrischen Bestimmung wurden die in redestilliertem Wasser unterschiedliche Konzentrationen der Substanzen ($0,7-1,4 \cdot 10^{-3}$ M) enthaltenden Lösungen mit 0,1 N-NaOH in einem doppelmanteligen temperierten Gefäß ($20 \pm 0,2^\circ C$) unter Mischen im Stickstoffstrom titriert. Vor jeder Bestimmung wurde der pH-Meter mit Standardpufferlösungen — Kaliumhydrogenphthalat (pH 4,002), Phosphatpuffer (pH 7,429) und Boraxpuffer (pH 9,225) — geeicht. Die Auswertung der Konzentrations-Dissoziationskonstanten konnte aus den gemessenen pH-Werten durch Benutzung des experimentellen Parameters γ_H [4] vorgenommen werden. Die potentiometrischen Titrations wurden mit Hilfe einer Kolbenbürette in 0,100 M-NaClO₄ durchgeführt. Die Titrationsdaten wurden an einem Rechner nach dem Programm POT-3 [5] verarbeitet.

Bei der spektrophotometrischen Bestimmung wurden die ultravioletten Absorptionskurven der Lösungen der Verbindungen von $c_L = 2 \cdot 10^{-5}$ bis $1,2 \cdot 10^{-4}$ M, einer Ionenstärke von $I = 0,1$ (NaClO₄) in Quarzküvetten mit einem Volumen von 100 ml bei einer Temperatur von $20 \pm 0,5^\circ C$ gemessen. Gleichzeitig wurden direkt in der Küvette der pH-Wert unter Mischen im Stickstoffstrom reguliert und gemessen und die Absorbanz der Banden bei ausgewählten Wellenlängen gemessen [2]. Die Ausrechnung erfolgte wie üblich [6].

Dünnschichtchromatographie

Auf die chromatographische Platte Silufol wurden Probelösungen in einer Konzentration von 0,02 M in einer Menge von 2 μ l aufgetragen; Laufmittelgemisch: Benzol—Methanol—Essigsäure (15:8:1); die Detektion erfolgte durch Besprühen mit einer alkoholischen Eisen(III)-chloridlösung.

Ergebnisse und Diskussion

Synthese

In der Literatur wird die Darstellung der *N*-Hydroxyglutaramsäure [3] ausgehend vom Anhydrid der Glutarsäure beschrieben. Durch Reaktion mit Benzyl-oxyamin wird aber zunächst *N*-Benzylglutaramsäure gewonnen, die durch Hydrierung die Substanz *I* ergibt. Wir stellten fest, daß diese Verbindung einfacher und mit größerer Ausbeute durch direkte Reaktion des Anhydrids der Glutarsäure mit freiem Hydroxylamin in Methanol gewonnen werden kann. Durch Titration des

aus Äthanol umkristallisierten Produktes wurde festgestellt, daß es sich um eine Additionsverbindung mit Äthanol handelt.

Ebenso geht die Synthese des *N*-Hydroxyglutarimids vom Anhydrid der Glutarsäure und vom Benzyloxyamin aus [3], die auf 180°C erhitzt werden; nach Umkristallisieren wird *N*-Benzyloxyglutarimid gewonnen, das nach Hydrierung die Substanz *II* mit einer Ausbeute von 36% ergibt. Uns gelang die Synthese des *N*-Hydroxyglutarimids durch einfache Dehydratation und Zyklisierung der *N*-Hydroxyglutarsäure bei erhöhter Temperatur und herabgesetztem Druck.

Beim Studium potentieller Malariamittel beschreibt *Hynes* [7] die Darstellung der Glutarodihydroxamsäure. Durch Reaktion des Esters mit einem Überschuß an Hydroxylamin und mit Natriummethylat gewinnt er jedoch das Mononatriumsalz in Form des Dihydrats mit 34%iger Ausbeute. Wie weiter nachgewiesen wird, ist die niedrige Ausbeute eine Folge der Unbeständigkeit der Verbindung im alkalischen Medium, und daher betrachten wir die zitierte Art der Darstellung als ungeeignet.

