

Über Aminosäure-(phenylazo)-phenyl-Derivate. VII<sup>1)</sup>

**Spektralphotometrische Untersuchungen der Aminolyse von N-geschützten Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylestern<sup>2)</sup>**

VON ALFRED BARTH UND RENATE WIERICK

Mit 5 Abbildungen

**Inhaltsübersicht**

An Hand der Umsetzung einer Anzahl von Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylestern mit Benzylamin wird deren Aminolyseverlauf nach dünnschichtchromatographischer Trennung der Reaktionsprodukte spektralphotometrisch verfolgt und der Einfluß der (Phenylazo)-phenyl- sowie der Aminosäurekomponenten der „aktivierten“ Ester auf die Reaktionsgeschwindigkeit diskutiert.

In vorangegangenen Mitteilungen wurde über die Aminolyseaktivität der (Phenylazo)-phenylester von N-geschützten Aminosäuren berichtet<sup>3)4)</sup>, sowie deren Eignung zur Synthese von Di- und Tripeptiden präparativ nachgewiesen<sup>5)</sup>. Eine quantitative Bestimmung des Aminolyseverlaufes ist nun sinnvoll, da mit deren Hilfe Rückschlüsse auf den Einfluß der (Phenylazo)-phenyl- sowie der Aminosäurekomponenten der farbigen „aktivierten“ Ester bezüglich deren Reaktionsgeschwindigkeiten gezogen werden können. Als „Standard-Reaktion“ wurde die Umsetzung von Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylestern mit Benzylamin herangezogen<sup>3)4)</sup>. Da die Aminolyse, welche einem Additions-Eliminierungs-Mechanismus folgt, dessen geschwindigkeitsbestimmender Schritt eine bimolekulare nucleophile Umsetzung ( $S_N2$ ) darstellt, hinsichtlich des Reaktionsmechanismus also mit der

<sup>1)</sup> VI. Mitteilung: A. BARTH u. P. SCHWENK, Z. Chem. **5**, 270 (1965).

<sup>2)</sup> Zugleich 5. Mitteilung über „Farbige aktivierte Ester“, 4. Mitteilung: A. BARTH, Liebigs Ann. Chem. **686**, 221 (1965).

<sup>3)</sup> A. BARTH u. G. LOSSE, Z. Naturforschg. **19b**, 264 (1964).

<sup>4)</sup> A. BARTH, J. prakt. Chem. **27**, (4), 181 (1965).

<sup>5)</sup> A. BARTH, Liebigs Ann. Chem. **683**, 216 (1965).

Peptidsynthese identisch ist, so sind die an oben erwähnten Modellen gewonnenen Erkenntnisse prinzipiell auch auf die Umsetzung mit Aminosäureestern übertragbar<sup>6)</sup>.

### I. Darstellung der Cbo-Aminosäure-(phenylazo)-phenylester

Die Darstellung der Cbo-Aminosäure-(phenylazo)-phenylester erfolgt wie bereits beschrieben<sup>4)7)</sup> durch Umsetzung der Cbo-Aminosäuren mit (Phenylazo)-phenolen nach der Anhydrid-Methode mit Chlorameisensäureäthylester<sup>8)9)</sup>. Da zu den spektralphotometrischen Untersuchungen die Cbo-Aminosäure-(phenylazo)-phenylester in hoher Reinheit benötigt wurden, erfolgte eine Überprüfung ihrer Einheitlichkeit mittels der Dünnschichtchromatographie. Dabei zeigte sich, daß einige Ester nach zweimaligem Umfällen aus Tetrahydrofuran/Petroläther<sup>3)</sup> noch geringe Mengen an freiem Azofarbstoff aufweisen, welche die Analysenwerte zwar nicht mehr beeinträchtigen, jedoch weitere Umfällungen nötig machte. Dabei wurden die Schmelzpunkte einer Reihe von Verbindungen erhöht (Tab. 1). Dies gilt vor allem für die nitrosubstituierten (Phenylazo)-phenylester, während der unsubstituierte (Phenylazo)-phenylester oder die chlor- und methylsubstituierten Derivate schon nach ein- bis zweimaligem Umfällen aus Essigester/n-Hexan oder Tetrahydrofuran/n-Hexan chromatographisch rein sind und ihr Schmelzpunkt durch weiteres Umfällen keine wesentliche Veränderung erfährt<sup>4)</sup>.

