l'hydroquinone, surtout aux fortes dilutions d'ozone; cette action ne va cependant pas jusqu'à la suppression complète de l'effet catalytique exercé par l'ozone.

RÉSUMÉ.

A l'aide d'un appareillage convenablement agencé et de méthodes de mesures appropriées, nous avons étudié l'action catalytique d'oxydation exercée par l'ozone sur les aldéhydes propionique, butyrique et isobutyrique.

Comparant les résultats obtenus en se servant, comme dissolvants, du tétrachlorure de carbone et de l'eau, il a été reconnu que l'effet se produit aussi pour ce dernier dissolvant; mais il est beaucoup moins marqué et ne commence à se manifester qu'à des dilutions plus fortes de l'ozone dans l'oxygène.

Les actions superficielles, telles qu'on les a fait intervenir, n'ont pas produit de changement bien marqué sur la marche de l'oxydation qui s'accomplit par conséquent en majeure partie à l'intérieur de la solution.

En ajoutant aux solutions aqueuses d'aldéhydes un corps antioxygène, comme l'hydroquinone, on a constaté une diminution notable de l'effet, qui ne va cependant pas jusqu'à la suppression de l'action catalytique.

Toutes ces constatations militent en faveur d'une interprétation du phénomène, basée sur un mécanisme de réaction en chaînes du type de ceux qui ont été envisagés pour expliquer l'autoxydation des aldéhydes par l'oxygène seul.

Laboratoires de Chimie technique, théorique et d'Electrochimie de l'Université de Genève.

---

5. Einwirkungsprodukte des Azobenzol-4-carbonsäurechlorids auf α-Aminocarbonsäuren und deren Ester

von **P. Karrer, R. Keller** und **G. Szönyi.**

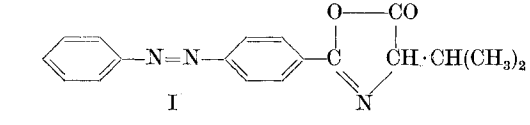
(1. XII. 42.)

Azobenzol-carbonsäure hat in den letzten Jahren wiederholt zur Veresterung von Verbindungen mit Hydroxylgruppen gedient, einerseits um solche Stoffe in schwer lösliche, gut charakterisierte Derivate überzuführen, andererseits um sie in Form dieser farbigen Ester im Chromatogramm leichter trennen zu können[1]).

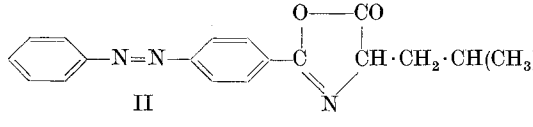
[1]) Siehe *Watroslav S. Reich*, C. r. **208**, 748 (1939). — *K. Freudenberg* und *H. Boppel*, B. **73**, 609 (1940). — *K. Freudenberg* und *E. Plankenhorn*, B. **73**, 621 (1940). — *K. Freudenberg* und *G. Hüll*, B. **74**, 237 (1941).

Wir haben eine Reihe von Aminosäuren in die N-Acylderivate überzuführen versucht, in denen der Acylrest derjenige der Azobenzolcarbonsäure ist. Dabei leitete uns die Hoffnung, in den Estern dieser N-Acylverbindungen Stoffe zu finden, die sich chromatographisch leicht trennen lassen. Die Trennung von Aminosäuregemischen ist auch heute verbesserungsbedürftig, besonders wenn es sich um kleine Mengen handelt. Vor dieses Problem sahen wir uns gestellt, als es sich darum handelte, die Aminosäuren in dem hochgereinigten Anti-perniciosa-Faktor zu bestimmen.

