

gistriert werden, z. B. die Esterspaltung von Lokalanästhetika in niedrigen Konzentrationen (10–50 γ /ml) im Serum. Die berechneten Zersetzungskonstanten zeigten, daß die Hydrolysegeschwindigkeit stark speziesabhängig ist. Dieser Befund entspricht gut den Literaturangaben [4].

Die Komplexbildung ermöglicht außerdem die selektive Extraktion der basischen Arzneistoffe aus Körperflüssigkeiten. Durch Fluorimetrie der Extrakte konnten weniger als 10^{-6} g der Arzneistoffe erfaßt werden.

Automatische Kopplung der Dünnschicht-Chromatographie mit der Gas-Chromatographie

R. Kaiser, Ludwigshafen

Mit steigendem Molgewicht der Substanzen steigt die Unsicherheit der qualitativen Aussage der Gas-Chromatographie stark an.

Hier hilft die automatische Kopplung des Gas-Chromatographie-Gerätes mit der Dünnschicht-Chromatographie. An den umgebauten hochgeheizten Ausgang eines (temperaturprogrammierten) Gas-Chromatographen wird eine Dünnschichtplatte angeschlossen, die, vom Schreiber oder nach Zeit gesteuert, verschoben wird. Die Substanz einer jeden kleinen Zone und die Summe der dazwischenliegenden Spuren werden als je ein Startfleck auf der Dünnschichtplatte durch punktförmige Kühlung niedergeschlagen oder werden – auch ohne Kühlung – kontinuierlich als Strich in der Dünnschicht adsorbiert. Die Dünnschichtplatte wird wie üblich mit Laufmitteln entwickelt. Die den einzelnen Zonen entsprechenden Substanzen werden jetzt nochmals, und zwar prinzipiell anders chromatographiert. Hierbei kann eine weitere Zerlegung stattfinden. Die entwickelte Dünnschichtplatte wird mit äußerst stoffspezifischen chemischen Reagentien behandelt. Das fertige Dünnschicht-Chromatogramm liefert in Verbindung mit dem Gas-Chromatogramm eine Fülle meist überraschender zusätzlicher Aussagen und hilft oder ermöglicht erst, die gaschromatographische Analyse qualitativ richtig zu beenden. Die automatische Kopplung ist einer diskontinuierlichen gemeinsamen Anwendung von Gas- und Dünnschicht-Chromatographie überlegen. Sie dient auch der Kontrolle von Fehlerquellen (Zersetzung, irreversible Adsorption, Umwandlungen in Säule, Detektor und Probengeber sowie bei präparativen Arbeiten).

Zur Reaktion von Nucleotiden und Nucleinsäuren mit Diazoniumsalzen

H. Kössel, München

Wie Zillig und Verwoerd [5] am Beispiel der Reaktion von Hydroxylamin mit s-RNA zeigten, sind chemische Methoden zum basenspezifischen Abbau oder zur basenspezifischen Modifikation von Nucleinsäuren für die Sequenzanalyse nützlich. Unter diesem Aspekt wurde die Einwirkung von Diazoniumsalzen auf Nucleotide und Nucleinsäuren untersucht.

Als Diazoniumsalze wurden diazotierte 1.4-Sulfanilsäure, diazotiertes 2.4-Dichloranilin, diazotiertes p-Nitranilin und diazotierte 4-Nitranilin-3-sulfonsäure in 3- bis 10-fachem Überschuß bei 2 °C eingesetzt. Die Reaktionen mit den in Nucleinsäuren vorkommenden Nucleotiden Guanylsäure (Gp), Adenylsäure (Ap) und Cytidylsäure (Cp) lassen sich gut durch die Extinktionszunahmen zwischen 370 und 440 m μ und durch Hochspannungspapierelktrophorese verfolgen.

