

zweite Art der Darstellung, welche ein permanentes Bild der zeitabhängigen Amplitudenvariationen gibt, kann mit Hilfe der ergänzenden «amplitude display unit» des Sonagraphs erreicht werden. Dieses zweite Sonogramm mit einer logarithmischen Amplitude von 24 db wird auf den oberen 4 cm des Sonogrammpapiers angegeben. In einigen Fällen macht es das begrenzte Ausmass des Sonogrammpapiers unmöglich, ein Sonogramm zu erhalten, das die Amplitudenvariationen mit genügender Sensitivität ausdrückt. Unter diesen Umständen kann ein dritter Typ von Analyse, bekannt als Sektion, ausgeführt werden. Diese zusätzliche Möglichkeit erlaubt es, an einem vorherbestimmten Zeitpunkt ein Sonogramm mit einer verzögerten Amplitude in der Horizontalachse gegen eine Frequenz in der vertikalen Achse zu erhalten.

Für die tonspektrographische Analyse wählten wir die als charakteristisch gefundenen Signale aus. In den Sonogrammen fanden wir, dass gewisse Signale der Ausdrucksweise allen untersuchten Säuglingen gemein waren. Diese Übereinstimmung veranlasste uns, gewisse charakteristische Signale in Gruppen zusammenzufassen.

Die Figur ist ein Beispiel für ein Sonogramm, das den normalen Hungerschrei eines 18 Tage alten normalen Kindes wiedergibt. Oben auf dem Bild sehen wir das normale Sonogramm mit der Amplitudenkurve. Das Signal beginnt mit einem plosiven Glottislaut, welchem ein kurzer Nasallaut, der in einen extrem weichen Vokal ausklingt, folgt. Diese erste Phase des Signales kann ein oder mehrere Male rhythmisch wiederholt werden. Die zweite Phase ist ein sehr

langer, ansteigender und wieder abfallender Vokallaut. Die Grundlinie beträgt 400 bis 450 Schwingungen pro sec.

Das Sonogramm zeigt 12 Sektionen von einzelnen Punkten für ein genaueres Studium der einzelnen Signale. Die Punkte sind durch vertikale Linien gekennzeichnet.

Diese Methode scheint für das wissenschaftliche Studium der präverbalen Ausdrucksweise von Neugeborenen und Säuglingen unter verschiedenen Bedingungen geeignet⁶.

Summary. A preliminary report is given on the use of sound spectrographic techniques for the study of the non-verbal means at the disposal of the newborn child or the small infant to express itself to the environment. Certain types of signals were found to be common in the non-verbal cry of different infants. A typical sonogram is described in detail.

O. WASZ-HÖCKERT, V. VUORENKOSKI,
E. VALANNE und KATARINA MICHELSSON

Universitäts-Kinderklinik, Helsinki (Finnland), 13. August 1962.

⁶ Die Sonogramme wurden im Phonetischen Institut der Universität Helsinki unter freundlicher Genehmigung des Institutschefs, Prof. A. Sovijärvi, gemacht.

Die Dünnschichtchromatographie von Gibberellinen

Gibberelline haben im Verlauf der letzten Jahre als pflanzliche Wuchsstoffe zunehmend an Bedeutung gewonnen. Zur Zeit sind als Stoffwechselprodukte des Pilzes *Fusarium moniliforme* Sheld. (*Gibberella fujikuroi* (Saw.) Wr.) und als native Inhaltsstoffe höherer Pflanzen neun Gibberelline (A_1 – A_9) bekannt und in ihrer Konstitution aufgeklärt¹. Für ihren analytischen Nachweis wurden bisher vielfach papierchromatographische Verfahren angewendet¹, die jedoch nicht immer allen Anforderungen gerecht wurden. So konnte bei einer vergleichenden Untersuchung der Gibberelline A_1 und A_3 – A_9 mit vier Entwicklungsgemischen keine eindeutige Trennung von A_1 und A_3 sowie von A_4 und A_7 erreicht werden². Eine Differenzierung von Gibberellin A_1 und A_3 gelang jedoch durch absteigende Durchlaufchromatographie³.