Potentiometrische Titration

Die potentiometrische Neutralisationskurve *1* weist zwei Pufferbereiche um pH 4—5 und 9—10 auf und einen ausdrucksvollen Potentialsprung bei einem Verbrauch eines Mols des Hydroxids auf ein Mol der Substanz (Abb. 1), welcher der Abspaltung eines Protons aus der Karboxylgruppe entspricht. Die aus fünf Titrationen errechneten Durchschnittswerte beider Dissoziationskonstanten und Vertrauensintervalle sind in Tabelle 1 angeführt.

Tabelle 1

Dissoziationskonstanten der *N*-Hydroxyglutarsäure *I*, des *N*-Hydroxyglutarimids *II* und der Glutarodihydroxamsäure *III*
20°C, *I* = 0,1 NaClO₄

Verbindung	Gleichgewicht	Konstante	- log Konst.		
			potentiometr.	spektrophotometr.	andere Autoren [3]
<i>I</i>	[HL] · [H]/[H ₂ L]	<i>K</i> _{a1}	4,37 ± 0,02	—	4,6
	[L] · [H]/[HL]	<i>K</i> _{a1}	9,39 ± 0,02	9,39 ± 0,03	9,6
<i>II</i>	[L] · [H]/[HL]	<i>K</i> _{a1}	7,65 ± 0,03	7,56 ± 0,03	7,6
	[HL] · [H]/[H ₂ L]	<i>K</i> _{a1}	8,91 ± 0,03	—	—
<i>III</i>	[L] · [H]/[HL]	<i>K</i> _{a2}	10,66 ± 0,06	—	—

Vertrauensintervalle wurden aus der Streuung der Ergebnisse von 5 potentiometrischen und 4 spektrophotometrischen Titrationen für $\alpha = 0,95$ errechnet.

Die Neutralisationskurve 2 weist ein Puffergebiet in einem Bereich von pH 7—8 und einen verhältnismäßig ausdrucksvollen Potentialsprung auf (Abb. 1). Die Kurve der Substanz III weist mit ineinander übergehenden Puffergebieten nur einen sehr wenig ausdrucksvollen Potentialsprung auf, der der Abspaltung der Protonen aus beiden Karbohydroxamgruppen entspricht. Die Durchschnittswerte der Konstanten sind in Tabelle 1 angeführt.

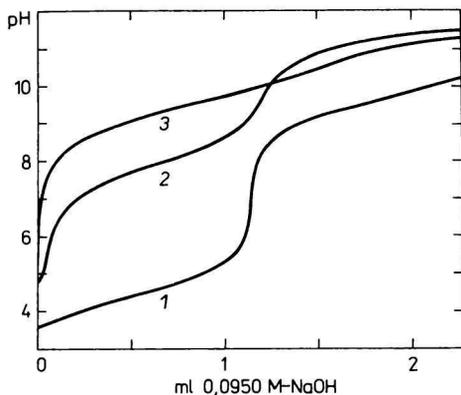


Abb. 1. Potentiometrische Neutralisationskurven.

Kurve 1. *N*-Hydroxyglutaramsäure :

$$c_L = 2,18 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l, } V = 50 \text{ ml.}$$

Kurve 2. *N*-Hydroxyglutarimid :

$$c_L = 2,27 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l, } V = 50 \text{ ml.}$$

Kurve 3. Glutarodihydroxamsäure :

$$c_L = 1,38 \cdot 10^{-3} \text{ Mol/l, } V = 50 \text{ ml.}$$

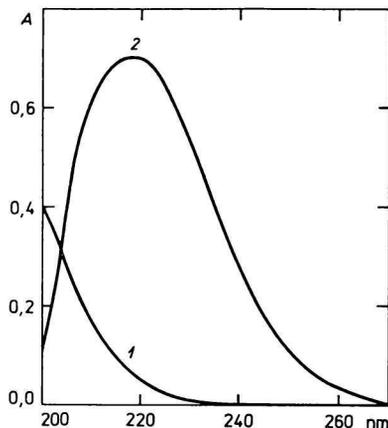


Abb. 2. Absorptionskurven der *N*-Hydroxyglutaramsäure.

$$c_L = 9,67 \cdot 10^{-5} \text{ Mol/l, } l = 1 \text{ cm.}$$

Kurve 1. pH 6,10; 2. pH 11,1.

