

## IDENTIFIZIERUNG ORGANISCHER VERBINDUNGEN\*

## XLI. MITTEILUNG.

PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG  
UND IDENTIFIZIERUNG DER ALKOHOLE, GLYKOLE,  
POLYÄTHYLENGLYKOLE, PHENOLE, MERCAPTANE UND AMINE IN  
FORM IHRER 3,5-DINITROBENZOYLDERIVATE

JIRÍ GASPARIČ UND JIRÍ BORECKÝ

*Forschungsinstitut für organische Synthesen, Pardubice-Rybitví  
(Tschechoslowakei)*

(Eingegangen den 12. September 1960)

In einigen vorangehenden Mitteilungen aus unserem Laboratorium<sup>1-6</sup> zeigten wir, dass die aliphatischen Alkohole, Amine, Glykole und Polyäthylenglykole, sowie ihre Monoäther und Chlorhydrinderivate vorteilhaft in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoylderivate chromatographiert werden können. Die Flüchtigkeit dieser Verbindungen und auch der Mangel an empfindlichen Detektionsmethoden zwingen zur Überführung dieser Verbindungen in geeignete Derivate vor der chromatographischen Behandlung. Wir benützen diese Methoden seit mehreren Jahren zur Identifizierung der Spaltungsprodukte organischer Verbindungen, deren Konstitution wir ermitteln, sowie zur Analyse verschiedener technischer Produkte (z.B. Textilhilfsmittel), die gewöhnlich komplizierte Gemische vorstellen. Da das 3,5-Dinitrobenzoylchlorid auch mit Verbindungen vieler anderen Stoffklassen Derivate bilden kann – deren chromatographisches Verhalten uns unbekannt war, was zu Irrtümern bei der Interpretation der Chromatogramme führen könnte – waren wir gezwungen das Verhalten einer möglichst grossen Anzahl von 3,5-Dinitrobenzoylderivaten zu prüfen. Im Verlauf dieser Arbeit gelang es uns nicht nur die nötigen Informationen über das Verhalten aller in Frage kommenden Derivate zu erhalten, sondern auch eine Reihe von Faktoren, die die papierchromatographische Trennung dieser Verbindungen beeinflussen können, aufzuklären. Die erhaltenen Resultate sind in der vorliegenden Mitteilung zusammengefasst.

## EXPERIMENTELLER TEIL

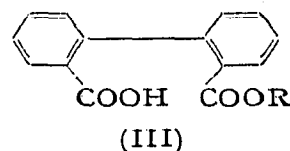
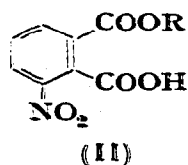
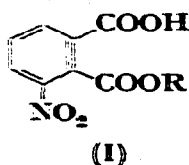
*Die Wahl der Derivate*

Flüchtige oder unbeständige Verbindungen oder solche Stoffe, bei denen keine empfindliche Detektionsmethode zur Verfügung steht, werden in Form von geeigneten

\* XL. Mitteilung: *J. Chromatog.*, 5 (1961) 408.

Derivaten chromatographiert<sup>7</sup>. Aus einer grossen Anzahl zu diesem Zweck schon beschriebener Derivate ist es notwendig solche rationell auszuwählen, die die in Folgendem angeführten Eigenschaften besitzen. Vor allem müssen sie solche funktionelle Gruppen enthalten, die eine bequeme und empfindliche Sichtbarmachung der Flecken an Chromatogrammen ermöglichen, bzw. können sie selbst farbig sein oder fluoreszieren. Weiter sollen solche Derivate beständig sein, was auch für ihre Lösungen gelten sollte. Die Reaktion, die zu ihrer Darstellung verwendet wird muss natürlich mit allen in Frage kommenden Verbindungen eindeutig und mit guter Ausbeute verlaufen. Es ist ein grosser Vorteil, wenn die Reaktion eine Isolierung z.B. aus verdünnten wässrigen Lösungen ermöglicht.

In diesem Sinne wurden für die Papierchromatographie der Alkohole bzw. auch für die Glykole folgende Derivate vorgeschlagen: Xanthogenate (Zusammenfassung siehe<sup>8</sup>), 3,5-Dinitrobenzoate<sup>1,4-6,9-14</sup>, 3-Nitrophthalate<sup>15</sup>, Diphenate<sup>15</sup>, 3,6-Dinitrophthalate<sup>16</sup>, oder wurden die Alkohole zu Säuren oxydiert und diese chromatographisch erfasst<sup>17,18</sup>. Auf die Nachteile bei der Anwendung der Xanthogenate zur Papierchromatographie verwiesen wir in der schon zitierten vorangehenden Mitteilung<sup>8</sup>: diese Derivate sind in der Lösung und unter bestimmten Bedingungen auch während der Chromatographie nicht genügend stabil. Die Reaktion mit 3-Nitrophthalanhydrid ist wenig geeignet, da neben den Estern I, die als Hauptprodukt entstehen, auch noch die Ester II gebildet werden, die auf den Chromatogrammen stören. Deshalb wurde die Reaktion mit Diphensäureanhydrid vorgeschlagen, die eindeutig unter Bildung von Estern III verläuft, zur Sichtbarmachung dieser Ester ist man jedoch auf einen Säuren-Basen-Indikator angewiesen. In den letzten Jahren wurden auch farbige Derivate zur Identifizierung und Säulenchromatographie vorgeschlagen



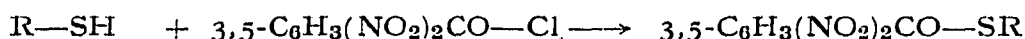
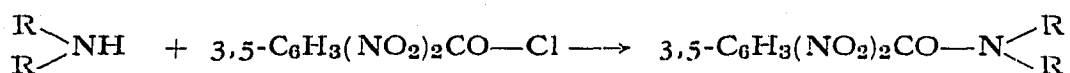
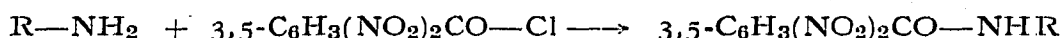
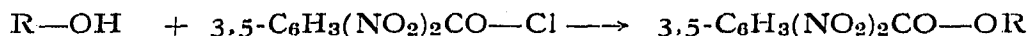
—die Phenylazobenzoate<sup>19</sup> oder *p*-Nitrophenylazobenzoate<sup>20</sup>—die die Frage der Sichtbarmachung überflüssig machen.

Die Phenole können ohne Überführung in Derivate<sup>21</sup> oder in Form der Phenoxyessigsäuren<sup>22</sup> chromatographiert werden. Die aliphatischen Amine werden in Form ihrer Salze<sup>3</sup> oder nach Überführung in 4-Nitrobenzamide<sup>23</sup>, bzw. 3,5-Dinitrobenzamide<sup>2,3,24</sup> oder 2,4-Dinitrophenyllderivate<sup>25</sup> chromatographiert. Die aromatischen Amine können nur dann als freie Basen chromatographiert werden, wenn sie nicht flüchtig sind; andernfalls werden sie in Bromderivate<sup>26</sup>, Azofarbstoffe<sup>27</sup> oder 3,5-Dinitrobenzamide<sup>7</sup> überführt. Für die Mercaptane wurden bisher die 2,4-Dinitrophenylthioäther<sup>28</sup> und weitere Derivate<sup>29-32</sup> vorgeschlagen.

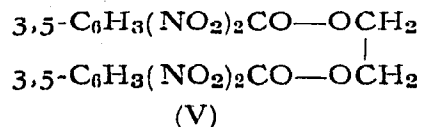
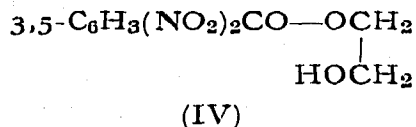
Für unsere Arbeit wählten wir die 3,5-Dinitrobenzoate als vorteilhafteste Derivate aus, da das Reagens, das 3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid, nicht nur schnell und eindeutig reagiert, eine gute Sichtbarmachung ermöglicht und als Handels-

produkt zur Verfügung steht, sondern da auch die 3,5-Dinitrobenzoylderivate zur Identifizierung besonders der Alkohole, Glykole und Amine häufig Anwendung finden und eine grosse Anzahl dieser Verbindungen schon als Derivate beschrieben wurden. Für unsere Arbeit war weiter entscheidend, dass das 3,5-Dinitrobenzoylchlorid mit allen erwähnten Verbindungen reagiert, da alle diese Stoffklassen als Bestandteile der von uns analysierten Produkte vorkommen können.

Bei der Reaktion des 3,5-Dinitrobenzoylchlorids werden folgende Typen von Derivaten gebildet (R = Alkyl oder Aryl):



Nur im Falle der mehrwertigen Alkohole war der Reaktionsverlauf nicht eindeutig, da sowohl die Monoester IV als auch die Diester V gebildet wurden, was im Kapitel über die Darstellung der Derivate näher diskutiert werden wird.



#### *Sichtbarmachung der 3,5-Dinitrobenzoylderivate*

Zur Sichtbarmachung der farblosen und nicht fluoreszierenden Verbindungen auf den Chromatogrammen dient Besprühen mit solchen Reagentien, die Farb- oder Fluoreszenzreaktionen hervorrufen, welche empfindlich sein sollen und zu möglichst lange haltbaren Flecken führen sollen. Das Sprühreagens soll leicht darstellbar und lange haltbar sein und die ganze Prozedur soll auf einfachste Weise durchführbar sein.

Zur Sichtbarmachung der 3,5-Dinitrobenzoate wurden bisher folgende Methoden vorgeschlagen:

(1) Das Besprühen mit einer 1-Naphthylamin-<sup>10</sup> oder Rhodamin 6GBN-Lösung<sup>10</sup>; die 3,5-Dinitrobenzoylderivate bewirken das Auslöchen der Fluoreszenz dieser Reagentien. Unseren Erfahrungen nach sind diese Methoden nicht sehr empfindlich.

(2) Das Bestrahlen der Chromatogramme, die Formamid oder Dimethylformamid enthalten, mit unfiltriertem Licht der Quarzlampe<sup>1,14</sup>, wobei die 3,5-Dinitrobenzoylderivate als violette Flecken erscheinen, die im U.V.-Licht rötlich fluoreszieren. Auch diese Methode ist nicht genügend empfindlich und fällt sogar bei manchen Derivaten aus. Ihr grosser Vorteil ist die einfache und schnelle Durchführung der Sichtbarmachung. Die auf solche Weise sichtbar gemachten Chromatogramme können noch mit weiteren Reagentien behandelt werden.

(3) Das Besprühen mit Malonsäurediäthylester und Natronlauge<sup>11</sup> oder mit acetonischer Natronlauge<sup>24</sup>. Diese Methoden haben den Nachteil, dass die Flecken eine begrenzte Zeit haltbar sind.

(4) Das Besprühen mit Zinn(II)-chloridlösung<sup>4</sup>, wobei die Dinitroderivate zu den entsprechenden Aminoderivaten reduziert werden, welche durch nachträgliches Besprühen mit einer *p*-Dimethylaminobenzaldehydlösung in die betreffenden Schiff-schen Basen übergeführt werden und als gelbe Flecken erscheinen. Diese Methode ist genügend empfindlich; ca. 1  $\mu$ g der Dinitroverbindungen können noch sichtbar gemacht werden und die Flecken sind wochenlang haltbar. Der Nachteil dieser Methode ist, dass sie etwas komplizierter ist, da man nach dem Besprühen mit der Reduktionslösung die Chromatogramme 30–60 Minuten hängen lassen muss, zumal die Reduktion speziell bei manchen Polyäthylenoxyderivaten längere Zeit erfordert. Auch die Zinn(II)-chloridlösung muss nach einigen Tagen frisch bereitet werden. Unseren Erfahrungen nach ist jedoch diese Methode die geeignetste und wir wenden sie schon mehrere Jahre bei Serienarbeiten an.

#### *Die Wahl der Lösungsmittelsysteme*

Um das richtige Lösungsmittel zur papierchromatographischen Trennung auszuwählen nehmen wir immer die Löslichkeitsverhältnisse der chromatographierten Verbindungen in Betracht<sup>7</sup>; wir unterscheiden demnach drei Klassen von Lösungsmittelsystemen:

(1) Nicht vorbehandelte Papiere, d.h. Wasser oder besser der Komplex Zellulose-Wasser als stationäre Phase für in Wasser gut lösliche Verbindungen.

(2) Papiere imprägniert mit nicht wässrigen polaren Lösungsmitteln, z.B. Formamid, Dimethylformamid, Propylenglykol, N-Methylformanilid, usw. Als mobile Phase dient ein wenig polares Lösungsmittel, z.B. Hexan, Benzol usw. Diese Systeme sind für semipolare, in Wasser gewöhnlich wenig lösliche oder unlösliche Stoffe geeignet.

(3) Papiere imprägniert mit unpolaren Lösungsmitteln oder wenig polaren, z.B. Paraffinöl, Laurylalkohol, 1-Bromnaphthalin als stationärer Phase. In diesen Systemen werden wenig polare Stoffe chromatographiert.

Es ist notwendig, dass der chromatographierte Stoff in der stationären Phase sehr gut, in der mobilen Phase dagegen mässig oder weniger löslich ist.

Die 3,5-Dinitrobenzoate wurden bisher auf verschiedene Weisen chromatographiert. Wir wollen im Weiteren zeigen, wie den vorangehenden Regeln nach, die Wahl der richtigen und geeignetsten Lösungsmittelsysteme durchgeführt werden soll. Trotzdem die 3,5-Dinitrobenzoate in Wasser praktisch unlöslich sind und sich sehr gut in polaren Lösungsmitteln lösen, versuchten einige Autoren<sup>9</sup> (die Übersicht der bisherigen Methoden siehe Tabelle I) auf nicht vorbehandelten Papieren zu chromatographieren. Selbstverständlich hatte dies wenig Erfolg, da die Derivate sehr hohe  $R_F$ -Werte hatten oder Streifen bildeten. Deshalb schlugen weitere Autoren<sup>9,11</sup> das Vorbehandeln der Papiere mit Silikagel vor, d.h. der Verteilungsvorgang wurde mit einer Adsorption kombiniert um die Verminderung der  $R_F$ -Werte zu erzielen.