### II. Bestimmung des Aminolyseverlaufes

Zur Bestimmung des Aminolyseverlaufes wurden äquimolare Mengen (0,002 Mol) Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylester und Benzylamin in absolutem Tetrahydrofuran (20 cm<sup>3</sup>) zur Reaktion gebracht, wobei in regelmäßigen Zeitabständen dem Ansatz Proben entnommen (0,002 cm<sup>3</sup>) und auf eine Kieselgel-G Dünnschichtplatte aufgetragen wurden. Die Blockierung der Aminolyse erfolgte, wie bereits beschrieben, durch kurze Behandlung mit HCl-Gas<sup>4)</sup>.

Die bei der Umsetzung entstehenden freien Azofarbstoffe werden anschließend von den Cbo-Aminosäure-(phenylazo)-phenylestern chromatographisch getrennt, wobei sich in fast allen Fällen die Anwendung der Laufmittelsysteme n-Hexan/Essigester = 17:5 oder 17:3, in einigen Fällen das Laufmittelsystem n-Hexan/Essigester = 18:1, bewährte<sup>4)</sup>. Nach Elution der Farbstoff-Flecken mit absolutem Tetrahydrofuran werden die Extinktionen

<sup>6)</sup> Vgl. J. PLESS u. R. A. BOISSONNAS, *Helv. chim. Acta* **46**, 1609 (1963).

<sup>7)</sup> R. KACZMIERZAK u. G. KUPRYSZEWSKI, *Roszniki Chem.* **37**, 659 (1963).

<sup>8)</sup> TH. WIELAND u. B. HEINKE, *Liebigs Ann. Chem.* **615**, 184 (1958).

<sup>9)</sup> TH. WIELAND, *Angew. Chem.* **66**, 507 (1954).

Tabelle 1

Verbindung	Analyse (ber.)			nach 2 × Umfällen			Chromatographisch rein				
	C	H	N	Schmp. °C	C	H	N	Schmp. °C	C	H	N
Cbo-Glycin-4-(2', 4'-dinitro-phenylazo)-phenylester	55,15	3,55	14,61	110—111	55,75	3,66	14,80	135	55,06	3,56	15,10
Cbo-Glycin-4-(4'-nitro-phenylazo)-phenylester	60,38	4,15	12,91	145—146	60,14	4,21	13,05	150—151	60,10	4,49	13,40
Cbo-Glycin-4-(3'-nitro-phenylazo)-phenylester	60,38	4,15	12,91	118—119	60,73	4,48	13,02	124	61,03	4,27	13,24
Cbo-Glycin-4-(2'-nitro-phenylazo)-phenylester	60,38	4,15	12,91	87,5—88	60,79	4,56	12,90	94	60,55	4,27	13,01
Cbo-Glycin-4-(4'-methyl-phenylazo)-phenylester	68,47	5,25	10,47	142—143	68,03	5,48	10,18	148	68,23	5,33	10,47
Cbo-Glycin-4-(3'-methyl-phenylazo)-phenylester	68,47	5,25	10,47	121—122	68,07	5,26	10,68	123	68,32	5,43	10,87
Cbo-Glycin-4-(2'-methyl-phenylazo)-phenylester	68,47	5,25	10,47	—	—	—	—	126—128	68,41	5,68	10,97
Cbo-Glycin-4-(phenylazo)-phenylester	67,84	4,88	10,80	147—148	67,46	4,60	11,18	149	67,65	4,48	11,32
Cbo-Glycin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester	62,31	4,27	9,90	160—161	61,69	4,61	11,02	160—161	61,97	4,70	10,00
Cbo-DL-Valin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester	64,14	5,16	9,02	—	—	—	—	128—129,5	64,21	5,14	9,43
Cbo-Sarkosin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester	63,09	4,64	9,60	—	—	—	—	101	62,81	4,58	10,02
Cbo- $\alpha$ -Amino-isobuttersäure-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester	63,80	4,91	9,30	—	—	—	—	115—117	63,86	5,20	9,02

der entstehenden Farbstofflösungen, bei zuvor ermittelten charakteristischen Wellenlängen des sichtbaren Spektralbereichs, mit Hilfe eines Universal-spektrophotometers (Fa. Carl Zeiss, Jena) gemessen und daraus die zugehörigen Farbstoff-Konzentrationen ( $C_F$ ) in Abhängigkeit von der Reaktionszeit ( $t$ ) errechnet.

