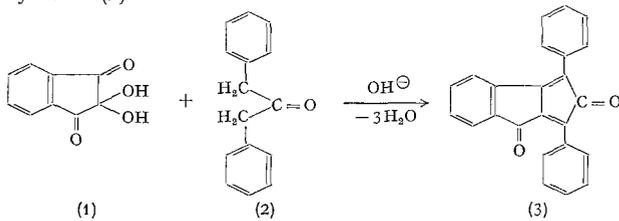
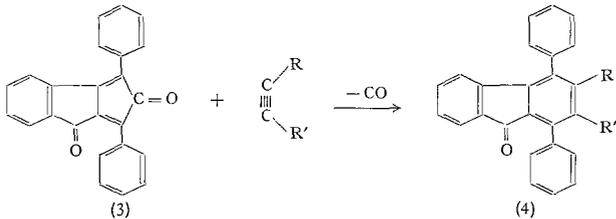


beute bei der Umsetzung von Ninhydrinhydrat (1) mit Dibenzylketon (2).



Diensynthesen von „Indanocyclon“ (3) mit Mono- und Bisalkinen führen zu höher arylierten Fluorenonen (4). Diphenyldiacetylen reagiert dabei nur mit einer Acetylenbindung.



1,4-Bis-äthynyl-aromaten hingegen reagieren mit beiden Acetylenbindungen mit „Indanocyclon“ (3). Alkinole, vom Typ des Äthynylcyclohexanols, setzen sich ebenfalls, jedoch unter nachfolgender Dehydratisierung, um.

Tabelle. Aus (3) dargestellte Fluorenone

| Verbindung  | R                                 | R'                               | Schmp. % Ausb. |
|---|-----------------------------------|----------------------------------|----------------|
| 1,4-Diphenyl-fluorenon-dicarbonbonsäure-(2,3)-dimethylester<br>C <sub>29</sub> H <sub>20</sub> O <sub>5</sub>                 | R'                                | CO—OCH <sub>3</sub>              | 208—210°<br>94 |
| 1,4-Diphenyl-2,3-dibenzoyl-fluorenol<br>C <sub>29</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>  | R'                                | CO—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | 225—226°<br>80 |
| 1,2,4-Triphenyl-fluorenol bzw.<br>1,3,4-Triphenyl-fluorenol C <sub>31</sub> H <sub>20</sub> O                                 | H                                 | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>    | 310—313°<br>93 |
| 1,2,3,4-Tetraphenyl-fluorenol [1]<br>C <sub>37</sub> H <sub>24</sub> O  | R'                                | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>    | 309—310°<br>66 |
| 1,2,4-Triphenyl-3-phenyläthynyl-fluorenol bzw.<br>1,3,4-Triphenyl-2-phenyläthynyl-fluorenol C <sub>39</sub> H <sub>24</sub> O | C≡C—C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> | C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>    | 198—200°<br>79 |

Eingegangen am 1. April 1966

\* Teil der Diplomarbeit D. FREITAG, Univ. Frankfurt a. Main. 1965. [1] Diese Verbindung hatten W. DILTHEY, J. THEWALT u. O. TRÖSKEN schon aus Pentaphenylbenzoesäure synthetisiert. Ber. dtsh. chem. Ges. 67, 1959 (1934).

### Auftrennung von Nucleinsäurebasen durch Dünnschichtchromatographie

CHAVADI RATAPONGS\*

Institut für Medizinische Physik und Biophysik der Universität, Göttingen

In der Literatur sind einige Verfahren beschrieben, welche mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie eine Auftrennung der Purine Adenin und Guanin sowie der Pyrimidine Cytosin, Uracil und Thymin aus Nucleinsäuren ermöglichen [1, 2]. Bei Verwendung von Reinsubstanzen lassen sich die angegebenen Trennungen durchaus reproduzieren. Die Methoden versagen jedoch sehr häufig, wenn Nucleinsäurehydrolysate aufgetrennt werden sollen, offenbar durch die Gegenwart weiterer

Hydrolyseprodukte, die z.B. eine vollständige Trennung von Adenin und Uracil verhindern können. Diese Erfahrungen führten zu der Entwicklung des nachstehend beschriebenen Trennsystems, das sich inzwischen bei zahlreichen *in-vitro*-Stoffwechselversuchen mit Ehrlich-Ascites-Tumorzellen bewährt hat und den gebräuchlichen papierchromatographischen Verfahren überlegen ist.