TABELLE I

BISHERIGE METHODEN ZUR PAPIERCHROMATOGRAPHISCHEN TRENNUNG DER 3,5-DINITROBENZOATE DER ALIPHATISCHEN ALKOHOLE

Literatur	RICE, KELLER UND KIRCHNER <sup>6</sup>	MELICH <sup>10</sup>	ČERNÝ <sup>11</sup>	HUEBLIN UND KENNETT <sup>12</sup>	MICHEL UND SCHMINKE <sup>13</sup>	SUNDT UND WINTER <sup>14</sup>	VČEŘA, GASPARIČ UND SPÍVAK <sup>1</sup>	BORECKÝ, GASPARIČ UND VČEŘA <sup>4</sup>
Derivate der	niederen Alkohole	niederen Alkohole	$C_1-C_9$ <sup>7</sup> Alkohole	$C_1-C_{10}$ <sup>8</sup> Alkohole	$C_1-C_{12}$ <sup>9</sup> Alkohole	$C_1-C_{12}$ <sup>15</sup> Alkohole	$C_1-C_4$ <sup>2</sup> Alkohole	$C_1-C_{16}$ <sup>3</sup> Alkohole
Lösungs- mittel- systeme	nicht vorbehandel- tes Papier, oder Papier imprägn. mit Silikagel, Mobile Phase: wässriges Aceton, Isopropyl- alkohol oder Pyridin	Methanol/ Heptan	Papier imprägn. niert mit Silikagel, Mobile Phase: Äther + Petrol- äther	Methanol/ Heptan	Acetyliertes Papier, Mobile Phase: Äthylacetat = Dioxan - Wasser 2.0:4.5:4.5	Dimethylfor- mamid/Dekalin	Dimethylfor- mamid/Cyclo- hexan	Paraffinöl/ Dimethylformamid = Methanol = Wasser
Sichtbar- machung	1-Naphthylamin oder 10% KCN	Rhodamin 6GBN	Malonsäure- diäthylester + NaOH	1-Naphthylamin oder Benzidin	1-Naphthylamin Rhodamin 6GBN, oder Bestrahlen mit Quarzlampe	1-Naphthylamin Rhodamin 6GBN, oder Bestrahlen mit Quarzlampe	1-Naphthylamin mit Quarzlampe	<i>p</i> -Dimethylamino- benzaldehyd nach vorheriger Re- duktion mit $\text{SnCl}_2$

Eine weitere Verbesserung war das von MEIGH<sup>10</sup> vorgeschlagene Lösungsmittelsystem Methanol-Heptan, in dem schon das Methanol die Rolle einer polaren stationären Phase spielte. Prinzipiell war diese Methode richtig, was auch weitere Autoren<sup>12</sup> bestätigten, nur ist Methanol wegen seiner Flüchtigkeit keine geeignete stationäre Phase, da man die Atmosphäre der Kammer sowie das Papier langwierig sättigen muss. Wir schlugen deshalb Dimethylformamid als stationäre Phase anstatt Methanol vor<sup>1</sup> und erzielten eine gute Auftrennung der Methyl-, Äthyl-, Propyl- und Butylester der 3,5-Dinitrobenzoesäure. Man kann zwar weiter durch Vergrößerung des Imprägnierungsgrades des Papiers die  $R_F$ -Werte herabsetzen, doch zeigen die höheren Alkohole in dem System Dimethylformamid/Hexan zu grosse  $R_F$ -Werte. Das heisst, dass sie schon in der mobilen Phase (Hexan) zu viel löslich sind. Das ist begreiflich, da durch Verlängerung des Alkylrestes sich die Polarität der Ester um soviel vermindert hat, dass für sie der Kohlenwasserstoff die geeignetere stationäre Phase als Dimethylformamid geworden ist. Deshalb chromatographieren wir die Ester der höheren Alkohole auf mit Paraffinöl imprägnierten Papieren<sup>4</sup> und wenden das Gemisch von Dimethylformamid, Methanol und Wasser als mobile Phase an.

Die 3,5-Dinitrobenzoylderivate der Amine und die betreffenden Ester der mehrwertigen Alkohole werden von Dimethylformamid und Formamid so stark zurückgehalten, dass sie am Start bleiben, wenn Hexan oder Cyclohexan als mobile Phase verwendet wird. Im Falle der mit Formamid imprägnierten Papiere kann man dann die Polarität der mobilen Phase steigern und anstatt Hexan auch von Benzol, Chloroform und Äthylacetat bzw. ihren Gemischen Gebrauch machen. Also durch Änderung der Zusammensetzung des Fliessmittels können wir die  $R_F$ -Werte beliebig ändern, um die gewünschten Auftrennungen zu erzielen. Auf diese Weise gelang es uns sukzessiv die homologen Reihen der Alkohole, Glykole, Glykoläther und Chlorhydrine, Polyäthylenglykole, Mercaptane, Amine usw. aufzutrennen. Auch bei Anwendung umgekehrter Phasen, d.h. mit Paraffinöl oder 1-Bromnaphthalin als stationäre Phase war es möglich die  $R_F$ -Werte beliebig zu ändern und zwar wieder durch Änderung der Zusammensetzung des Fliessmittels. Die Zugabe von Methanol und Wasser zu Dimethylformamid oder von Wasser zur Essigsäure setzte die  $R_F$ -Werte stark herab.

In der Tabelle II sind die Resultate unserer Versuche, sowie alle von uns angewendeten Lösungsmittelsysteme zusammengefasst.

Im Zusammenhang mit dem Problem der besten Auftrennung muss noch einer Tatsache die Aufmerksamkeit gewidmet werden. Von verschiedenen Autoren wird gewöhnlich angenommen, dass zwei Verbindungen aufgetrennt werden, wenn sich ihre  $R_F$ -Werte um 0.05 unterscheiden. Im Weiteren wollen wir zeigen, dass diese Ansicht noch einer Ergänzung bedarf. Bei der Papierchromatographie, besonders bei Anwendung der mit organischen Lösungsmitteln vorbehandelten Papiere sind nämlich ganz bemerkenswerte Unterschiede in der Grösse der Flecken in Abhängigkeit von ihrer Lage auf dem Chromatogramm festzustellen. In der Nähe des Startes sind die Flecken klein und scharf abgegrenzt. Je grösser die Strecke die sie aber auf dem Chromatogramm vom Start zurücklegen, umso grösser werden sie durch Diffusion

R<sub>F</sub>-WERTE DER 3,5-DINITROBENZOYLDERIVATE IN

Dimethyläther	R <sub>F</sub> -Werte						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Alliphatiscalam Alkohole</i>							
Methylalkohol	0.09	0.09	0.19	0.22	0.30	0.33	0.56
Äthylalkohol	0.18	0.16	0.25	0.29	0.58	0.61	0.77
<i>n</i> -Propylalkohol	0.27	0.27	0.47	0.53	0.76	0.78	0.86
Isopropylalkohol	0.31	0.31	0.52	0.58	0.80	0.82	—
<i>n</i> -Butylalkohol	0.37	0.38	0.60	0.64	0.88	0.86	—
Isobutylalkohol	0.41	0.41	0.60	0.65	0.87	0.85	—
sek.-Butylalkohol	0.42	0.42	0.63	0.67	0.90	0.87	—
tert.-Butylalkohol	0.46	0.47	0.68	0.70	0.91	0.88	—
<i>n</i> -Amylalkohol	0.48	0.49	0.75	0.74	0.93	0.90	—
<i>n</i> -Hexylalkohol	0.52	0.57	0.79	0.77	0.94	0.91	—
<i>n</i> -Heptylalkohol	0.61	0.63	0.83	0.81	0.94	0.92	—
<i>n</i> -Oktylalkohol	0.70	0.71	0.84	0.85	0.95	0.94	—
<i>n</i> -Nonylalkohol	0.75	0.72	0.86	0.87	0.96	0.94	—
<i>n</i> -Decylalkohol	0.75	0.79	0.87	0.88	0.95	0.94	—
<i>n</i> -Dodecylalkohol	0.80	0.83	0.90	0.89	0.95	0.94	—
<i>n</i> -Tetradecylalkohol	0.90	0.91	0.91	0.90	0.95	0.94	—
<i>n</i> -Hexadecylalkohol	0.92	0.93	0.93	0.92	0.96	0.95	—
<i>n</i> -Hexadecylalkohol	0.93	0.94	0.94	0.93	0.96	0.95	—
<i>n</i> -Octadecylalkohol	0.94	0.95	0.95	0.94	0.96	0.95	—
<i>Cyclalkylalkohole, ungesättigt</i>							
Cyclopentanol	0.36	0.42	0.60	0.66	0.84	0.85	—
1-Methylcyclopentanol	0.52	0.55	0.70	0.76	0.80	0.90	—
2-Methylcyclopentanol	0.49	0.51	0.69	0.75	0.90	0.90	—
3-Methylcyclopentanol	0.49	0.50	0.69	0.75	0.90	0.90	—
Cyclohexanol	0.51	0.53	0.68	0.74	0.91	0.90	—
Methylcyclohexanol	0.61	0.65	0.77	0.80	0.95	0.92	—
Geraniol	0.70	0.66	0.83	0.84	0.96	0.94	—
alkt. Isoborneol	0.64	0.68	0.84	0.85	0.95	0.94	—
1-Nerthol	0.77	0.82	0.89	0.90	0.95	0.94	—
Cholesterol	0.95	0.95	0.90	0.91	0.95	0.93	—
Allylalkohol	0.15	0.15	0.30	0.34	0.62	0.65	0.80
Crotylalkohol	0.18	0.18	0.46	0.52	0.80	0.83	—
Undecylketalalkohol	0.76	0.82	0.83	0.84	0.95	0.94	—
Oleylalkohol	0.92	0.93	0.90	0.91	0.95	0.94	—
Furfurylalkohol	0.04	0.06	0.12	0.16	0.51	0.57	0.77
Tetrahydrofurfurylalkohol	0.07	0.10	0.15	0.24	0.26	0.29	0.54
<i>Arylalkohole</i>							
Benzylalkohol	0.08	0.12	0.20	0.31	0.72	0.77	0.86
<i>p</i> -Methylbenzylalkohol	0.12	0.16	0.32	0.46	0.80	0.84	—
<i>p</i> -Methylbenzylalkohol	0.04	0.06	0.13	0.21	0.66	0.71	—
2-Phenyläthylalkohol	0.11	0.13	0.26	0.39	0.76	0.81	—
<i>p</i> -Phenylpropylalkohol	0.15	0.17	0.35	0.48	0.88	0.87	—

1 = 50% Dimethylformamid/Hexan.  
 2 = 50% Dimethylformamid/Cyclohexan.  
 3 = 25% Dimethylformamid/Hexan.  
 4 = 25% Dimethylformamid/Cyclohexan.  
 5 = 20% Formamid.  
 6 = 20% Formamid/Cyclohexan.  
 7 = 20% Formamid/Hexan-Benzol 4:1.

8 = 20% Formamid/Hexan-Benzol 3:2.  
 9 = 20% Formamid/Hexan-Benzol 2:3.  
 10 = 20% Formamid/Hexan-Benzol 1:4.  
 11 = 20% Formamid/Benzol.  
 12 = 20% Formamid/Benzol-Chloroform 1:1.  
 13 = 20% Formamid/Chloroform.

## II

## VERSCHIEDENEN LÖSUNGSMITTELSYSTEMEN\*

R <sub>F</sub> -Werte												
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0.71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	0.17	0.26
0.88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.92	0.11	0.19
0.92	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.06	0.14
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.96	0.91	0.86	0.04	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.94	0.89	0.80	—	0.11
—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	0.81	0.69	—	0.07
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.06
—	—	—	—	—	—	—	—	0.82	0.68	0.43	—	0.04
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.75	0.60	0.29	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.69	0.51	0.20	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.56	0.32	0.07	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.41	0.17	0.02	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.30	0.07	0.00	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.20	0.04	0.00	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.86	0.88	0.77	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.81	0.69	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.84	0.73	0.54	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.88	0.70	0.47	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.77	0.57	S	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.09	0.00	0.00	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.87	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.77	0.67	0.22	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.34	0.09	0.01	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.94	0.06	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.90	—	0.08
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.97	0.95	0.88	—	—

14 = 20 % Formamid/Chloroform-Äthyl-  
acetat 1:1.  
15 = 20 % Formamid/Chloroform-Äthyl-  
acetat 1:4.  
16 = 5 % Paraffinöl/Dimethylformamid-  
Methanol-Wasser 8:1:1

17 = 5 % Paraffinöl/Dimethylformamid-Me-  
thanol-Wasser 4:1:1.  
18 = 5 % Paraffinöl/Dimethylformamid-Me-  
thanol-Wasser 2:1:1.  
19 = 10 % 1-Bromnaphthalin/70 % Essigsäure.  
20 = 10 % 1-Bromnaphthalin/90 % Essigsäure.

(Fortsetzung auf Seite 474)



TABELLE II

Derivate der	R <sub>F</sub> -Werte						
	1	2	3	4	5	6	7
Methylphenylcarbinol	0.14	0.17	0.35	0.48	0.88	0.87	—
Methyläthylphenylcarbinol	0.27	0.32	0.50	0.60	0.90	0.94	—
Cinnamylalkohol	0.07	0.09	0.19	0.29	0.80	0.82	—
<i>Glykole</i>							
Äthylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Äthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	S
1,2-Propylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02
1,2-Propylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.01	0.27
1,3-Butylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05
1,3-Butylenglykol (Diester)	0.01	0.01	0.02	0.04	0.03	0.04	0.36
2,3-Butylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.05
2,3-Butylenglykol (Diester)	0.01	0.01	0.03	0.06	0.04	0.07	S
1,4-Butylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
1,4-Butylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.01	0.02	0.02	0.03	S
1,6-Hexandiol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10
1,6-Hexandiol (Diester)	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	S	S
Glyzerin (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Glyzerin (Diester)	—	—	—	—	—	—	—
Glyzerin (Triester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Polyäthylenglykole</i>							
Diäthylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Diäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.11
Triäthylenglykol (Monoester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Triäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10
Tetraäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06
Pentaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03
Hexaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Heptaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Octaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Nonaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Dekaäthylenglykol (Diester)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Monoäther der Glykole und Polyäthylenglykole</i>							
Äthylenglykol-mono-methyläther	0.04	0.06	0.14	0.16	0.20	0.26	0.52
Diäthylenglykol-mono-methyläther	0.01	—	0.09	—	0.09	—	0.38
Triäthylenglykol-mono-methyläther	0.00	—	0.07	—	0.03	—	0.22
Äthylenglykol-mono-äthyläther	0.10	0.12	0.26	0.30	0.40	0.41	0.73
Diäthylenglykol-mono-äthyläther	0.05	—	0.15	—	0.20	—	0.56
Triäthylenglykol-mono-äthyläther	0.01	—	0.09	—	0.08	—	0.42
Tetraäthylenglykol-mono-äthyläther	0.00	—	0.07	—	0.02	—	0.24
Äthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.17	0.26	0.49	0.55	0.76	0.80	0.89
Diäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.13	0.22	0.39	0.49	0.60	0.70	0.82
Triäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.08	0.17	0.30	0.42	0.35	0.50	0.72
Tetraäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.04	0.13	0.21	0.32	0.20	0.34	0.57
Pentaäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.02	0.09	0.13	0.20	0.08	0.16	0.41
Hexaäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.01	0.06	0.09	0.16	0.04	0.08	0.25
Heptaäthylenglykol-mono- <i>n</i> -butyläther	0.01	0.02	0.07	0.11	0.02	0.03	0.14
Äthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.49	0.51	0.67	0.74	0.95	0.92	—
Diäthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.40	0.44	0.61	0.65	0.88	0.87	—
Triäthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.30	0.37	0.53	0.60	0.76	0.78	—
Tetraäthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.18	0.27	0.43	0.55	0.59	0.61	0.85
Pentaäthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.10	0.17	0.32	0.46	0.35	0.45	0.73
Hexaäthylenglykol-mono-(2-äthylbutyl)-äther	0.05	0.10	0.21	0.34	0.18	0.26	0.52

(Fortsetzung)

R <sub>F</sub> -Werte												
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.99	0.99	0.90	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.03	0.07	0.13	0.25	0.33	0.50	0.69	0.79	—	—	—	0.79	0.75
S	0.80	0.93	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	0.08
0.07	0.18	0.32	0.44	0.54	0.71	0.79	—	—	—	—	0.69	0.68
0.68	0.87	0.96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.17	0.38	0.54	0.65	0.74	0.85	0.84	—	—	—	—	—	0.60
0.75	0.90	0.96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.17	0.37	0.52	0.63	0.73	0.84	0.85	—	—	—	—	—	—
0.78	0.95	0.97	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.11	0.28	0.44	0.57	0.66	0.80	0.81	—	—	—	—	—	—
0.68	0.80	0.96	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.29	0.57	0.72	0.78	0.87	0.89	—	—	—	—	—	—	—
S	0.97	0.98	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.33	0.53	—	—	—	—	—
—	0.06	0.24	0.43	0.46	0.66	0.85	0.99	—	—	—	—	—
S	S	0.80	0.89	0.93	0.94	0.94	0.98	—	—	—	—	—
0.03	0.09	0.23	0.37	0.52	0.72	0.70	0.75	—	—	—	0.74	0.76
0.51	0.80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	0.08
0.03	0.11	0.26	0.40	0.64	0.82	0.70	0.72	—	—	—	—	—
0.48	0.79	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.39	0.76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.28	0.68	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.19	0.58	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.13	0.47	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.08	0.35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.00	0.24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.00	0.14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.76	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.38
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.19	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.90	0.84	0.05	0.19
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.06	0.24
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.08	0.30
0.80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.71	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	—	—
0.56	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	—	—
0.40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.90	0.83	0.02	0.09
—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.94	0.90	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(Fortsetzung auf Seite 476)

