

KURZE MITTEILUNGEN

Bis am 20. des Monats bei der Redaktion eingehende kurze Mitteilungen werden in der Regel am 15. des folgenden Monats veröffentlicht
Es werden auch Manuskripte aus dem Auslande angenommen

Nouvelle installation de comptage à bas niveau pour la mesure du Strontium-90 dans les os humains *

Introduction

Il n'est pas aisé de mesurer la contamination due aux radioéléments de longue vie provenant des retombées des explosions nucléaires, car le niveau des activités à détecter est heureusement encore très bas. La connaissance précise de la contamination radioactive des os humains, même si elle est très faible, est cependant d'une urgente nécessité, plus particulièrement pour les radioisotopes à métabolisme lent, comme le Ra-226, le Pu-239, le Sr-90 et quelques terres rares. Il semble bien qu'actuellement, le Sr-90 soit le plus dangereux et que la contamination qu'il occasionne doive être surveillée en premier lieu. Mandatés par la Commission Fédérale de Surveillance de la Radioactivité (Président: Professeur P. HUBER, Bâle) nous examinons depuis 1959 la contamination du squelette de l'homme en Suisse. Les valeurs moyennes obtenues ces dernières années^{1, 2, 3}:

	Os longs	Côtes	Vertèbres	
1960	0,17	0,35	0,67	pC-Sr 90/g Ca
1961	0,27	0,58	0,80	pC-Sr 90/g Ca
1962	0,40	0,68	0,92	pC-Sr 90/g Ca

montrent le niveau très bas des radioactivités à mesurer; en partant d'une quantité relativement importante de 25 g d'os, correspondant sensiblement à 1,85 g de cal-

cium, les activités absolues à mesurer sont en moyenne inférieures à 0,5 d. p. m. pour les os longs et souvent cinq fois plus faibles.

L'installation utilisée jusqu'ici et construite à l'institut⁴ ne suffit plus aux besoins avec deux compteurs centraux à source interne, et nous avons entrepris la réalisation d'une installation aux possibilités plus larges.

Pour apprécier valablement les possibilités d'une installation de mesure de la radioactivité, et notamment celles d'une installation de comptage à bas niveau, il est nécessaire de choisir un critère qui tienne compte aussi bien de l'efficacité totale du détecteur, que de son mouvement propre, notamment.

Soit $E = A/D$, l'efficacité totale du détecteur, ou rapport de l'activité mesurée à l'activité absolue; soit encore A_0 , le mouvement propre du détecteur. L'erreur probable q_A sur la mesure de A est donnée par:

$$q_A = \pm \frac{67,45}{\sqrt{A \cdot t}} \text{ (en \%)}, \quad (1)$$

où t est le temps pendant lequel est faite la mesure. Lorsque l'activité mesurée est faible, il faut tenir compte du mouvement propre; notons alors respectivement A_Σ et A_0 les activités mesurées, avec ou sans la source radioactive, et t_Σ et t_0 , les temps de mesure correspondants. Il est clair que l'erreur probable relative q_A devient alors:

$$q_A = \pm 67,45 \frac{\sqrt{A_\Sigma/t_\Sigma + A_0/t_0}}{A_\Sigma - A_0} \text{ (en \%)}. \quad (2)$$

* Communication présentée à l'assemblée de la Société Suisse de Chimie tenue à Sion le 31 août 1963.

¹ P. HUBER, *Bull. Eidg. Gesundheitsamtes, suppl. B. 4* (1961).

² P. HUBER, *Bull. Eidg. Gesundheitsamtes, suppl. B. 4* (1962).

³ P. HUBER, *Bull. Eidg. Gesundheitsamtes, suppl. B. 4* (1963).

⁴ P. LERCH et P. BERCIER, *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 67 (1960) 223-32.

On peut également montrer que la meilleure manière de choisir les temps de mesure t_Σ et t_0 pour que leur somme T soit minimum est donnée par la relation:

$$\frac{t_\Sigma}{t_0} = \sqrt{\frac{A_\Sigma}{A_0}} \quad (3)$$

Dans ces conditions, l'erreur probable relative ϱ_A devient:

$$\varrho_A = \frac{67,45}{\sqrt{T}} \cdot \frac{\sqrt{A_\Sigma} + \sqrt{A_0}}{A_\Sigma - A_0} \quad (4)$$

On voit que l'erreur probable ne dépend que du temps total de mesure, de l'activité mesurée, donc de l'efficacité totale du détecteur utilisé et du mouvement propre.

Par définition, le *facteur de mérite* F d'un instrument de mesure de la radioactivité est directement proportionnel au nombre d'échantillons d'égale radioactivité qui peuvent être comptés pendant un temps donné, avec une même erreur statistique relative ϱ_A .

Le facteur de mérite ainsi défini est inversement proportionnel au temps T nécessaire à la mesure d'un échantillon et du mouvement propre correspondant; il peut donc être donné par:

$$F = K \varrho_A^2 \frac{(A_\Sigma - A_0)^2}{\sqrt{A_\Sigma} + \sqrt{A_0}} \quad (5)$$

où K est une constante arbitraire.

Aux activités très faibles, $A = ED < A_0$ et l'on peut écrire:

$$F \sim \frac{K \varrho^2 D^2}{4} \cdot \frac{E^2}{A_0} = K' \frac{E^2}{A_0} \quad (6)$$

En conclusion, lors des mesures aux basses activités, le facteur de mérite est proportionnel à l'inverse du mouvement propre et au carré de l'efficacité totale.

Description de l'installation

1. La diminution du mouvement propre des compteurs est obtenue à la fois par des écrans de protection et par un compteur travaillant en anticoincidence.

Le château de mesure est constitué par un noyau formé de blocs d'acier, de 10 cm d'épaisseur, latéralement et au-dessous, et de 20 cm d'épaisseur au-dessus. Une ombrelle de paraffine chargée de borax, de 10 cm d'épaisseur, surmonte ce noyau central. Une enceinte en briques de plomb, de 10 cm d'épaisseur, entoure latéralement ce noyau. Enfin, le tout est recouvert par une plaque de tôle de 1 cm d'épaisseur qui supporte elle-même une quadruple couche de briques de plomb épaisse de 20 cm, et d'une surface de 70×50 cm². La chambre centrale a 10 cm de hauteur, 30 cm de largeur et 20 cm de profondeur.

L'anneau en anticoincidence est constitué par l'assemblage de quatre compteurs plats multianodes construits sur le modèle déjà décrit¹; il tapisse la chambre centrale, à l'exception des parois postérieure et antérieure; les dimensions extérieures des compteurs sont 20×30 cm² pour les uns et 7×20 cm² pour les autres. Les anodes sont constituées par des fils de molybdène d'un diamètre de 0,08 mm; l'ensemble est parcouru par un flot de gaz, que des chicane internes obligent à balayer régulièrement tout le volume; avec un mélange habituel d'hé-

lium et d'isobutane, l'anneau donne un palier dans la région de Geiger-Müller, qui débute à 1100 volts et se prolonge sur plus de 200 volts avec une pente de 2%, largement suffisante étant donné la stabilité des sources de haute tension utilisées.