Ultraviolette Spektren

Die ultravioletten Absorptionskurven von Lösungen der *N*-Hydroxyglutaramsäure bei pH 6,10 (Form HL^-) und bei pH 11,1 (Form L^{2-}) sind auf Abb. 2 veranschaulicht. Alle Absorptionskurven der Lösungen mit einem $pH < 7$ haben praktisch einen übereinstimmenden Verlauf mit einem im Bereich unter 200 nm liegenden Absorptionsmaximum. Durch Alkalisieren der Lösungen über pH 7 hinaus kommt es zur Bildung eines neuen Absorptionsmaximums um 218 nm; dabei durchlaufen alle Kurven einen isobestischen Punkt bei 204 nm. Mit Hinblick darauf, daß die Absorptionsbande mit einem Maximum bei 218 nm in einem pH-Bereich auftritt, der mit dem zweiten Pufferbereich der potentiometrischen Kurve übereinstimmt, steht ihr Entstehen offensichtlich in Verbindung mit

der Dissoziation der Gruppe —CONHOH; die Dissoziation der Karboxylgruppe tritt in diesem Bereich nicht in Erscheinung. Die entsprechende A-pH-Kurve ist auf Abb. 3 veranschaulicht. Der errechnete Wert der Dissoziationskonstante ist das durchschnittliche Ergebnis aus vier parallelen spektrophotometrischen Messungen (bei jeder wurden 20—30 Punkte der A-pH-Kurve ermittelt) bei Wellenlängen von 218 und 230 nm (Tabelle 1).

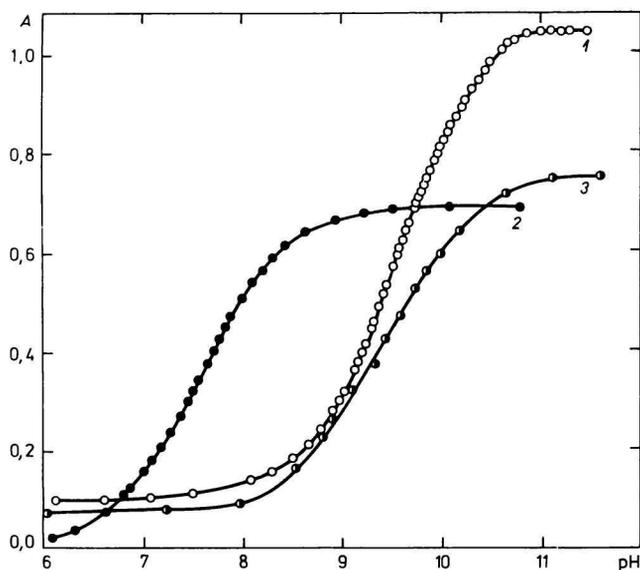


Abb. 3. A-pH-Kurven der Verbindungen.

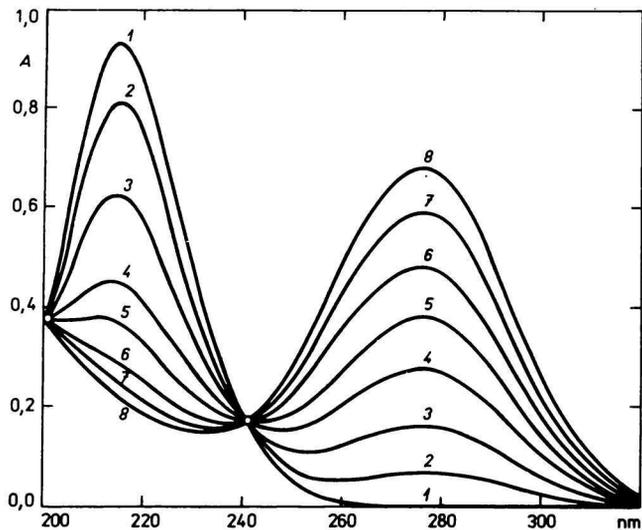
Kurve 1. *N*-Hydroxyglutaramsäure: $c_L = 4,12 \cdot 10^{-5}$ Mol/l, $l = 3,48$ cm, 218 nm.

Kurve 2. *N*-Hydroxyglutarimid: $c_L = 2,55 \cdot 10^{-5}$ Mol/l, $l = 3,48$ cm, 276 nm.

Kurve 3. Glutarodihydroxamsäure: $c_L = 1,13 \cdot 10^{-4}$ Mol/l, $l = 0,5$ cm, 219 nm.