TABELLE III

Derivate der	R <sub>F</sub> -Werte						
	1	2	3	4	5	6	7
Äthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecyläther	0.84	0.95	0.84	0.85	0.95	0.90	—
Diäthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecyläther	0.81	0.90	0.70	0.74	0.90	0.82	—
Triäthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecyläther	—	—	—	—	—	—	—
Tetraäthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecyläther	—	—	—	—	—	—	—
<i>Chlorhydrine</i>							
Äthylenchlorhydrin	0.02	0.04	0.05	0.12	0.24	0.31	0.61
1,2-Propylenchlorhydrin	0.07	0.09	0.21	0.29	0.56	0.61	0.72
α-Dichlorhydrin	0.02	0.05	0.13	0.20	0.43	0.47	0.80
<i>Phenole</i>							
Phenol	0.05	0.06	0.13	0.20	S	S	0.76
<i>o</i> -Kresol	0.09	0.11	0.22	0.31	0.69	0.75	—
<i>m</i> -Kresol	0.09	0.10	0.22	0.30	S	S	—
<i>p</i> -Kresol	0.08	0.09	0.22	0.30	S	S	—
<i>m</i> -Äthylphenol	0.14	0.15	0.32	0.40	0.82	0.84	—
<i>p-tert.</i> -Butylphenol	0.22	0.29	0.48	0.54	0.90	0.92	—
1-Naphthol	0.02	0.04	0.10	0.16	S	S	—
2-Naphthol	0.02	0.04	0.10	0.16	S	0.45	—
<i>Mercaptane, Thiophenole und ihre Derivate</i>							
Äthylmercaptan	0.24	0.22	0.43	0.49	0.75	0.78	—
<i>n</i> -Butylmercaptan	0.46	0.47	0.67	0.69	0.93	0.91	—
<i>n</i> -Hexylmercaptan	0.62	0.66	0.80	0.79	0.95	0.93	—
<i>n</i> -Dodecylmercaptan	0.94	0.93	0.90	0.90	0.97	0.96	—
Äthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecylthioäther	—	—	—	—	—	—	—
Diäthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecylthioäther	—	—	—	—	—	—	—
Triäthylenglykol-mono- <i>n</i> -dodecylthioäther	—	—	—	—	—	—	—
Benzylmercaptan	0.14	0.16	0.28	0.39	0.84	0.87	—
Thiophenol	0.08	0.12	0.17	0.26	0.70	S	—
<i>o</i> -Thiokresol	0.10	0.13	—	—	0.80	0.84	—
<i>p</i> -Thiokresol	0.11	0.15	—	0.39	S	S	—
<i>Primäre aliphatische Amine</i>							
Ammoniak	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Methylamin	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Äthylamin	0.01	0.02	0.01	0.04	0.00	0.00	0.00
<i>n</i> -Propylamin	0.02	0.04	0.02	0.07	0.00	0.01	0.00
<i>n</i> -Butylamin	0.04	0.06	0.07	0.13	0.02	0.03	0.03
Isobutylamin	0.04	0.06	0.08	0.15	0.02	0.03	0.03
<i>sek.</i> -Butylamin	0.05	0.07	0.10	0.17	0.02	0.03	0.04
<i>tert.</i> -Butylamin	0.10	0.12	0.20	0.27	0.06	0.07	0.10
<i>n</i> -Amylamin	0.08	0.10	0.15	0.24	0.04	0.06	0.09
Isoamylamin	0.09	0.11	0.17	0.25	0.04	0.06	0.08
<i>n</i> -Hexylamin	0.12	0.14	0.23	0.30	0.07	0.10	0.19
<i>n</i> -Octylamin	0.23	0.28	0.37	0.54	S	S	0.39
<i>n</i> -Decylamin	0.41	0.46	0.54	0.70	S	S	S
<i>n</i> -Dodecylamin	0.60	0.65	0.65	0.78	S	S	S
<i>n</i> -Tetradecylamin	—	—	—	—	S	S	—
<i>n</i> -Hexadecylamin	0.82	0.85	0.73	0.83	S	S	—
<i>n</i> -Octadecylamin	0.89	0.88	0.75	0.84	S	S	—
<i>Sekundäre aliphatische Amine</i>							
Dimethylamin	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.06

(Fortsetzung)

Rf-Werte												
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
—	—	—	—	—	—	—	—	0.49	0.47	0.07	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.65	0.57	0.13	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.67	0.26	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.76	—	—	—
0.88	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.10	0.29
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.07	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.06	0.21
—	—	—	—	—	—	—	—	0.96	—	0.93	0.03	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	0.98	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.78	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.01	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.89	—	0.12
—	—	—	—	—	—	—	—	0.94	0.85	0.73	—	0.11
—	—	—	—	—	—	—	—	0.85	0.70	0.51	—	0.07
—	—	—	—	—	—	—	—	0.49	0.18	0.01	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.38	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.53	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.62	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.88	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.08
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.88	—	0.06
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.85	—	0.05
0.80	0.80	0.80	0.83	0.84	0.85	0.47	0.66	—	0.91	0.88	—	0.70
0.80	0.84	0.85	0.89	0.86	0.86	0.72	0.79	—	—	—	0.80	0.74
0.84	0.82	0.82	0.85	0.84	0.83	0.83	—	—	—	—	0.77	0.71
0.89	0.82	0.83	0.84	0.85	0.85	—	—	—	—	—	0.69	0.68
0.88	0.87	0.85	0.86	0.87	0.87	—	—	—	—	—	0.60	—
0.87	0.84	0.82	0.83	—	—	—	—	—	—	—	—	0.66
0.85	0.84	0.84	0.85	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.80	0.80	0.87	0.87	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.89	0.89	0.88	0.87	0.87	0.87	—	—	—	—	—	—	—
0.86	0.84	0.80	—	—	—	—	—	—	—	—	0.45	0.62
0.47	0.88	0.84	0.85	—	—	—	—	0.99	0.98	0.96	0.33	0.56
0.80	0.84	—	—	—	—	—	—	0.98	0.98	0.95	0.17	0.44
—	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.95	0.89	0.10	0.32
—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	0.89	S	0.05	0.19
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.02	0.11
—	—	—	—	—	—	—	—	0.77	0.53	S	—	0.06
—	—	—	—	—	—	—	—	0.62	0.31	S	—	0.03
0.88	0.84	0.80	0.87	0.85	0.85	—	—	—	—	0.92	0.72	0.74

(Fortsetzung auf Seite 478)

TABELLIE III

Derivate der	$R_F$ -Werte						
	1	2	3	4	5	6	7
Diäthylamin	0.03	0.06	0.08	0.14	0.08	0.13	0.30
Di- <i>n</i> -propylamin	0.08	0.09	0.19	0.22	0.29	0.33	0.55
Di- <i>n</i> -butylamin	0.25	0.31	0.47	0.53	0.72	0.77	0.85
<i>Andere Amine</i>							
Anilin	0.00	0.01	0.03	0.07	0.00	0.02	0.02
N-Methylanilin	0.03	0.04	0.07	0.14	0.18	0.24	0.40
N-Äthylanilin	0.05	0.08	0.17	0.23	0.41	0.51	0.70
<i>o</i> -Toluidin	0.02	0.02	0.03	0.05	0.00	0.02	0.00
<i>m</i> -Toluidin	0.02	0.03	0.04	0.08	0.01	0.03	0.00
<i>p</i> -Toluidin	0.02	0.03	0.04	0.08	0.01	0.04	0.00
1-Naphthylamin	0.16	0.18	0.28	0.35	0.55	0.61	—
Diphenylamin	0.03	0.04	0.07	0.14	S	S	S
Benzylamin	0.00	0.01	0.01	0.05	0.00	0.00	0.00
Cyclohexylamin	0.05	0.11	0.15	0.23	0.03	0.04	S
Dibenzyläthanolamin	0.24	0.29	0.52	0.58	0.94	0.94	—
3,5-Dinitrobenzoesäure	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

nach allen Richtungen hin, dabei aber auch rundlicher, jedoch nicht mehr so scharf abgegrenzt. Es ist dann selbstverständlich, dass in der Nähe des Starts kleinere Unterschiede der  $R_F$ -Werte genügen um eine Auftrennung schon möglich zu machen; dagegen sind in der unteren Hälfte des absteigenden Chromatogramms grössere Unterschiede in den  $R_F$ -Werten erforderlich.

Weiter muss in Betracht genommen werden, dass die Wirksamkeit der chromatographischen Auftrennung der ganzen Länge des Chromatogramms entlang wieder nicht die gleiche ist. Am wirksamsten werden zwei Flecken in der Nähe der Mitte des Chromatogramms getrennt; die Trennfähigkeit sinkt, wenn sich die Flecken dem Start oder der Lösungsmittelfront nähern. Diese Gesetzmässigkeit kann folgendem Beispiel entnommen werden: Wir chromatographierten die *m*-Butyl- und *m*-Amyl-3,5-dinitrobenzamide in Systemen mit Formamid als stationäre Phase und änderten die mobile Phase (Hexan, Benzol, Chloroform und ihre Gemische) in der Weise, dass die beiden Verbindungen beliebig hohe  $R_F$ -Werte aufwiesen. Die Resultate, die in der Tabelle III zusammengefasst sind, zeigen, dass beide Verbindungen in der Nähe des Starts praktisch nicht getrennt werden, mit wachsenden  $R_F$ -Werten jedoch vergrössern sich auch die Unterschiede ihrer  $R_F$ -Werte ( $\Delta R_F$ ) bis zu  $\Delta R_F = 0.17$  in der Hälfte des Chromatogramms, um sich in der Richtung zur Lösungsmittelfront wieder zu vermindern. Die Resultate aus der Tabelle III sind in der Fig. 1 graphisch dargestellt.

Dass diese Gesetzmässigkeit auch für andere Lösungsmittelsysteme gilt bewiesen wir dadurch, dass wir auf ähnliche Weise die Resultate der Trennung der höheren aliphatischen 3,5-Dinitrobenzoate auf mit Paraffinöl imprägnierten Papiere graphisch verarbeiteten (siehe Fig. 2) und dieselben Ergebnisse erhielten. In diesem Falle handelte es sich sogar um Unterschiede in den  $R_F$ -Werten einzelner Glieder

-(Fortsetzung)

R <sub>F</sub> -Werte												
8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0.57	0.76	0.85	—	—	—	—	—	—	—	—	0.54	0.60
0.77	0.89	0.93	—	—	—	—	—	—	—	0.95	—	0.49
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.97	—	—
0.08	0.26	0.45	0.58	0.65	0.71	0.91	—	—	—	—	0.51	0.56
0.76	0.90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
0.86	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.96	—	—
S	S	S	S	S	S	—	—	—	—	—	S	0.55
S	S	S	S	S	S	—	—	—	—	—	S	0.52
S	S	S	S	S	S	—	—	—	—	—	S	S
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.94	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.93	0.15	0.32
S	S	S	—	—	—	—	—	—	—	0.91	0.51	0.65
S	S	S	—	—	—	—	—	—	—	0.95	0.46	0.65
—	—	—	—	—	—	—	—	0.96	0.94	0.80	—	—
0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	—	0.90	0.89	0.66	0.64

einer homologen Reihe unter verschiedenen Bedingungen (verschiedener Imprägnierungsgrad des Papiers) und auch diesmal zeigte sich, dass am besten diejenigen zwei Verbindungen getrennt werden, die sich gerade in der Hälfte des Chromatogramms befinden.

TABELLE III

R<sub>F</sub>-WERTE-UNTERSCHIEDE DES *n*-BUTYL- UND *n*-AMYL-3,5-DINITROBENZAMIDS  
IN VERSCHIEDENEN LÖSUNGSMITTELSYSTEMEN  
Papier imprägniert mit Formamid

Mobile Phase	R <sub>F</sub> -Wert des		ΔR <sub>F</sub> *	R <sub>F</sub> '**
	<i>n</i> -Butylamins	<i>n</i> -Amylamins		
Hexan	0.01	0.02	0.01	0.01
Hexan-Benzol	9:1	0.02	0.07	0.045
	8:2	0.11	0.20	0.155
	7:3	0.19	0.32	0.255
	6:4	0.28	0.42	0.345
	5:5	0.31	0.47	0.39
	4:6	0.31	0.48	0.395
	3:7	0.42	0.58	0.50
	2:8	0.48	0.62	0.545
	1:9	0.57	0.70	0.635
Benzol	0.70	0.80	0.10	0.75
Benzol-Chloroform	9:1	0.76	0.09	0.805
	8:2	0.78	0.09	0.825

$$* \Delta R_F = R_F(\text{AmNH}_2) - R_F(\text{BuNH}_2).$$

$$** R_F' = \frac{R_F(\text{BuNH}_2) + R_F(\text{AmNH}_2)}{2}.$$

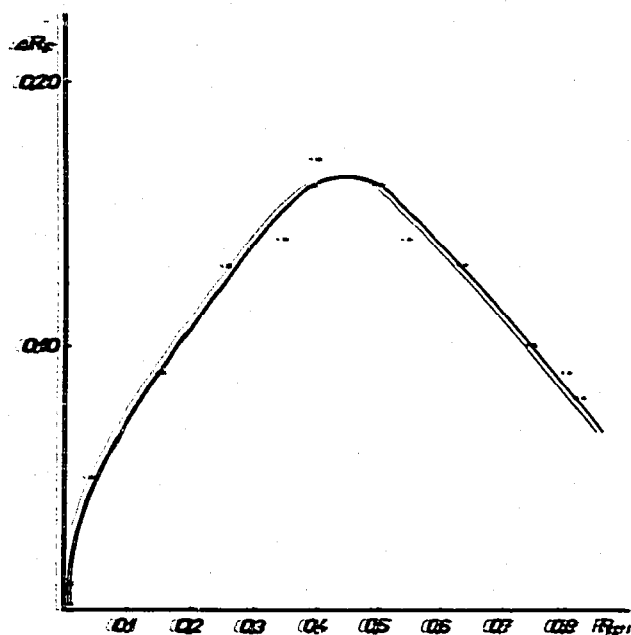


Fig. 1. Graphische Darstellung der Trennfähigkeit entlang der ganzen Laufstrecke.  $\Delta R_F$  und  $R_F$  wurden der Tabelle III entnommen.

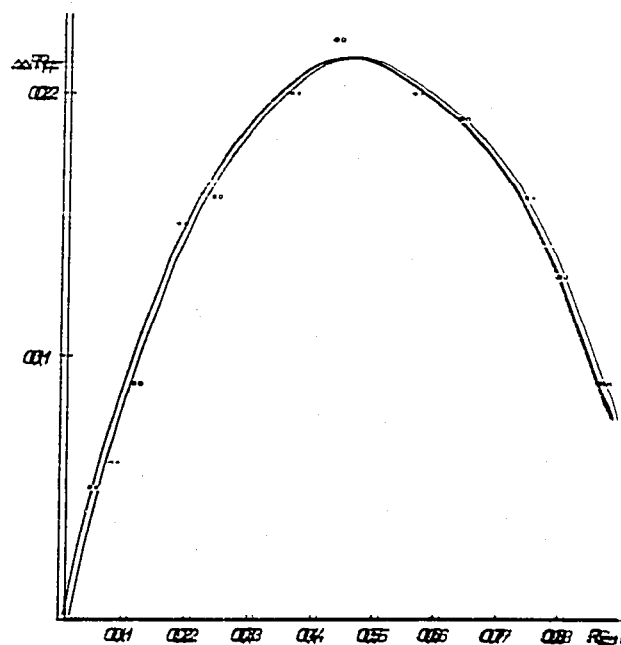


Fig. 2. Graphische Darstellung der Trennfähigkeit entlang der ganzen Laufstrecke. Chromatographiert wurden die höheren Alkyl-3,5-dinitrobenzoesäure.  $\Delta R_F$  und  $R_F$  wurden von

den Angaben aus der Fig. 5 ausgerechnet. (X) System 5% Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser 4:1:1:1; (O) System 10% Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser 4:1:1:1.