Im Rahmen unserer Arbeiten über die in Wurzeldiffusaten von Solanaceen vorkommenden Gibberelline⁴ sowie über die Reaktionsprodukte der Epoxydation von Gibberellinsäure (Gibberellin A_3)⁵ haben wir mit Erfolg die Dünnschichtchromatographie nach STAHL⁶ angewendet. Eine vergleichende dünnschichtchromatographische Untersuchung der Gibberelline A_1 , A_3 – A_5 und A_7 – A_9 ⁷ führte zu den in der Tabelle dargestellten Ergebnissen.

Als Adsorbens diente Kieselsäuregel [VEB(K) Feinchemie, Eisenach], das unter Zusatz von 10% $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ in der Kugelmühle gemahlen und durch ein Sieb (lichte Maschenweite 0,25 mm) gegeben wurde. Eine Suspension dieses Gemisches in Wasser (Verhältnis 2:5) wurde auf Glasplatten der Grösse $13 \times 25 \text{ cm}$ gleichmäßig aufgetragen (etwa 12 mg Adsorbens/cm²). Die Platten wurden in horizontaler Lage bei Raumtemperatur getrocknet und ohne weitere Behandlung für die Chromato-

graphie verwendet. Bei Entwicklung mit den Gemischen I–IV, VI und VII (vgl. Tabelle) erwies sich Kieselgel G (E. Merck AG, Darmstadt; etwa 15 mg/cm²) als gleichfalls geeignet.

Die Gibberelline wurden durch Besprühen der Platten mit einer 0,5prozentigen wässrigen Kaliumpermanganatlösung nachgewiesen (untere Nachweisgrenze etwa 2 µg Gibberellin A_3). Noch bessere Ergebnisse lieferte 85prozentige Schwefelsäure (10 min Erhitzen der Platten auf ca. 100°C), da hiermit die Nachweisempfindlichkeit wesentlich höher (z. B. 0,1 µg Gibberellin A_3) und eine gewisse Differenzierung einzelner Gibberelline auf Grund ihrer unterschiedlichen Farbreaktion bzw. Fluoreszenz im UV-Licht möglich ist. Auch eine Mischung von gesättigter wässriger Cer(IV)-sulfatlösung und konz. Schwefelsäure (1:1) fand für einige Gibberelline (A_3 , A_4 , A_7 , A_9) als empfindliches Reagens zum Nachweis und zur teilweisen Differenzierung (Fluoreszenz im UV) Anwendung.

¹ P. W. BRIAN, J. F. GROVE und J. MACMILLAN, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe (Wien) 18, 350 (1960). – B. O. PHINNEY und C. A. WEST, Ann. Rev. Plant Physiol. 11, 411 (1960); *Handbuch der Pflanzenphysiologie* (herausgegeben von W. RÜHLAND) Bd. 14, 1185 (Berlin, Göttingen, Heidelberg 1961). – J. F. GROVE, Quart. Rev. (Chem. Soc. London) 15, 56 (1961).

² J. F. GROVE, persönliche Mitteilung vom 5. 9. 1961; vgl. J. MACMILLAN, J. C. SEATON und P. J. SUTER, *Gibberellins, Advances in Chemistry Series*, No. 28, 18 (Washington 1961).

³ H. L. BIRD, Jr., und C. T. PUGH, Plant Physiol. 33, 45 (1958).

⁴ G. SEMBDNER, G. OSSKE und K. SCHREIBER, Ber. dtsch. bot. Ges. 74, 370 (1961).

⁵ K. SCHREIBER und G. SEMBDNER, unveröffentlicht.

⁶ E. STAHL, Chemiker-Ztg. 82, 323 (1958); vgl. Angew. Chem. 73, 646 (1961).

⁷ Für die freundliche Überlassung dieser Gibberelline danken wir Herrn Dr. J. F. GROVE auch an dieser Stelle bestens.