Die Absorptionskurven der Lösungen des *N*-Hydroxyglutarimids haben im sauren Bereich bis pH 6 praktisch einen übereinstimmenden Verlauf mit einem Absorptionsmaximum bei 216 nm. Durch Erhöhen des pH-Wertes der Lösungen über pH 6 hinaus kommt es zu einer Veränderung der Absorptionskurven und zum Entstehen einer neuen Absorptionsbande mit einem Maximum bei 276 nm (Abb. 4).

Die Absorptionskurven frisch bereiteter Lösungen der Glutarodihydroxamsäure haben bis pH 8 praktisch den gleichen Verlauf mit einem Maximum in einem niedriger als 200 nm liegenden Bereich. Durch Alkalisieren der Lösungen kommt

Abb. 4. Absorptionskurven des *N*-Hydroxyglutarimids.

$$c_L = 2,55 \cdot 10^{-5} \text{ Mol/l, } l = 3,48 \text{ cm.}$$

Kurve 1. pH 2,10 bis 5,12; 2. 6,56; 3. 7,02; 4. 7,38; 5. 7,64; 6. 7,92; 7. 8,34; 8. 9,50 bis 10,78.

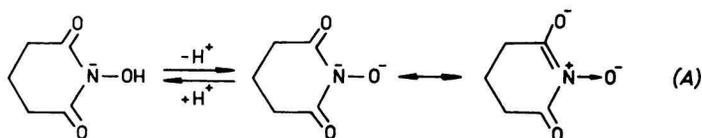
es zum Entstehen einer intensiven Absorptionsbande mit einem Maximum bei 219 nm. Die Lage der Absorptionsbanden ist also mit der der *N*-Hydroxyglutaminsäure identisch, die Absorptionsintensität ist allerdings größer (Tabelle 2).

Tabelle 2

Spektrophotometrische Charakteristiken der Verbindungen

Verbindung	Form			isosb. Punkt nm
	H ₂ L	HL	L	
	$\lambda_{\text{max}}/\text{nm}$ $\epsilon/l \text{ Mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$	λ_{max} ϵ	λ_{max} ϵ	
<i>I</i>	< 200	< 200	218 7250	204
<i>II</i>	—	216 10300	276 7700	201 241
<i>III</i>	< 200	219 —	219 13200	204

Die Werte der aus potentiometrischen und spektrophotometrischen Messungen gewonnenen jeweiligen Dissoziationskonstanten sind praktisch übereinstimmend (Tabelle 1). Es geht aus ihnen hervor, daß pK_{a1} bei der *N*-Hydroxyglutaramsäure der Dissoziation der Carboxylgruppe entspricht (Glutarsäure $pK_{a1} = 4,13$ [8]). Das erwähnte *N*-Hydroxyimid ist als zyklische Hydroxamsäure eine hundertmal stärkere Säure als die Hydroxamsäuren, was mit den zwei Carbonylgruppen im Zusammenhang steht, die durch ihre elektronakzeptierende Wirkung die Polarisation der Bindung O—H erhöhen. Die Dissoziation verläuft nach Reaktion (A).



Infrarote Spektren

Die infraroten Spektren der studierten Stoffe weisen Absorptionsbanden auf, die schematisch wie folgt beschrieben werden können (nach Intensität gekennzeichnet s stark, m mittel, w schwach):

N-Hydroxyglutaramsäure (cm^{-1}) 3240 s, 1715 s, 1630 s, 1535 m, 1420 m, 1320 m, 1230 s, 1090 m, 1040 m, 945 m, 810 w, 440 m. Das Absorptionsmaximum bei 1715 cm^{-1} ist dabei für die Valenzschwingung der Gruppe C=O (Carboxyl, Dimer) charakteristisch, die Absorptionsbande bei 1630 cm^{-1} für die Valenzschwingung der Gruppe C=O (Amid I), die Bande bei 1535 cm^{-1} für die Deformationsschwingung der N—H-Gruppe (Amid II) und die Bande bei 1230 cm^{-1} entspricht der Valenzschwingung C—N und der Deformationsschwingung N—H (Amid III).