### Die Imprägnierung der Papiere

Die Resultate unserer Studien sowie die Erfahrungen anderer Autoren (z.B. 33) und Privatmitteilungen einer Reihe von Kollegen zwangen uns die Verhältnisse bei der Papierchromatographie auf vorbehandelten Papieren zu untersuchen. Es wurde schon mehrere Male in der Literatur darauf hingewiesen, dass die Schwankungen auf den vorbehandelten Papieren grösser sind, als man gewöhnlich für nicht imprägnierte Papiere angibt, d.h.  $\pm 0,02$ . Auch wir machten solche Erfahrungen im Laufe einiger Jahre und fanden, dass dieses Problem etwas komplizierter ist, als es auf ersten Blick zu sein scheint.

Aus den im Folgenden angeführten Ergebnissen ist ersichtlich, dass die absolute Menge der stationären Phase im Papier einen entscheidenden Einfluss auf die Qualität der Chromatogramme und auf die  $R_F$ -Werte hat. Man imprägniert die Papiere mit einer Lösung der stationären Phase in einem flüchtigen Lösungsmittel und kann dann den Imprägnierungsgrad z.B. durch Änderung der Konzentration der Imprägnierungslösung einstellen. Aus Fig. 4 und 5 ist ersichtlich, wie die  $R_F$ -Werte und die Trennung durch den Imprägnierungsgrad beeinflusst werden: Im allen Fällen, die uns bekannt sind, werden die  $R_F$ -Werte mit zunehmendem Imprägnierungsgrad vermindert. Enthält das Papier zu wenig stationäre Phase, so werden Streifen gebildet.

Der Imprägnierungsvorgang kann auf verschiedene Weise durchgeführt werden, was auch seine Folgen auf die Qualität der Chromatogramme hat. Prinzipiell werden zweierlei Methoden angewendet:

**Methode A<sup>34</sup>.** Die Papierstreifen werden in die Imprägnierungslösung eingetaucht oder durch diese durchgezogen und der Überschuss an Imprägnierungslösung durch Abpressen zwischen Filtrierpapieren beseitigt; das Papier wird dann bei Zimmertemperatur an der Luft aufgehängt, damit das flüchtige Lösungsmittel verdampfen kann. Wir imprägnierten auf diese Weise 13 cm breite und 45 cm lange Filtrierpapierstreifen und nach Verdunsten des flüchtigen Lösungsmittels zerschnitten wir das Papier auf 7 cm breite Streifen; durch Wiegen bestimmten wir den Gehalt an stationärer Phase. Die Imprägnierung (siehe Fig. 3a) des Papiers war zwar relativ

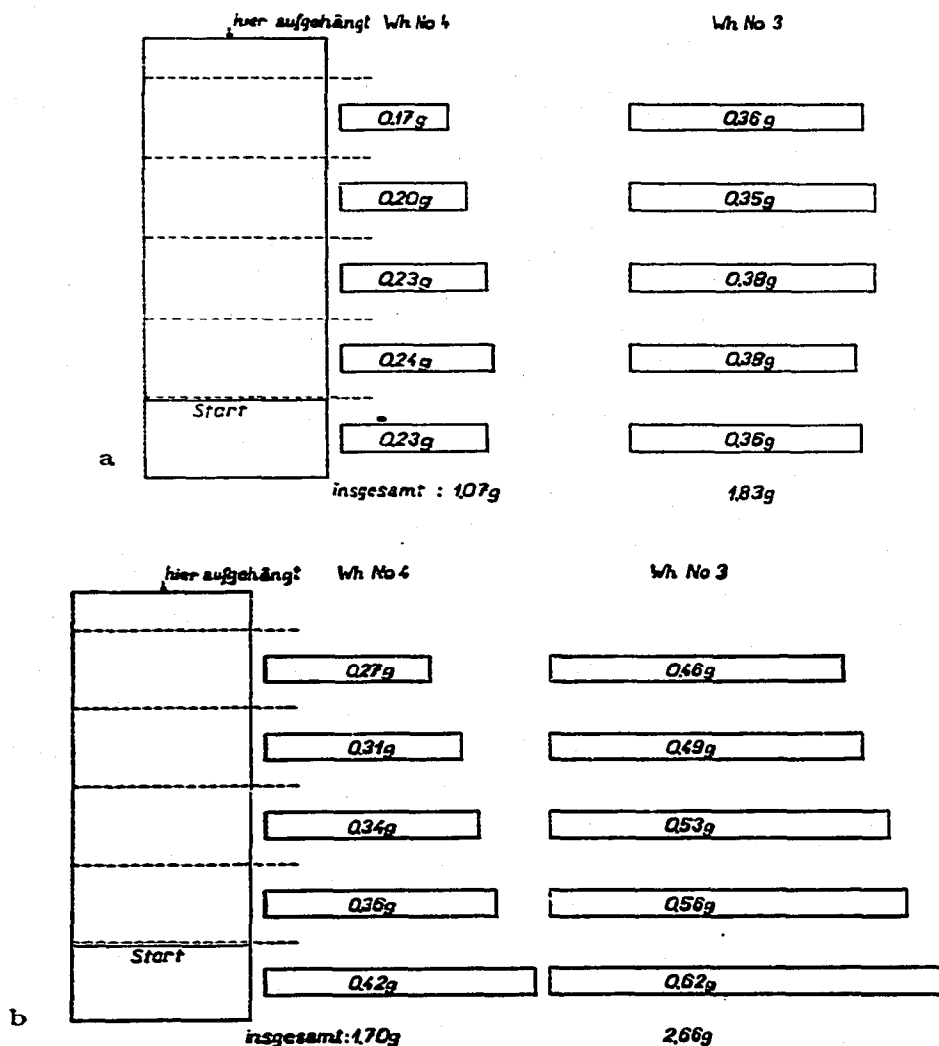


Fig. 3. Die Abhängigkeit der Menge der stationären Phase im Papier von der Art der Imprägnierung. Papier Whatman No. 3 oder 4 (13 × 40 cm) imprägniert mit 20% alkoholischen Formamidlösung. (a) Nach Durchziehen durch die Imprägnierungslösung und Abpressen zwischen Filtrierpapieren aufgehängt, 10 min auf der Luft getrocknet und nach Zerschneiden (7 cm Streifen) gewogen. (b) Wie oben, nur ohne Abpressen.

gleichmässig, sie war jedoch nicht reproduzierbar. Den grössten Einfluss darauf hatte das Abpressen zwischen Filtrierpapieren. Diese Tatsache ist im Einklang mit den Resultaten von KAUFMANN UND MOHR<sup>35</sup>, die dieses Problem eingehend studierten.



*Methode B.* Die Papierstreifen werden in die Imprägnierungslösung eingetaucht oder durch diese durchgezogen und ohne vorher zwischen den Filtrierpapieren abgepresst zu werden, bei Zimmertemperatur an der Luft aufgehängt. Das Ende des Papierstreifens mit dem Start hängt nach unten. Nach dem Aufhängen fließt ein Teil der Imprägnierungslösung zum nach unten hängenden Ende des Papierstreifens, tropft zum Teil ab, zum Teil verdampft das flüchtige Lösungsmittel und die stationäre

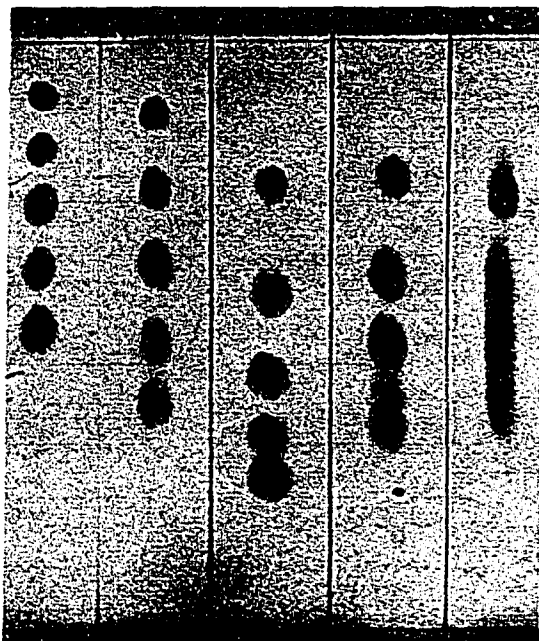


Fig. 4. Chromatogramm der Methyl- bis Amyl-3,5-dinitrobenzoate im System Dimethylformamid/Hexan auf Whatmanpapier No. 3, imprägniert mit acetonischen Dimethylformamidlösungen und getrocknet ohne Abpressen 10 min. Imprägniert mit: (1) 50 %, (2) 40 %, (3) 30 %, (4) 20 %, (5) 10 % Dimethylformamidlösung.

Phase konzentriert sich auf diesem Ende des Streifens. Wenn jetzt, wie bei der Methode A, die Menge der stationären Phase bestimmt wird, erkennt man (siehe Fig. 3b), dass das Papier viel mehr stationäre Phase enthält als bei der Methode A und dass diese am Ende des Streifens bei der Startlinie konzentriert ist.

Unseren Erfahrungen nach ist die Methode B vorteilhafter; die unregelmässige Imprägnierung ruft keine Störungen hervor. Der grösste Vorteil der Methode ist, dass der Imprägnierungsgrad in gewissen Grenzen beliebig gesteigert werden kann, da durch das Abpressen keine stationäre Phase beseitigt wird und so verloren geht. In der Fig. 6 wird an praktischen Beispielen gezeigt, wie die Imprägnierungsweise die Qualität der Chromatogramme beeinflussen kann. Aus der Figur ist ersichtlich, dass die mittels der Methode A mit einer 50%igen Dimethylformamidlösung vorbehandelten Papiere dieselben Resultate aufweisen wie diejenigen, die mittels Methode B mit einer 25%igen Dimethylformamidlösung imprägniert wurden.

Auch durch das Trocknen der imprägnierten Streifen, welches das Abdampfen des flüchtigen Hilfslösungsmittels zum Ziel hat, können in manchen Fällen Komplikationen eintreten. In Fig. 7 ist graphisch dargestellt, wie aus dem Papier das flüch-

tige Lösungsmittel verdampft und dass im Falle des Formamids, Paraffinöls und 1-Bromnaphthalins nach Abdampfen des flüchtigen Lösungsmittels die Menge der stationären Phase konstant bleibt. Im Falle des Dimethylformamids kann man jedoch nicht unterscheiden, wann alles Benzol verdampft ist, da die stationäre Phase selbst vom Papier verflüchtigt, sodass nach einigen Stunden das Papier praktisch kein Dimethylformamid enthält. Aus den Fig. 8a, b ist ersichtlich, wie das Trocknen der mit Dimethylformamid imprägnierten Papiere die  $R_F$ -Werte und die Qualität der Chromatogramme beeinflusst. Bei mit Formamid, Paraffinöl, oder 1-Bromnaphthalin

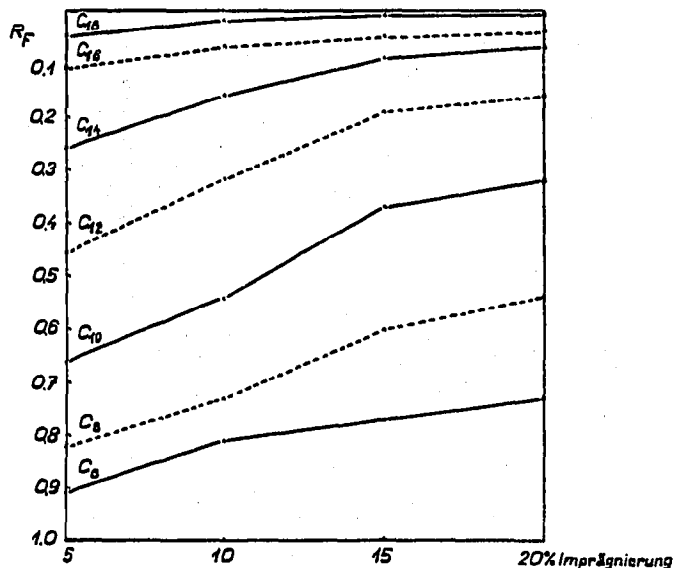


Fig. 5.  $R_F$ -Werte der Hexyl- bis Octadecyl-3,5-dinitrobenzoate im System Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser 16:4:4 bei verschiedenem Imprägnierungsgrad des Papiers mit Paraffinöl.

vorbehandelten Papieren beobachteten wir diesen Einfluss nicht. Man muss jedoch in Betracht ziehen, dass das Trocknen der Chromatogramme nach der Imprägnierung selbst von einer Reihe von Faktoren beeinflusst wird. Das Verdampfen des Hilfslösungsmittels, sowie der Verlust an Dimethylformamid ist von der Raumtemperatur, der Luftströmung im Digestorium, der Papierdicke und -oberfläche usw. abhängig.

Es ist auch fraglich, wie weit das flüchtige Lösungsmittel aus dem Papier verflüchtigen kann. Wir fanden z.B., dass bei Anwendung von Methanol oder Äthanol als Hilfslösungsmittel zum Vorbehandeln der Papiere mit Formamid oder Dimethylformamid ein Teil des Alkohols in der stationären Phase verbleibt. Als wir mit auf solche Weise vorbehandelten Papieren 3,5-Dinitrobenzoylchlorid chromatographierten, fanden wir stets die Flecken des Methyl-, bzw. Äthyl-3,5-dinitrobenzoats, die durch die Reaktion des Chlorids mit dem Rest des Alkohols gebildet wurden. Das hat zur Folge, dass man die Chromatogramme der Reaktionsgemische nach der Darstellung der 3,5-Dinitrobenzoylderivate, die freies Chlorid enthalten könnten, mit bestimmter Vorsicht interpretieren muss, oder noch besser — man macht von solchen Hilfslösungsmitteln Gebrauch, die keine neue Komplikationen einführen können.

Auch die chemischen Eigenschaften der stationären Phasen und der Lösungsmittel sind in Betracht zu ziehen. So ist bekannt<sup>36</sup>, dass z.B. Formamid teilweise zersetzt wird, sodass manche Präparate freies Ammoniak, Ameisensäure oder Ammoniumformiat enthalten.