Mit diazotierter 1.4-Sulfanilsäure reagieren Gp, Ap und Cp; Gp reagiert am raschesten und quantitativ. Cp setzt sich nur zu etwa 20 % um. Uridyl- und Thymidylsäure reagieren nicht. Die pH-Optima liegen bei 10,2 (Gp) und 10,7 (Ap, Cp). Daß es sich bei den entstehenden Farbstoffen nicht oder nur zum

geringen Teil um echte Azoprodukte, sondern um Diazo-amino-Derivate mit der Triazenstruktur $R^1-N=N-NH-R^2$ handelt, geht aus folgenden Befunden hervor:

1. Die Farbstoffe spalten sich in schwachsaurem Medium in die Ausgangskomponenten.
2. Die Farbstoffe zeigen optische pK_a-Werte bei 11,9 (Gp) und 9,0 (Ap, Cp).
3. Die Farbstoffbildung unterbleibt in Gegenwart von Formaldehyd, welcher mit den Aminogruppen reagiert.

Der Farbstoff mit Ap wird am raschesten wieder gespalten. Bei der Rückspaltung des Gp-Produktes bildet sich z.T. Xanthidylsäure, das Desaminierungsprodukt von Guanylsäure.

Entsprechend verlaufen Umsetzungen von diazotierter 1.4-Sulfanilsäure mit RNA und DNA. Cytidylsäure reagiert nicht.

Im Gegensatz dazu beobachteten Beer und Moudrianakis [6] mit einer diazotierten Naphthylamintrisulfonsäure eine basenspezifische Kupplung an DNA.

Mit den Diazoniumsalzen von 2.4-Dichloranilin, p-Nitranilin und 4-Nitranilin-3-sulfonsäure reagieren nur die Purinnucleotide, wiederum setzt sich Gp vor Ap um. Die pH-Optima für beide Nucleotide liegen mit allen drei Diazoniumsalzen bei 8,5.

Anwendungen der NMR-Spektroskopie zur Analyse organischer Verbindungen mit bekannten funktionellen Gruppen

N. van Meurs, Amsterdam (Niederlande)

a) Hochaufgelöste NMR-Spektren dienen zur Unterscheidung von primären, sekundären und tertiären monobasischen Säuren und zur quantitativen Analyse binärer Gemische dieser Säuren;

b) von primären, sekundären und tertiären einwertigen aliphatischen Alkoholen und zur quantitativen Analyse binärer und ternärer Gemische dieser Alkohole.

Die drei Typen der monobasischen Säuren lassen sich nach der Multipllettstruktur und nach dem Intensitätsverhältnis der α -CH₂- und α -CH-Protonenresonanzsignale unterscheiden, vorausgesetzt, daß diese nicht von β -Proton-Multiplletts überlappt werden. Die Signale werden auf das Carboxyl-Protonenresonanzsignal bezogen. Zur quantitativen Analyse binärer Säure-Mischungen wird das Intensitätsverhältnis bestimmt.

Bei der Analyse von Alkoholen bildet die Vorbereitung der Probe einen wesentlichen Teil des Verfahrens: sie soll bewirken, daß der Protonenaustausch des Hydroxylprotons praktisch zum Stillstand kommt [7]. Dann unterscheiden sich die drei Alkoholtypen in der Mannigfaltigkeit des OH-Signals und in der chemischen Verschiebung. Sie hängt vom Lösungsmittel und von der Temperatur ab.

Ein zweites Verfahren, das auf dem Vergleich von Peakhöhen basiert, liefert in geeigneten Fällen Ergebnisse von gleicher Genauigkeit (± 5 % abs.).

Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten der Dissoziation und Rekombination organischer Säuren

H. W. Nürnberg, Jülich

Mit der elektrochemischen Methode der High Level Faradaic Rectification [8] wurden erstmalig die Geschwindigkeitskonstanten der Dissoziation und Rekombination für 12 kon-

[4] R. Muschawek: Lokalanästhesie u. Lokalanästhetika. Thieme, Stuttgart 1959, S. 103.

[5] W. Zillig, D. W. Verwoerd u. K. Kohlhaage, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 332, 184 (1963).

[6] M. Beer u. E. N. Moudrianakis, Proc. nat. Acad. Sci. USA, 48, 409 (1962).

[7] Der Protonenaustausch wird unterdrückt, indem man die Substanzen sorgfältig neutralisiert.

[8] H. W. Nürnberg u. G. C. Barker, Naturwissenschaften 51, 191 (1964).

stitutionell verschiedene aliphatische und aromatische Carbonsäuren in 1 M LiCl-Lösung bestimmt.