Da die beschriebene Aminolyse prinzipiell einer Reaktion 2. Ordnung gehorcht, bei der im vorliegenden Falle die Konzentrationen der Ausgangsstoffe gleich sind ( $C_E = C_{Amin}$ ), gilt zur Umsatzberechnung folgende Gleichung:

$$(a) \quad \frac{1}{C_E} - \frac{1}{C_0} = k_2 \cdot t.$$

Die Esterkonzentration ( $C_E$ ) wurde bestimmt nach:

$$(b) \quad C_E = C_0 - C_F \quad (C_0 = \text{Anfangskonzentration der „akt.“ Ester})$$

In den Abb. 1 und 2 ist die Differenz der reziproken Werte der Esterkonzentrationen ( $C_E$  und  $C_0$ ) in Abhängigkeit von der Reaktionszeit der Aminolyse der (Phenylazo)-phenylester aufgetragen. Gemäß der Gleichung (a) resultieren Geraden, deren Neigungswinkel ( $\alpha$ ) den jeweiligen Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten ( $k_2$ ) entsprechen.

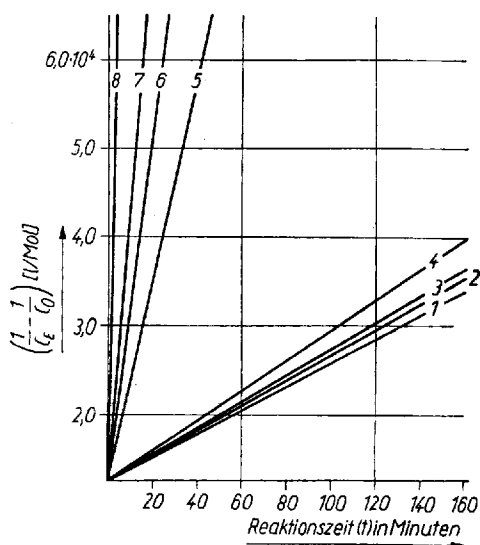


Abb. 1. Aminolysegeschwindigkeit der Cbo-Glycinester von: 8. 4-(2',4'-Dinitro-phenylazo)-phenol, 7. 4-(4'-Nitro-phenylazo)-phenol, 6. 4-(2'-Nitro-phenylazo)-phenol, 5. 4-(3'-Nitro-phenylazo)-phenol, 4. 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol, 3. 4-(Phenylazo)-phenol, 2. 4-(4'-Methyl-phenylazo)-phenol und 4-(2'-Methyl-phenylazo)-phenol, 1. 4-(3'-Methyl-phenylazo)-phenol

Zunächst wurde der Einfluß verschieden substituierter (Phenylazo)-phenole auf die Geschwindigkeit der Aminolyse untersucht, anhand der Umsetzung der entsprechenden Cbo-Glycinester mit äquimolaren Mengen Benzylamin in absolutem Tetrahydrofuran (Abb. 1).

Es zeigt sich, daß die nitro-substituierten Verbindungen am schnellsten reagieren. Die weitaus größte Reaktionsgeschwindigkeit zeigt erwartungsgemäß der Cbo-Glycin-4-(2',4'-dinitro-phenylazo)-phenylester, da hier die Positivierung des Carboxyl-C-Atoms nicht nur durch den Einfluß des Phenylazo-Restes erreicht, sondern zusätzlich durch den (-)-M-

Effekt beider Nitrogruppen verstärkt wird. Auch die anderen nitrosubstituierten Ester reagieren sehr schnell mit Benzylamin. Dabei nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit geringfügig in der Reihe vom Cbo-Glycin-4-(4'-nitro-phenylazo)-phenylester über das 2'-Substitutionsprodukt bis zur 3'-nitrosubstituierten Verbindung ab. Die negativen Mesomericoeffekte sind auch hier eindeutig für die hohe Geschwindigkeit verantwortlich. Wesentlich geringer sind die Reaktionsgeschwindigkeiten der methylsubstituierten (Phenylazo)-phenylester. Die Ursache hierfür ist in der Wirkung der Methylgruppen, die einen wenn auch schwachen (+)-I-Effekt hervorrufen, zu sehen. In der betrachteten Reihenfolge steht der Cbo-Glycin-4-(4'-chlorphenylazo)-phenylester hinsichtlich seiner Aktivität zwischen den nitro- und methylsubstituierten Estern. Das Halogenatom bewirkt sowohl einen positiven Mesomericoeffekt als auch einen negativen Induktionseffekt. Durch Überlagerung beider Wirkungen resultiert auch gegenüber der unsubstituierten Verbindung eine größere Aminolysegeschwindigkeit.

