

gistriert werden, z. B. die Esterspaltung von Lokalanästhetika in niedrigen Konzentrationen (10–50  $\mu$ g/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 punktähnliche 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-sulfansäure 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 $\mu$  und durch Hochspannungspapierelektrophorese 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

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

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

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

1. Die Farbstoffe spalten sich in schwachsäurem 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 Naphthylamintrisulfansäure eine basispezifische Kupplung an DNA.

Mit den Diazoniumsalzen von 2.4-Dichloranilin, p-Nitranilin und 4-Nitranilin-3-sulfansäure reagieren nur die Purin-nucleotide, 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) Hochauflöste NMR-Spektren dienten 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 Multiplettstruktur und nach dem Intensitätsverhältnis der  $\alpha$ -CH<sub>2</sub>- und  $\alpha$ -CH-Protonenresonanzsignale unterscheiden, vorausgesetzt, daß diese nicht von  $\beta$ -Protonen-Multiplets 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 ( $\pm 5\%$  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-

[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).