Da hiermit kinetische Daten für eine größere Anzahl von Säuren vorliegen, ist die Formulierung von Korrelationen zwischen den Geschwindigkeitskonstanten und der Struktur der Säuren und ihrer Anionen möglich, während bisher derartige Überlegungen allein auf den Gleichgewichtskonstanten basierten. Normalerweise verläuft die Rekombination rein diffusionsbedingt, und man erhält einen einheitlichen Wert für die Rekombinationsgeschwindigkeitskonstante k_r ,

$$k_r \approx 3,7 \cdot 10^{10} \text{ Mol}^{-1} \text{ sec in 1 M LiCl}$$

da der Diffusionskoeffizient des Wasserstoff-Ions den dominierenden Einfluß ausübt. Es ergibt sich dann eine lineare Abhängigkeit zwischen Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante k_d und Gleichgewichtskonstante. Daraus läßt sich k_d für weitere Säuren mit Normalverhalten bei Kenntnis der Gleichgewichtskonstante vorhersagen. Die konstitutionellen Einflüsse (induktive und mesomere Effekte) spiegeln sich in den Beträgen von k_d wider. Abweichungen vom Normalverhalten bestehen, wenn die Rekombination infolge sterischer Einflüsse behindert wird, wobei sich besonders nachhaltig die Bildung intramolekularer Wasserstoffbrücken im Anion (Milchsäure, Salicylsäure) auswirkt. In diesen Fällen geben nur kinetische Messungen vollen Aufschluß über das Dissoziations- und Rekombinationsverhalten. Auch folgt dann aus k_r die Stabilitätskonstante der intramolekularen Wasserstoffbrücke im Anion. Schließlich ergeben sich Aussagen über den Salzeinfluß auf die Geschwindigkeit der Dissoziation und Rekombination.

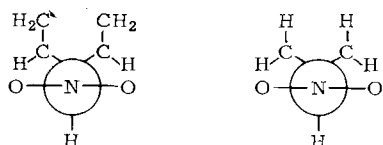
Konformationsanalyse von Nitrosteroiden mit Hilfe des Circular dichroismus

G. Snatzke, Bonn

Nitrosteroiden weisen um 280 m μ einen Cotton-Effekt auf, daneben ist in einigen Fällen die Absorptionsbande um 320 m μ ebenfalls circular dichroitisch.

Bei beiden Banden handelt es sich um $n \rightarrow \pi^*$ -Übergänge; nur der erste Übergang weist die der Carbonyl-Anregung analogen Symmetrieeigenschaften auf. Auf die 280-m μ -Bande lassen sich also die an Ketonen gefundenen Regeln sinngemäß anwenden [9].

An Nitro-Verbindungen, bei denen die freie Rotation des NO₂ gehindert ist, wird der Zusammenhang zwischen Circular dichroismus und Konformation axial und äquatorial angeordneter Nitrogruppen abgeleitet; für Nitrogruppen wird eine modifizierte Octantenregel angegeben. Die beiden Symmetrieebenen der NO₂-Gruppe und eine dritte, dazu senkrechte Ebene – zwischen den Stickstoff und die beiden Sauerstoffatome gelegt – teilen den Raum um das Molekül wie bei Ketonen auf; die Beiträge der C-Atome werden aber mit umgekehrtem Vorzeichen wie bei den Ketonen gerechnet. Messungen des Circular dichroismus an geminalen Nitrohalogensteroiden bei -188 °C stützen die angegebene Regel. Aus den Ergebnissen folgt, daß bei ungehinderten Nitrocyclohexanen die folgenden Konformationen energetisch am meisten begünstigt sind:



axiale NO₂-Gruppe äquatoriale NO₂-Gruppe

[9] W. Moffit, R. B. Woodward, A. Moscovitz, W. Klyne u. C. Djerassi, J. Amer. chem. Soc. 83, 4013 (1961).