2. A l'intérieur de l'anneau, les huit compteurs de mesure sont disposés en deux rangs de quatre; il s'agit de détecteurs à fenêtre mince au bout. Bien que cela soit au dépens de la géométrie et introduise une perte supplémentaire due à l'absorption, nous avons abandonné les compteurs internes⁵, dans lesquels la source était introduite immédiatement à proximité du volume sensible, pour les raisons suivantes:

- éviter la contamination radioactive à l'intérieur du compteur,
- par la fenêtre métallisée, assurer un volume sensible du compteur mieux défini et bien constant,
- permettre de mécaniser l'introduction de la source en position de comptage et d'assurer ainsi une bonne reproductibilité de sa position par rapport au compteur.

Afin de regagner un facteur géométrique élevé, le diamètre interne des compteurs a passé de 15 à 25 mm. La hauteur a par contre été réduite et l'anode disposée parallèlement à la source (fil de molybdène de 0,07 mm de diamètre); les compteurs (fig. 1) sont construits en cuivre électrolytique OFHC; l'intérieur du compteur est recouvert d'une couche d'or poli déposé par électrolyse; la fenêtre est conductrice, faite d'une mem-

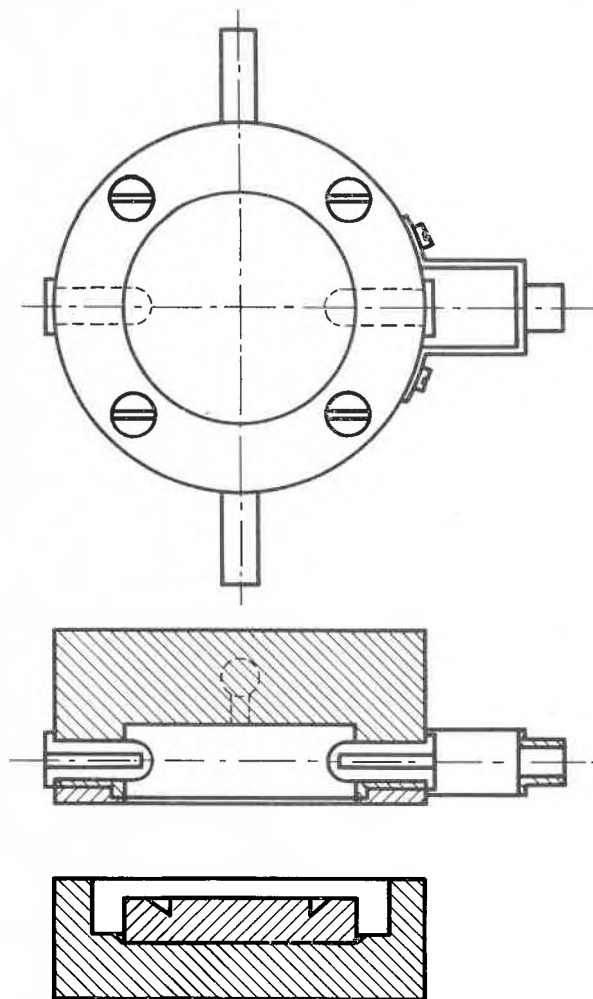


Fig. 1. Compteur central

⁵ P. LERCH, M. QUIJANO et G. BANNA, *Chimia* 15 (1961) 524-8.