Zuerst versuchten wir, die Acylierung der Aminosäuren mit dem Chlorid der Azobenzol-carbonsäure nach dem *Schotten-Baumann*'schen Verfahren auszuführen: die wässerige Lösung der Aminosäure wurde bei Gegenwart von 1 bis 2 Äquivalenten Natronlauge mit der Lösung des Säurechlorids in Äther geschüttelt. Dabei bildeten sich aus Glykokoll, Alanin, Valin und Leucin die gewünschten N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren in leidlichen Ausbeuten. Die Reaktion verläuft aber keineswegs einheitlich. Neben den N-Acylaminosäuren fand sich in der Reaktionsmasse stets etwas unverbrauchtes Säurechlorid vor, ferner etwas Anhydrid der Azobenzol-carbonsäure und im Fall der Valins und Leucins auch das „Lacton" der N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäure, d. h. das 4-Isopropyl-2-[p-phenyl-azophenyl]-oxazolon-5 (I) bzw. das 4-Isobutyl-2-[p-phenyl-azophenyl]-oxazolon-5 (II).



I

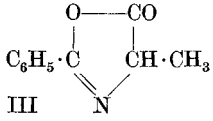


II

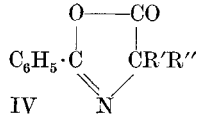
Diese beiden Verbindungen entsprechen bezüglich ihrer Konstitution den sog. „Lactonen" benzoylierter Aminosäuren, die *E. Mohr*[1]) vor längerer Zeit aus benzoylierten Aminosäuren durch Kochen mit Essigsäure-anhydrid und Natriumacetat erhalten hatte, z. B. dem „Benzoyl-alanin-lacton" III und vielen anderen vom Typus IV. Nur aus Benzoyl-glykokoll konnte das entsprechende Anhydrid V von *Mohr* nicht dargestellt werden; es ist zu reaktionsfähig, um auf diesem Weg gefasst werden zu können. Diese Verbindung wurde von dem einen von uns mit *R. Widmer* und *G. Bussmann* später[2]) auf

[1]) J. pr. [2] **81**, 49, 478 (1910); B. **42**, 2511 (1909).
[2]) Helv. **24**, 645 (1941). Vgl. auch Helv. **8**, 203 (1925).

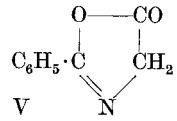
ganz andere Weise, nämlich durch Einwirkung von Diazomethan auf Hippursäurechlorid erhalten.



III



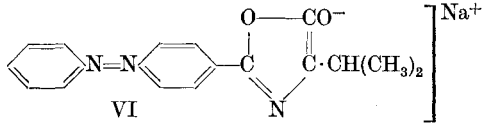
IV



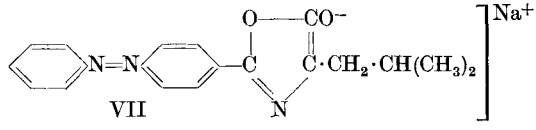
V

Bemerkenswert ist die Leichtigkeit, mit der die Anhydride I und II des N-p-Phenyl-azobenzoyl-valins und N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucins entstehen, wird ihre Bildung doch schon in wässerig-alkalischer Lösung beobachtet. Bei der Einwirkung von Azobenzolcarbonsäurechlorid auf *Glykokoll* in wässeriger Lösung konnten wir das Auftreten des entsprechenden Anhydrids bisher nicht nachweisen; es entspricht dies der schwierigeren Zugänglichkeit des Hippursäureanhydrids V.

Die beiden Anhydride des N-p-Phenyl-azobenzoyl-valins und N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucins (Formel I und II) lösen sich in Alkali mit tief violetter Farbe. Das beruht zweifellos auf der Bildung der Enolate VI bzw. VII, die ein langes System konjugierter Bindungen enthalten und daher tief farbig sind:

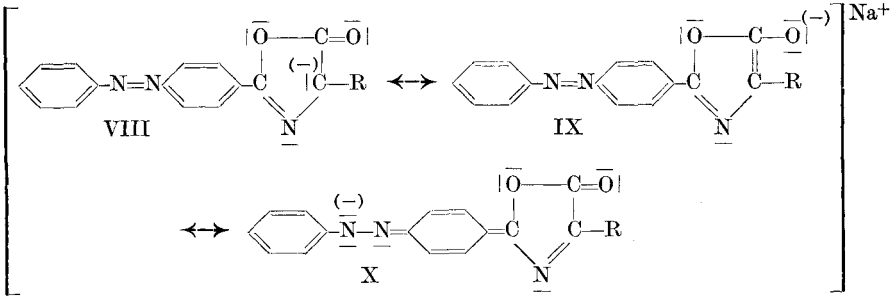


VI



VII

Nach der Mesomerie-Lehre kann die tiefe Farbe dieser Salze auch auf das Vorliegen eines Gleichgewichtes zwischen den elektromeren Formel VIII, IX und X zurückgeführt werden:



VIII IX X

Beide Säure-anhydride I und II sind optisch inaktiv, auch wenn sie aus optisch aktivem Valin bzw. Leucin gewonnen werden. Man darf daraus den Schluss ziehen, dass sie weitgehend enolisiert vor-

liegen oder zumindest Enol- und Carbonylform im Gleichgewicht stehen. Durch Verseifung der beiden Anhydride bilden sich die optisch inaktiven N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren. So kommt es, dass wir bei der Acylierung des *l*-Valins neben dem optisch aktiven N-p-Phenyl-azobenzol-*l*-valin auch das Racemat erhielten und beim Umsatz des Azobenzoyl-carbonsäurechlorids mit *l*-Leucin nur das optisch inaktive N-p-Phenyl-azobenzoyl-*d,l*-leucin gefasst werden konnte. Allem Anschein nach ist dieses unter den gewählten Versuchsbedingungen über die Anhydridform gebildet worden.

Die Uneinheitlichkeit des Reaktionsverlaufes bei der Acylierung der Aminosäuren in wässerig-alkalischer Lösung mit Azobenzolcarbonsäurechlorid veranlasste uns, die gewünschten Verbindungen durch Acylierung der Aminosäure-*ester* in Pyridin darzustellen. Diese Reaktionen verlaufen ziemlich glatt und führen zu den optisch aktiven Formen der N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäure-methylester. Diese rötlich- bis bräunlichgelb gefärbten Verbindungen sind gut krystallisierte, in Wasser unlösliche, in vielen organischen Lösungsmitteln mehr oder weniger leicht lösliche Verbindungen. Im experimentellen Teil finden sich die betreffenden Derivate des Leucins, Valins, Alanins, Glykokolls, Phenylalanins, Methionins, Prolins, der Asparaginsäure und der Glutaminsäure beschrieben. Einige dieser Methylester wurden auch durch Umsatz der entsprechenden N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren mit Diazomethan dargestellt.

Die chromatographische Trennung von Gemischen solcher N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäure-methylester ist ohne besondere Schwierigkeiten möglich. So haben wir z. B. eine Mischung von je 50 mg der vier Verbindungen:

N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokoll-methylester
N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-alanin-methylester
N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester
N-p-Phenyl-azobenzoyl-*d,l*-leucin-methylester

aus Ligroin-Benzollösung in einer Adsorptionssäule von basischem Zinkcarbonat chromatographisch getrennt. Zuoberst lag das Glykokollderivat, dann folgte die Alaninverbindung, hierauf diejenige des Leucins und zu unterst lag der N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester. Da wir erwartet hatten, das Valinderivat über dem Leucinderivat im Chromatogramm zu finden, haben wir eine weitere chromatographische Trennung durchgeführt, zu der eine Mischung diente, die nur die *l*-Valin- und die *l*-Leucinverbindung enthielt. Auch in diesem Chromatogramm fanden sich die beiden Substanzen in der gleichen Reihenfolge (Leucinderivat oben, Valinverbindung unten).