N-Hydroxyglutarimid 3280 m, 2900 w, 1740 s, 1680 s, 1430 m, 1360 m, 1340 m, 1265 s, 1180 s, 1150 s, 1110 m, 1010 s, 930 w, 890 s, 700 m, 670 m, 620 w, 580 m, 460 m. Die starken Absorptionsbanden bei 1740 und 1680 cm^{-1} entsprechen dabei in den Imiden der Valenzschwingung der Gruppe C=O, die Bande bei 890 cm^{-1} der Valenzschwingung der Gruppe N—O.

Glutarodihydroxamsäure 3490 m, 3180 s, 3020 w, 2870 w, 1650 s, 1620 s, 1540 w, 1460 w, 1360 w, 1340 w, 1295 m, 1090 s, 1060 m, 1020 s, 940 m, 630 m, 460 w. Für die angeführte Substanz sind die Absorptionsbanden bei 1650 und 1620 cm^{-1} charakteristisch, die der Valenzschwingung C=O (Amid I) entsprechen, bei 1540 cm^{-1} , die der Deformationsschwingung N—H entspricht (Amid II) und eine der Valenzschwingung C—N und der Deformationsschwingung N—H (Amid III) entsprechende Bande bei 1295 cm^{-1} .

Stabilität der Substanzen in Lösung

Alle drei Verbindungen sind in kristallinem Zustande beständig, auch nach zweijähriger Lagerung wurden keine Veränderungen festgestellt. Durch Messen der ultravioletten Spektren wiesen wir nach, daß ebenfalls die wäßrigen Lösungen der Verbindungen *I* und *II* mindestens nach einem Zeitraum von zehn Tagen stabil sind; bei der Glutarodihydroxamsäure kommt es zu Veränderungen. Zwecks Prüfung der eintretenden Veränderungen maßen wir die ultravioletten Absorptionskurven der aufbewahrten Lösungen der Verbindung *III* von unterschiedlichem pH in Abhängigkeit von der Zeit und gleichzeitig die Absorbanz des Eisen(III)-Komplexes, der durch Mischen von 1 ml Lösung mit 10 ml Fe(III)-Lösung hergestellt worden war. Die Geschwindigkeit der eintretenden Veränderungen der aufbewahrten Lösung bei pH 7 ist am besten aus Abb. 5 ersichtlich.

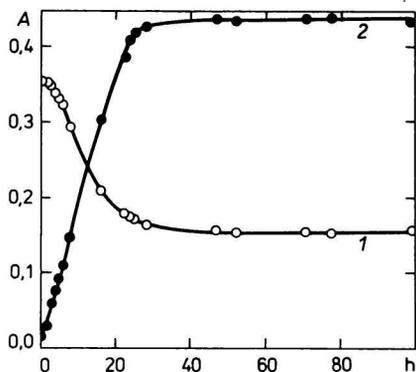


Abb. 5. Veränderungen in der Lösung der Glutarodihydroxamsäure; pH 7, $l = 1$ cm.

Kurve 1. $c_L = 1,88 \cdot 10^{-3}$ Mol/l,
 $c_{Fe} = 4,55 \cdot 10^{-2}$ Mol/l;

A = Absorbanz des Fe(III)-Komplexes bei 515 nm.

Kurve 2. $c_L = 9,40 \cdot 10^{-5}$ Mol/l;

A = Absorbanz der Lösung bei 276 nm.

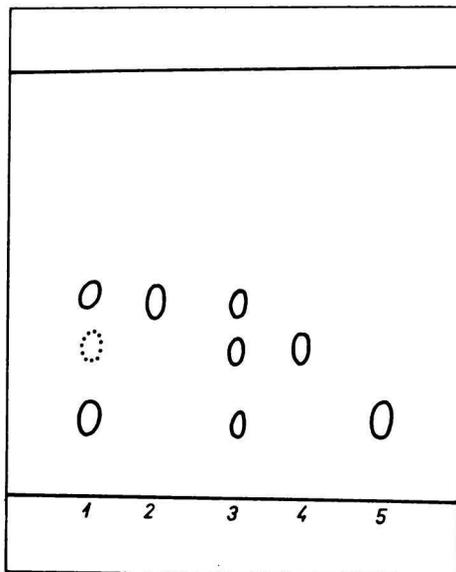
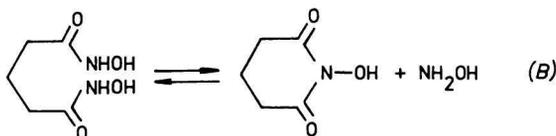


Abb. 6. Chromatogramm der Lösung der Glutarodihydroxamsäure.