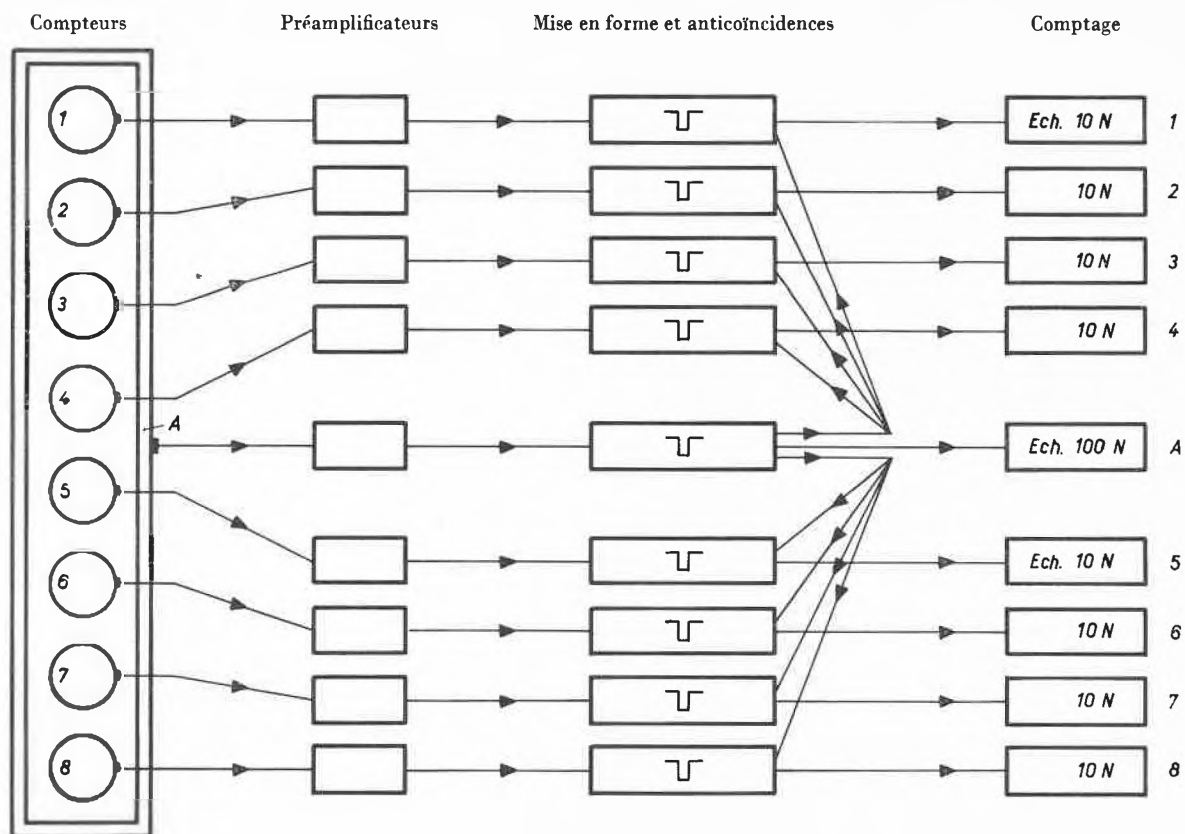


Fig. 2. Schéma de principe de l'installation

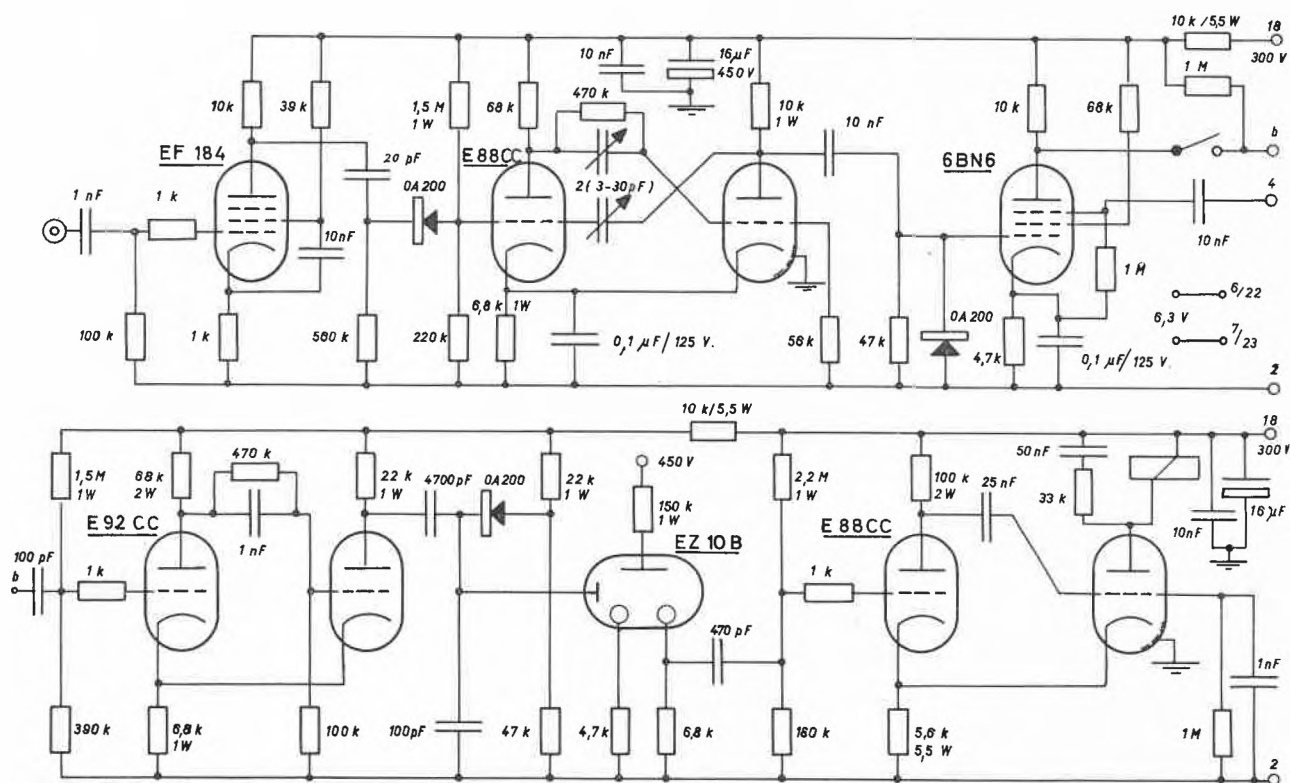


Fig. 3. Schéma d'une partie de l'électronique associée

brane de mylar métallisé très mince de $0,9 \text{ mg/cm}^2$; l'absorption des radiations β de Y-90 y est pratiquement négligeable.

Quatre glissières comportent chacune deux logettes pour y disposer des sources d'un diamètre extérieur de 25 mm et permettent d'introduire les sources à mesurer sous chacune des paires de compteurs; la surface des sources habituelles d'un diamètre utile de 15 mm peut approcher jusqu'à 1,0 mm de la fenêtre des compteurs. Glissières et compteurs ont des parois assez épaisses pour que l'on évite toute interaction lors de la mesure simultanée des huit sources radioactives β .

Les compteurs travaillent dans la région de Geiger-Müller; avec un flot d'hélium et d'isobutane, leur palier débute à environ 1000 volts et se prolonge sur 200 volts avec une pente moyenne de 1,4 % par 100 volts.

Comme pour l'anneau, un fonctionnement irréprochable ne peut être obtenu qu'en maintenant un débit assez élevé du flot de gaz. Au-dessous, les caractéristiques des compteurs peuvent varier d'une manière sensible.

3. Les sorties des huit compteurs centraux et du compteur anneau arrivent avec une longueur de câble minimum sur le bloc à 9 préamplificateurs, situé contre le château de plomb. Les impulsions des neuf canaux, amplifiées, sortent à basse impédance et sont acheminées sur le bloc électronique principal (fig. 2).

Ce dernier est réalisé sur un système modulaire et comprend douze unités:

- 2 unités THT stabilisées permettant d'alimenter respectivement les compteurs centraux et anneau dans les meilleures conditions,
- 8 unités identiques de mise en forme et comptage des compteurs centraux,
- 2 unités couplées de mise en forme et comptage de l'anneau en anticoincidence.

Le tout est logé dans deux châssis standard de 19" comportant à l'arrière leurs alimentations stabilisées.

Chaque impulsion du compteur anneau est amplifiée et mise en forme pour créer un gate de blocage d'une durée réglable entre 100 et 500 μs . Ce signal de blocage est appliqué sur les circuits d'anticoincidence des huit canaux centraux. Les impulsions de l'anneau sont ensuite comptées par une échelle de 100 et un numérateur.

4. Les huit unités des canaux centraux (fig. 3) reçoivent les impulsions de leurs compteurs respectifs, les amplifient et les mettent en forme. Ces impulsions, retardées de 3 à 5 μs , arrivent sur le circuit en anticoincidence du tube 6BN6, de même que les impulsions de blocage de l'anneau. Les impulsions produites par le rayonnement cosmique et la radioactivité ambiante sont ainsi supprimées.

Les impulsions non éliminées ne sont donc pratiquement que celles produites par l'échantillon à mesurer placé sous chacun des compteurs centraux. Le résultat est enregistré par une échelle de 10 et numérateur pour chaque canal.

Résultats obtenus

L'efficacité totale des compteurs, pour des sources minces d'yttrium-90 disposées sur les supports habituels en plexiglas⁶ a été déterminée par comparaison avec des sources étalons préparées à l'aide de solutions fournies par le National Physical Laboratory à Teddington et l'Agence Internationale de l'Energie Atomique à Vienne. Elle a été trouvée égale à 0,36.

Le mouvement propre des différents compteurs a été trouvé égal en moyenne à 0,28 c.p.m. et varie suivant les compteurs de 0,26 à 0,30 c.p.m. En l'absence de l'anneau en anticoincidence, ce bruit de fond s'élève à 5 c.p.m. dans le château de plomb et à 10 c.p.m. à l'extérieur.

Ces chiffres permettent d'obtenir le facteur de mérite de l'installation, telle qu'elle a été définie plus haut. Ainsi, pour chacun des compteurs, on trouve:

$$F \text{ prop. à } \frac{E^2}{A_0} = \frac{0,36^2}{0,28} = 0,45.$$

Si l'on considère l'ensemble de l'installation qui permet huit mesures simultanées, le facteur de mérite global est:

$$F_{\text{tot}} = 8 \cdot 0,45 = 3,60.$$

A titre de comparaison, l'installation en service jusqu'à cet été donnait respectivement:

$$F \text{ prop. à } \frac{0,32^2}{0,22} = 0,56 \text{ et } F_{\text{tot}} = 2 \cdot 0,56 = 1,12.$$

Conclusion

L'installation ainsi construite (fig. 4) se révèle posséder des caractéristiques au moins aussi bonnes que les meilleures installations actuellement disponibles dans le commerce, avec par surcroît l'avantage de permettre huit mesures simultanées à la place d'une ou de deux seulement.

