

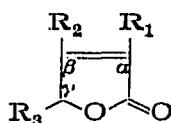
# PAPIERCHROMATOGRAPHIE VON $\gamma$ -ARYL- $\alpha,\beta$ -DIHALOGEN- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -CROTONLACTONEN UND ÄHNLICHEN SUBSTANZEN\*

KAREL MACEK, STANISLAV VANĚČEK UND MIROSLAV SEMONSKÝ

*Forschungsinstitut für Pharmazie und Biochemie,  
Prag (Tschechoslowakei)*

(Eingegangen den 8. März 1962)

Bei der Synthese von  $\gamma$ -Aryl- $\alpha,\beta$ -dihalogen- $\Delta^{\alpha,\beta}$ -crotonlactonen (I), beim Studium einiger ihrer Solvolyseprodukte und ebenso beim Studium einer Reihe weiterer in dieses Arbeitsgebiet<sup>1,2</sup> gehöriger Substanzen leistete die Papierchromatographie wertvolle Hilfe sowohl bei der Reinheitskontrolle der einzelnen Präparate als auch namentlich bei der semiquantitativen Analyse der verschiedenen unter bestimmten Arbeitsbedingungen gewonnenen Reaktionsprodukte.



(I)

In der Literatur liegt keine Erwähnung über die Papierchromatographie derartiger Stoffe vor mit Ausnahme von einigen am Anfang der Tabelle II angeführten einfacheren aromatischen Säuren, die jedoch nicht das Wesentliche der vorliegenden Arbeit bildeten. Ähnlich wie bei einem anderen Typ von Substanzen aus der Gruppe der Kanzerostatika — und zwar der substituierten Purine<sup>3</sup> — befassten wir uns mit dem systematischen Studium dieser Substanzen, suchten die optimalen Bedingungen für Trennung und Nachweis am Papier und waren bestrebt, aus den gewonnenen Ergebnissen einige allgemeine Schlussfolgerungen über die Beziehung zwischen Struktur und chromatographischem Verhalten abzuleiten.

## EXPERIMENTELLER TEIL

### *Papier*

Alle Nachweisreaktionen sowie Entwicklung in wasserhaltigen Systemen wurden auf Papier Whatman No. 1, die Chromatographie in Systemen mit verankertem Formamid auf Papier Whatman No. 4 durchgeführt.

### *Nachweisreaktionen*

Der Nachweis der einzelnen Substanzen erfolgte auf Papieren, wo die Proben in Mengen von 2, 5, 15 und 50  $\mu\text{g}$  aufgetragen wurden, nach kurzfristigem Entwickeln

\* Teilweise vorgetragen an der Konferenz über Papierchromatographie, Prag, den 21. Juni 1961.

in einem System mit verankertem Formamid mittels der weiter unten angeführten Nachweisreagenzien. Die Substanzen 32 und 43 wurden im System S 2 entwickelt, und die Crotonlactone (mit Ausnahme einiger stärker polarer) wurden ausser in Systemen mit Formamid noch in Systemen mit verankertem Dimethylformamid und Petroleum entwickelt. In allen Fällen wurde das Chromatogramm vor dem Nachweis bei 100° getrocknet. In den Tabellen wird sehr starke Reaktion (Empfindlichkeit 1–3  $\mu\text{g}$ ) mit + + +, mittelstarke Reaktion (4–10  $\mu\text{g}$ ) mit + +, schwache Reaktion (11–30  $\mu\text{g}$ ) mit + und sehr schwache Reaktion (30–300  $\mu\text{g}$ ) mit — bezeichnet.

D 1. Beobachtung von Verlöschen im Licht der Niederdruck-Quecksilberlampe (Chromatolite).

D 2. Beobachtung des Verlöschens im Licht der Niederdruck-Quecksilberlampe nach Besprühen des Chromatogramms mit 0.0025 %iger Fluoresceinlösung in 0.5 N Ammoniak.

D 3. Das Chromatogramm wird mit 25 %iger wässriger Methylaminlösung besprüht, und nach Trocknen bei Laboratorium-Temperatur wird es 1 Min auf 100° erhitzt, sodann auf eine mit konz. Schwefelsäure bestrichene Glasplatte gelegt.

D 4. Das Chromatogramm wird mit dem Gemisch gleicher Volumina 0.1 N  $\text{AgNO}_3$  und 5 N Ammoniak besprüht und dem Sonnenlicht ausgesetzt.

