

Nadeln vom Smp. 191–193°; $[\alpha]_D^{25} = -36,7^\circ \pm 1^\circ$ ($c = 2,0$ in Wasser-Methanol 1:1); Rf-Werte in den Systemen I–IV $> 0,9$.

$C_{25}H_{40}O_9N_6S$ (600,7) Ber. C 49,99 H 6,71 N 13,99% Gef. C 49,69 H 7,06 N 13,82%

Die analytischen Daten verdanken wir Herrn Dr. W. PADOWETZ und die Ausführung der Papierchromatogramme Herrn E. VON ARX.

SUMMARY

The synthesis of t-butyloxycarbonyl derivatives of L-seryl-L-tyrosyl-L-serine and L-seryl-L-tyrosyl-L-seryl-L-methionine is described. The azide method involving the conversion of a hydrazide into the corresponding azide under acidic conditions was found to be applicable, under carefully selected conditions, to the synthesis of t-butyloxycarbonyl peptide derivatives in spite of the sensitivity of the protecting group toward strongly acidic reagents.

Forschungslaboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT, Basel,
Pharmazeutische Abteilung

22. Dünnschicht-Ionophorese und Dünnschicht-Ionophorese-Chromatographie

von C. G. Honegger

(6. XII. 60)

Die Dünnschicht-Chromatographie, welche bereits im Jahre 1938 von ISMAILOV & SHRAIBER¹⁾ beschrieben wurde, fand erst durch die von STAHL²⁾ entwickelte, leicht zu handhabende Technik allgemeine Verbreitung. Es werden dabei anorganische Adsorptionsmittel wie Silicagel oder Aluminiumoxyd unter Zusatz eines Bindemittels (Gips oder Stärke) mit Wasser angerührt und mit Hilfe eines Streichgerätes in dünner Schicht (ca. 0,3 mm) auf Glasplatten aufgezogen. Die getrockneten Adsorptionsschichten können zur chromatographischen Auftrennung verschiedenster Substanzgemische verwendet werden. Nachdem sich diese Methode speziell für die Chromatographie lipophiler Stoffe auszeichnete, wurde sie mit Erfolg auch für die Auftrennung von Aminosäuren³⁾⁴⁾ und Amininen⁵⁾ angewandt. BRENNER & NIEDERWIESER⁴⁾ beschrieben die Dünnschicht-Chromatographie für die Aminosäureauf-trennung der papierchromatographischen Methode als ebenbürtig oder sogar überlegen. Die Vorteile gegenüber der Papierchromatographie sind: a) Die geringe Diffusion bedingt eine kleinere Fleckengrösse und damit Erhöhung der Empfindlichkeit

¹⁾ N. A. ISMAILOV & M. S. SHRAIBER, *Farmatsija* 3, 1 (1938).

²⁾ E. STAHL, *Pharmazie* 11, 633 (1956); *Chemikerztg.* 82, 323 (1958); *Parfümerie und Kosmetik* 39, 564 (1958); *Arch. Pharmaz.* 292/64, 411 (1959); *Pharm. Rdsch.* 1959, Heft 2, 1.

³⁾ M. MOTTIER, *Mitt. Lebensmittelunters. Hyg.* 49, 454 (1948); E. MUTSCHLER & H. ROCHELMMEYER, *Arch. Pharmaz.* 292/64, 449 (1959); E. NÜRNBERG, *Arch. Pharmaz.* 292/64, 610 (1959).

⁴⁾ M. BRENNER & A. NIEDERWIESER, *Experientia* 16, 378 (1960).

⁵⁾ K. TEICHERT, E. MUTSCHLER & H. ROCHELMMEYER, *Deutsche Apotheker Zeitung* 100, 283 (1960).

um mindestens einen Faktor 10. b) Eine Verkürzung der Auftrennzeit. c) Die Verwendung rein anorganischer Adsorptionsschichten ermöglicht es, die aggressivsten Sprühreagenzien zur Entwicklung der Flecken zu verwenden. Diese Vorteile waren Grund genug, dünne Adsorptionsschichten auch für die Auftrennung von Substanzgemischen im elektrischen Feld – die Dünnschicht-Ionophorese – zu verwenden. Dies war umso wünschenswerter, als diese Technik auch die Anwendung der kombinierten, zweidimensionalen Dünnschicht-Ionophorese-Chromatographie erlaubt.