Wie die Tabelle zeigt, lassen sich alle angeführten Gibberelline auf zwei Chromatogrammen trennen: (a) Entwicklung mit einem der Gemische I-IV oder VI unter Auftrennung von A_8 , ($A_3 + A_1$), ($A_7 + A_4 + A_5$) und A_9 ; (b) Durchlaufchromatographie mit Gemisch V zur weiteren Differenzierung der Gruppen ($A_3 + A_1$) und ($A_7 + A_4 + A_5$). Entwicklungsgemisch VII eignet sich vor allem zur Trennung von Gibberellinsäurederivaten mit R_{Standard} -Werten unter 1,0.

R_{Standard} -Werte^a von Gibberellinen bei der Dünnschichtchromatographie an Kieselsäuregel

Gibberellin	Entwicklungsgemisch ^b						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
A_1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,5	1,0	1,0
A_3	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
A_4	2,1	2,3	2,6	3,9	4,9	1,5	1,2
A_5	2,1	2,4	2,7	4,2	5,3	1,6	1,2
A_7	2,0	2,3	2,6	3,6	4,6	1,5	1,2
A_8	0,6	0,5	0,5	0,4	0,7	0,8	—
A_9	2,5	3,3	4,3	7,6	—	2,2	1,3

^a Bezogen auf Rf-Wert von Gibberellin $A_3 = 1,0$.

^b I: Chloroform/Essigester/Eisessig (60:40:5), Rf von $A_3 \sim 0,35$; II: Chloroform/Essigester/Eisessig (70:30:5), Rf von $A_3 \sim 0,24$; III: Chloroform/Essigester/Eisessig (80:20:5), Rf von $A_3 \sim 0,16$; IV: Chloroform/Essigester/Eisessig (90:10:5), Rf von $A_3 \sim 0,10$; V: Chloroform/Essigester/Eisessig (80:20:1), Laufstrecke von $A_3 \sim 2,8$ cm; VI: n-Butanol/3n Ammoniak (5:1), Rf von $A_3 \sim 0,25$; VII: n-Propanol/3n Ammoniak (5:1), Rf von $A_3 \sim 0,55$.

Mit I-IV 2ständige, mit VI und VII etwa 7ständige aufsteigende Entwicklung bei 20°C. Mit V wurde bei 20°C 15-18 h absteigend und durchlaufend entwickelt^{8,10}.

Nach unseren Erfahrungen dürfte die Dünnschichtchromatographie für Trennung und Identifizierung der Gibberelline gute Dienste leisten, besonders im Hinblick auf die im Vergleich zur Papierchromatographie grundsätzlichen Vorteile dieser Methode^{8,9}, wie kürzere Entwicklungszeiten, erhöhte Nachweisempfindlichkeit, größere Kapazität der Trägerschicht sowie saubere Elutionsmöglichkeit für mikropräparative Gewinnung (Ermittlung der physikalischen Konstanten), quantitative Bestimmung und biologische Testung¹⁰.

Summary. Thin-layer chromatography on silica gel is described as a new method for the separation and identification of the gibberellins A_1 , A_3 , A_4 , A_5 , A_7 , A_8 , and A_9 .

G. SEMBDNER, R. GROSS und K. SCHREIBER

Deutsche Akademie der Wissenschaften zu Berlin, Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben, Kreis Aschersleben (Deutschland), 13. August 1962.

⁸ Methodik abgeändert nach L. BIRKOFER, C. KAISER, H.-A. MEYER-STOLL und F. SUPPAN, Z. Naturforsch. 17b, 352 (1962). Auch die durchlaufende Dünnschichtchromatographie nach M. BRENNER und A. NIEDERWIESER, Exper. 17, 237 (1961), konnte hier mit Erfolg angewendet werden.

⁹ K. RANDERATH, *Dünnschichtchromatographie* (Weinheim/Bergstrasse 1962).