D 5. Das Chromatogramm wird mit 0.2 %iger Lösung von 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 0.1 N methanolischer HCl besprüht.

D 6. Das Chromatogramm wird mit dem Gemisch gleicher Volumteile 1 %  $\text{KMnO}_4$  und 2 %  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  besprüht.

#### Lösungsmittelsysteme

Die Chromatogramme wurden absteigend bei konstanter Temperatur von 20° in den folgenden Systemen entwickelt:

S 1. *n*-Butanol–Essigsäure–Wasser (4:1:5).

S 2. Isopropanol–Ammoniak–Wasser (10:1:1).

S 3. Papier imprägniert mit 50 %iger äthanolischer Formamidlösung; Chloroform fliesst durch.

S 4. Papier wird mit 50 %iger äthanolischer Formamidlösung mit einem Gehalt von 5 % Ammoniumformiat (auf Formamid berechnet) imprägniert; Chloroform fliesst durch.

S 5. Formamid/Benzol.

S 6. Formamid + Ammoniumformiat/Benzol.

S 7. Formamid/Benzin.

S 8. Dimethylformamid/Cyclohexan.

S 9. Papier wird mit 20 % Petroleum in Cyclohexan imprägniert; 60 %iges Isopropanol fliesst durch.

#### ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des chromatographischen Verhaltens der Crotonlactone gehen am besten aus der Tabelle I hervor.

Zum Nachweis bewährte sich als Universalreagens Methylamin mit Schwefelsäure (D 3), womit bei den substituierten Crotonlactonen intensiv gefärbte Flecken entstanden. Die Farbe der Flecken wurde ausser durch die Struktur der Sub-

TABELLE I

 $R_F$ -WERTE EINIGER CROTONLACTONE

No.		Nachweisreaktion*										Lösungsmittelsystem ( $R_F \cdot 100$ )									
		D <sub>1</sub> **			D <sub>2</sub>			D <sub>3</sub> **				D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>	S <sub>9</sub>		
		R <sub>2</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>3</sub>	D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	a	b	c	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>	S <sub>9</sub>				
1		Cl	OH	+++	+++	G++				+	+++	++	65	32	00	00	97				
2		Cl	OCH <sub>3</sub>	++	+++	O+++	O+++	O+++	∅	+	+	+	95	42	26	86					
3		Cl	H	-	+	R++	R+++	O+++	∅	∅	-	96	67	41	84						
4		Cl	Cl	Z+++	+++	G++	O++	O++	+	+	+	95	55	36	83						
5		Cl	Cl	Z+++	+++	G++	O++	O++	+	+	+	97	77	58	74						
6		Cl	Cl	+++	+++	G-	V+	∅	+	+	+	97	89	72	64						
7		Cl	Cl	Z+++	+++	G++	O++	O+++	+	+	+	97	92	82	53						
8		Cl	Cl	Z+++	+++	H+++	V+++	RH+++	+	+	+	94	21	14	89						
9		Cl	Cl	+++	+++	GH++	R++	RH+++	+	+	+	96	60	39	85						
10		Cl	Cl	+++	+++	G++	G++	GH++	+	∅	+	96	57	20	89						