Da aus Gründen einer leichteren Reinigung der Endprodukte und einer weitgehenden Unterdrückung möglicher Racemisierungen in einer vorangegangenen Arbeit<sup>5)</sup> die Cbo-Aminosäure-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester mittlerer Aminolyseaktivität zur Peptidsynthese eingesetzt wurden, ist es naheliegend, den Einfluß der Aminosäurekomponenten auf die Aminolysegeschwindigkeit speziell der 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenylester zu untersuchen.

Aus der Abb. 2 geht hervor, daß die 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenylester des Cbo-L-Alanins, des Cbo-DL-Phenylalanins und des Cbo-L-Tryptophans am schnellsten reagieren, was bei den beiden letzten Verbindungen zweifellos auf die (-)-I-Effekte der Phenylgruppe bzw. des Indolylrestes zurückzuführen ist. Die weitaus geringere Reaktionsgeschwindigkeit des Cbo- $\beta$ -Alaninesters gegenüber dem Cbo-L-Alanin- und dem Cbo-Glycin-4-(4'-chlorphenylazo)-phenyl-

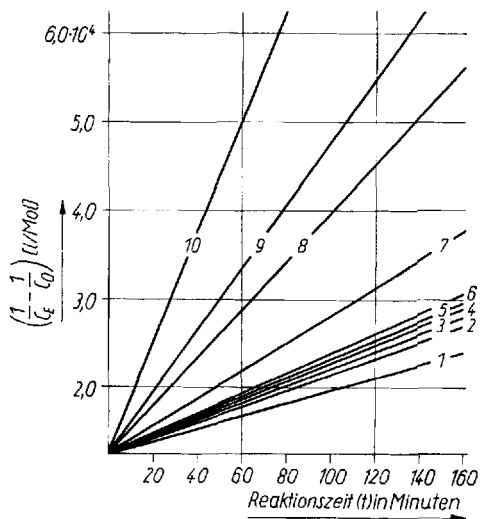


Abb. 2. Aminolysegeschwindigkeit der 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenylester von: 10. Cbo-DL-Phenylalanin, 9. Cbo-L-Alanin, 8. Cbo-L-Tryptophan, 7. Cbo-Glycin, 6. Cbo- $\beta$ -Alanin, 5. Cbo-Sarkosin, 4. Cbo-Isoleucin, 3. Cbo- $\alpha$ -Aminobuttersäure, 2. Cbo-L-Valin und Cbo-L-Prolin, 1. Cbo- $\alpha$ -Aminoisobuttersäure

ester ist darauf zurückzuführen, daß die positivierende Wirkung der elektronenanziehenden Cbo-Schutzgruppe auf das Carboxyl-C-Atom durch die zusätzliche  $\text{CH}_2$ -Gruppe weitgehend abgeschirmt ist. Die geringste Geschwindigkeit wurde bei dem Cbo- $\alpha$ -Aminoisobuttersäureester beobachtet. Man kann hierfür den F-Strain-Effekt verantwortlich machen, welcher bei bimolekularen Reaktionen zur sterischen Hinderung führt<sup>10</sup>). Es wird angenommen, daß ähnliche Wirkungen bei den 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenylestern des Cbo-Sarkosins, des Cbo-Isoleucins, der Cbo- $\alpha$ -Aminobuttersäure und des Cbo-Valins, deren Aminolyseaktivität in angegebener Reihenfolge abnimmt, mit geschwindigkeitsbestimmend sind, wenn auch in abgeschwächter Form. Aus dem bisher Gesagten erklärt sich auch die geringe Reaktionsgeschwindigkeit bei der Aminolyse des Cbo-Prolin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylesters mit Benzylamin.