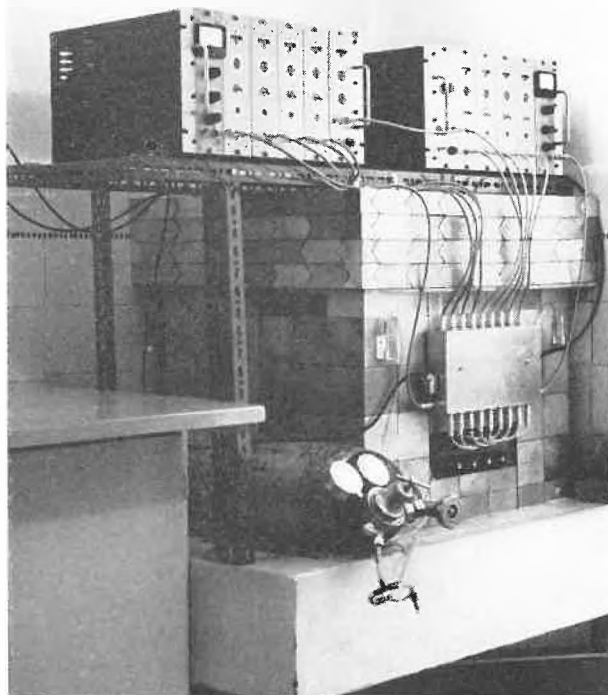


Fig. 4. Vue générale de l'installation

⁶ P. LERCH et Mme A. VOGEL-LUDIN, *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.* 68 (1962) 69-80.

Cette installation a pu être réalisée grâce aux crédits du Fonds National Suisse de la Recherche Scientifique que nous remercions ici pour son appui.

Résumé

Une installation de comptage à bas niveau pour la mesure de très faibles radioactivités d'émetteurs β d'énergies moyenne ou forte est présentée. Huit compteurs de Geiger-Müller à fenêtre mince sont entourés par un unique anneau fonctionnant en anticoincidence et par un blindage d'acier, de paraffine boratée et de plomb. Les huit compteurs peuvent fonctionner simultanément sans interaction. L'efficacité globale de chacun d'eux est de 0,36 et leur mouvement propre égal à 0,28 c. p. m.

Summary

A low level counting installation for the measurement of very weak β activities is described. Eight GM thin window counters are surrounded by a single anticoincidence ring, and then by steel, borated paraffine and lead shielding. The eight counters can work at the same time without any interaction. Each of them has an overall efficiency of 0,36 and a background of 0,28 c. p. m.

PIERRE LERCH et PAUL BERCIER
Institut de Radiophysique Appliquée,
Hôpital Cantonal Universitaire, Lausanne

Die Herstellung und Identifizierung von Hydroxylapatiten mit ähnlichen Dimensionen wie diejenigen des Knochens*

Résumé

Les méthodes de préparation d'hydroxylapatites et autres orthophosphates calciques dont les microcristaux ont des dimensions voisines de celles de l'os sont décrites. Par la diffraction aux rayons X, la structure cristalline a été vérifiée; les dimensions des microcristaux ont été obtenues par diffraction aux rayons X et par le microscope électronique. La nature chimique des préparations a été déterminée par analyse chimique et thermogravimétrie.

Summary

The methods of preparation of hydroxyapatites and other orthophosphates of calcium of which the crystals have similar dimensions as those of bones are described. The crystal structure was checked by X-ray diffraction. The dimensions of the microcrystals were obtained by X-ray diffraction and electronic microscope. The chemical nature of the preparations was determined by chemical analysis and thermogravimetry.

1. Einleitung

Die Frage nach der chemischen Zusammensetzung des anorganischen Teils der Knochen und vor allem der Calciumorthophosphate ist noch nicht restlos geklärt. Es ist heute möglich, eine Reihe von Verbindungen synthetisch herzustellen, deren Struktur analog derjenigen des Hydroxylapatites des Knochens ist, deren Faktor Ca/P aber in einem weitgehendem Maße abgeändert werden kann. Nach DALLEMACNE¹ gibt es drei definierte Verbindungen, den Hydroxylapatit $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HYAP, Ca/P = 2,15), das hydratisierte Tricalciumphosphat $\text{Ca}_9\text{H}_2(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (TCPH, Ca/P = 1,94), das Octocalciumorthophosphat $\text{Ca}_8\text{H}_4(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (OCP, Ca/P = 1,72); daneben bestehen noch Verbindungen, welche feste Mischungen der drei obgenannten Substanzen sein sollen.

* Mitteilung vorgetragen an der Sitzung der Schweizerischen Chemischen Gesellschaft vom 31. August 1963 in Sitten.

¹ H. HERMAN und M. J. DALLEMACNE, *Arch. Oral. Biol.* 5 (1961) 137.

2. Herstellung

Zur Herstellung bedienten wir uns zweier Methoden: die erste stammt von HAYEK² und wurde von uns leicht abgeändert. Sie beruht in der Reaktion von Calciumnitrat mit sekundärem Natriumphosphat in wässriger Lösung bei einem pH von ungefähr 9, welches durch Zufügen von NH_3 erreicht wurde.

Wir arbeiteten mit Konzentrationsreihen, welche in bezug auf die stöchiometrische Mischung von 50% Calcium – bis zu 50% Phosphatüberschuß reichten. Da die entstehenden Hydroxylapatite sehr empfindlich auf CO_2 sind, arbeiteten wir mit entgastem, destilliertem Wasser und unter Stickstoffatmosphäre. Wir bemerkten, daß die Reaktionstemperatur eine große Rolle auf die Teilchengröße ausübt, indem bei hoher Temperatur große, bei tiefer Temperatur kleine Teilchen entstehen. Deshalb arbeiteten wir bei 25°C, wogegen in der Literatur 90°C angegeben werden.

Die zweite Methode wurde von WALLAEYS³ ausgeübt. Sie beruht auf der Neutralisation der Orthophosphorsäure mit einer Aufschlammung vom Calciumoxyd in Wasser, bis Phenolphthalein eine dauerhafte Rotfärbung zeigt. Diese Neutralisationen erfolgten ebenfalls unter Stickstoffatmosphäre und wurden bei Zimmertemperatur mit anschließendem Erhitzen bis Siedehitze und bei Siedehitze ausgeführt.

3. Identifizierung

Der erste Schritt zur Identifizierung waren immer die röntgenographischen Untersuchungen. Wir benutzten dafür eine Guinier-Kamera, modifiziert nach DE WOLFF, welche uns eine monochromatische $\text{Cu}_{K\alpha}$ -Strahlung der Wellenlänge 1,5405 Å lieferte.

² E. HAYEK, *Mh. Chem.* 82 (1951) 959.

³ R. WALLAEYS, Thèses, Université de Paris, n° 350 (1952).

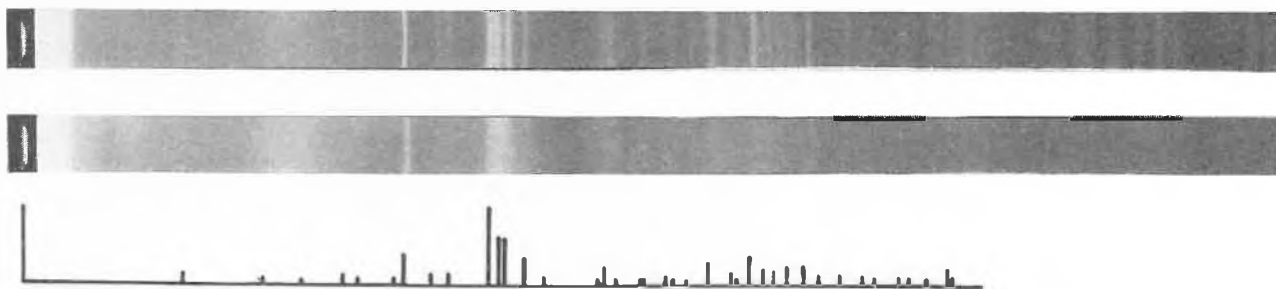


Abb. 1. a) Unsere Präparate, b) Diagramm unmittelbar nach der Reaktion, c) Strichdiagramm der ASTM

Die Röntgendiagramme zeigen für alle Präparate die charakteristischen Linien des Hydroxylapatites, wenn gleich etwas verbreitert. Weiter zeigen die Diagramme (Abb. 1), daß unmittelbar nach Mischung der beiden Reaktionsprodukte eine Substanz entsteht, welche Apatitstruktur besitzt. Weiter fällt eine starke Verbreiterung der Linien gegenüber dem fertigen Produkt auf.