Inkubieren der Zellen, anschließende Auftrennung in Kerne und Cytoplasma sowie Extraktion der Nucleinsäuren erfolgen entsprechend den Angaben von HARBERS und HEIDELBERGER [3]. Die Hydrolyse der isolierten Nucleinsäuren erfolgt mit 70%iger Perchlorsäure [4]; anschließend werden die Hydrolysate auf kleine Säulen mit Aktivkohle gegeben, nach gründlichem Waschen mit H<sub>2</sub>O mit 10%igem Pyridin eluiert und am Rotationsverdampfer getrocknet. Die Auftrennung der Nucleinsäurebasen in den Hydrolysaten, die jeweils in wenigen Tropfen 0,1 n HCl aufgenommen und dann — als kurze Bande — aufgetragen werden, erfolgt an DEAE-Cellulose MN 300/G (10% CaSO<sub>4</sub>) [5], Schichtdicken 0,25 oder 0,5 mm, Laufstrecke 16,5 cm. Zum Ausstreichen wird das Dünnschicht-Streichgerät DS 200/0—2 der Fa. DESAGA verwendet. Bei aufsteigender Chromatographie führt eine Mischung aus gesättigtem Ammoniumsulfat, 2,0 m Natriumacetat und Isopropanol (Volumenverhältnisse 80:12:8) zu einer ausgezeichneten Trennung aller 5 Basen, unabhängig davon, ob Reinsubstanzen oder Nucleinsäurehydrolysate, welche auf die oben geschilderte Weise gewonnen wurden, vorliegen (Tabelle).

Tabelle. R<sub>f</sub>-Werte der 5 Nucleinsäurebasen bei aufsteigender Dünnschichtchromatographie an DEAE-Cellulose MN 300/G mit dem im Text angegebenen Laufmittel

| Base                 | Guanin | Cytosin | Adenin | Uracil | Thymin |
|----------------------|--------|---------|--------|--------|--------|
| R <sub>f</sub> -Wert | 0,25   | 0,33    | 0,43   | 0,57   | 0,70   |

Mit Hilfe einer UV-Lampe lassen sich die einzelnen Basen im Dünnschichtchromatogramm leicht lokalisieren. Die saubere Trennung von Thymin und Uracil gestattet es, bei Stoffwechselversuchen mit radioaktiv markierten Pyrimidinvorstufen auf eine Auftrennung der Zellkorn-Nucleinsäuren in DNS und RNS zu verzichten, indem die spezifischen Aktivitäten von diesen beiden Pyrimidinbasen jeweils als repräsentativ für DNS und RNS verwendet werden.

Eingegangen am 18. März 1966

\* Stipendiatin der Alexander-von-Humboldt-Stiftung. Ständige Anschrift: Pharmacological Department, Siriraj Hospital, Thonburi, Thailand.

[1] COFFEY, R. G., u. R. W. NEWBURGH: J. Chromat. 11, 376 (1963). — [2] HOLDGATE, D. P., u. T. W. GOODWIN: Biochim. et Biophys. Acta 91, 328 (1964). — [3] HARBERS, E., u. C. HEIDELBERGER: J. Biol. Chem. 234, 1249 (1959). — [4] MARSHAK, A., u. H. J. VOGEL: J. Biol. Chem. 189, 597 (1951). — [5] Lieferfirma: Macherey, Nagel & Co., Düren.

### Die alkalische Hydrolyse des Isoorensin

I. RIBAS und A. VIDAL

Institut für Organische Chemie der Universität, Santiago de Compostela

*Isoorensin*, das durch die vorstehend beschriebene Synthese von SCHÖPF und MERKEL als das dem Orensins entsprechende Derivat der *cis*-Zimtsäure erkannt wurde, gibt bei der Hydrolyse mit konz. Salzsäure neben  $\Delta^1$ -Tetrahydroanabasin unter Umlagerung des *cis*-Zimtsäure-Restes *trans*-Zimtsäure [1]. Führt man die Hydrolyse jedoch nicht mit Salzsäure, sondern durch 2stündiges Erhitzen mit 2n äthanolischer Kalilauge durch, so kann man durch die übliche Aufarbeitung durch Ausäthern eine Säure gewinnen, die nach mehrfachem Umkristallisieren aus Petroläther das IR-Spektrum der durch etwas *trans*-Zimtsäure verunreinigten *cis*-Zimtsäure zeigt. Da die erstere unter den angewandten Hydrolysebedingungen nicht in die *cis*-Form übergeht, während es umgekehrt für den Übergang der *cis*- in die stabilere *trans*-Zimtsäure viele Beispiele gibt, ist damit der dem Isoorensin zugrunde liegende *cis*-Zimtsäure-Rest auch durch die Hydrolyse zu *cis*-Zimtsäure nachgewiesen.

Eingegangen am 25. März 1966

[1] RIVERA, E., u. I. RIBAS: Anales real soc. españ. fís. y quim., Ser. B 49, 777 (1953) [Chem. Abstr. 49, 4681 (1955)].