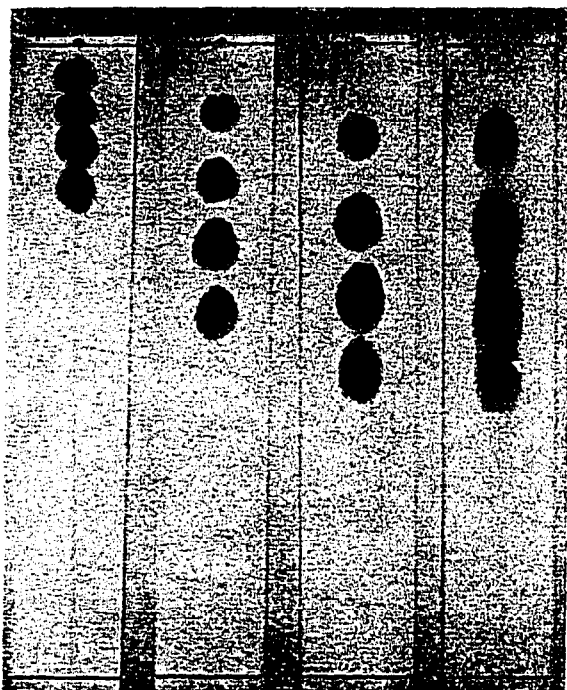


Fig. 6. Chromatogramme der Methyl- bis *n*-Butylester der 3,5-Dinitrobenzoesäure im System Dimethylformamid/Cyclohexan. (1) Imprägniert mit 50 % Dimethylformamidlösung und getrocknet durch blosses Aufhängen, 10 min; (2) dasselbe mit 25 % Dimethylformamidlösung; (3) imprägniert mit 50 % Dimethylformamidlösung, nach Abpressen zwischen Filtrierpapieren getrocknet durch Aufhängen, 10 min; (4) dasselbe mit 25 % Dimethylformamidlösung.

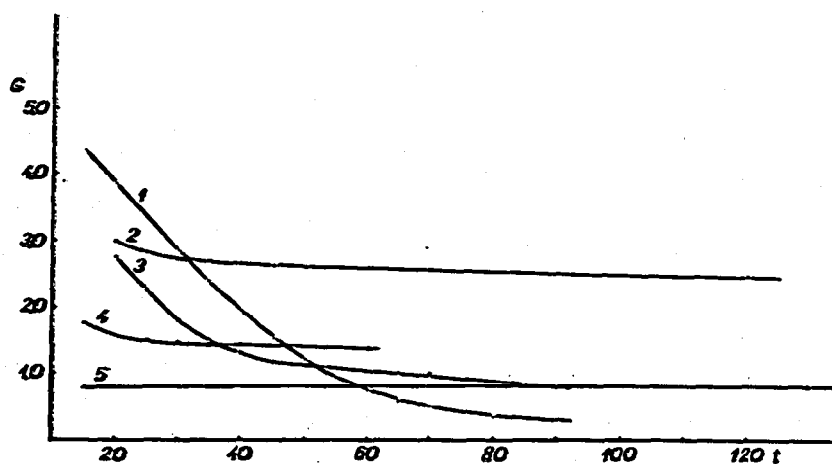


Fig. 7. Verflüchtigung des Hilfslösungsmittels, bzw. der stationären Phase aus dem Papier Whatman No. 4 beim Trocknen nach der Imprägnierung (ohne Abpressen). Temperatur 21.5°, relative Luftfeuchtigkeit 55–60 %.  $G$  = Menge der stationären Phase im Papier (in g);  $t$  = Minuten. (1) Imprägnierung mit 50 % benzolischer Dimethylformamidlösung; (2) Imprägnierung mit 20 % äthanolischer Formamidlösung; (3) Imprägnierung mit 25 % benzolischer Dimethylformamidlösung; (4) Imprägnierung mit 10 % 1-Bromnaphthalinlösung in Chloroform; (5) Imprägnierung mit 5 % Paraffinöllösung in Hexan.

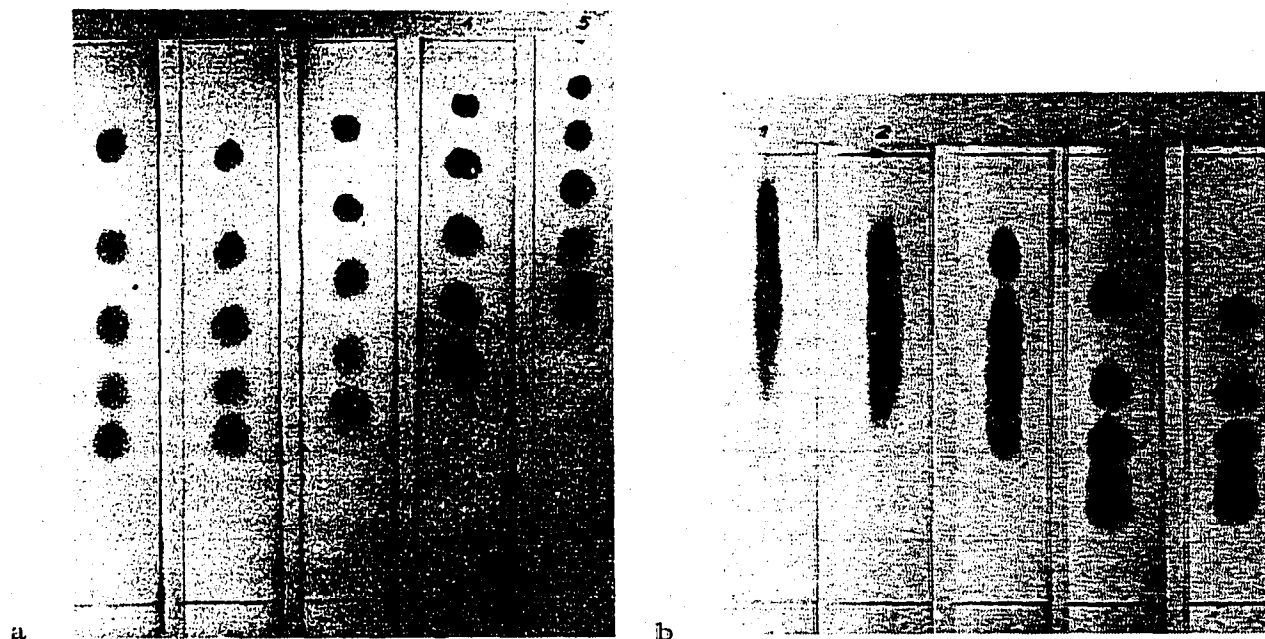


Fig. 8. Chromatogramme der Methyl- bis *n*-Amyl-3,5-dinitrobenzoate im System Dimethylformamid/Hexan. (a) Whatmanpapier No. 3 imprägniert mit 50 % acetomischer Dimethylformamidlösung; (b) dasselbe mit 25 % Dimethylformamidlösung. In beiden Fällen getrocknet ohne Abpressen: (1) 50 min; (2) 40 min; (3) 30 min; (4) 20 min; (5) 10 min.

Ein weiterer Einfluss, den man nicht vernachlässigen darf, ist der Wassergehalt des Papierses, bzw. die Feuchtigkeit der Luft im Laboratorium während des Trocknens der Chromatogramme und der Wassergehalt der Imprägnierungslösungen. Wie schon früher hervorgehoben, spielt die Löslichkeit in der stationären Phase eine entscheidende Rolle für den Verteilungsvorgang. Die Anwesenheit von Wasser würde die Löslichkeit vermindern, was die Vergrößerung der  $R_F$ -Werte zur Folge hätte. Diese Ansicht konnten wir durch praktische Versuche bestätigen. Weiter verfolgten wir den Einfluss verschiedener Papiersorten auf die Qualität der Chromatogramme. Unsere Versuche führten wir mit folgenden Papieren durch: Whatman No. 1, 2, 3, 4, Schleicher & Schüll 602, 2043b, 2045a, WF 1 (Papierfabrik Niederschlag) und Binzer Nr. 208. Zugleich wurde die Menge der stationären Phase bestimmt. Unsere Ergebnisse sind in der Tabelle IV angeführt. Wir konnten keine grösseren Unterschiede beobachten, die Qualität der Chromatogramme war in allen Fällen dieselbe.

Durch alle diese beschriebenen Versuche wollten wir erklären, warum im Falle der Chromatographie auf imprägnierten Papieren mit grösseren Streuungen der  $R_F$ -Werte gerechnet werden muss als auf den nicht vorbehandelten. Es gibt demnach eine Reihe von Faktoren, die die Resultate beeinflussen können. Unserer Meinung nach genügt es jedoch nur zu wissen, welche von diesen Faktoren störend wirken können und welche Bedingungen eingehalten werden müssen, um die besten Resultate erzielen zu können. Für die Praxis ist es ja gleichgültig ob die  $R_F$ -Werte etwas schwanken, solange die Auftrennung reproduzierbar ist.

Wir versuchten die Verlässlichkeit dieser chromatographischen Methoden auf die Weise zu überprüfen, dass wir in einem Zeitabstand von einem Monat 50 Chro-

TABELLE IV  
 $R_F$ -WERTE DER  $C_1$ - $C_{14}$  ALKYL-3,5-DINITROBENZOATE IM  
 SYSTEM 50 % DIMETHYLFORMAMID/HEXAN AUF VERSCHIEDENEN PAPIERSORTEN

	Whatman No. 1	Whatman No. 2	Whatman No. 3	Whatman No. 4	S & S 602	S & S 2043b	S & S 2045a	Binscr 208
Menge des Dimethylformamids in g	2.8	2.0	4.0	3.0	2.0	2.8	1.6	2.0
3,5-Dinitrobenzoate								
Methyl-	0.08	0.09	0.07	0.08	0.08	0.10	0.17	0.10
Äthyl-	0.18	0.18	0.15	0.15	0.21	0.20	0.32	0.19
<i>n</i> -Propyl-	0.28	0.29	0.23	0.24	0.34	0.33	0.45	0.29
<i>n</i> -Butyl	0.39	0.39	0.33	0.33	0.46	0.46	0.55	0.38
<i>n</i> -Amyl-	0.51	0.49	0.43	0.43	0.56	0.58	0.62	0.46
<i>n</i> -Hexyl-	0.62	0.59	0.51	0.53	0.65	0.70	0.70	0.59
<i>n</i> -Octyl-	0.75	0.71	0.69	0.70	0.75	0.82	0.75	0.71
<i>n</i> -Decyl-	0.83	0.78	0.80	0.82	0.81	0.87	0.78	0.77

matogramme der 3,5-Dinitrobenzoesäuremethyl-, -äthyl-, -*n*-propyl- und -*n*-butylester im System 25 % Dimethylformamid-Hexan darstellten und bei diesen Versuchen die nötigen Parameter soweit wie möglich konstant hielten. Der Imprägnierungsvorgang (Methode B) wurde stets auf die gleiche Weise durchgeführt und die Trocknungszeiten eingehalten; ferner wurde darauf geachtet, dass die Temperatur im Laboratorium sowie in der chromatographischen Kammer den Bereich von 20–23° nicht überschritt. In den Fig. 9a–d sind stets 50 Messungen für einzelne Derivate

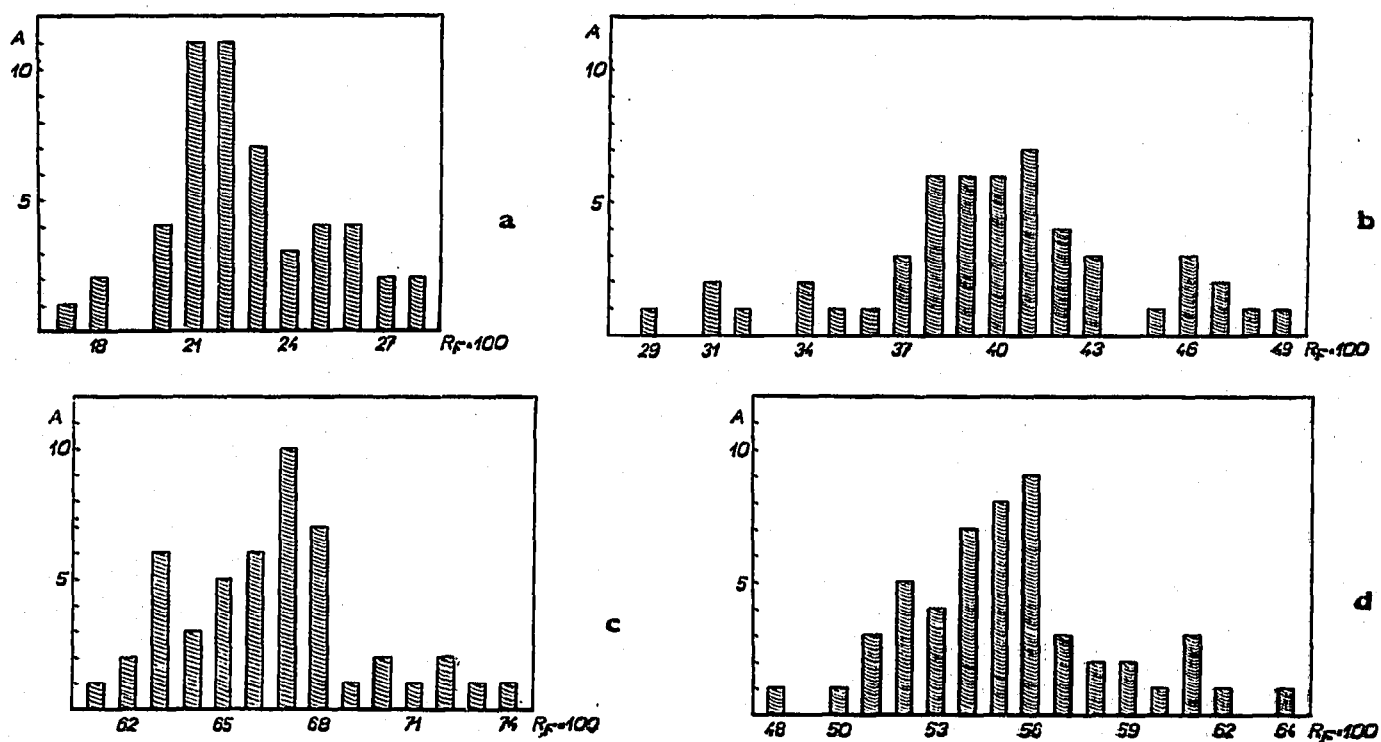


Fig. 9. Streuung der  $R_F$ -Werte im System 25 % Dimethylformamid/Hexan (50 Messungen). (a) Methyl-, (b) Äthyl-, (c) *n*-Propyl- und (d) *n*-Butylester der 3,5-Dinitrobenzoesäure.  $A$  = Anzahl der Messungen.

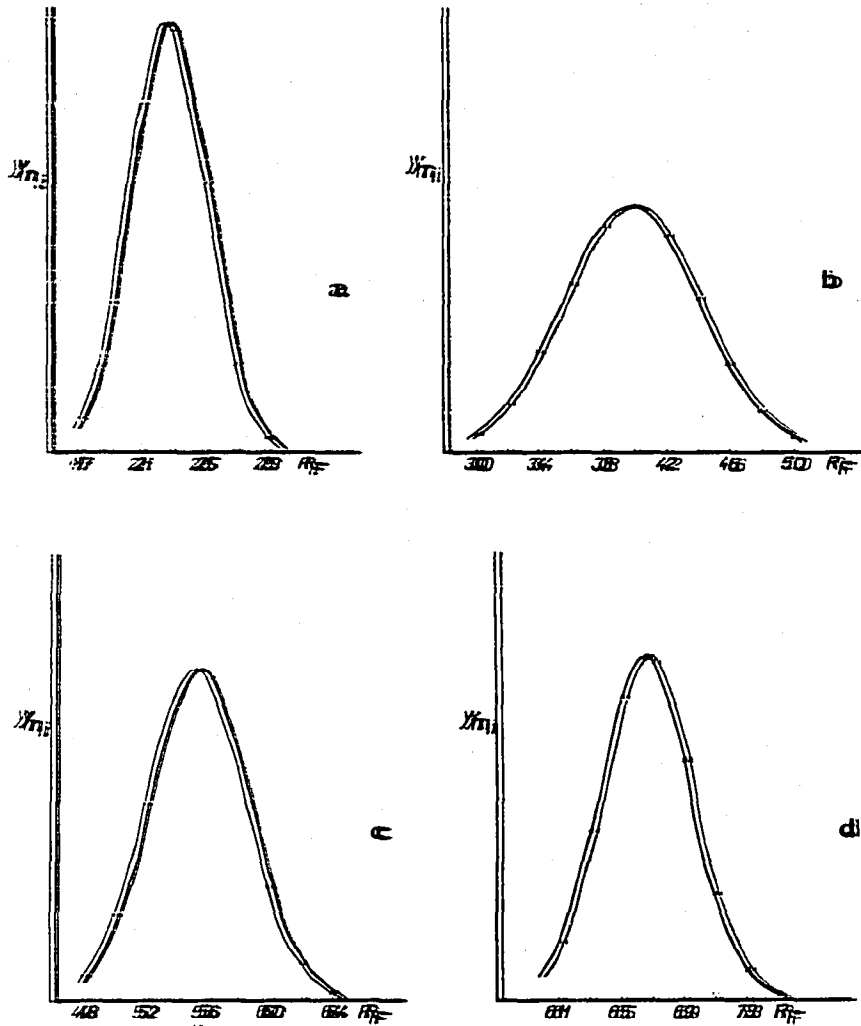


Fig. 10. Graphische Darstellung der Streuung der  $R_F$ -Werte. Verarbeitung der Resultate v. Fig. 9 (a)–(d) mittels statistischer Mathematik.  $y_{rij}$  = Anzahl der beobachteten  $R_F$ -Werte in d. einzelnen Klassen. (a) Methyl-, (b) Äthyl-, (c) *n*-Propyl- und (d) *n*-Butylester der 3,5-Dinitrobenzoesäure.