Präparative dünnsschichtchromatographische Trennung von Phosphatiden und dünnsschichtchromatographischer Nachweis ihrer Hydrolyseprodukte

O. W. Thiele und W. Wober, Göttingen

Phosphatide können dünnsschichtchromatographisch auf Kieselgel G mit Diisobutylketon/Ameisensäure/Wasser (40:15:2) getrennt werden. Als Universalfärbemittel für Lipide hat sich boratgepufferte Bromthymolblaulösung bewährt, für primäre Amine Ninhydrin, für quartäre Amine *Dragendorffs* Reagens, das der Färbung mit Ninhydrin auf derselben Platte folgt. Da bei säulenchromatographischer Trennung von Phosphatiden selten reine Fraktionen erhalten werden, ist die anschließende Dünnsschichtchromatographie im präparativen Maßstab von großem Nutzen. Hierzu wird das Substanzgemisch auf der Startlinie als 18 cm langer Streifen (mit 0,1 mg/cm) aufgetragen. Nach Entwickeln des Chromatogramms und Anfärben eines schmalen Seitenstreifens wird die gewünschte Fraktion samt Adsorptionsmittel abgekratzt und aus dem Adsorptionsmittel extrahiert.

Nach alkalischer Hydrolyse der Phosphatide erhält man gewöhnlich Fettsäuren, Amine und Phosphatester (die selbst schwer spaltbar sind). Die Fettsäuren werden als Methyl-ester der gaschromatographischen Analyse zugeführt. Die Amine werden auf Kieselgel G mit 96 Vol.-% Äthanol/Wasser (63:37) oder n-Butanol/Eisessig/Wasser (3:1:1) oder n-Propanol/34 % Ammoniakwasser (67:33) dünnsschichtchromatographiert. Für die Identifizierung der Phosphatester wurde ein dünnsschichtchromatographisches Verfahren auf Celluloseplatten ausgearbeitet, wobei ammoniakalische (z. B. 0,5 N Ammoniakwasser/Methanol 2:3) oder saure Systeme (z. B. Eisessig/n-Propanol/Wasser 1:2:1) als Fließmittel dienen. Gegenüber papierchromatographischen Verfahren hat die Dünnsschichtchromatographie auf Celluloseplatten den Vorteil der größeren Trennschärfe, der sauberen Anwendbarkeit von Phosphatreagentien (*Hanes-Isherwood*-Sprühreagens) und der Resistenz der Celluloseschichten gegenüber aggressiven Sprühreagentien. [VB 819]

Neuere Struktur-Untersuchungen an Edelmetall-Verbindungen

K. Brodersen, Aachen

GDCh-Ortsverband Heidelberg, am 26. Mai 1964

Iridium(III)-chlorid bildet zwei Modifikationen, die sich in Kristallform, Farbe und Magnetismus unterscheiden. Die monokline Modifikation bildet plättchenförmige Kristalle mit den Gitterkonstanten $a = 5,99 \text{ \AA}$, $b = 10,36 \text{ \AA}$, $c = 5,98 \text{ \AA}$ und $\beta = 109^\circ 27'$. Die Anordnung der Atome in der Elementarzelle entspricht der im Aluminium(III)-chlorid, die Parameter der Chloratome unterscheiden sich allerdings geringfügig.

Platin(II)-chlorid kristallisiert nadelförmig in hexagonalen Säulen. Die rhomboedrische Elementarzelle mit den Abmessungen $a = 8,09 \text{ \AA}$ und $\alpha = 108^\circ 15'$ enthält sechs Formeleinheiten. Aus Weissenberg- und Precession-Aufnahmen konnten die Punktlagen ermittelt werden: Raumgruppe: $D_{3d}^5 - C_3$ m;

Punktlagen: 6 Pt auf 6 (h): $x = 0,079$ und $z = 0,333$
6 Cl auf 6 (h): $x = 0,583$ und $z = 0,825$
6 Cl auf 6 (f): $x = 0,258$

Die sechs Platinatome sind oktaederförmig angeordnet. Die Pt-Pt-Abstände betragen 3,32 Å bzw. 3,40 Å. Jedes Platinatom ist fast quadratisch von vier Chloratomen umgeben mit den Pt-Cl-Abständen 2,34 Å bzw. 2,39 Å. Die 12 Chloratome befinden sich vor den 12 Kanten des Pt₆-Oktaeders. Platin(II)-chlorid hat demnach eine Pt₆Cl₁₂-Insel-Struktur mit schwachen Metall-Metall-Bindungen. [VB 823]