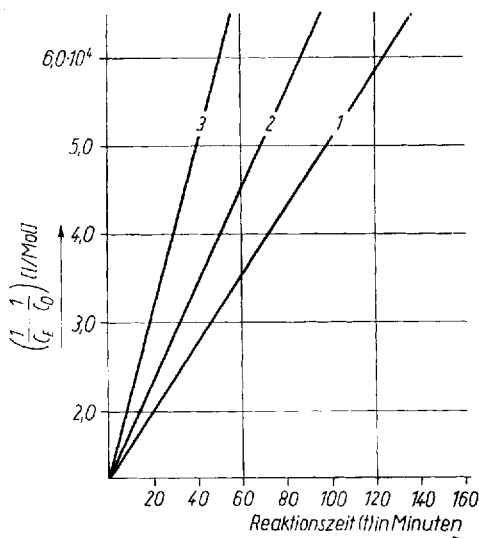


Abb. 3. Aminolysegeschwindigkeit von: 1. Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester, 2. Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester in doppelter Konzentration gegenüber -1-, 3. Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester in doppelter Konzentration unter Zusatz von 1 Tropfen Eisessig

Entsprechend der Kinetik der ( $\text{S}_{\text{N}}2$ )-Reaktionen muß die Aminolysegeschwindigkeit der 4-(Phenylazo)-phenylester konzentrationsabhängig sein. Die Abb. 3 zeigt anhand der Umsetzung des Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylesters mit Benzylamin, daß das tatsächlich in starkem Maße der Fall ist.

Bemerkenswert ist auch die bereits von verschiedenen Autoren beobachtete beschleunigende Wirkung geringer Mengen Eisessig auf die Aminolysegeschwindigkeit von Estern<sup>11-13</sup>). Wie aus Abb. 3 hervorgeht, ist bei den (Phenylazo)-phenylestern ebenfalls ein katalytischer Effekt des Eisessigs vorhanden. Im Einklang damit stehen qualitative Beobachtungen, die bei der

<sup>10</sup>) H. C. BROWN, J. chem. Soc. (London) **1956**, 1248.

<sup>11</sup>) L. L. FELLINGER u. F. L. AUDRIETH, J. Amer. chem. Soc. **60**, 579 (1938); L. F. AUDRIETH u. J. KLEINBERG, J. org. Chemistry **3**, 312 (1938).

<sup>12</sup>) S. L. JUNG, J. G. MILLER u. A. R. DAY, J. Amer. chem. Soc. **75**, 4664 (1953).

<sup>13</sup>) R. SCHWYZER, M. FEURER u. B. ISELIN, Helv. chim. Acta **38**, 83 (1955).

Einwirkung von Glycinäthylester auf Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlorphenylazo)-phenylester getroffen wurden.

Der Vergleich von Abb. 4 und Abb. 5 zeigt dabei eindeutig, daß auch hier eine Erhöhung der Aminolysegeschwindigkeit durch geringe Mengen Eisessig stattfindet.

### Beschreibung der Versuche

#### I. Darstellung der Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylester

0,02 Mol Cbo-Aminosäure werden in 70 cm<sup>3</sup> absolutem Tetrahydrofuran gelöst, mit 0,02 Mol (2,8 cm<sup>3</sup>) absolutem Triäthylamin versetzt und auf -15 °C abgekühlt. Nach Zusatz von 0,02 Mol (1,8 cm<sup>3</sup>) Chlorameisensäureäthylester wird nach 1/2-stündigem Rühren eine Lösung von 0,02 Mol Azofarbstoff in 70 cm<sup>3</sup> absolutem Tetrahydrofuran schnell hinzugefügt. Das Reaktionsgemisch wird nach jeweils einstündigem Rühren bei -15 °C und +20 °C wie üblich aufgearbeitet<sup>8</sup>). Die Reinigung erfolgt durch mehrmaliges Umfällen aus Tetrahydrofuran/Petroläther (Analysenwerte und Schmp. siehe Tab. 1, die Ausbeuten beziehen sich auf die Rohprodukte).

1. Cbo-Glycin-4-(phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 3,96 g 4-(Phenylazo)-phenol. Ausbeute: 84% d. Th., C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (389,4).