Prinzipiell standen einer Dünnschicht-Ionophorese keine Schwierigkeiten im Wege, hatten doch schon CONSDEN, GORDON & MARTIN⁶⁾ im Jahre 1946 Silicagel als Träger für die elektrophoretische Auftrennung von Aminosäuren und Peptiden verwendet.

Die genannten Autoren benützten als Apparatur einen wassergekühlten Trog, der aus einer Glasplatte bestand, auf welche Glasstreifen mit Vaseline aufgeklebt wurden. Dieser Trog, in den der Träger eingegossen wurde, ruhte auf einem grösseren Trog, durch welchen Wasser zirkulierte. Die Elektroden tauchten in fließende Pufferlösung ein, so dass die Elektrolyseprodukte laufend entfernt wurden. Diese noch zu umständliche Methode fand allerdings neben der viel einfacher zu handhabenden Papierionophorese keine grosse Verbreitung.

Der methodischen Ausarbeitung der Dünnschicht-Ionophorese kommen nun die technischen Verbesserungen, welche die Dünnschicht-Chromatographie in den letzten Jahren erfuhr, zugute.

Im Hinblick auf die kombinierte Anwendung von Dünnschicht-Ionophorese und Dünnschicht-Chromatographie, auf der Adsorptionsschicht *einer* Glasplatte, wurde die ionophoretische Auftrennung auf losen Platten ausgeführt, die auf einer gekühlten Unterlage⁷⁾ aufliegen. Überführungstreifen aus WHATMAN Nr. 1 Filterpapier und die bei der Papierionophorese üblichen cellophanummüllten Gazestreifen als Stromschlüssel stellen den Kontakt zwischen den Elektrodengefässen und der Adsorptionsschicht her. Die Verwendung von Filterpapierstreifen erwies sich als die weitaus beste Lösung für die Aufrechterhaltung eines homogenen elektrischen Feldes. Diese Anordnung gibt der Methodik die geplante Handlichkeit, erschwert jedoch eine wirksame Kühlung. Diese ist bei niederen Spannungen nicht erforderlich, jedoch schon bei Feldstärken von 10 Volt/cm wird sie notwendig. Wegen der leichten Verletzbarkeit der Adsorptionsschicht ist eine Kühlung von der oberen Seite her schwieriger. Auftrennungen bei höheren Spannungen (über 1000 Volt) sind Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Der für die elektrophoretische Auftrennung notwendige Puffer wurde auf die trockenen Adsorptionsschichten aufgesprüht. Es können entweder gepufferte Schichten mit Wasser, oder aber neutrale Platten mit einem flüchtigen oder nichtflüchtigen Puffer auf den gewünschten Feuchtigkeitsgrad gebracht werden. Dieser soll sich zur weitgehenden Verringerung der Diffusion in den Grenzen zwischen 90–200% bewegen, wobei für organische Lösungsmittel enthaltende, flüchtige Puffer das Optimum eher im oberen Teil, für nichtflüchtige, wässrige Puffer im unteren Teil der Grenze liegt. Folgt der ionophoretischen eine chromatographische Auftrennung auf derselben Platte, so ist es für viele Substanzgemische von Vorteil, für die erste Operation einen flüchtigen Puffer zu verwenden. Als flüchtige Puffer

⁷⁾ Analog der von H. MICHL, *Mh. Chem.* 83, 210 (1952), sowie D. GROSS, *Nature* 172, 908 (1953), für die Papierionophorese beschriebenen Anordnung.