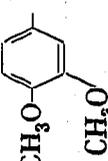
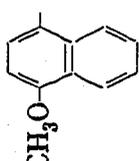
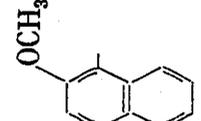
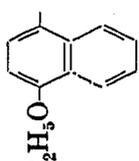
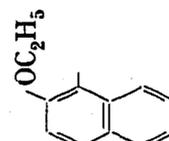
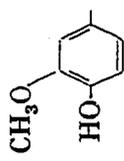
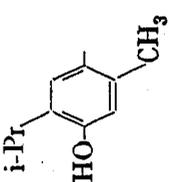
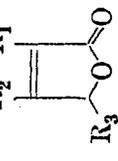
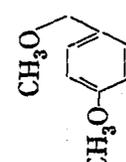
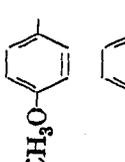
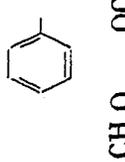
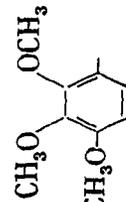
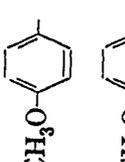
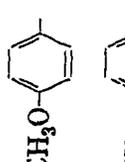
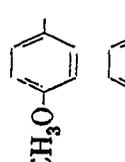
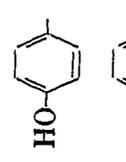
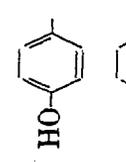
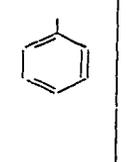
11		Cl	Cl	+++	+++	+++	Gr+++	Gr+++	Gr+++	+	+	+	+	97	25	12	91	
12		Cl	Cl	+	+++	O+++	S+++	Gr+++	Gr+++	+	+	+	+	97	79L	40	68	
13		Cl	Cl	+	+++	Gr+++	Gr+++	Gr+++	Gr+++	+	+	+	+	96	63L	27	72	
14		Cl	Cl	+	+++	O+++	SH+++	V+++	V+++	+	+	+	+	96	93	68	54	
15		Cl	Cl	+	+++	Gr+++	Gr+++	G+++	G+++	+	+	+	+	96	79	37	67	
16		Cl	Cl	+	+++	H+++	H++	H++	H++	+	+	Z	+	86	68	02	01	95
17		Cl	Cl	++	+++	GH+++	GH++	H++	H++	+	+	+	+	96	90	06	09	94
18		Br	OCH <sub>3</sub>	++	+++	O+++	O+++	GH+++	GH+++	0	+	+	+	95	44	28	87	

TABELLE I (Fortsetzung)

No.	$R_2$ $R_1$  $R_3$	Nachweisreaktion*										Lösungsmittelsystem ( $R_F$ · $r_{00}$ )				
		$D_1$	$D_2$	$D_3^{**}$			$D_4$	$D_5$	$D_6$	$S_3$	$S_5$	$S_7$	$S_8$	$S_9$		
	$R_3$	$a$	$b$	$c$												
19	 $CH_3O$	Br H	+++	R+++	R+++	R+++	∅	∅	—	96	59	36	83			
20	 $CH_3O$	Br Br	Z+++	G++	O+++	RH+++	+++	+	+	97	47	21	85			
21		Br Br	+++	∅	G—	G+	+++	∅	+	97	60	37	79			
22	 $CH_3O$	Br Br	+++	GH++	RH++	RH++	+++	+	+	97	47	24	88			
23	 $CH_3O$	Br OH	+++	GH+			++	+++	++	72	38	00	97			
24	 $CH_3O$	Br Cl	Z+++	G++	O++	O++	+++	+	+	94	50	28	82			
25	 $CH_3O$	Cl Br	Z+++	G++	O++	O++	+++	+	+	94	53	30	84			
26	 HO	Cl Cl	Z++	GH+++			∅	Z	++	49	25	00	97			
27	 HO	Br Br	Z++	GH+++	GH++		+++	Z	++	48	25	00	97			
28		Cl Cl	++	GH—			+	+	+	96	64	52	78			

\* G = Gelbfärbung; H = Braunfärbung; O = Orangefärbung; R = Rotfärbung; S = Graufärbung; V = Violettfärbung; Gr = Grünfärbung; Z = Zersetzung; L = langgezogene Flecken; ∅ = keine Reaktion.  
 \*\* Papier imprägniert mit a = Formamid, b = Dimethylformamid, c = Petroleum.