War die Struktur der Produkte bekannt, gingen wir zur Bestimmung der Teilchengröße über. Es stand uns eine Röntgendiffraktionsapparatur mit Zählrohrgoniometer der Marke Philips zur Verfügung. Vom Reflex 002 ausgehend, erhielten wir nach der Gleichung von SCHERRER eine Dimension der Teilchen, nämlich die Längsachse c des hexagonalen Prismas. Diese Dimension beträgt für Präparationen bei 25°C 200 bis 300 Å. Diese Dimension wurde überprüft mit Hilfe des Elektronenmikroskopes, welches uns ebenfalls die zweite Dimension lieferte.

Die Bilder (Abb. 2) wurden mit einem Elektronenmikroskop der Marke Hitachi HU-11 modifiziert aufgenommen, nachdem die Präparate mit Chrom unter einem Winkel von 30° beschattet wurden. Sie zeigen, daß feine Nadeln vorliegen, welche eine Länge von ungefähr 300 bis 500 Å und eine Dicke von ungefähr 30 Å aufweisen, wobei beide Dimensionen starken, statistischen Schwankungen unterworfen sind. Die Bilder zeigen ebenfalls, daß eine starke Zusammenballung der einzelnen Nadeln zu größeren Agglomerationen vorliegt.

Zur weiteren Kontrolle der erhaltenen Dimensionen wurde die Oberfläche unserer Produkte gemessen. Diese wurde erhalten in einer Oberflächenapparatur, die nach den Adsorptionsisothermen von BET arbeitet. Die gemessenen Oberflächen betragen 90 bis 120 m²/g. Berechnet man aber die Oberfläche aus den Dimensionen, die uns die Röntgendiffraktionsapparatur und das Elektronenmikroskop lieferten, erhält man 450 m²/g. Wir führen diesen Unterschied auf die starke Agglomeration der Kristalle zurück, welche ebenfalls im Elektronenmikroskop beobachtet wurden.

Die Identifizierung der Art unserer Produkte geschah auf zwei Arten:

Die chemische Analyse lieferte uns den Faktor Ca/P. Das Calcium wurde komplexometrisch bestimmt, indem ein Komplexon-III-Überschuß mit Zink rücktitriert

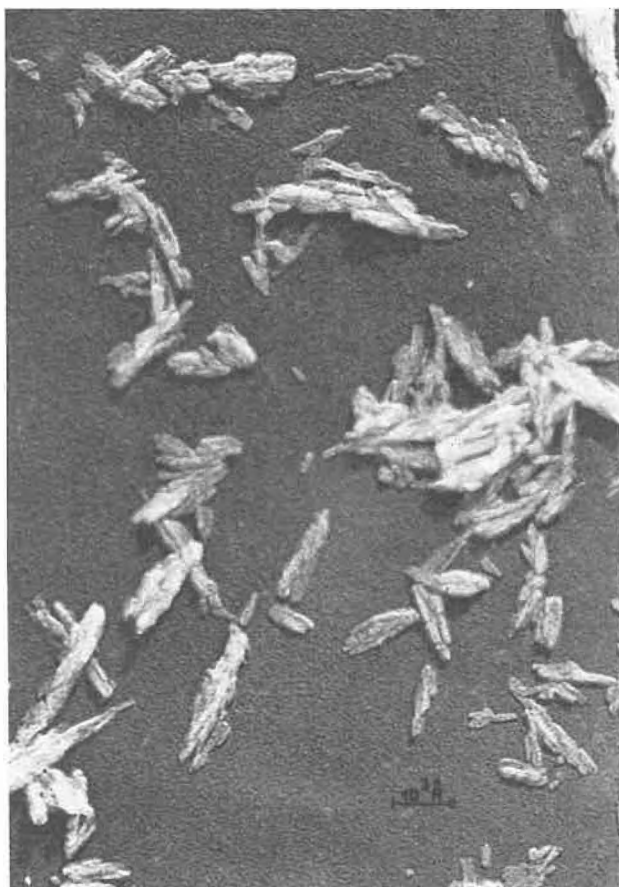


Abb. 2

wurde. Das Phosphat wurde photospektrometrisch bestimmt, indem die Durchlässigkeit des Molybdänblaus auf einem Spektrophotometer gemessen wurde.

Die Analysen zeigen, daß wir nach der Methode von WALLAEYS alle drei Arten des Hydroxylapatites erhalten, die Methode von HAYEK aber nur TCPH und HYAP liefert. Daneben erhielten wir durchgehend vom Faktor 1,72 bis 2,10 alle festen Mischungen zwischen den einzelnen Phasen.

Die Abgabe von Wasser sollte uns ebenfalls ermöglichen, die drei Arten HYAP, TCPH und OCP voneinander zu unterscheiden.

Nach DALLEMAGNE¹ gibt der HYAP beim Erhitzen nur ein Mol Wasser ab, um in Oxyapatit überzugehen.

Der TCPH gibt bei 500°C 1,5 Mol H₂O ab, um in Pyrophosphat überzugehen; und bei 700°C gibt er nochmals 0,5 Mol H₂O ab, wobei er in β -Ca₃(PO₄)₂ übergeht. Der OCP gibt bei 500°C 2 Mol H₂O ab; es entsteht dabei Pyrophosphat; bei 700°C gibt er noch 1 Mol H₂O ab; in eine Mischung von Pyrophosphat und β -Ca₃(PO₄)₂ übergehend.

Dieses unterschiedliche Verhalten wurde mit Hilfe einer Thermowaage, Modell Chévenard, von 20° bis 1000°C untersucht. Die Kurven, welche wir erhielten, konnten in drei charakteristische Gruppen eingeteilt

werden, welche den drei Hydroxylapatiten zugeordnet werden können. Die quantitative Interpretation der drei einzelnen Kurven gab uns bis heute Resultate, die uns noch nicht vollständig befriedigend erscheint.

Diese Arbeit konnte dank der finanziellen Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds ausgeführt werden, wofür wir an dieser Stelle danken möchten.

P. LERCH und C. VUILLEUMIER

Radiochemisches Laboratorium des Institutes für anorganische Chemie der Universität Bern

Kristallographische Untersuchungen über Chlorverbindungen von Phenazin *

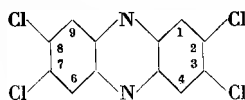
1. Mitteilung

Das ständig wachsende Interesse an heterozyklischen Verbindungen hat uns zur Untersuchung der Halogenverbindungen des Phenazinkerns angeregt, wobei ein Problem der chemischen Struktur gelöst werden konnte.