¹⁰ Inzwischen wurde uns bekannt, dass von M. KUTÁČEK, J. ROSTMUS und Z. DEYL, Biol. plant. (Prag) 4, 226 (1962), für eine Trennung von Gibberellin A_1 und A_3 ebenfalls die Dünnschichtchromatographie, allerdings an Al_2O_3 , mit Erfolg angewendet worden ist. Mit dem von diesen Autoren empfohlenen Entwicklungsgemisch Benzol/Eisessig (10:3) erzielten wir an Kieselgel G (Merck) folgende Ergebnisse: Rf von Gibberellin A_3 , 0,15 = $R_{\text{St.}}$ 1,0; $R_{\text{St.}}$ von A_1 1,0, A_4 4,0, A_5 3,5, A_7 3,8, A_8 0,4, A_9 6,0.

STUDIORUM PROGRESSUS

Dose-Response Relations for some Synthetic Analogues of Oxytocin, and the Mode of Action of Oxytocin on the Isolated Uterus¹

Since the synthesis of oxytocin was accomplished by DU VIGNEAUD et al.² in 1953, more than 50 analogues of this hormone and of vasopressin have been synthesized and examined for their biological properties. The conclusions which have hitherto emerged from this work (recently summarized in part³) have, to our mind, been disappointing in that they give no information about the mechanism of action of such compounds at the molecular level. As was to be anticipated, the hormonal activities expressed in different biological systems differed in their response to particular structural changes, and structural modifications at different sites in the molecule proved to be of unequal importance for biological activity. Perhaps more surprising was the finding that even slight structural changes in chemically nondescript, non-functional side-chains—in particular that of isoleucine in position 3 of the peptide chain⁴⁻⁶—caused a marked loss of activity in the assays regarded as typical of oxytocin, whereas even such chemically obtrusive functional groups as the amino group of the terminal half-cystine residue⁷, or the phenolic hydroxyl of tyrosine^{8,9} could be omitted altogether with only partial loss, or no loss, of activity.

Recent emphasis on the importance of lipophilic interactions between non-functional amino acid side-chains in proteins and related compounds as factors in intra- and intermolecular interactions in aqueous environments¹⁰ has suggested a possible interpretation of this

¹ Presented at the General Meeting of the Österreichische Biochemische Gesellschaft, Vienna (May 7th, 1962).

² V. DU VIGNEAUD, C. RESSLER, J. M. SWAN, C. W. ROBERTS, P. G. KATSOYANNIS, and S. GORDON, J. Amer. chem. Soc. 75, 4879 (1953). — V. DU VIGNEAUD, C. RESSLER, J. M. SWAN, C. W. ROBERTS, and P. G. KATSOYANNIS, J. Amer. chem. Soc. 76, 3115 (1954).

³ R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, B. BERDE, and H. KONZETZ, Exper. 17, 377 (1961).

⁴ J. RUDINGER, J. HONZL, and M. ZAORAL, Coll. Czech. chem. Comm., 21, 770 (1956).

⁵ R. A. BOISSONNAS, S. GUTTMANN, P.-A. JAQUENOUD, and J.-P. WALLER, Helv. chim. Acta 39, 1421 (1956). — P.-A. JAQUENOUD and R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta 44, 113 (1961). — B. BERDE, W. DOEPFNER, and H. KONZETZ, Brit. J. Pharmacol. 12, 208 (1957).

⁶ H. NESVADBA, J. HONZL, and J. RUDINGER, Coll. Czech. chem. Comm., in press.

⁷ V. DU VIGNEAUD, G. WINESTOCK, V. S. MURTI, D. B. HOPE, and R. D. KIMBROUGH, J. biol. Chem. 235, PC 64 (1960).

⁸ M. BODANSKY and V. DU VIGNEAUD, J. Amer. chem. Soc. 81, 1258, 6072 (1959).

⁹ P.-A. JAQUENOUD and R. A. BOISSONNAS, Helv. chim. Acta 42, 788 (1959).

¹⁰ W. KAUFMANN, Adv. Protein Chem. 14, 1 (1959).