⁶⁾ R. CONSDEN, A. H. GORDON & A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.* 40, 33 (1946).

wurden Ameisensäure-Essigsäure⁸⁾ (2N Essigsäure : 0,6N Ameisensäure = 1:1; pH ca. 2,0) und Pyridin-Essigsäure⁹⁾ (Pyridin : Eisessig : Wasser = 1 : 10 : 90; pH 3,6), als nichtflüchtiger Puffer wurde Na-Citrat (0,1M wässrige Lösung; pH 3,8) mit Erfolg angewandt. Sicher eignen sich noch weitere Puffer für die Dünnschicht-Ionophorese. Es besteht auch die Möglichkeit, frisch gegossene Platten, deren Puffer man auf den gewünschten Feuchtigkeitsgrad verdunsten lässt, für die ionophoretische Auftrennung zu verwenden. Dies wurde jedoch als unpraktisch empfunden, da vor jeder Ionophorese frische Platten gegossen werden müssen, und da sich flüchtige Puffer wegen der Gefahr ungleicher Verdunstung schlecht eignen.

Die Adsorptionsschichten Kieselgel G¹⁰⁾, Kieselgur G¹⁰⁾ und Aluminiumoxyd G¹⁰⁾ wurden als Träger für Ionophorese und Chromatographie benützt. Diese Schichten erwiesen sich für die ionophoretische Auftrennung von Aminen und Aminosäuren unter Verwendung der beschriebenen Puffer als ebenbürtig. Vergleicht man die Wanderungswerte der auf den einzelnen Schichten untersuchten Substanzen bei denselben Bedingungen, so zeigen sich, der unterschiedlichen Adsorptionsverhältnisse wegen, beträchtliche Differenzen.

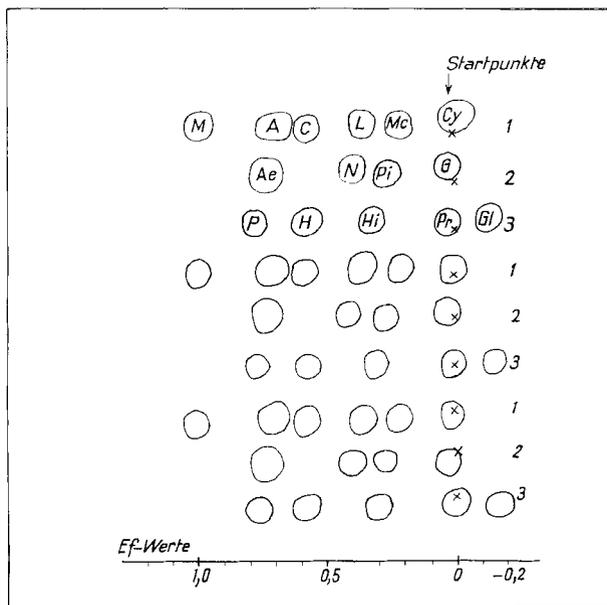


Fig. 1. Dünnschicht-Ionophorese der Gemische 1 (2 mm³), 2 (1 mm³) und 3 (2 mm³) auf Kieselgel G (Platte 20 × 20 cm); Substanzbelastung 0,5–7 µg pro Fleck
 Ionophorese: 0,1M Na-Citratpuffer, pH 3,8; 440 V, 19,6 mA; 1 h; Feuchtigkeitsgrad 180%.
 Färbung: Ninhydrin, 0,2-proz. in Aceton; 5–10 Min. bei 110–115°

Zur Illustration des Trenneffektes und der Reproduzierbarkeit, ist in Figur 1 eine Dünnschicht-Ionophorese von drei Substanzgemischen, welche alternierend aufgetragen wurden, dargestellt. Gemisch 1 enthält: Methylamin (M), Aethylamin (A),

⁸⁾ B. KICKHÖFEN und O. WESTPHAL, Z. Naturforschg. 76, 655 (1952).

⁹⁾ H. MICHL, Mh. Chem. 82, 489 (1951).

¹⁰⁾ «MERCK» für Dünnschichtchromatographie nach STAHL.

Cadaverin (C), Lysin (L), Mezcain (Mc) und Cystein (Cy); Gemisch 2: Aethanolamin (Ae), Noradrenalin (N), Piperidin (Pi) und Glycin (G) und Gemisch 3: (1,3)-Propylendiamin (P), Histamin (H), Histidin (Hi), Prolin (Pr) und Glutaminsäure (Gl). Die Abweichungen in den ionophoretischen Wanderungswerten (Ef-Werte)¹¹⁾ der einzelnen Substanzen betragen nicht mehr als 2–3%. Mengenmässig sollten pro Substanz nicht über 10 μg verwendet werden, wobei das Flüssigkeitsvolumen, das auf einen Punkt auf die feuchte Platte aufgetragen wird, 10 mm^3 nicht überschreiten sollte.