stanzen auch sehr wesentlich durch die benützte verankerte Phase beeinflusst. Als Grundlage wählten wir die Färbung auf Formamid-Chromatogrammen. Crotonlactone, die in  $\gamma$ -Stellung durch den  $p$ -Alkoxyphenylrest und in  $\alpha$ - oder  $\beta$ -Stellung durch Halogen substituiert sind, reagierten mit diesem Reagens in der Regel gelb (z.B. 4-7, 20, 24, 25). Ersatz des Halogens in  $\alpha$ -Stellung durch Hydroxyl hatte zumeist keinen Einfluss auf die Verfärbung des Flecks (1, 23). Hingegen führte Substitution mit Methoxyl in Stellung  $\alpha$  oder  $\gamma$  zu Orange- oder Rotfärbung (2, 3, 18, 19). Bei Erwägung des aromatischen Substituenten in Stellung  $\gamma$  ersieht man die Bedeutung des Substituenten am Benzolkern: Abwesenheit der Substituenten (21, 28) setzt die Empfindlichkeit des Nachweises sehr wesentlich herab, und in manchen Fällen braucht überhaupt keine Reaktion einzutreten (21). Methoxyl in  $p$ -Stellung verursacht Gelbfärbung, Einbringen einer weiteren Methoxylgruppe in  $m$ -Stellung bewirkt Braunfärbung (8, 9). Bei Ersatz des Formamids als verankerter Phase durch Dimethylformamid oder Petroleum verschiebt sich die Gelbfärbung zumeist nach Rot, sodass die feinen Strukturunterschiede nicht so deutlich sind. Anscheinend ist zur Reaktion die Anordnung  $\text{RO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{C}=\text{C}$ - erforderlich, die mit Schwefelsäure gelb reagiert. Der Einfluss von Amin (bzw. einer anderen stickstoffhaltiger Komponente in der verankerten Phase) beruht offenbar nicht nur auf der Öffnung des entsprechenden Crotonlactons, sondern auch auf der Reaktion mit dieser Verbindung.

Verhältnismässig allgemein gültig für diese Stoffgruppe ist auch das Verlöschen im Licht der Niederdruck-Quecksilberlampe Chromatolite, namentlich nach Besprühen des Chromatogramms mit Fluorescein (D 2): In der Reihe der untersuchten Substanzen wurden nur die Verbindungen mit Methoxyl in  $\gamma$ -Stellung (3, 19) und ferner Naphthalinderivate (12-15) schwächer nachgewiesen. Verhältnismässig schwach ist der Nachweis mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin, mit dem die meisten Crotonlactone reagieren. Es reagieren z.B. die nicht, die in  $\alpha$ -Stellung nichtsubstituiert sind (3, 19). Hingegen reagieren in  $\alpha$ -Stellung durch die Hydroxylgruppe substituierte Crotonlactone sehr stark (Ketolanordnung-1, 23). Dieselbe Schlussfolgerung gilt auch für die Verwendung von Kaliumpermanganat (D 6). Mit Silbernitrat reagieren praktisch alle Crotonlactone, die in  $\alpha$ -Stellung durch Halogen oder Hydroxyl substituiert sind. Hierbei reagieren die chloresubstituierten Crotonlactone schwach, die bromsubstituierten Crotonlactone hingegen sehr stark (20-22, 24, 25, 27).

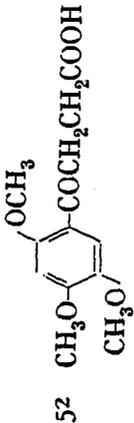
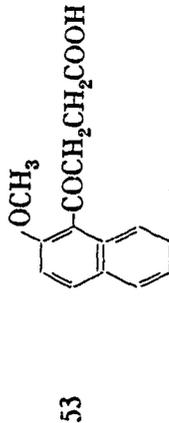
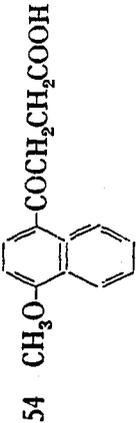
Mit Ausnahme der mit Hydroxyl substituierten Crotonlactone handelt es sich um Verbindungen hydrophoben Charakters, für die sich folgende Lösungsmittelsysteme am besten bewährten: Systeme mit verankertem Formamid und Benzin als mobiler Phase, mit verankertem Dimethylformamid und Cyclohexan als mobiler Phase, oder umgekehrte Phasen mit verankertem Petroleum und 60%igem Isopropanol als mobiler Phase. Aus dem Zusammenhang zwischen chromatographischem Verhalten und der Struktur der Substanzen ergaben sich geläufige Gesetzmässigkeiten<sup>4</sup>: Substitution durch Brom erhöht die  $R_F$ -Werte weniger als Substitution mittels Chlor, Hydroxyl setzt die  $R_F$ -Werte herab, die Methylengruppe erhöht das  $R_F$ , Methoxyl erniedrigt die  $R_F$ -Werte (gilt nur für die stärker hydrophile stationäre Phase). Beim Methoxyl kommt es allerdings noch auf Zahl und Anordnung dieser Gruppen am Benzolkern an: Die disubstituierten Derivate mit den Methoxylgruppen in  $o$ -Stellung (8) wandern am Papier langsamer als das unsubstituierte Derivat oder Derivate mit den Methoxylgruppen in  $p$ -Stellung. Bei trisubstituierten vicinalen Methoxyderivaten (9, 22) tritt jedoch starke Erhöhung der  $R_F$ -Werte ein.