2. Cbo-Glycin-4-(2', 4'-dinitro-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 5,76 g 4-(2', 4'-Dinitro-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 86% d. Th., C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>N<sub>5</sub>O<sub>8</sub> (479,4).

3. Cbo-Glycin-4-(4'-nitro-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,86 g 4-(4'-Nitro-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 80% d. Th., C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (434,4).

4. Cbo-Glycin-4-(3'-nitro-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,86 g 4-(3'-Nitro-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 90% d. Th., C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (434,4).

5. Cbo-Glycin-4-(2'-nitro-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,86 g 4-(2'-Nitro-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 92% d. Th., C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>6</sub> (434,4).

6. Cbo-Glycin-4-(4'-methyl-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,24 g 4-(4'-Methyl-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 87% d. Th., C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (403,4).

7. Cbo-Glycin-4-(3'-methyl-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,24 g 4-(3'-Methyl-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 87% d. Th., C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (403,4).

8. Cbo-Glycin-4-(2'-methyl-phenylazo)-phenylester: Aus 4,2 g Cbo-Glycin und 4,24 g 4-(2'-Methyl-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 85% d. Th., C<sub>23</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (403,4).

5\*

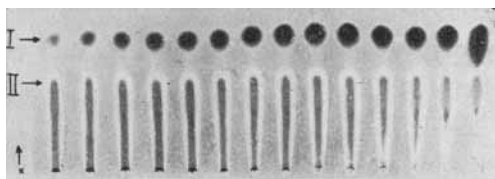


Abb. 4. Chromatographischer Nachweis der Umsetzung von Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester mit Glycinäthylester in Tetrahydrofuran. Dünnschichtmaterial: Kieselgel-G, Laufmittel: n-Hexan/Eisigester = 17:3, Steighöhe: 2×12 cm. I = bei der Aminolyse entstehendes 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol, II = Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester. 0,002 ml Reaktionsmischung von links nach rechts im Abstand von 5 Minuten aufgetragen

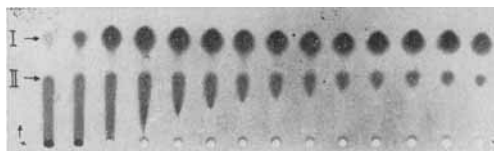


Abb. 5. Chromatographischer Nachweis der Umsetzung von Cbo-L-Alanin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester mit Glycin-äthylester in Tetrahydrofuran unter Zusatz von 2 Tropfen Eisessig. Bedingungen wie bei Abb. 4

9. Cbo-DL-Valin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester: Aus 5,0 g Cbo-DL-Valin und 4,64 g 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 74% d. Th.,  $C_{25}H_{24}N_3O_4Cl$  (465,9).

10. Cbo-Sarkosin-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester: Aus 4,46 g Cbo-Sarkosin und 4,64 g 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 86% d. Th.,  $C_{23}H_{20}N_3O_4Cl$  (437,9).

11. Cbo- $\alpha$ -Aminoisobuttersäure-4-(4'-chlor-phenylazo)-phenylester: Aus 4,8 g Cbo- $\alpha$ -Aminoisobuttersäure und 4,64 g 4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol. Ausbeute: 77% d. Th.,  $C_{24}H_{22}N_3O_4Cl$  (451,9).

## II. Bestimmung der Extinktionskoeffizienten

Da zur Bestimmung der Aminolyseumsätze die Konzentrationszunahme der freien Azofarbstoffe spektralphotometrisch ermittelt wurde, war es nötig, deren molare Extinktionskoeffizienten ( $\epsilon$ ) bei charakteristischen Wellenlängen (Absorptionsmaxima) zu bestimmen. Dazu wurden die Absorptionsspektren der Azofarbstoffe im sichtbaren Bereich mit Hilfe des Universalspektrophotometers der Fa. VEB Carl Zeiss, Jena, aufgenommen und die Wellenlängen, bei denen eine maximale Absorption stattfindet, ermittelt. Die Extinktionsmessungen wurden dann bei Farbstoffkonzentrationen von  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/l,  $0,5 \cdot 10^{-4}$  Mol/l und  $0,33 \cdot 10^{-4}$  Mol/l in absolutem Tetrahydrofuran, gegenüber absolutem Tetrahydrofuran als Blindwert, durchgeführt. Tab. 2 gibt eine Übersicht über die daraus ermittelten molaren Extinktionskoeffizienten der 4-(Phenylazo)-phenole.