TAABELLE V

VERARBEITUNG DER RESULTATE MITTELS STATISTISCHER MATHEMATIK

Alkyl-3,5- dinitrobenzoat	Schwankungsbereich $R_F$ -Werte	$\Delta R_F$	$\bar{x}$	$s$	$y_{max}$
Methyl-	0.17–0.28	0.11	0.226	0.025	16.444
Äthyl-	0.29–0.49	0.20	0.398	0.043	9.377
<i>n</i> -Propyl-	0.48–0.64	0.16	0.553	0.032	12.611
<i>n</i> -Butyl-	0.61–0.74	0.13	0.665	0.029	13.061

$\Delta R_F$  = Schwankungsbreite.

$\bar{x}$  =  $R_F$ -Mittelwert.

$s$  = Standardabweichung.

$y_{max}$  = Scheitelhöhe der untransformierten Gaußschen Verteilung.

graphisch erfasst. Diese Messungen verarbeiteten wir mit Hilfe der statistischen Mathematik<sup>37</sup>; die Resultate sind in der Tabelle V und den Fig. 10a–d zusammengestellt. Es hat sich gezeigt, dass die einzelnen  $R_F$ -Werte um einen Mittelwert regelmässig gemäss dem Gauschen Gesetz streuen, dass die Schwankungen am grössten in der Hälfte der Laufstrecke ( $R_F$ -Wert *ca.* 0.5) sind und zum Start, sowie zur Lösungsmittelfront sich vermindern.

### *Darstellung der Derivate*

Mit Ausnahme der 3,5-Dinitrobenzoate der Polyäthylenglykolegemische standen uns alle in der Tabelle II angeführten Derivate als authentische Präparate zur Verfügung. Ihre Identität und Reinheit prüften wir durch Schmelzpunktbestimmung und Elementaranalyse.

Die Darstellung von Standardderivaten der Alkohole und Phenole führten wir nach bekannten Methoden durch<sup>38,39</sup>. Die Di- bzw. Triester der mehrwertigen Alkohole stellten wir zum Teil nach BOEHM UND THIEME<sup>40</sup>, zum Teil nach der gewöhnlichen Pyridinmethode dar. Über die Darstellung der Monoester der Polyalkohole berichteten wir in einer früheren Mitteilung<sup>5</sup>. Die Mercaptane und Thiophenole überführten wir in die betreffenden Derivate nach WERTHEIM<sup>41</sup> und die Amine nach VEČERA *et al.*<sup>24</sup>. Für die höheren aliphatischen Amine wählten wir die für *p*-Nitrobenzamide empfohlene Darstellungsweise<sup>42</sup>. Wir machten zunächst von der Pyridinmethode Gebrauch bei Serienarbeiten, als wir verschiedene unbekannte Bestandteile der technischen Produkte identifizierten (Vorschrift siehe unten). Es hat sich jedoch gezeigt, dass diese Methode z.B. im Falle des Benzylalkohols unbrauchbar ist; Benzylalkohol gibt unter diesen Bedingungen keinen Ester, dieser kann nur bei gewöhnlicher Temperatur dargestellt werden. Im Laufe weiterer Arbeiten hat sich dann noch gezeigt, dass die geprüften Alkohole, Glykole usw. nicht immer in feste Derivate überführt werden müssen, sondern es genügt kleine Mengen der benzolischen Lösungen der rohen Reaktionsprodukte darzustellen, die direkt und ohne die letzten Spuren der überschüssigen 3,5-Dinitrobenzoesäure zu beseitigen auf die Chromatogramme aufgetragen werden können. Die oben erwähnte Verunreinigung stört nämlich auf den Chromatogrammen überhaupt nicht, da die Derivate von ihr gut abgetrennt werden. Weiter hat es sich gezeigt, dass die betreffenden Derivate durch Reaktion des 3,5-Dinitrobenzoylchlorids mit einem Tropfen der zu prüfenden Substanz in einem Mikroreagensglas durch Erwärmen auf 105–110° gebildet werden können. Das Reaktionsgemisch kann dann nach Auflösen in Benzol direkt auf das Chromatogramm aufgetragen werden. Mit Hilfe dieser Methode ist es uns gelungen von allen bisher geprüften Verbindungen (auch mit Benzylalkohol) die Derivate zur chromatographischen Bestimmung darzustellen. Die Methode ist auch für flüchtige Alkohole geeignet, da diese so schnell mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid reagieren, dass sie nicht Zeit haben zu entweichen.

Es war auch notwendig eine solche Methode zur Verfügung zu haben, die eine Isolierung der Derivate aus verdünnten wässrigen Lösungen ermöglicht. Wir benützten zu diesem Zwecke die Methode nach HOLLEY UND HOLLEY<sup>43</sup>.

Mit Ausnahme des Benzylalkohols verliefen die Reaktionen in allen Fällen eindeutig, nur bei den mehrwertigen Alkoholen und Polyäthylenglykolen wurde immer ein Gemisch von Mono- und Diester gebildet, auch wenn ein Überschuss des Chlorids angewendet wurde. Es ist jedoch von grosser Wichtigkeit, dass sich die Mono- und Diester auf dem Chromatogrammen ganz verschieden verhalten. Die Monoester werden von der polaren stationären Phase viel stärker festgehalten, sodass im dem Systemen, in denen die Diester getrennt werden, die Monoester am Start bleiben. Im Systemen, in denen die Monoester geeignet wandern, wandern die Diester mit der Lösungsmittelfront. Es ist auch wichtig zu wissen, dass manche von diesen Verbindungen besser in Form von Monoestern, andere wieder besser in Form der Diester chromatographiert werden. Bei der Darstellung der Derivate kann durch Änderung der Menge des angewandten 3,5-Dinitrobenzoylchlorids die Reaktion zu Gunsten der Bildung der Mono- oder der Diester geführt werden. Wir arbeiten deshalb im Falle der vereinfachten Methode mit unbekanntem Proben in der Weise, dass wir zuerst einen Orientierungsversuch mit Reagensüberschuss durchführen und dann dem Resultat des Versuches entsprechend die Reaktion mit geeigneten Mengen des Reagens wiederholen. Bei dieser Darstellungsweise beobachteten wir im Falle der Polyäthylenglykolderivate noch eine Nebenreaktion, die hauptsächlich bei höheren Temperaturen verlief: es wurden als Nebenprodukte die Derivate der betreffenden Chlorhydrine gebildet. Bei den von uns angewandten Reaktionsbedingungen wurden diese Nebenprodukte nur im Spuren gebildet, sodass sie vernachlässigt werden konnten.

*Pyridinmethode.* 0.1 g Alkohol wurde in 1 ml Benzol gelöst, eine Lösung von 0.5 g 3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid in 3 ml Benzol und 1 ml Pyridin zugefügt und 30 min lang auf kochendem Wasserbade erhitzt. Nach dem Erkalten wurde zweimal mit je 5 ml 50%iger Kalilauge umgeschüttelt, wobei nach jedem Umschütteln ungefähr 50 ml Wasser zur scharfen Abscheidung der Schichten zugegeben wurden. Danach wurde die Benzollösung zweimal mit 5 ml Wasser, zweimal mit 5 ml HCl (1:1) und dann mit Wasser, bzw. einer gesättigten Natriumsulfatlösung bis zur neutralen Reaktion ausgeschüttelt. Die Benzolschicht wurde durch Zugabe von wasserfreiem Natriumsulfat abgeklärt und direkt auf das Papier aufgetragen.

*Vereinfachte Methode:* 0.05 ml der untersuchten Substanz wurden in einem Mikroreagensglas mit einem Körnchen 3,5-Dinitrobenzoylchlorid versetzt und 10–15 min auf 100–110° erhitzt. Nach dem Erkalten wurden 5 Tropfen einer 5%igen Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung und 1 ml Benzol zugefügt, das Gemisch mit einem Glasstab tüchtig durchgerührt und die so erhaltene benzolische Schicht auf das Papier aufgetragen.

*Methode für wässrige Lösungen:* zu ungefähr 10 ml der verdünnten wässrigen Lösung, die ca. 1.5 mmol des gelösten Alkohols oder des Aminhydrochlorids enthielt, wurde eine Lösung von 0.5 g 3,5-Dinitrobenzoylchlorid in 30 ml Benzol zugefügt. Unter Schütteln und Kühlung wurden hierauf ca. 10 g Kaliumkarbonat zugegeben. Das Gemisch wurde 20 min lang bei normaler Temperatur (bei sekundären Alkoholen und Aminen über Nacht) stehen gelassen und die abgetrennte benzolische Schicht, wie im Falle der Pyridinmethode, mit Kalilauge, Salzsäure, und Wasser gewaschen. Nach dem Trocknen mit wasserfreiem Natriumsulfat wurde das Lösungsmittel abdes-



tilliert, der Rückstand in der nötigen Menge Benzol gelöst und auf das Papier aufgetragen.

### *Bereitung der Chromatogramme*

In diesem Abschnitt wird die Bereitung der Chromatogramme beschrieben, wie wir sie bei täglicher Arbeit durchführen und wie wir sie auch empfehlen durchzuführen.

Der Streifen des chromatographischen Papiers (wir benützten Streifen von  $13 \times 45$  cm) wurde durch die Imprägnierungslösung (25- oder 50%ige benzolische Dimethylformamidlösung, 20%ige alkoholische Formamidlösung, 5%ige Paraffinöllösung in Hexan oder eine 10%ige 1-Bromnaphthalinlösung in Methanol, Chloroform oder Benzol) durchgezogen und so an der Luft im Abzug aufgehängt, dass das Ende des Papierstreifens mit der Startlinie nach unten hing. Die Trocknungszeit betrug 10–30 min; nur bei den mit Dimethylformamid vorbehandelten Papieren war es nötig die Trocknungszeit der Raumtemperatur anzupassen, d.h. im Sommer auf 10 min oder noch weniger zu verkürzen. Die zu chromatographierenden Verbindungen wurden auf die vorbehandelten Papiere in Aceton, Chloroform oder Benzol zu 0.5–1%igen Lösungen gelöst aufgetragen. Alle Chromatogramme wurden unter Benützung normaler chromatographischer Ausrüstung absteigend entwickelt; die Temperatur schwankte dabei im Bereich von 18–23°. Nur im Falle der mit 1-Bromnaphthalin imprägnierten Papiere musste auf genügende Sättigung der beweglichen Phase mit 1-Bromnaphthalin Bedacht genommen werden, um das Herauswaschen der stationären Phase während des Chromatographierens zu vermeiden. Bei den übrigen Lösungsmittelsystemen war dies nicht notwendig. Im Augenblick, in dem das Lösungsmittel die gewünschte Laufstrecke (30–35 cm) zurückgelegt hatte wurden die Chromatogramme aus der Kammer herausgenommen und im Abzug bei Raumtemperatur getrocknet.

Die Sichtbarmachung der Chromatogramme geschah durch Besprühen mit einer Zinn(II)-chloridlösung (0.7 g  $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 15 ml konz. HCl und 100 ml Wasser) und nach 30–60 min mit einer 1%igen *p*-Dimethylaminobenzaldehydlösung in alkoholischer Chlorwasserstoffsäure (95 Teile Äthanol und 5 Teile konz. HCl). Die 3,5-Dinitrobenzoylderivate erscheinen als gelbe Flecken auf weissem Hintergrund.

### ERGEBNISSE UND DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit werden Methoden zur papierchromatographischen Identifizierung von Alkoholen, Polyalkoholen, Polyäthylenglykolen und ihren Äthern, Phenolen, Aminen und Thiolen nach Überführung in die entsprechenden 3,5-Dinitrobenzoylderivate beschrieben.

Vor allem soll auf dieser Stelle das Prinzip der Methode diskutiert werden. Es hat sich gezeigt, dass das Überführen der erwähnten Verbindungen in die 3,5-Dinitrobenzoylderivate den Vorteil besitzt, dass die ursprünglich flüchtigen oder nicht entdeckbaren Verbindungen in zur Chromatographie geeignete Derivate überführt werden. Bis auf kleine Ausnahmen verläuft die Reaktion eindeutig und es werden

leicht erkennbare (1  $\mu$ g), stabile Derivate gebildet. Die Darstellungsweise konnte sehr vereinfacht werden, da es nunmehr möglich ist die rohen Reaktionsprodukte zu chromatographieren, ohne die Derivate vorher isolieren zu müssen. Das hat zur Folge, dass auch die kleinsten Mengen von Verunreinigungen erfasst werden können und durch den Reinigungsvorgang nicht beseitigt werden. Auch die Bildung ölicher Derivate im Falle von Gemischen, z.B. der Polyäthylenglykole bietet keine Schwierigkeiten. Für die Lösung der in Frage stehenden Probleme ist von Wichtigkeit, dass auf diese Weise das Reagens mit allen oben erwähnten Stoffklassen reagiert, da alle als Bestandteile der von uns analysierten Produkten in Frage kommen.

Es ist begreiflich, dass unter den *ca.* 150 chromatographierten Derivaten einerseits grosse Unterschiede im Verhalten während des Chromatographierens beobachtet werden konnten, andererseits aber wieder eine Reihe von Verbindungen ein sehr ähnliches Verhalten aufwies. Wir überprüften das Verhalten aller Derivate in 20 Lösungsmittelsystemen und fanden für jedes Derivat die geeigneten Bedingungen zu seiner Auftrennung und Identifizierung.

Grundsätzlich machten wir von Lösungsmittelsystemen mit Dimethylformamid, Formamid, Paraffinöl und 1-Bromnaphthalin als stationären Phasen Gebrauch. Der grosse Vorteil dieser Systeme, bei denen mit Dimethylformamid und Formamid imprägnierte Papiere benützt werden, ist ihre Schnelligkeit: das Fliessmittel durchläuft eine 40 cm lange Laufstrecke in 2 Stunden. In den übrigen Systemen legt die mobile Phase dieselbe Laufstrecke erst in 8 oder mehreren Stunden zurück.

Für die mit Dimethylformamid imprägnierten Papiere kann Hexan oder Cyclohexan mit gleichem Erfolg als mobile Phase angewendet werden und die  $R_F$ -Werte können in einem bestimmten Bereich durch den Imprägnierungsgrad des Papieres geändert werden.

Für die mit Formamid imprägnierten Papiere kann Hexan oder Cyclohexan, Benzol, Chloroform, Äthylacetat oder ihre Gemische als Fliessmittel Anwendung finden. Mit steigender Polarität der mobilen Phase vergrössern sich auch die  $R_F$ -Werte und es ist möglich durch Änderung der Zusammensetzung des Fliessmittels die Flecken auf den Chromatogrammen beliebig zu verschieben.