Ein weiteres Beispiel der Trennung zweier Aminosäuren ist die Zerlegung eines Leucin- und Phenylalanin-Gemisches über die N-p-Phenyl-azobenzoyl-derivate. Diese beiden Aminosäuren können durch fraktionierte Krystallisation in kleinen Mengen nicht sehr leicht ge-

trennt werden, da ihre Löslichkeiten ähnlich sind. Im Zinkcarbonat-Chromatogramm ist die Zerlegung des Gemisches von N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-phenylalanin-methylester und N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucinester möglich; die erstere Verbindung liegt im Chromatogramm oben, die letztere unten.

Die folgende Tabelle enthält die Schmelzpunkte der bis jetzt hergestellten N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäure-methylester:

N-p-Phenyl-azobenzoyl-derivat des	Schmelzpunkt
Glykokoll-methylesters	128°
l(+)-Alanin-methylesters	148°
l-Valin-methylesters	138°
l-Leucin-methylesters	104°
l-Phenylalanin-methylesters	145—146°
l-Prolin-methylesters	125—126°
l-Asparaginsäure-methylesters	148—150°
l-Glutaminsäure-methylesters	126—128°
d,l-Methionin-methylesters	118—119°

Experimenteller Teil.

1. Umsatz von Azobenzol-carbonsäurechlorid mit *l*-Valin.

Eine Lösung von 1 g *l*-Valin in 4,27 cm³ 2-n. Natronlauge wurde mit einer solchen von 2,09 g Azobenzol-carbonsäurechlorid in 40 cm³ Äther zusammengebracht und die Mischung 2 Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Hierauf trennte man die ätherische (A) und die wässerige (B) Phase, schüttelte letztere noch mehrmals mit Äther aus, vereinigte diese ätherischen Extrakte mit der Hauptätherschicht und schüttelte diese zur Entfernung saurer Verbindungen zweimal mit je 2 cm³ 0.1-n. wässeriger Natronlauge aus. Dabei trat starke Violettfärbung auf, herrührend von der Bildung einer kleinen Menge des Natriumsalzes des N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin-lactons.

Die Ätherlösung blieb hierauf zur Zerstörung noch vorhandenen Azobenzol-carbonsäurechlorids 48 Stunden über Wasser stehen, wurde dann eingedampft und der Rückstand mit viel Petroläther ausgekocht. Aus dem auf 600 cm³ konzentrierten Petrolätherextrakt schied sich eine geringe Menge von Krystallen ab, die wir nicht genauer untersuchten. Sie wurden abgetrennt und das Filtrat auf 20 cm³ eingeengt, worauf beim Aufbewahren in Eis-Kochsalzmischung N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin-lacton auskrystallisierte. Dieses schmolz nach dem Umkrystallisieren aus Petroläther und hierauf aus verdünntem Alkohol bei 115°.

$C_{18}H_{17}O_2N_3$ Ber. C 70,33 H 5,57 N 13,68%
Gef. „ 70,39 „ 6,09 „ 13,14%

Die Substanz bildet tiefviolett gefärbte Alkalisalze.

Aus den Mutterlaugen, aus denen sich das Lacton abgeschieden hatte, konnten wir in einem Ansatz keine anderen Verbindungen in reiner Form isolieren, bei einem zweiten Versuch liessen sich daraus geringe Mengen optisch inaktives N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin gewinnen.

Die wässerige Schicht (B), die neutral reagierte, haben wir mit Salzsäure kongosauer gemacht, wobei ein Niederschlag ausfiel. Dasselbe geschah mit den 4 cm³ 0.1-n. Natronlauge, die zum Waschen der Ätherphase (A) gedient hatten. Die Niederschläge haben wir vereinigt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und hierauf in 200 cm³ kochendem Benzol gelöst. Beim Abkühlen dieser Lösung fiel etwas Azobenzol-carbonsäure aus, die nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol bei 241° schmolz. Ausbeute 0,42 g.

Aus der von Azobenzol-carbonsäure befreiten Benzollösung schieden sich nach dem Einengen auf 30 cm³ 0,8 g einer Verbindung aus, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren aus Benzol bei 157—159° schmolz und sich als optisch aktives N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin erwies.