Tabelle 2

Farbstoff	Schmp.	$\epsilon$ [l · Mol <sup>-1</sup> · cm <sup>-1</sup> ]	log $\epsilon$	Wellenlänge [nm]	Lit.
4-(2',4'-Dinitro-phenylazo)-phenol	185°	$0,854 \cdot 10^4$	3,9315	422	14)
4-(4'-Nitro-phenylazo)-phenol	218—220°	$0,858 \cdot 10^4$	3,9335	414	15)
4-(3'-Nitro-phenylazo)-phenol	146—147°	$0,652 \cdot 10^4$	3,8142	450	15)
4-(2'-Nitro-phenylazo)-phenol	157°	$0,892 \cdot 10^4$	3,9504	385	16)
4-(4'-Methyl-phenylazo)-phenol	154—156°	$0,937 \cdot 10^4$	3,9717	373	17)
4-(3'-Methyl-phenylazo)-phenol	143—145°	$0,835 \cdot 10^4$	3,9217	372	18)
4-(2'-Methyl-phenylazo)-phenol	103°	$0,863 \cdot 10^4$	3,9360	375	18)
4-(4'-Chlor-phenylazo)-phenol	162°	$0,876 \cdot 10^4$	3,9425	384	20)
4-(Phenylazo)-phenol	136°	$0,950 \cdot 10^4$	3,9777	372	21)

## III. Durchführung der Aminolysemessungen

Jeweils 0,002 Mol Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylester werden in 20 cm<sup>3</sup> absolutem Tetrahydrofuran gelöst und mit 0,002 Mol frisch destilliertem Benzylamin versetzt.

14) W. BORSCHÉ, Liebigs Ann. Chem. **357**, 180 (1907).

15) E. NOELTING, Ber. dtsch. chem. Ges. **20**, 2997 (1887).

16) E. ELBS u. W. KEIPER, J. prakt. Chem. (2) **67**, 581 (1903).

17) E. GRANDMOUGIN u. H. FREIMANN, J. prakt. Chem. (2) **78**, 392 (1908).

18) R. PAGANINI, Ber. dtsch. chem. Ges. **24**, 368 (1891).

19) E. NOELTING u. P. WAGNER, Ber. dtsch. chem. Ges. **23**, 3257 (1890).

20) J. T. HEWITT, Ber. dtsch. chem. Ges. **26**, 2978 (1893).

21) G. ODDO u. E. PUXEDDU, Ber. dtsch. chem. Ges. **38**, 2755 (1905).



In Zeitabständen von 10 Minuten werden dem Reaktionsansatz mit Hilfe einer Mikropipette 0,002 cm<sup>3</sup> Reaktionsflüssigkeit entnommen und auf einer Dünnschichtplatte (Kieselgel-G), wie bereits beschrieben, aufgetragen und entwickelt<sup>4</sup>). Die von den Cbo-Aminosäure-4-(phenylazo)-phenylestern getrennten freien Azofarbstoffe werden gemeinsam mit dem Absorptionsmittel vorsichtig von der Glasplatte abgekratzt, quantitativ in ein Reagenzglas überführt und anschließend mit 2,5 cm<sup>3</sup> absolutem Tetrahydrofuran eluiert. Nach vorsichtiger Filtration werden die klaren Farbstofflösungen in Küvetten vom Durchmesser 0,5 cm gefüllt und deren Extinktionen gegenüber absolutem Tetrahydrofuran (Blindwert), das mit farbstofffreiem Dünnschichtplattenmaterial analog wie oben behandelt wurde, im Universalspektrophotometer der Fa. VEB Carl Zeiss, Jena, vermessen. Die Bestimmung der jeweiligen Farbstoff- bzw. Esterkonzentration erfolgte nach dem LAMBERT-BEERSchen Gesetz. Die Reaktionsgeschwindigkeitskonstanten wurden anschließend graphisch (Abb. 1–3) ermittelt.

Herrn Professor Dr. G. LOSSE danken wir für sein förderndes Interesse an dieser Arbeit.

Halle/Saale, Institut für Organische Chemie der Martin-Luther-Universität.

Bei der Redaktion eingegangen am 28. Juli 1965.