1. Glutarodihydroxamsäure in Lösung von pH 7, 300 h; 2. *N*-Hydroxyglutarimid, hR_F 45; 3. Mononatriumsalz der Glutarodihydroxamsäure; 4. *N*-Hydroxyglutaramsäure, hR_F 35; 5. Glutarodihydroxamsäure, frisch bereitete Lösung, hR_F 18.

Die ausdrucksvolle Veränderung des Absorptionsspektrums verbunden mit dem Entstehen einer Bande bei 276 nm bei in neutralem und alkalischem Medium aufbewahrten Lösungen und das gleichzeitige Absinken der Absorbanz des Eisen(III)-Komplexes weist auf die Möglichkeit einer Zyklisierung der Glutarodihydroxamsäure zum *N*-Hydroxyglutarimid hin. Zur Bestätigung führten wir die Auftrennung der Bestandteile in der aufbewahrten Lösung auf einer Dünnschicht durch. Wie auch aus Abb. 6 hervorgeht, kommt es in Lösungen der Glutarodihydroxamsäure zur Zyklisierung und Einstellung des Gleichgewichtes (*B*). Chromatographisch konnte gleichzeitig nachgewiesen werden, daß es bei der mehr als



21 Tage aufbewahrten Lösung des *N*-Hydroxyglutarimids zu seiner teilweisen Hydrolyse nach Reaktion (*C*) kam.

Im alkalischen Medium kommt es aber wesentlich eher zur Hydrolyse nach (*C*), daher überwiegt auch bei der Lösung des Natriumsalzes der Glutarodihydroxam-

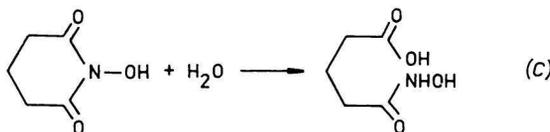


Tabelle 3

Vertretung der Glutarodihydroxamsäure (*III*) und des *N*-Hydroxyglutarimids (*II*) in Lösung der Glutarodihydroxamsäure

Aufbewahrungsdauer Stunden	pH der aufbewahrten Lösung					
	3		7		11	
	% <i>III</i> ^a	% <i>II</i> ^b	% <i>III</i>	% <i>II</i>	% <i>III</i>	% <i>II</i>
22	98,0	2,2	52,0	54,0	44,3	63,4
70	96,8	4,0	43,2	61,3	48,7	45,4
190	89,2	12,8	43,2	61,1	48,7	32,2

a) Anteil errechnet aus der Absorbanz des Eisen(III)-Komplexes.

b) Anteil errechnet aus der Absorbanz bei 276 nm.

säure nach Ablauf weniger Tage der der *N*-Hydroxyglutaramsäure entsprechende Flecken (Abb. 6). Durch diese Erkenntnis wird auch die geringe Eignung der Darstellung des Natriumsalzes der Glutarodihydroxamsäure verständlich. Die Geschwindigkeit der Zyklisierung und der Anteil der Bestandteile geht am besten aus Tabelle 3 hervor. Die Unstimmigkeit in der prozentualen Vertretung beider Substanzen bei pH 11 wird durch die Hydrolyse des *N*-Hydroxyglutarimids bewirkt.

Literatur

1. Karlíček, R. und Komrsková, D., *Česk. Farm.* 28, 292 (1979).
2. Karlíček, R., *Collect. Czech. Chem. Commun.* 40, 3825 (1975).
3. Ames, D. E. und Grey, T. F., *J. Chem. Soc.* 1955, 631.
4. McBryde, W. A. E., *Analyst* 94, 337 (1969).
5. Havel, J. und Pajgrtová, O., *Scripta Fac. Sci. Univ. Brno*, im Druck.
6. Albert, A. und Serjeant, E. P., *The Determination of Ionization Constants*. Chapman and Hall, London 1971.
7. Hynes, J. B., *J. Med. Chem.* 13, 1235 (1970).
8. Martell, A. E. und Smith, R. M., *Critical Stability Constants*, Vol. 3. Plenum Press, New York 1977.

Übersetzt von A. Muchová