Durch Chlorierung des Phenazins in chlorwasserstoffsäurem Milieu erhält man ausschließlich α -Substitutionsprodukte. Mit dieser leichten und verhältnismäßig einfachen Methode gelingt es unter anderem, ein α -tetra-substituiertes Produkt zu erhalten, das Gegenstand einer unserer nächsten Strukturuntersuchungen sein wird.

Kürzlich haben S. MAFFEI, S. PIETRA und A. CATTANEO¹ ein anderes tetrachlorsubstituiertes Produkt hergestellt, indem sie das Diacetyldihydrophenazin, einen Stoff, in dem der heterozyklische Ring keinen aromatischen Charakter mehr besitzt, halogenierten. Zur Abklärung der Frage nach der Stellung der Chloratome in der so erhaltenen Verbindung, für welche nur eine hypothetische Formel vorgeschlagen worden war, haben wir eine röntgenographische Strukturbestimmung unternommen.

Durch diese direkte Methode haben wir der Verbindung C₁₂H₄N₂Cl₄ endgültig die dem 2,3,7,8-Tetrachlorphenazin entsprechende Formel zugewiesen:



Die Ermittlung der Strukturformel mit Hilfe synthetischer Methoden wurde dadurch erschwert, daß die klassische Reaktion von WOHL-AUE² zwischen 3,4-Dichlornitrobenzol und 3,4-Dichloranilin die Bildung von vier Isomeren erwarten läßt und daß die Kondensation von 4,5-Dichlorchinon (1, 2) mit 4,5-Dichlorphenylendiamin (1, 2) bisher noch nicht realisiert werden konnte.

* Eingegangen am 22. November 1963.

¹ S. MAFFEI, S. PIETRA und A. CATTANEO, *Gazz. Chim. Ital.* 84 (1954) 746.

² A. WOHL und W. AUE, *Ber. dtsch. chem. Ges.* 34 (1901) 2442.

Herstellung von 2,3,7,8-Tetrachlorphenazin nach S. Maffei und Mitarbeitern

Durch Halogenierung des Diacetyldihydrophenazins in Nitrobenzol mit Chlorgas, in Abwesenheit von Licht, erhält man nach Entfernung des überschüssigen Chlors und des Lösungsmittels eine braune Masse, die mit siedendem Benzin extrahiert und aus Benzol kristallisiert werden kann. Von der so erhaltenen Diacetylverbindung kommt man durch Verseifung der Acetylgruppen und nachfolgende Oxydation der Dihydroverbindung zum Endprodukt.

Das Rohprodukt ist aus Essigsäure leicht kristallisierbar. Genügend gut gestaltete Kristalle haben wir durch langsame Abkühlung aus Chloroform erhalten: lange, seidenartige gelbe Nadeln, selten einzeln, Schmelzpunkt 330°C.

Das für die Identifizierung der Verbindung charakteristische Infrarotspektrum ist in Abb. 1 wiedergegeben.

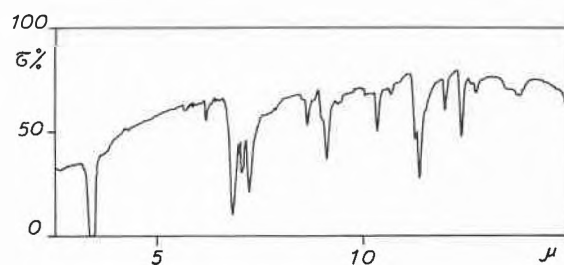


Abb. 1. Infrarotspektrum von C₁₂H₄N₂Cl₄

Röntgendaten

Die Kristalle erwiesen sich als monoklin mit den folgenden Gitterkonstanten:

$$a = 3,85 \text{ \AA}, b = 6,04 \text{ \AA}, c = 25,33 \text{ \AA}, \beta = 91^\circ 46'$$

Volumen der Elementarzelle: 589 Å³

Dichte (durch Flotation): 1,80 gcm⁻³

Berechnete Dichte: 1,79 gcm⁻³

Z = 2

Die verlängerte Achse des Kristalls wurde als *a*-Achse gewählt. Auf Weissenberg-Aufnahmen wurden nach der Methode der integrierten Vielfachfilme die *0kl*-, *1kl*- und *2kl*-Reflexe registriert, und bei der gleichen Kristallorientierung wurden die Reflexe *hk0* und *h0l* auf Präzessionsphotogrammen aufgenommen. Die Intensitäten wurden visuell und mit einem Nonius-Mikrodensitometer gemessen. Es wurde keine Absorptionskorrektur

angebracht, dagegen wurden die Intensitäten für die Aufspaltung in a_1 und a_2 korrigiert. Mit Hilfe der Wilson-Methode wurde eine absolute Skala bestimmt, die später durch den Vergleich der beobachteten Strukturfaktoren mit den berechneten vervollkommen wurde. Aus den systematischen Auslöschungen erhielten wir eindeutig die Raumgruppe $P 2_1/c - C_{2h}^5$.

Strukturbestimmung

Die Strukturanalyse wurde nach einer sehr linearen Methode durchgeführt. Die Raumgruppe und die Zahl der Moleküle pro Elementarzelle erlauben, dem Molekül eine zentrosymmetrische Formel zuzuschreiben. Die An-

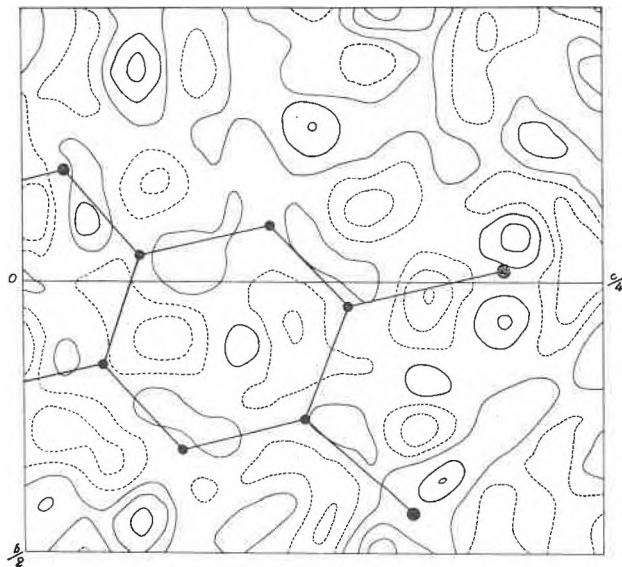


Abb. 2. Differenzsynthese ($F_o - F_c$) auf der yz -Ebene. Die Null-Linie ist ausgelassen. Negative Hörschichtlinien sind gestrichelt, positive Hörschichtlinien sind ausgezogen. Die Äquidistanz beträgt $0,4 \text{ e} \cdot \text{\AA}^{-2}$.

wesenheit einer Gruppe starker Patterson-Cl—Cl-Vektoren, welche in der yz -Ebene leicht identifizierbar sind, erlaubte, die Chloratome annäherungsweise zu lokalisieren, während die sehr kurze a -Achse eine gute Auflösung aller Atome in der yz -Projektion gestattete.