Im Falle der mit Paraffinöl imprägnierten Papiere überprüften wir in einer vorangehenden Mitteilung<sup>1</sup> die Eignung von 23 mobilen Phasen, die Formamid oder Dimethylformamid, Methanol und Wasser allein oder in Gemischen verschiedener Zusammensetzung enthielten. Durch Erhöhung des Prozentgehaltes im Gemisch an organischem Lösungsmittel tritt eine Erhöhung der  $R_F$ -Werte auf. Am wirksamsten in dieser Hinsicht erwies sich das Dimethylformamid, am wenigsten wirksam war Formamid. Die Wasserzugabe setzte die  $R_F$ -Werte selbstverständlich herab; sie konnten aber wieder durch Methanolzugabe erhöht werden. Bei höheren Methanolkonzentrationen tritt jedoch die Tendenz zur Streifenbildung in den Vordergrund. Das Formamid hat weiter als Bestandteil der mobilen Phase den Nachteil, dass es vom Papier nur schwierig beseitigt werden kann. Nach allen diesen Erfahrungen können wir als die geeignetsten mobilen Lösungsmittelgemische das System Dimethylformamid-Methanol-Wasser in Verhältnissen 8:1:1, 4:1:1 und 2:1:1 empfehlen,

die alle Forderungen erfüllen. Mit wachsendem Prozentgehalt am Dimethylformamid in diesem Lösungsmittelsystemen wachsen auch die  $R_F$ -Werte an.

Für die mit  $\alpha$ -Bromnaphthalin vorbehandeltem Papiere wird 70 bis 90%ige Essigsäure als Fließmittel benützt. Mit wachsendem Wassergehalt werden die  $R_F$ -Werte vermindert.

Im Folgenden wird angeführt, welche Systeme für bestimmte Stoffklassen empfohlen werden können.

*Alliphatische Alkohole.* Für die niederen Glieder dieser Reihe, d.h. für Alkohole  $C_1-C_5$ , sind die Systeme mit Dimethylformamid oder Formamid als stationäre Phase und Hexan oder Cyclohexan als Fließmittel geeignet. Macht man vom Formamid als stationäre Phase und mehr polarem Lösungsmittel als mobile Phase Gebrauch, so wandern die Alkoholkennwerte mit der Lösungsmittelfront mit. Die Qualität der Trennung der niederen Alkohole kann aus den Fig. 4, 6 und 8 beurteilt werden. Alkohole mit höheren Alkylgruppen bilden im System 50% Dimethylformamid/Hexan zwar gut ausgebildete Flecken, diese werden jedoch in der Nähe der Lösungsmittelfront unscharf getrennt (Tabelle III). Vorteilhafter ist hier die Systeme mit Paraffinöl als stationärer Phase und Dimethylformamid-Methanol-Wasser im Verhältnisse

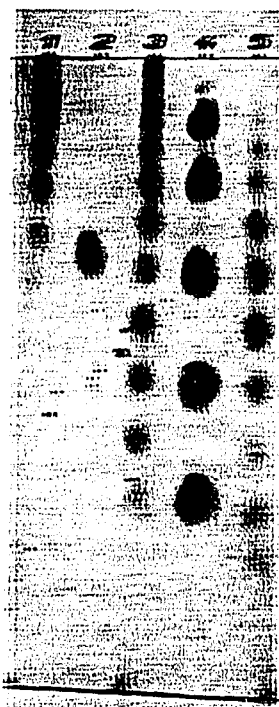


Fig. III. Chromatogram der 3,5-Dinitrobenzonsäure der höheren alliphatischen Alkohole. System: Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser 16:11,5:11,5. (1) Höhere Fraktion vom 3; (2) Mynistylalkohol; (3) synthetisches Fettalkoholgemisch; (4) Gemisch vom Decyl-, Dodecyl-, Tetradecyl-, Hexadecyl- und Octadecylalkohol; (5) niedere Fraktion vom 3.

8:1:1, 4:1:1 oder 2:1:1 als Fließmittel anzuwenden. In diesen Systemen wandern wieder die niederen alliphatischen Alkohole in der Nähe der Lösungsmittelfront. Im der Fig. III wird die Auftrennung der höheren Alkohole natürlicher Herkunft mit

gerader Anzahl von Kohlenwasserstoffatome sowie eines Gemisches synthetischer Alkohole gezeigt.

*Glykole.* Bei der Reaktion des 3,5-Dinitrobenzoylchlorids mit mehrwertigen Alkoholen werden neben den Monoestern auch die Diester, bzw. die Triester der 3,5-Dinitrobenzoesäure gebildet. Man kann zwar durch Änderung der Menge des zur Reaktion angewandten Chlorids die Reaktion zu Gunsten des einen oder des anderen Ester führen, es entstehen jedoch in jedem Falle auf den Chromatogrammen zwei Flecken, da die Monoester auch bei Anwendung eines Überschusses an 3,5-Dinitrobenzoesäurechlorid gebildet werden. Beide Typen von Estern verhalten sich grundlegend verschieden. Es hat sich gezeigt, dass zur Identifizierung der Glykole vorteilhafter die Monoester herangezogen werden können. Sie bilden in Systemen mit Formamid als stationäre Phase und Gemischen von Hexan und Benzol oder Benzol allein als Fliessmittel gut ausgebildete Flecken und werden gut getrennt. Die Diester stören überhaupt nicht, da sie unter denselben Bedingungen mit der Lösungsmittelfront mitlaufen. Für den Glycerinmonoester ist Chloroform eventuell im Gemisch mit Äthylacetat die geeignete mobile Phase. Die Diester können zur Identifizierung der Glykole nicht angewendet werden, da sie verwaschene Flecken bilden, die nicht genügend aufgetrennt werden (System Formamid/Hexan).

*Monoäther der Glykole und Polyäthylenglykole.* Durch die Einführung der Oxyäthylgruppen in die Moleküle der aliphatischen Alkohole werden ihre  $R_F$ -Werte auf mit polaren Phasen imprägnierten Papieren sukzessiv herabgesetzt. Man wird also zur Chromatographie dieser Verbindungen solche Systeme wählen, in denen die Alkohole die als Ausgangsprodukte dienten, geeignet grosse  $R_F$ -Werte haben, bzw. in der Nähe der Lösungsmittelfront wandern. Für die Methyl- bis Butyl-äther der Glykole, bzw. Polyäthylenglykole sind die Systeme Dimethylformamid/Hexan oder Formamid/Hexan, bzw. Hexan-Benzol 9:1, 8:2 oder 7:3 geeignet. Die Dodecyläther werden demgemäss auf umgekehrten Phasen chromatographiert (Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser).

*Polyäthylenglykole.* Analog wie bei den mehrwertigen Alkoholen werden im Falle der Reaktion der Polyäthylenglykole mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid sowohl die Mono- als auch die Diester gebildet. Die beiden Reihen von Estern verhalten sich auf den Chromatogrammen wieder ganz verschieden. Bei den Monoestern steigen die  $R_F$ -Werte zuerst vom Mono- zum Triäthylenglykol, um durch Einführung weiterer Oxyäthylgruppen vermindert zu werden. Die Flecken und Trennung der ersten drei Glieder sind zur Identifizierung geeignet; die höheren Glieder der Reihe weisen kleine Unterschiede im  $R_F$ -Wert auf, sodass sich im Gemisch auf den Chromatogrammen nur ein langer Streifen mit einzelnen Maxima bildet. Die Diester der ersten drei Glieder werden voneinander nicht getrennt, die ersten zwei bilden sogar Streifen. Die höheren Glieder bilden dagegen charakteristische und voneinander gut aufgetrennte Flecken.

Zur Auftrennung des Äthylen-, Diäthylen- und Triäthylenglykole eignen sich also die Monoester und das Lösungsmittelsystem Formamid/Benzol, bzw. Benzol-Chloroform 1:1 und zur Identifizierung der höheren Polyäthylenglykole die Diester und das Lösungsmittelsystem Formamid/Hexan-Benzol 4:6.

**Chlorhydrine.** Für die Trennung des Äthylenchlorhydrins, Propylenchlorhydrins und Dichlorhydrins war das System 25% Dimethylformamid/Hexan oder Cyclohexan das beste. Bei Anwendung des Formamids als stationäre Phase bildet das Dichlorhydrin einen streifenförmigen Flecken.

**Cycloaliphatische Alkohole.** Im System 50% Dimethylformamid/Hexan oder Cyclohexan werden die cycloaliphatischen Alkohole der Anzahl der Kohlenstoffatome nach getrennt, d.h. die Methylcyclopentanol und das Cyclohexanol weisen zwar bestimmte kleine Unterschiede im  $R_F$ -Wert auf; diese sind jedoch zu klein, um eine Trennung zu ermöglichen. Das Cyclohexanol verhält sich dabei wie Amylalkohol.

**Heterocyclische Alkohole.** An dieser Stelle soll nur das interessante Verhalten des Furfurylalkohols und Tetrahydrofurfurylalkohols erwähnt werden. Im System mit Dimethylformamid als stationärer Phase hat der Tetrahydrofurfurylalkohol grössere  $R_F$ -Werte; auf mit Formamid vorbehandelten Papieren ist die Reihenfolge umgekehrt.

**Aromatische Alkohole.** Derivate dieser Stoffklasse werden am vorteilhaftesten in Systemen mit Dimethylformamid oder Formamid/Hexan oder Cyclohexan chromatographiert. Für die Praxis ist von gewisser Bedeutung, dass z.B. Benzylalkohol in Systemen mit Dimethylformamid ähnlich wie Methanol wandert; wendet man aber Formamid als stationäre Phase an, dann verhält er sich wie *n*-Propanol.

**Phenole.** Die Derivate des Phenols und seiner Alkylhomologen bilden in Systemen mit Dimethylformamid als stationärer Phase runde Flecken in der Nähe des Starts; in Systemen mit Formamid bilden sie Streifen. Für diese Klasse von Verbindungen ist es selbstverständlich vorteilhafter sie ohne Überführung in Derivate zu chromatographieren.

**Mercaptane.** Für die Derivate der Mercaptane sind dieselben Lösungsmittelsysteme geeignet, die zur Auftrennung der Alkoholderivate gute Dienste leisten. Die Mercaptane verhalten sich nämlich wie um einen Kohlenstoffatom reichere Alkohole, also Äthylmercaptan wie *n*-Propanol, Dodecylmercaptan wie  $C_{13}$ -Alkohol u.ä.

**Thiophenole.** Diese Verbindungen sind im System 50% Dimethylformamid/Hexan als runde Flecken in der Nähe des Starts, im System 25% Dimethylformamid/Cyclohexan wandern sie etwas schneller als im Hexan und auf mit Formamid imprägnierten Papieren bilden sie streifenförmige Flecken.

**Aliphatische Amine.** Ein sehr unterschiedliches Verhalten weisen die Derivate der primären und sekundären Amine auf den Chromatogrammen auf. Dabei sei noch bemerkt, dass die tertiären Amine mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid nicht reagieren. In Systemen mit Dimethylformamid oder Formamid als stationären Phasen werden die Derivate der primären Amine von der stationären Phase wahrscheinlich wegen der Bildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen viel mehr festgehalten als die Derivate entsprechender sekundärer Amine. Die sekundären und primären Amine werden also in Form ihrer 3,5-Dinitrobenzoylderivate bemerkenswert wirksamer getrennt als in Form ihrer Salze. Im System 25% Dimethylformamid/Hexan oder Cyclohexan ist das Methyl- bis Amylamin am Start, die höheren Amine von Hexyl-

bis Tetradecylamin werden gut aufgetrennt (Fig. 12). Von den Derivaten der sekundären Amine wandern in diesem Lösungsmittelsystem nur die des Di-*n*-propyl- und Di-*n*-butylamins; die Amine mit kleineren Alkylen bleiben am Start. Im System Formamid/Hexan werden vorzüglich die sekundären Amine (Dimethyl- bis Di-*n*-butylamin) aufgetrennt; die niederen primären Alkylamine bis Hexylamin bleiben

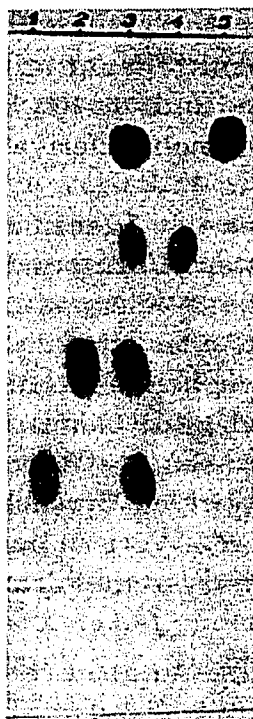


Fig. 12. Chromatogramm der höheren Alkyl-3,5-dinitrobenzamide im System 50% Dimethylformamid/Hexan. (1) Myristylamin; (2) Laurylamin; (3) Gemisch von 1, 2, 4 und 5; (4) Decylamin; (5) Octylamin.

am Start, die höheren primären Alkylamine bilden Streifen. In Systemen Formamid/Hexan-Benzol in verschiedenen Verhältnissen werden gut die niederen primären Amine bis Hexylamin aufgetrennt, die übrigen Amine wandern mit der Lösungsmittelfront mit. Eine sehr gute Auftrennung der homologen Reihe der primären Amine von Hexyl- bis Octadecylamin erzielt man im System 1-Bromnaphthalin/90% Essigsäure. Für praktische Analysen ist von Bedeutung, dass auf diese Weise auch das Ammoniak in Form seines Derivats, des 3,5-Dinitrobenzoesäureamids, von den primären und sekundären Alkylaminen abgetrennt wird und in ihrer Anwesenheit verlässlich identifiziert werden kann. Geeignet dazu ist das Lösungsmittelsystem Formamid/Chloroform, bzw. Chloroform-Äthylacetat 1:1.

*Andere Amine.* Für das Cyclohexylamin und Benzylamin ist das System 25% Dimethylformamid/Cyclohexan geeignet. Die Trennung von Anilin, N-Methylanilin und N-Äthylanilin erfolgt am besten in Systemen Formamid/Cyclohexan oder Hexan-Benzol; für die Identifizierung des Diphenylamins ist das System mit Dimethylformamid als stationärer Phase geeignet. Auf mit Formamid vorbehandelten Papieren bildet sonst das Cyclohexylamin, Benzylamin und Diphenylamin Streifen.

**3,5-Dinitrobenzoesäure.** Da alle nicht gereinigten Derivate 3,5-Dinitrobenzoesäure enthalten können, die durch die angewandte Detektionsmethode auch sichtbar gemacht wird, ist es notwendig auch über ihr chromatographisches Verhalten zu berichten. Im Lösungsmittelsystem mit Dimethylformamid und Formamid verbleibt die Säure am Start in allen Fließmitteln, die zur Auftrennung der erwähnten Stoffklassen verwendet werden. Erst im System Formamid/Chloroform-Äthylacetat 2:1 hat sie den  $R_F$ -Wert 0,04. In Systemen mit Paraffinöl als stationärer Phase wandert die Säure mit der Lösungsmittelfront mit. Bei Anwendung der mit 1-Bromnaphthalin imprägnierten Papiere und 70–90% Essigsäure als Fließmittel hat die Säure auch hohe  $R_F$ -Werte; manche Derivate der Amine weisen jedoch noch höhere  $R_F$ -Werte auf.