$C_{18}H_{19}O_3N_3$ Ber. C 66,44 H 5,89 N 12,92%
Gef. „ 66,32 „ 5,78 „ 12,90%

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{-0{,}53 \times 10{,}471}{1 \times 0{,}789 \times 0{,}1560} = -44{,}85^0 \text{ (in Äthylalkohol)}$$

Schliesslich wurden aus der Benzol-Mutterlauge, aus der sich die vorgenannte Verbindung abgeschieden hatte, nach weiterem Einengen und sorgfältiger fraktionierter Krystallisation 0,1 g optisch inaktives (racemisches) N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin erhalten, das sich durch Verseifung aus dem N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin-lacton gebildet hatte. Smp. 229—230°.

$C_{18}H_{19}O_3N_3$ Ber. C 66,44 H 5,89 N 12,92%
Gef. „ 66,62 „ 6,09 „ 13,03%

Dieselbe Verbindung stellten wir auch aus dem N-p-Phenyl-azobenzoylvalin-lacton her, indem wir 50 mg desselben in 15 cm³ Alkohol lösten und mit der fünffach molaren Menge wässeriger Natronlauge versetzten. Die tiefe Violettfärbung, herrührend von der Bildung des Lacton-natriumsalzes, war nach ca. 1 Stunde verblasst. Nach 1½ Stunden haben wir die Lösung mit Salzsäure angesäuert, das ausgefällte racemische N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin abgenutscht und aus Alkohol umkrystallisiert.

Die Reaktionsbedingungen beim Umsatz von Azobenzolcarbonsäurechlorid mit Valin wurden mehrfach variiert. So haben wir in einem Ansatz die beiden Lösungen, welche die genannten Stoffe enthielten, nicht 2, sondern 15 Stunden auf der Maschine geschüttelt und die zur Bindung der Salzsäure notwendige Menge Natronlauge in kleinen Portionen innerhalb mehrerer Stunden zugefügt. Durch diese

Modifikation wird vermieden, dass die Lösung zeitweise stärker alkalisch wird. Dies wirkt sich in günstigem Sinn auf die Ausbeute an N-p-Phenyl-azobenzoyl-valin-lacton aus, da dieses dann weniger der Verseifung anheimfällt.

2. Umsatz von Azobenzol-carbonsäurechlorid mit *l*-Leucin.

1 g *l*-Leucin wurde mit 10 cm³ Wasser übergossen, mit 0,4 cm³ 2-n. Natronlauge versetzt und diese Lösung aufgekocht. Beim Erkalten schied sich ein Teil des gelösten Leucins wieder aus. Diese Aufschlämmung wurde mit einer Lösung von 1,87 g Azobenzolcarbonsäurechlorid in 40 cm³ Äther 4 Stunden auf der Maschine geschüttelt, wobei man viertelstündlich je 0,3 cm³ 2-n. Natronlauge zugab, bis die berechnete Menge (1 Äquivalent) zugesetzt war.

Nach der Abtrennung der ätherischen Phase (A) von der wässerigen (B) haben wir erstere mit einigen cm³ 0.05-n. Natronlauge in mehreren Portionen ausgeschüttelt. Der alkalische Extrakt färbte sich dabei gelb; dies rührte von der als Natriumsalz in Lösung gehenden Azobenzol-carbonsäure her, die vorher als Chlorid in der ätherischen Schicht vorhanden gewesen war.

Aus der Ätherlösung liess sich nur etwas Azobenzol-carbonsäure isolieren. Die davon befreiten Mutterlaugen wurden eingedampft und der Rückstand (C) chromatographiert (siehe unten).

Die wässerige Phase (B) gab beim Ansäuern einen Niederschlag, den wir der fraktionierten Krystallisation aus Benzol unterwarfen. Dabei wurden erhalten:

1. 0,5 g Azobenzol-carbonsäure.