Die Gründe, welche seinerzeit zur Wahl der Technik der kombinierten Ionophorese-Chromatographie auf Papier¹²⁾ führten, sind auch für die Anwendung dieser Methodik auf dünnen Adsorptionsschichten gültig. Sie werden deshalb nicht mehr im einzelnen beschrieben. Auch hier wurde als erste Trennoperation die Ionophorese und als zweite Trennoperation die Chromatographie gewählt. Für die ionophoretische Auftrennung hängt die Wahl des Puffers natürlich davon ab, wie er sich, falls er nichtflüchtig ist, für die Chromatographie eignet. Die chromatographische Auftrennung von Aminen gibt auf gepufferten Platten oft bessere Trennungen und kleinere Flecken. Die Eignung der verschiedenen Adsorbentien und Gemische zur Amin- und Aminosäure-Dünnschicht-Chromatographie soll nur insofern Erwähnung finden, als dies zur Erläuterung der kombinierten Ionophorese-Chromatographie nötig ist.

Allgemein ist festzustellen, dass mit den Gemischen⁴⁾: n-Butanol-Eisessig-Wasser (60 : 20 : 20) und Phenol-Wasser (75 : 25)¹³⁾, im Gewichtsverhältnis angeben, auf neutralen und Na-Citrat gepufferten Kieselgel-G-Platten die besten Auftrennungen erzielt wurden. Die Substanzbelastung pro Fleck sollte weniger als 10 μg und das Flüssigkeitsvolumen nicht mehr als 5 mm^3 betragen, da die Auftrennung von einer punktförmigen Auftragsstelle aus erfolgt. Figur 2 demonstriert eine kombinierte ionophoretisch-chromatographische Auftrennung des folgenden Gemisches 4: β -Alanin (Al), Asparaginsäure (As), Dimethylamin (D), Glycin (G), Histamin (H), Histidin (Hi), Methylamin (M), Noradrenalin (N), Phenyläthylamin (Ph), Prolin (Pr), (1,3)-Propylendiamin (P), Tryptophan (T) und Valin (V). Auf dem oberen Teil der Platte wurde zur Kontrolle und zur Berechnung der Ef-Werte das Eichgemisch Methylamin (M), Cadaverin (C), Mezcain (Mc) und Cystein (Cy) gleichzeitig ionophoretisch aufgetrennt. Die maximalen Abweichungen in den ionophoretischen und chromatographischen Wanderungswerten aus zwei verschiedenen Bestimmungen betragen $Ef = 0,06$ bzw. $Rf = 0,03$.

Für die Anfärbung von Aminosäuren und primären sowie sekundären Aminen eignet sich eine 0,2-proz. Ninhydrinlösung in Aceton, oder eine 0,5-proz. Ninhydrin-Eisessiglösung. Das Reagens wird auf die Adsorptionsschichten aufgesprüht und im Ofen bei 110–115° für 5–10 Minuten entwickelt, wobei sich die Aminosäuren viel rascher als die Amine anfärben, was zu ihrer Charakterisierung herangezogen werden kann.

¹¹⁾ Ef-Werte: Relative Wanderungswerte berechnet aus Quotient der Wanderungsstrecke Cystein-Substanz X durch Wanderungsstrecke Cystein (Ef-Wert 0)-Methylamin (Ef-Wert 1). Bei Substanzen, welche anodisch wandern, erhalten die Ef-Werte ein negatives Vorzeichen.

¹²⁾ C. G. HONEGGER, *Helv.* 39, 1671 (1956); 40, 846 (1957).

¹³⁾ Zu 100 g Mischung werden 20 mg NaCN zugegeben.

Figur 1 und 2 demonstrieren, dass die Auftrennung auf dünnen Adsorptionsschichten mittels Ionophorese und kombinierter Ionophorese-Chromatographie derselben Methodik auf Papier ebenbürtig ist. Zieht man dazu noch die unter a)–c) erwähnten Vorteile in Betracht, welche in abgeschwächtem Masse auch für die Ionophorese gelten, so kann diese Methodik der Technik auf Papier als überlegen bezeichnet werden.