TABELLE II  
R<sub>F</sub>-WERTE EINIGER AROMATISCHEN SÄUREN

No.	Säure	Nachweisreaktionen										Lösungsmittelsystem (R <sub>F</sub> · 100)									
		D <sub>1</sub>	D <sub>2</sub>	D <sub>3</sub>	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>4</sub> *	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>	S <sub>9</sub>				
31		++	++					92	56		34										
32		+++	+++	∅	∅	∅	—	91	66	02	2.7	00									
33		—	+	∅	∅	∅	∅	89	51	44		09									
34	CH <sub>3</sub> O-	++	+++	∅	∅	∅	∅	92	55	44		22									
35	Br Br     HOC—C=C—COOH	+	+	∅	+++	+++	∅	89	Z48	03	6.5	00	00								
36	Cl Cl     HOC—C=C—COOH	+	+	∅	∅	—	∅	91	Z66		3.7										
37	CH <sub>3</sub> O-	++	+++	∅	∅	+++	∅	89	56	43		07									
38	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> O-	++	+++	∅	∅	+++	∅	90	63	66		19									
39	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> O-	++	+++	∅	∅	+++	∅	91	68	82		38	00	02							
40	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> O-	++	+++	∅	∅	+++	∅	93	69	89		54	00	04	91						
41	CH <sub>3</sub> O-	++	++	∅	∅	+++	∅	93	90			95	22	23	92						
42	CH <sub>3</sub> O-	+++	+++	G+++	∅	+++	+	91	38												

43		++	+++	G++	∅	+++	++	74	59	00	0
44		+++	+++	G+++	∅	∅	+	91	67	07	22
45		++	++	R++	∅	∅	-	92	87	96	53 34 88
46		+++	+++	G++	+++	+	+	90	65	05	19.5
47		++	++	R+	+	∅	-	92	87	95	51 32 90
48		++	++	O+	++	-	-	92	87	96	96 50 39 88
49		+++	+++	O+	++	++	+	92	Z	96	58 29 85
50		++	++	O++	+++	-	-	93	Z87	81	51 81
51		+	++	G++	+++	+	-	93	Z87	83	49L 77

TABELLE II (Fortsetzung)

No.	Säure	Nachweisreaktionen										Lösungsmittelsystem ( $R_F \cdot 100$ )										
		D1	D2	D3	D4	D5	D6	D6	D6	D6	D6	S1	S2	S3	S4	S4*	S5	S6	S7	S8	S9	
52	 <chem>COc1cc(OC)ccc1CC(=O)O</chem>	+++	+++	G+++	Ø	++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	88	43	69	69		06					87
53	 <chem>COc1ccc2ccccc2c1CC(=O)O</chem>	++	++	G+++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	93	62	73	73		31	00				92
54	 <chem>COc1ccc2ccccc2c1CC(=O)O</chem>	++	+++	G+++	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	89	63	85	85		51L	00				89L

\* Durchlaufchromatogramm, 15 Stunden, Entfernung in cm.

\*\* Isomer mit niedrigerem Schmelzpunkt.

\*\*\* Isomer mit höherem Schmelzpunkt.

Weitere Erläuterungen siehe in Tabelle I.

während bei den asymmetrischen Derivaten (11) die Beweglichkeit annähernd zwischen den disubstituierten *ortho*-Derivaten und den trisubstituierten vicinalen Derivaten liegt.