Ein Molekülmodell mit sinnvollen Valenzwinkeln und Bindungslängen erlaubte die Berechnung einer ersten Serie von Strukturfaktoren, mit deren Vorzeichen eine Fourier-Synthese ($0yz$) durchgeführt wurde. Aus dieser konnten die Koordinaten aller Atome mit hinreichender Genauigkeit bestimmt werden. Nach der Durchführung einiger Verfeinerungen mit Hilfe der üblichen Methoden wurde die in Abb. 2 wiedergegebene ($F_o - F_c$)-Synthese erhalten.

Dieser entspricht ein Zuverlässigkeitsfaktor von $R = 0,17$ für sämtliche in der $0kl$ -Ebene beobachteten Reflexe, mit einem isotropen mittleren Temperaturfaktor von $2,2 \text{ \AA}^2$.

Über die dreidimensionale Verfeinerung, die gegenwärtig noch im Gange ist, werden wir nach Abschluß der Untersuchungen berichten. Das chemische Problem der Identifizierung der untersuchten Verbindung darf indes als gelöst bezeichnet werden: Die symmetrische β -Lage der vier Halogensubstituenten läßt die leichte Oxydierbarkeit dieser Verbindung (unter Bildung von N, N' -Dioxid) verstehen. Von α -Substitutionen weiß man, daß sie diese Oxydation erschweren.

Wir danken Herrn Professor S. PIETRA für fruchtbare Diskussionen dieser Argumente. Alle Berechnungen wurden auf der elektronischen Rechenmaschine «Elea 6001» durchgeführt, die sich am «Centro di calcoli numerici» der Universität Pavia befindet.

BRUNA BOVIO, RENATO CURTI, STELIO LOCCHI
und VINCENZO RIGANTI

Istituto di Chimica Generale dell'Università di Pavia

Zur Dünnschichtchromatographie von 3-Phenyl-2-thiohydantoinen*

Im Rahmen unserer Untersuchungen über Aminosäuren und Peptide in Körperflüssigkeiten^{1,2} haben wir im Urin eine größere Anzahl von Verbindungen in der Form ihrer Dinitrophenyl-(DNP)-Derivate nachgewiesen². Ein Teil dieser Substanzen konnte durch direkten chromatographischen Vergleich als DNP-Aminosäure charakterisiert werden.

Die Umwandlung der freien Aminosäuren in die entsprechende 3-Phenyl-2-thiohydantoin (PTH-Aminosäuren) ergibt zusätzliche Anhaltspunkte bei ihrer Identifizierung.

In Fortsetzung früherer Arbeiten über die Dünnschichtchromatographie der PTH-Derivate von 19 Eiweiß-Aminosäuren³ haben wir 34 Phenylthiohydantoin auf Kieselgel-G-Schichten chromatographiert.

Die Dünnschichtchromatographie wurde nach der Standardmethode von BRENNER *et al.*⁴ auf 0,25 mm starken Kieselgel-G/Zinksilicat³-Schichten aufsteigend durchgeführt. Die Laufstrecke betrug 18 cm; die R_f -Bestimmungen wurden unter Anwendung zweier verschiedener Lieferungen Kieselgel G (Merck AG), ohne Konstanthaltung der Luftfeuchtigkeit⁵, bei Zimmertemperatur vorgenommen. Im übrigen vgl.³.

³ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER und G. PATAKI in E. STAHL, *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1962.

⁴ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER, G. PATAKI und A. R. FAHMY, *Experientia* 18 (1962) 101.

⁵ F. GEISS und H. SCHLITT, *Naturwiss.* 50 (1963) 350.

* Eingegangen am 25. November 1963.

¹ M. KELLER und G. PATAKI, *Helv. Chim. Acta* 46 (1963) 1687; G. PATAKI und M. KELLER, *Z. klin. Chem.* 1 (1963) 157.

² G. PATAKI und M. KELLER, in Vorbereitung.

Tabelle 1

 $10^2 \cdot R_f \pm 10^2 \cdot s_{R_f}$ -Werte¹ von 32 PTH-Aminosäuren und von Mono- und Diphenyl-thioharnstoff (MPTH und DPTH). Abkürzungen vgl.³

PTH-	CHCl ₃	CHCl ₃ /CH ₃ OH 9 : 1 v/v	CHCl ₃ /HCOOH 100 : 5 v/v	PTH-	CHCl ₃	CHCl ₃ /CH ₃ OH 9 : 1 v/v	CHCl ₃ /HCOOH 100 : 5 v/v
Abut*	26 ± 02	79 ± 03	54 ± 03	Leu	39 ± 00	84 ± 02	63 ± 02
Acy**	44 ± 02	84 ± 02	67 ± 03	Lys	12 ± 00	78 ± 02	34 ± 03
AiB***	27 ± 03	80 ± 04	56 ± 02	Met	34 ± 02	81 ± 02	54 ± 02
Ala	18 ± 03	77 ± 03	44 ± 03	Me-Glu**	23 ± 02	82 ± 03	50 ± 02
Arg	00 ± 00	01 ± 00	00 ± 00	MetO [°]	00 ± 00	54 ± 02	15 ± 02
Asp	00 ± 00	02 ± 01	16 ± 01	MetO ₂ ^{°°}	02 ± 00	59 ± 02	17 ± 02
Asp-NH ₂	00 ± 00	34 ± 03	09 ± 01	Me-Ser**	01 ± 00	51 ± 01	18 ± 01
Cit	00 ± 00	34 ± 03	08 ± 01	Nleu	40 ± 03	83 ± 01	62 ± 01
CySO ₃ H	00 ± 00	00 ± 00	00 ± 00	Nval	34 ± 03	81 ± 02	57 ± 03
Glu	01 ± 00	05 ± 01	18 ± 00	Orn	07 ± 01	72 ± 02	30 ± 03
Glu-NH ₂	00 ± 00	40 ± 02	11 ± 00	Phe	30 ± 04	81 ± 01	54 ± 03
Gly	11 ± 02	68 ± 03	35 ± 00	Pro	60 ± 03	89 ± 03	70 ± 03
His	01 ± 00	40 ± 03	01 ± 00	Ser	01 ± 01	43 ± 02	10 ± 01
Hypro	05 ± 00	64 ± 01	28 ± 01	Thr	01 ± 01	58 ± 02	17 ± 02
Ile	39 ± 00	83 ± 02	62 ± 01	Try	14 ± 02	71 ± 02	41 ± 03
Tyr	03 ± 01	59 ± 02	22 ± 01	Val	33 ± 02	81 ± 02	58 ± 03
MPTH	12 ± 02	65 ± 03	32 ± 02	DPTH	42 ± 02	82 ± 02	71 ± 02

¹ Die R_f -Werte sind als «Richtwerte» aufzufassen, weil schwer kontrollierbare Einflußfaktoren (z. B. Qualität des Sorptionsmittels und die Luftfeuchtigkeit) oft Schwankungen verursachen. Die Tabelle enthält u. a. aus diesem Grund für die früher untersuchten PTH-Derivate von den angegebenen³ abweichende Werte.

** Methylglutaminsäure und Methylserin.

* α -Aminobuttersäure, ** α -Aminocaprylsäure, *** α -Aminoisobuttersäure.

[°] Methioninsulfoxid, ^{°°} Methioninsulfon.

In der Tabelle werden die R_f -Mittelwerte (aus je sechs Einzelwerten) und die Standardabweichungen⁴ angegeben.