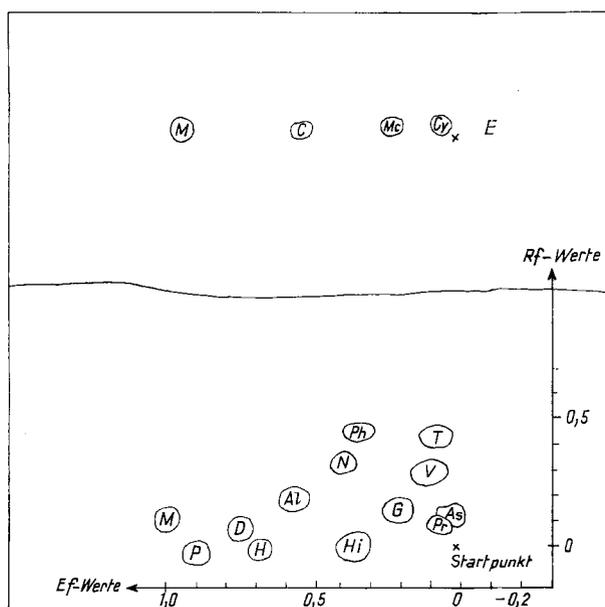


Fig. 2. Dünnschicht-Ionophorese-Chromatogramm von Gemisch 4 (2 mm^3) und Eichgemisch E (1 mm^3) auf Kieselgel G (Platte $20 \times 20 \text{ cm}$); Substanzbelastung $1-8 \mu\text{g}$ pro Fleck
 Ionophorese: 2 N Essigsäure; $0,6 \text{ N}$ Ameisensäure $1:1$ Puffer, $\text{pH } 2$; 460 V , $12,6 \text{ mA}$;
 1 h ; Feuchtigkeitsgrad 160%
 Chromatographie: aufsteigend $2\frac{1}{2} \text{ h}$; n-Butanol: Eisessig: Wasser $3:1:1$ -Gemisch
 Färbung: Ninhydrin, $0,2\text{-proz.}$ in Aceton; $5-10 \text{ Min.}$ bei $110-115^\circ$

Die Anwendung der Dünnschicht-Ionophorese zur zweidimensionalen ionophoretischen Auftrennung von Substanzgemischen wird zur Zeit noch untersucht.

Experimentelles. – Zur Herstellung der Adsorptionsschichten¹⁴⁾ werden je 25 g Kieselgel G^{10} , Kieselgur G^{10} oder Aluminiumoxyd G^{10} mit 50 ml Wasser oder Na-Citratpuffer ($0,1 \text{ M}$, $\text{pH } 3,8$) gut vermischt und mittels des Streichgerätes in dünner Schicht ($0,3 \text{ mm}$) auf quadratische Glasplatten ($20 \times 20 \text{ cm}$) aufgetragen. Nach dem Trocknen an der Luft oder im Ofen (bei 110°) besprüht man entweder neutrale Platten mit Puffer oder gepufferte Platten mit Wasser, bis sie den gewünschten Feuchtigkeitsgrad erreicht haben. Das Benetzen sollte möglichst gleichmässig erfolgen, am besten durch einen feinen Nebel, der mit einer Sprühflasche erzeugt wird. Der gewünschte Feuchtigkeitsgrad von $90-200\%$ ist erreicht, wenn die Adsorptionsschicht in der Schrägsicht betrachtet zu reflektieren beginnt. Auf der feuchten Platte werden nun die Startpunkte oder -striche mit einem spitzen Bleistift markiert, wobei für Amine 5 cm und für Aminosäuren $5-10 \text{ cm}$ Abstand von der anodennahen Kante gewählt wird. Die Startpunkte sollten

¹⁴⁾ Die Ausrüstung für die Dünnschicht-Chromatographie stammt von der Firma C. DESAGA, Heidelberg.

untereinander Zwischenräume von mindestens einem Centimeter, sowie vom oberen und unteren Rand der Platte einen Abstand von 2–4 cm haben. Auf einer Platte können somit 13–17 Proben analysiert werden.