2. N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucin, 0,9 g. Nach öfterem Umkrystallisieren lag dessen Schmelzpunkt bei 173°. Die Verbindung war optisch inaktiv.

$C_{19}H_{21}O_3N_3$	Ber. C 67,23	H 6,24	N 12,38%
	Gef. „ 67,35	„ 6,43	„ 12,28%

3. Mutterlaugen, die man eindampfte und deren Eindampfungsrückstand zusammen mit dem oben erwähnten Rückstand (C) einer chromatographischen Reinigung an Zinkcarbonat unterzogen wurde (Lösungsmittel und Entwicklungsflüssigkeit Benzol). Das Chromatogramm zeigte mehrere Zonen, enthielt aber wenig Substanz. Aus der obersten Schicht wurde etwas N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucin isoliert. Der Durchlauf enthielt die Hauptmenge des Materials. Wir haben ihn eingedampft, den Rückstand in Petroläther gelöst, aus dem allmählich das N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucin-lacton auskrystallisierte. Ausbeute 25 mg. Smp. 147°.

$C_{19}H_{19}O_2N_3$	Ber. C 71,00	H 5,97	N 13,08%
	Gef. „ 71,32	„ 5,76	„ 12,98%

3. Umsatz von Azobenzol-carbonsäurechlorid mit Glykokoll.

Die Lösung von 1 g Glykokoll in ca. 5,4 cm³ wässeriger Natronlauge, die 1 Äquivalent NaOH auf 1 Mol Glykokoll enthielt, wurde mit der Lösung von 3,26 g Azobenzol-carbonsäurechlorid in 50 cm³ Äther 1½ Stunden auf der Maschine geschüttelt. Dann gab man in 5 Anteilen im Verlauf von 4 Stunden 1 weiteres Äquivalent Natronlauge hinzu und schüttelte im ganzen 7 Stunden. Hierauf säuerte man die neutral gewordene wässerige Lösung mit Salzsäure an, nutschte die in der Flüssigkeit suspendierte feste Substanz ab und trennte im Filtrat Ätherschicht und wässerige Phase. Die wässerige Flüssigkeit haben wir verworfen, die Ätherlösung zur Trockene eingedampft und den Rückstand mit dem abgenutschten, getrockneten Niederschlag vereinigt. Die festen Anteile wurden hierauf mit Petroläther ausgekocht, wobei nicht in Reaktion getretenes Azobenzol-carbonsäurechlorid in Lösung ging, das aus dem Petrolätherextrakt krystallisiert isoliert werden konnte. Den in Petroläther unlöslichen Anteil des Rückstandes kochte man dann mit 200 cm³ Benzol aus, wodurch etwas vorhandene Azobenzol-carbonsäure entfernt wurde. Der in Benzol unlösliche Rückstand liess sich aus Alkohol umkrystallisieren. Die hell rotgelbe Verbindung schmilzt nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 225° und ist nach der Analyse das N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokoll. Ausbeute ca. 2,9 g.

$C_{15}H_{13}O_3N_3$	Ber. C 63,58	H 4,62	N 14,8%
	Gef. „ 63,89	„ 4,63	„ 14,5%

Das Lacton des N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokolls liess sich bei dieser Arbeitsweise in keiner Fraktion mit Sicherheit nachweisen, obwohl es durch die violette Farbreaktion mit Alkalien leicht hätte gefunden werden müssen, sofern es vorhanden gewesen wäre.

4. Umsatz von Azobenzol-carbonsäurechlorid mit *l*(+)-Alanin.

Die Einwirkung des Säurechlorids auf Alanin und die Aufarbeitung der Reaktionsmischung geschahen im wesentlichen in gleicher Weise wie beim Versuch mit Valin.