Wir danken Herrn Dr. C. G. HONEGGER (Neurologische Universitätsklinik Basel), der uns einen Teil der in der Tabelle auf-

geführten Verbindungen freundlicherweise zur Verfügung gestellt hat, auch an dieser Stelle bestens.

GYÖRGY PATAKI

Laboratorium (Leiter: Dr. M. KELLER)
der Universitäts-Frauenklinik Basel
(Direktor: Prof. Dr. T. KOLLER)

Anwendung der Dünnschichtchromatographie zur Sequenzanalyse von Peptiden*

Die Dünnschichtchromatographie erwies sich in den letzten Jahren auch bei der Analyse von Aminosäuren und von Aminosäurederivaten der Papierchromatographie überlegen¹. Sie bietet sich deshalb, neben den bisher verwendeten chromatographischen Methoden², zur Sequenzanalyse von Peptiden an.

In Modellstudien haben wir eine Anzahl verschiedener Peptide (Di- bis Tetrapeptide) nach der von SJÖQUIST³ modifizierten Edman-Methode abgebaut. Die dabei ent-

standenen 3-Phenyl-2-thiohydantoine (PTH-Aminosäuren) zeigten auf Kieselgel-G-Schichten unter der Verwendung von drei Fließmitteln die gleichen R_f -Werte wie die entsprechenden Vergleichssubstanzen⁴. Oft konnten einige Nebenflecken erkannt werden; die am häufigsten auftretenden «Artefakte» sind Mono- und Diphenylthioharnstoff (MPTH und DPTH)^{1, 5-7}.

Chromatographiert man das Reaktionsgemisch – nach der Umsetzung eines Peptids mit Phenylisothiocyanat (PITC) – direkt auf Kieselgel-G/Zinksilicat-Schichten¹

* Vorläufige Mitteilung. Eingegangen am 25. November 1963.

¹ M. BRENNER, A. NIEDERWIESER und G. PATAKI in E. STAHL (Herausgeber), *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin / Göttingen / Heidelberg 1962.

² Vgl. z. B. J. L. BAILEY, *Techniques in Protein Chemistry*, Elsevier, Amsterdam 1962.

³ J. SJÖQUIST, *Arkiv Kemi* 14 (1959) 291; P. EDMAN, *Acta Chem. Scand.* 4 (1950) 283.

⁴ G. PATAKI, *Chimia* 18 (1964) 23.

⁵ G. SCHRAMM, J. W. SCHNEIDER und F. A. ANDERER, *Z. Naturforsch.* 11 B (1956) 120.

⁶ E. CHERBULIEZ, B. BAEHLER, J. MARZALEK, A. R. SUSSMANN und J. RABINOWITZ, *Helv. Chim. Acta* 46 (1963) 2446.

⁷ TH. WIELAND und U. GEBERT, *Analyt. Biochem.* 6 (1963) 201.

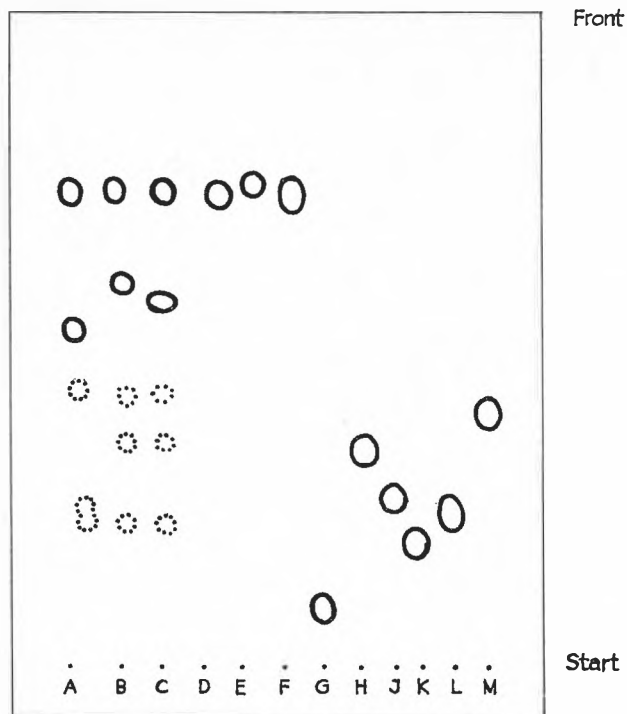


Abb. 1. Dünnschichtchromatogramm der Reaktionsprodukte von verschiedenen Peptiden mit PITC (A,B,C) und von Vergleichssubstanzen (D bis M). Fließmittel: *n*-Propylalkohol/Wasser 7:3 v/v. Revelation: UV-Licht (254 m μ), anschließend Ninhydrin. A: Ala-Gly-Gly, B: Leu-Gly, C: Leu-Gly-Gly, D: MPTH, E: DPTH, F: PITC, G: Ala-Gly-Gly (nicht umgesetzt), H: Leu-Gly (nicht umgesetzt), J: Leu-Gly-Gly (nicht umgesetzt), K: Gly, L: Ala, M: Leu. Die punktierten Flecken bei A, B und C sowie die Flecken G bis M sind ninhydrinpositiv, die übrigen Flecken sind im UV-Licht sichtbar (vgl. Text)

(Fließmittel: *n*-Propylalkohol/Wasser 7:3 v/v), so lassen sich im UV-Licht (254 m μ) außer dem entstandenen *Phenylthiocarbamyl*-(PTC)-Peptid auch schneller wan-

dernde Nebenprodukte erkennen (vgl. Abb. 1). Diese Nebenprodukte wandern etwa gleich weit wie MPTH, DPTH und PITC. Da wir in der Regel keine Extraktionen zur Entfernung vom überschüssigen PITC durchführen³, dürfte in diesen Flecken auch PITC enthalten sein.

Wird das Chromatogramm, nachdem man es im UV-Licht betrachtet hatte, mit Ninhydrin besprüht, so können nach dreimaligem Umsetzen eines Peptids mit PITC³ im Reaktionsgemisch nur Spuren von ninhydrinpositiven Substanzen nachgewiesen werden (vgl. Abb. 1).

Nach unseren bisherigen Erfahrungen sind die PTC-Peptide recht beständig. Durch Chromatographie von Peptiden als *PTC-Derivate* kann man deshalb die schwer durchführbare *zerstörungsfreie Lokalisation*⁷ auf dem Chromatogramm vermeiden. Die PTC-Peptide können in unveränderter Form vom Chromatogramm eluiert⁸ und die nach HCl/Eisessig-Behandlung³ entstehende PTH-Aminosäuren durch ihr dünn-schichtchromatographisches Verhalten^{1,4} charakterisiert werden.

Nach einer kürzlich erschienenen Arbeit von WIELAND⁷ kann die Abspaltung der PTH-Aminosäuren auch ohne vorherige Elution erfolgen.

Die Chromatographierbarkeit weiterer PTC-Peptide und die Übertragung der beschriebenen Methode zur Sequenzanalyse von Peptiden in Körperflüssigkeiten wird zurzeit von uns geprüft.

Über unsere Resultate werden wir in der *Helvetica Chimica Acta* ausführlich berichten.

⁸ A. NIEDERWIESER und G. PATAKI, *Chimia* 14 (1960) 378.

GYÖRGY PATAKI

Laboratorium (Leiter: Dr. M. KELLER)
der Universitäts-Frauenklinik Basel
(Direktor: Prof. Dr. T. KOLLER)