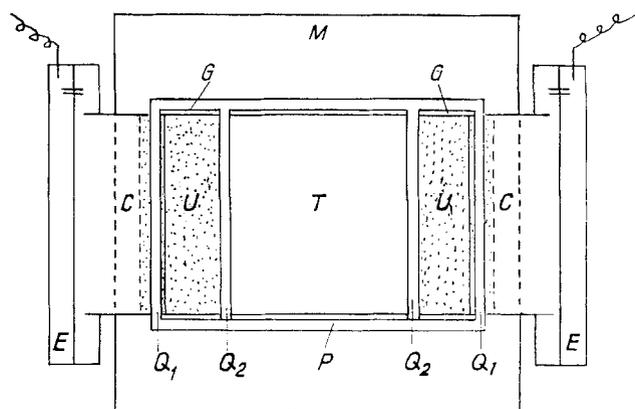


Fig. 3. Aufsicht der verwendeten Ionophoreseapparatur

Die Ionophoreseanordnung ist in Figur 3 dargestellt. Ein glattpolierter Metallblock (M) von 40 cm Kantenlänge, welcher durch eine eingeschmolzene Spirale mit Leitungswasser gekühlt wird, dient als Unterlage. Der Block wird zur Isolierung mit einer Polyäthylenfolie¹⁵⁾ (0,2–0,25 mm Dicke) umhüllt⁷⁾. Die Trägerplatte (T) legt man auf den mittleren Teil des isolierten Metallblockes (M). Auf der linken und rechten Seite werden je eine Glasplatte (G) (20×5 cm) von gleicher Dicke (4 mm) angeschlossen und darauf Überführungstreifen (U) (20×9 cm) von WHATMAN Nr. 1 Papier gebracht. Für die Befeuchtung der Überführungstreifen (U) verwendet man denselben Puffer wie für die Adsorptionsschicht, wobei der gewünschte Feuchtigkeitsgrad von ca. 120% mit Hilfe einer Walzenpresse eingestellt werden kann. Der Feuchtigkeitsgrad der Überführungstreifen (U) spielt eine untergeordnete Rolle, er sollte jedoch demjenigen der Trägerplatte (T) möglichst angeglichen werden. Wichtig ist, dass er bei beiden Überführungstreifen (U) gleich gross ist, da sonst eine unerwünschte Endosmose auftreten kann. Mit einer Handwalze presst man die Streifen auf die seitlichen Glasplatten (G) und lässt sie einerseits die Adsorptionsschicht um 0,5–1 cm überlappen und andererseits über das Ende der Glasplatten hinaus auf der Polyäthylenfolie aufliegen. Als Stromschlüssel zwischen den Elektrodengefässen (E) und den Filterpapier-Überführungstreifen (U) dient je ein Cellophanschlauch (C), welcher eine puffergetränkte Gaze enthält. Die Cellophanschläuche (C) werden bis an die Kanten der Glasplatten (G) gelegt, so dass sie das Ende der Überführungstreifen (U) bedecken. Ein Plexiglasrahmen (P) (34×22 cm) wurde so konstruiert, dass er die drei Glasplatten (G, T, G) umschliesst. Im seitlichen Abstand von 4 cm (Abstand der inneren Kanten) wurde je eine Querleiste (Q) eingefügt. Die Funktion der äusseren, zum Rahmen gehörigen Querleisten ($Q1$) ist es, die Cellophanschläuche (C) auf die Überführungstreifen (U) und diejenige der inneren Querleisten ($Q2$), die Überführungstreifen (U) auf die Adsorptionsschicht (T) zu pressen. Dies wird erreicht, indem man den Rahmen mit einer Glasplatte bedeckt, wobei eine geschlossene, dreiteilige Kammer entsteht. Die der Glasplatte zugewandte Seite des Rahmens bildet eine Ebene. Die Querleisten (Q) müssen ihrer Funktion entsprechend, von der Polyäthylenfolie aus gesehen, verschiedene Abstände aufweisen. Die Dicke der Leisten ist: Längsleiste 12 mm, äussere Querleiste ($Q1$) 10 mm und innere Querleiste ($Q2$) 7 mm von der oberen Kante der Längsleiste aus gemessen. Die Glasplatte 34×24 cm kann nötigenfalls beschwert werden, um einen guten Kontakt zwischen den verschiedenen Systemen herzustellen. Die Ionophorese wird nach 1- bis $1\frac{1}{2}$ stündigem Stromdurchfluss unterbrochen, die Trägerplatte auf einem Filterpapier im Ofen bei 110° getrocknet und anschliessend angefärbt.