Man schüttelte eine Lösung von 1 g *l*-Alanin in 4,6 cm³ Natronlauge, die 1 Äquivalent NaOH auf 1 Mol Alanin enthielt, mit einer Lösung von 2,75 g Azobenzol-carbonsäurechlorid in 40 cm³ Äther 2 Stunden auf der Maschine. Trennung der wässerigen und der ätherischen Phase. Aus der Ätherlösung liess sich nur das nicht in Reaktion getretene Azobenzol-carbonsäurechlorid isolieren, ferner einige mg eines Stoffes, der wahrscheinlich nicht ganz reines Azobenzol-carbonsäure-anhydrid war. Dagegen konnten wir kein Lacton des N-p-Phenyl-azobenzoyl-alanins finden.

Aus der wässerigen Phase schied sich beim Ansäuern mit Salzsäure ein Niederschlag ab, der abgenutscht, gewaschen, getrocknet, mit Schwefelkohlenstoff extrahiert und dann zuerst aus 150 cm³ Alkohol, hierauf wiederholt aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert wurde. Man erhielt so 0,8 g glänzende, rotgelbe Blättchen des *l*(+)-N-p-Phenyl-azobenzoyl-alanins. Smp. 220°.

$C_{16}H_{15}O_3N_3$ Ber. C 64,7 H 5,07 N 14,17%
Gef. „ 64,83 „ 5,15 „ 14,18%

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{+0{,}50 \times 14{,}808}{1 \times 0{,}1702 \times 0{,}794} = +55{,}07^0 \text{ (Lösungsmittel Aceton)}$$

5. Überführung der N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren in ihre Methylester.

Die Überführung der vorbeschriebenen N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren in ihre Methylester erfolgte mit Diazomethan. Man suspendiert ca. 0,5 g der Säure in 10 cm³ Äther, fügt einen Überschuss ätherischer Diazomethanlösung hinzu und lässt ca. 1½ Stunden in der Kälte stehen. Die Veresterung vollzieht sich unter vorübergehender Auflösung des Aminosäurederivates leicht, worauf die gebildeten Ester wieder auskrystallisieren.

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester. Umkrystallisation aus verdünntem Methanol. Bräunlichgelbe Krystallnadeln, Smp. 138°.

$C_{19}H_{21}O_3N_3$ Ber. C 67,23 H 6,23 OCH_3 9,14%
Gef. „ 67,12 „ 6,08 „ 9,64%

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{-0{,}48 \times 5{,}746}{1 \times 0{,}794 \times 0{,}0904} = -38{,}4^0 \text{ (Lösungsmittel Aceton)}$$

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*d,l*-leucin-methylester. Krystallisation aus Methanol. Gelbbräunliche Blättchen. Smp. 133°.

$C_{20}H_{23}O_3N_3$ Ber. C 67,95 H 6,56 OCH_3 8,79%
Gef. „ 67,35 „ 6,35 „ 9,14%

Diese Verbindung ist optisch inaktiv, da zur Veresterung racemisches N-p-Phenyl-azobenzoyl-leucin gedient hatte.

N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokoll-methylester. Smp. 118°

$C_{16}H_{15}O_3N_3$ Ber. C 64,63 H 5,09 OCH_3 10,45%
Gef. „ 65,03 „ 5,26 „ 10,6%

(+)N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-alanin-methylester. Krystallisation aus Methanol. Smp. 148°. Bräunliche, glänzende Nädelchen.

$C_{17}H_{17}O_3N_3$ Ber. C 65,57 H 5,51 OCH_3 9,97%
Gef. „ 65,43 „ 5,71 „ 9,91%

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{+0{,}55 \times 6{,}067}{1 \times 0{,}794 \times 0{,}1093} = +38{,}4^0 \text{ (Lösungsmittel Aceton)}$$

Einwirkung von Azobenzol-carbonsäurechlorid auf Aminosäure-methylester.