**Unbekannte Verbindungen.** Bei der Identifizierung unbekannter Verbindungen wird dieses Derivat zuerst im System Formamid/Hexan nach Überführung in das betreffende 3,5-Dinitrobenzoylderivat chromatographiert. Hat das untersuchte Derivat einen zu kleinen  $R_F$ -Wert, oder ist es sogar am Start, so benutzen wir in weiteren Versuchen mehr polare bewegliche Phasen (also Formamid/Hexan  $\rightarrow$  Benzol  $\rightarrow$  Chloroform  $\rightarrow$  Äthylacetat oder ihre Gemische). Hat das untersuchte Derivat im System Formamid/Hexan einen grossen  $R_F$ -Wert oder wandert es mit der Lösungsmittelfront mit, so wenden wir in weiteren Versuchen das System Dimethylformamid/Hexan an und wenn dann noch der  $R_F$ -Wert zu hoch ist, wiederholen wir das Chromatographieren und arbeiten mit dem System Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser.

#### CHROMATOGRAPHISCHES VERHALTEN UND KONSTITUTION

Dem in dieser Arbeit erhaltenen Resultaten können einige Beziehungen zwischen Struktur der chromatographierten Verbindungen und ihrem Verhalten auf den Chromatogrammen entnommen werden (bezogen auf Systeme mit polarer stationärer Phase, also mit Dimethylformamid oder Formamid).

Unter den geprüften Typen von Verbindungen, d.h. den Estern, Thioestern, Alkyl- und Dialkylamiden und der 3,5-Dinitrobenzoesäure werden die Verbindungen folgender Reihe nach von der stationären Phase immer fester zurückgehalten:  $\text{Ar}-\text{CO}-\text{SR}$ ,  $\text{Ar}-\text{CO}-\text{OR}$ ,  $\text{Ar}-\text{CO}-\text{N}(\text{R})_2$ ,  $\text{Ar}-\text{CO}-\text{NH}\cdot\text{R}$ ,  $\text{Ar}-\text{CO}-\text{NH}_2$  und  $\text{Ar}-\text{COOH}$ , wobei  $\text{R} = \text{Alkyl}$  und  $\text{Ar} = 3,5-\text{C}_6\text{H}_3(\text{NO}_2)_2$ . Dieses Verhalten kann durch die Fähigkeit Wasserstoffbrückenbindungen mit der stationären Phase zu bilden erklärt werden.

Im einzelnen Reihem von Verbindungen wird der  $R_F$ -Wert hauptsächlich von den Alkylgruppen beeinflusst: dem niedrigsten  $R_F$ -Wert hat immer die Verbindung mit der Methylgruppe; die  $R_F$ -Werte steigen mit wachsender Anzahl der Kohlenstoffatome der Alkylgruppe an. Dasselbe gilt auch für die Anzahl der Methylengruppen bei den mehrwertigen Alkoholen und für die Alkylgruppen der Monoäther der Glykole und Polyäthylenglykole. Eine Doppelbindung verursacht eine bestimmte Erniedrigung der  $R_F$ -Werte; z.B. ein Allylderivat verhält sich wie ein Äthylderivat. Die *n*-Alkyl-derivate und die entsprechenden *iso*-, *sek*- und *tert*-Alkyl-derivate weisen kleine,

jedoch reproduzierbare und regelmässige  $R_F$ -Wert Unterschiede auf. Von diesen Isomeren hat das *tert.*-Alkylderivat stets den grössten  $R_F$ -Wert. Die Benzyl-derivate verhalten sich in Systemen mit Dimethylformamid als stationäre Phase wie Methyl-derivate, in Systemen mit Formamid als stationäre Phase wie die Propyl-derivate. In der Reihe: Benzylalkohol, Phenyläthylalkohol und Phenylpropylalkohol steigen die  $R_F$ -Werte wie zu erwarten. Die Einführung der *p*-Methylgruppe in das Molekül des Benzylalkohols verursacht eine Vergrösserung der  $R_F$ -Werte, die *p*-Methoxygruppe verursacht dagegen eine Verminderung dieser Werte. Weitere Beziehungen in der Reihe der aromatisch-aliphatischen Alkohole sind der Tabelle III zu entnehmen.

Cycloaliphatische Verbindungen verhalten sich wie die aliphatischen, um ein Kohlenstoffatom ärmeren Derivate, also Cyclopentanol wie *n*-Butanol, Cyclohexanol wie Amylalkohol und Cyclohexylamin wie Amylamin. Die isomeren Methylcyclopentane werden voneinander nicht getrennt, was auch bei den isomeren Kresolen und Toluidinen der Fall ist. Phenol selbst hat in Systemen mit Dimethylformamid einen kleineren, mit Formamid einen grösseren  $R_F$ -Wert als Methanol; die Einführung einer Alkylgruppe in den aromatischen Ring verursacht Vergrösserung des  $R_F$ -Wertes, es steigen also die  $R_F$ -Werte in der Reihe: Phenol, Kresole, Äthylphenol, *tert.*-Butylphenol an. Die Naphthole und *p*-Phenylphenol haben kleinere  $R_F$ -Werte als Phenol selbst.

Die Diester der Glykole haben kleinere  $R_F$ -Werte als die betreffenden aliphatischen Alkohole (Äthylenglykoldiester hat einen kleineren  $R_F$ -Wert als Äthylalkoholester), der Triester des Glycerins hat wieder einen kleineren  $R_F$ -Wert als der Diester des Äthylenglykols. Es werden also die  $R_F$ -Werte mit steigender Anzahl der Ar-CO-OR-Gruppen vermindert. Die Anwesenheit freier Hydroxylgruppen in den Monoestern der Glykole und Polyäthylenglykole bewirkt ein merkliches Absinken der  $R_F$ -Werte. Der Monoester des Äthylenglykols wird also von der stationären polaren Phase stärker zurückgehalten als das Derivat des Äthylalkohols; im Falle des Glycerins vermindern sich die  $R_F$ -Werte in der Reihe: Triester, Diester und Monoester. Die Ätherifizierung einer Hydroxylgruppe im Diol, bzw. seinem Monoester, kommt durch einen bedeutenden Anstieg der  $R_F$ -Werte zum Ausdruck. Im Falle der isomeren Butylenglykole kann eine merkliche Abtrennung des 1,4-Isomeren beobachtet werden. Die Chlorsubstitution einer Hydroxylgruppe im Äthylenglykol macht sich grössenordnungsmässig auf die gleiche Art bemerkbar, wie die Ätherifizierung dieser Gruppe durch eine Methylgruppe. Mit zunehmender Chlorsubstitution verringern sich die  $R_F$ -Werte. Die Einführung der Oxyäthylgruppen in die Moleküle der Glykole, bzw. Glykolmonoäther, bewirkt eine merkliche Verminderung der  $R_F$ -Werte. Eine Ausnahme bilden die ersten drei Glieder der Polyäthylenglykolreihe, das Mono-, Di- und Triäthylenglykol. Bei den Monoestern dieser Reihe steigen die  $R_F$ -Werte zuerst vom Mono- zum Tri-Derivat, um durch Einführung weiterer Oxyäthylgruppen wieder vermindert zu werden. Bei den Diestern sind die  $R_F$ -Werte der ersten drei Glieder praktisch gleich und erst vom Tetraäthylenglykol an werden mit steigender Oxyäthylgruppenanzahl die  $R_F$ -Werte vermindert.



## DANK

FR. O. BERANOVÁ und M. BORECKÁ sind wir für die Durchführung eines Teils der experimentellen Arbeit zu Dank verpflichtet, sowie Herrn Dr. D. ŠNOBL für die Diskussion der Resultate mittels der statistischen Mathematik.

## ZUSAMMENFASSUNG

Im der vorliegenden Arbeit wird gezeigt, dass Alkohole, Glykole, Polyäthylenglykole, ihre Monoäther, sowie Chlorhydrinderivate, Phenole, Mercaptane und aliphatische sowie aromatische Amine nach Überführung in die betreffenden 3,5-Dinitrobenzoylderivate auf Grund ihrer Reaktion mit 3,5-Dinitrobenzoylchlorid nebeneinander mit Hilfe der Papierchromatographie identifiziert werden können. Rund 150 Derivate wurden dargestellt und ihr chromatographisches Verhalten in 20 Lösungsmittelsystemen studiert. Es werden die nötigen Vorschriften zur Darstellung der Derivate bei Serienarbeit angegeben und für jede Stoffklasse die besten Bedingungen der Papierchromatographie empfohlen. Es wird von folgenden Lösungsmittelsystemen Gebrauch gemacht: Dimethylformamid/Hexan oder Cyclohexan, Formamid/Hexan oder Cyclohexan, Benzol, Chloroform und Äthylacetat allein oder in Gemischen, Paraffinöl/Dimethylformamid-Methanol-Wasser in verschiedenen Verhältnissen und *m*-Bromnaphthalin/70 oder 90% Essigsäure. Die Beziehungen zwischen dem chromatographischen Verhalten und der Struktur der chromatographierten Verbindungen wurden diskutiert.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden auch die Verhältnisse der Chromatographie auf imprägniertem Papier eingehender studiert und eine Reihe von Faktoren, die den chromatographischen Vorgang beeinflussen, aufgeklärt. An praktischen Beispielen der 3,5-Dinitrobenzoylderivate wurde die Wahl der Derivate und der geeigneten Lösungsmittelsysteme diskutiert, sowie der Einfluss der Imprägnierungsart, des Trocknens der Chromatogramme bei der Imprägnierung, usw. demonstriert. Es wurde gezeigt, dass in einem bestimmten Bereich die Verbindungen auf den Chromatogrammen beliebig verschoben werden können.

## SUMMARY

The authors show that alcohols, glycols, polyethylene glycols, and their monoethers, as well as chlorohydrins, phenols, mercaptans and aliphatic and aromatic amines, can be identified when present together, by paper chromatography of their 3,5-dinitrobenzoyl derivatives. About 150 derivatives were prepared and their chromatographic behaviour in 20 solvent systems studied. Methods for preparing the derivatives in the case of serial analyses are given, and for each class of compound the best conditions for paper chromatography recommended. The following solvent systems were used: dimethylformamide/hexane or cyclohexane, formamide/hexane or cyclohexane, benzene, chloroform and ethyl acetate alone or in mixtures, paraffin oil/dimethylformamide-methanol-water in various ratios and *m*-bromonaphthalene/

70 or 90 % acetic acid. The relations between chromatographic behaviour and structure of the compounds are discussed.

Chromatography on impregnated paper was also closely investigated and a number of factors that affect the chromatographic process were clarified. Taking the 3,5-dinitrobenzoyl derivatives as examples, the choice of derivatives and of suitable solvent systems is discussed, as well as the influence of the method of impregnation, the drying of the chromatograms after impregnation, etc. It is shown that within certain limits the position of the compounds on the chromatograms can be altered.

## LITERATUR

- <sup>1</sup> M. VEČEŘA, J. GASPARIČ UND A. SPÉVÁK, *Chem. listy*, 51 (1957) 1554; *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 23 (1958) 768.
- <sup>2</sup> M. VEČEŘA UND J. GASPARIČ, *Chem. & Ind. (London)*, (1957) 263.
- <sup>3</sup> M. VEČEŘA UND J. GASPARIČ, *Chem. listy*, 52 (1958) 749; *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 24 (1959) 465.
- <sup>4</sup> J. BORECKÝ, J. GASPARIČ UND M. VEČEŘA, *Chem. listy*, 52 (1958) 1283; *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 24 (1959) 1822.
- <sup>5</sup> J. BORECKÝ UND J. GASPARIČ, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 25 (1960) 1287.
- <sup>6</sup> J. BORECKÝ UND J. GASPARIČ, *Mikrochim. Acta*, (1961) 96.
- <sup>7</sup> J. GASPARIČ UND M. VEČEŘA, *Mikrochim. Acta*, (1958) 68.
- <sup>8</sup> J. GASPARIČ UND J. BORECKÝ, *J. Chromatog.*, 4 (1960) 138.
- <sup>9</sup> R. G. RICE, G. J. KELLER UND J. G. KIRCHNER, *Anal. Chem.*, 23 (1951) 1194.
- <sup>10</sup> D. F. MEIGH, *Nature*, 169 (1952) 706.
- <sup>11</sup> J. ČERNÝ, *Chem. listy*, 49 (1955) 1899.
- <sup>12</sup> F. E. HUELIN UND B. H. KENNETT, *Chem. & Ind. (London)*, (1956) 715.
- <sup>13</sup> F. MICHEL UND W. SCHMINKE, *Angew. Chem.*, 69 (1957) 334.
- <sup>14</sup> E. SUNDT UND M. WINTER, *Anal. Chem.*, 29 (1957) 851.
- <sup>15</sup> A. SIEGEL UND K. SCHLÖGL, *Mikrochim. Acta*, 40 (1953) 383.
- <sup>16</sup> T. MOMOSE UND A. YAMADA, *J. Pharm. Soc. Japan*, 71 (1951) 980.
- <sup>17</sup> A. G. LONG, J. R. QUAYLE UND R. J. STEDMAN, *J. Chem. Soc.*, (1951) 2197.
- <sup>18</sup> A. FREY UND D. WEGENER, *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.*, 105 (1957) 98.
- <sup>19</sup> E. O. WOOLFOLK, F. E. BEACH UND S. P. MCPHERSON, *J. Org. Chem.*, 20 (1955) 391.
- <sup>20</sup> E. HECKER, *Chem. Ber.*, 88 (1955) 1666.
- <sup>21</sup> I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, WEIB (G. Fischer Verlag, Jena, 1958, S. 311.
- <sup>22</sup> K. SCHLÖGL UND A. SIEGEL, *Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta*, 40 (1953) 202.
- <sup>23</sup> L. HORNER UND W. KIRMSE, *Ann.*, 597 (1956) 48.
- <sup>24</sup> M. VEČEŘA, S. VOLÁKOVÁ, M. KOZÁKOVÁ UND M. JUREČEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 25 (1960) 1281.
- <sup>25</sup> I. M. LOCKHART, *Nature*, 177 (1956) 393.
- <sup>26</sup> J. LATINÁK, *Chem. listy*, 51 (1957) 1493.
- <sup>27</sup> J. GASPARIČ, M. NOVOTNÁ UND M. JUREČEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, 25 (1960) 2757.
- <sup>28</sup> J. F. CARSON UND F. F. WONG, *J. Org. Chem.*, 22 (1957) 1725.
- <sup>29</sup> C. A. PRICE UND C. W. CAMPBELL, *Biochem. J.*, 65 (1957) 512.
- <sup>30</sup> S. P. SPRAGG, *Nature*, 182 (1958) 1314.
- <sup>31</sup> E. A. DAY UND S. PATTON, *Microchem. J.*, 3 (1959) 137.
- <sup>32</sup> A. JACOT-GUILLARMOD UND P. CESCHINI, *Helv. Chim. Acta*, 42 (1959) 713.
- <sup>33</sup> W. NUCK, Privatmitteilung.
- <sup>34</sup> I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, WEIB (G. Fischer Verlag, Jena, 1958, S. 767.
- <sup>35</sup> H. P. KAUFMANN UND E. MOHR, *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 60 (1958) 165.
- <sup>36</sup> J. REICHEL, *Pharmazie*, 13 (1958) 24.
- <sup>37</sup> O. LÍKAŘ, *Statistické metody v laboratorní práci*, Státní nakl. techn. literatury, Praha, 1957.
- <sup>38</sup> T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 9 (1926) 799.
- <sup>39</sup> M. PHILLIPS UND G. L. KEENAN, *J. Am. Chem. Soc.*, 53 (1931) 1924.
- <sup>40</sup> TH. BOEHM UND H. THIEME, *Pharmazie*, 11 (1956) 175.
- <sup>41</sup> E. WERTHEIM, *J. Am. Chem. Soc.*, 51 (1929) 3661.
- <sup>42</sup> R. SASIN, W. A. BUTTE JR., A. L. BORROR UND G. S. SASIN, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 34 (1957) 358.
- <sup>43</sup> A. D. HOLLEY UND R. W. HOLLEY, *Anal. Chem.*, 24 (1952) 216.