¹⁵⁾ Polyäthylenfolie «Contraves», beziehbar von der MASCHINENFABRIK OERLIKON.

Für die zweidimensionale, kombinierte Dünnschicht-Ionophorese-Chromatographie ist die Anordnung dieselbe wie für die Ionophorese mit der Ausnahme, dass das aufzutrennende Substanzgemisch in der unteren anodennahen Ecke (2 cm vom unteren und 5 cm vom seitlichen Rand) aufgetragen wird. Von einem Punkt im oberen Teil der Platte (4 cm vom oberen und 5 cm vom seitlichen Rand) wird das Eichgemisch mit aufgetrennt. Nach der Ionophorese wird die Trägerplatte getrocknet, senkrecht zur ionophoretischen Trennrichtung chromatographisch entwickelt, wieder getrocknet und angefärbt.

Für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit durch den BARELL-FOND sei auch an dieser Stelle unser herzlichster Dank ausgesprochen.

Meiner Frau sowie Frl. CH. HUSY danke ich für ihre geschickte experimentelle Mithilfe.

SUMMARY

1. A method for the separation of substances by thin layer ionophoresis and by the two dimensional combination of thin layer ionophoresis and chromatography on glass plates is described.

2. 'Kieselgel G', 'Kieselgur G' and 'Aluminiumoxyd G' were successfully used as adsorbents for the ionophoretic separation of amines and amino acids, and 'Kieselgel G' for their combined ionophoretic-chromatographic separation.

3. The described methods were found to be equal, in some respect even superior, to the separation of amines and amino acids on paper.

Forschungslaboratorium der Neurologischen Universitäts-
Poliklinik, Basel, Mittlere Strasse 91

23. Zur Dehydrierung von Steroid-allylkohlen

Über Steroide, 174. Mitteilung¹⁾

von **K. Heusler, J. Kalvoda, P. Wieland** und **A. Wettstein**

(7. XII. 60)

Selektive Reaktionen, wie Oxydationen, Reduktionen, Veresterungen usw. an polyfunktionellen Verbindungen sind bei Steroiden oft von grosser Bedeutung²⁾. So ist auch die selektive Dehydrierung allylischer Hydroxylgruppen in Polyhydroxysteroiden verschiedentlich untersucht worden. Im Mangandioxyd³⁾ wurde ein Oxydationsmittel gefunden, das fast ausschliesslich Allylkohole dehydriert. Für technische Zwecke ist dieses Verfahren wegen der notwendigen grossen Menge und der Adsorptionseigenschaften des aktiven Mangandioxyds weniger geeignet. Der aktivierende Einfluss der Allyldoppelbindung ermöglichte unter besonderen Reaktionsbedingungen die selektive Dehydrierung auch mit Oxydationsmitteln, welche allgemein sekundäre Alkohole angreifen, z. B. N-Halogensäureamide⁴⁾.

¹⁾ 173. Mitt.: F. W. KAHNT, R. NEHER, K. SCHMID & A. WETTSTEIN, *Experientia* 17, 19 (1961).

²⁾ Vgl. H. J. E. LOEWENTHAL, *Tetrahedron* 6, 269 (1959).

³⁾ Vgl. z. B. F. SONDHEIMER, C. AMENDOLLA & G. ROSENKRANZ, *J. Amer. chem. Soc.* 75, 5930 (1953). Eine weitere selektive Oxydationsmethode ist kürzlich von D. BURN, V. PETROW & G. O. WESTON (*Tetrahedron Letters* 1960, No. 9, 14) beschrieben worden; diese Autoren verwendeten 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-benzochinon als Dehydrierungsmittel.

⁴⁾ KEN-ICHI MORITA, *Bull. chem. Soc. Japan* 31, 450 (1958).