Die Ergebnisse des chromatographischen Verhaltens der aromatischen Säuren sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Zum Nachweis bewährte sich als Universalmethode die Beobachtung des Verlöschens im Licht der Niederdruck-Quecksilberlampe (D 1). Dieses Verlöschen ist auf 5–10  $\mu\text{g}$  der zu analysierenden Säuren empfindlich, und nach Besprühen mit Fluorescein (D 2) erhöht sich die Empfindlichkeit auf 2–3  $\mu\text{g}$ . Von den übrigen zum Nachweis angewandten Verfahren kann für Säuren mit einer Ketogruppe die Reaktionen mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin (D 5) benützt werden, die bei jenen Säuren sehr empfindlich ist, welche in benachbarter Stellung nicht durch Halogen substituiert sind. Substitution mittels Halogen setzt die Empfindlichkeit ungefähr auf das Zehnfache herab (44, 45, 47, 48). Substanzen mit Doppelbindung in der Seitenkette lassen sich durch alkalische Kaliumpermanganatlösung (D 6) nachweisen, diese Reaktion ist aber nicht sehr empfindlich. Zum spezifischen Nachweis der in der Seitenkette durch Brom substituierten Substanzen verwendeten wir Silbernitrat (D 4): Bei dieser Reaktion können durch zwei Bromatome substituierte Substanzen (35, 50, 51) sehr empfindlich nachgewiesen werden, bei Verbindungen mit einem Bromatom war die Reaktion bei freien Säuren (46) empfindlicher als bei Methylestern (47–49).

Sehr interessant ist der Nachweis mancher aromatischer monoalkoxylierter Säuren mit  $\text{C}_4$ -Seitenkette mittels Methylamin und Schwefelsäure (D 3): Substanzen, die in dieser Seitenkette eine Doppelbindung aufweisen (42, 43) oder durch Halogen substituiert sind (44, 46), reagieren im Falle freier Säuren mit Gelbfärbung. Die entsprechenden Methylester reagieren orange bis rot (45, 47–49). Eine Ausnahme bilden ferner jene aromatischen Säuren, die am aromatischen Kern entweder mehr Alkoxygruppen besitzen (52) oder die anstelle der Benzoylgruppe eine Naphthoylgruppe aufweisen (53, 54): Diese Säuren reagieren dann mit dem Reagens D 3 gelb, auch wenn in der Seitenkette keine Doppelbindung besteht oder wenn sie nicht durch Halogen substituiert sind.

Von den Lösungsmittelsystemen bewährte sich für freie Säuren stärker hydrophilen Charakters das System Isopropanol–Ammoniak (S 2), für weniger hydrophile Säuren das System Formamid/Chloroform und für Säuremethylester das System Dimethylformamid/Cyclohexan. Bei Systemen mit Formamid war es vorteilhaft, zur verankerten Phase Ammoniumformiat zuzusetzen, da sonst die Flecken langgezogen waren. Beim Studium der Beziehung zwischen chromatographischem Verhalten und Struktur stellten wir ausser den üblichen Gesetzmässigkeiten verschiedene Abweichungen vom üblichen Verhalten fest. So wanderte die Salicylsäure im System S 2 rascher als die Benzoesäure, die *o*-Methoxybenzoesäure wanderte langsamer als die *p*-Methoxybenzoesäure und Bromierung setzte in Formamid-Systemen die  $R_F$ -Werte bei freien Säuren (42, 46) herab: Dies wird wahrscheinlich durch die stärkere Acidität der bromierten Derivate verursacht. Bei den analogen Methylestern werden nämlich durch Bromierung die  $R_F$ -Werte erhöht.

#### ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde das chromatographische Verhalten von 28 substituierten Crotonlactonen und 24 substituierten aromatischen Säuren untersucht.

Es wurden optimale Bedingungen für den Nachweis und Systeme zur Trennung und Charakterisierung dieser Substanzen gefunden und die Beziehungen zwischen dem chromatographischen Verhalten und der Struktur dieser Verbindungen untersucht.

#### SUMMARY

The chromatographic behaviour of 28 substituted crotonlactones and 24 substituted aromatic acids was investigated. The best conditions for identification of these substances, as well as systems for their separation and characterization are described. The relationships between chromatographic behaviour and structure of these compounds was investigated.

#### LITERATUR

- <sup>1</sup> M. SEMONSKÝ, E. ROČKOVÁ, A. ČERNÝ, B. KAKÁČ UND K. MACEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, im Druck.
- <sup>2</sup> M. SEMONSKÝ, E. ROČKOVÁ, V. ZIKÁN, B. KAKÁČ UND V. JELÍNEK, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, im Druck.
- <sup>3</sup> K. MACEK, *J. Chromatog.*, 4 (1960) 156.
- <sup>4</sup> I. M. HAIS UND K. MACEK, *Handbuch der Papierchromatographie*, Bd. I, G. Fischer Verlag, Jena, 1958.

*J. Chromatog.*, 9 (1962) 60-70