Da die Acylierung der Aminosäuren mit Azobenzol-carbonsäurechlorid nach der *Schotten-Baumann*'schen Methode nicht einheitlich verläuft und neben den optisch aktiven N-p-Phenyl-azobenzoyl-aminosäuren die entsprechenden racemischen Verbindungen und ihre Lactone lieferte, wurden im späteren Verlauf der Arbeit die Aminosäure-ester mit Azobenzol-carbonsäurechlorid in Pyridin acyliert. Die Durchführung des Verfahrens wird am Beispiel des Leucins beschrieben. Bei anderen Aminosäuren gestaltete sich die Arbeitsweise ähnlich.

Das aus 0,9 g *l*-Leucin wie üblich mit Methanol und Chlorwasserstoff hergestellte *l*-Leucin-methylester-hydrochlorid wurde in 13 cm³ trockenem Pyridin durch Erwärmen gelöst und hierauf in die Lösung bei 40—60° in kleinen Portionen 1,9 g p-Azobenzol-carbonsäurechlorid eingetragen. Die rotgefärbte Flüssigkeit wurde 2 Stunden bei 60° gehalten, hierauf mit Wasser versetzt und in mehreren Anteilen mit 150 cm³ Benzol extrahiert. Die vereinigten Benzolauszüge haben wir mehrmals mit 0.05-n. Natronlauge, hierauf mit Wasser gewaschen und zur Trockene eingedampft. Der zurückgebliebene Rückstand wurde mehrmals mit viel Petroläther ausgekocht, wobei sich N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-leucin-methylester auflöste und etwas Azobenzol-carbonsäure-anhydrid ungelöst zurückblieb.

Beim Einengen der Petrolätherauszüge krystallisierte der N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-leucin-methylester aus. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren schmolz er bei 104°.

$C_{20}H_{23}O_3N_3$ Ber. C 67,95 H 6,56 OCH_3 8,79%
Gef. „ 67,59 „ 6,56 „ 9,32%

$$[\alpha]_D^{15} = \frac{+0{,}19 \times 11{,}176}{1 \times 0{,}794 \times 0{,}1180} = +22{,}6^0 \text{ (Lösungsmittel Aceton)}$$

In analoger Art stellten wir aus den entsprechenden Aminosäure-methylester-hydrochloriden folgende Verbindungen her:

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-glutaminsäure-methylester, Smp. 126—128°.

$C_{20}H_{21}O_5N_3$ Ber. C 62,64 H 5,52 N 10,9%
Gef. „ 62,56 „ 5,50 „ 11,08%

$[\alpha]_{608}^{15} = -11{,}6^0$ (Lösungsmittel Aceton)

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-phenylalanin-methylester. Smp. 145—146°.

$C_{23}H_{21}O_3N_3$ Ber. C 71,30 H 5,46 N 10,85 OCH_3 8,01%
Gef. „ 71,37 „ 5,3 „ 10,89 „ 8,34%

$[\alpha]_{608}^{15} = -99{,}2^0$ (Lösungsmittel Aceton)

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-asparaginsäure-methylester.
Smp. 148—150°.

$C_{19}H_{19}O_5N_3$ Ber. C 61,77 H 5,19 N 11,3 OCH_3 16,8%
Gef. „ 61,63 „ 5,38 „ 11,21 „ 15,7%

$[\alpha]_{608}^{14} = -17{,}3^0$ (in Aceton)

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-methionin-methylester.
Smp. 118—119°.

$C_{19}H_{21}O_3N_3S$ Ber. C 61,42 H 5,71 N 11,3 OCH_3 16,66%
Gef. „ 61,35 „ 6,02 „ 11,5 „ 16,58%

$$[\alpha]_{608}^{12} = \frac{-0{,}22 \times 10{,}1506}{1 \times 0{,}792 \times 0{,}1032} = -27{,}32^0$$ (Lösungsmittel Aceton)

N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-prolin-methylester.
Smp. 125—126°.

$C_{19}H_{19}O_3N_3$ Ber. C 67,63 H 5,69%
Gef. „ 67,84 „ 5,65%

$$[\alpha]_{627}^{12} = \frac{-0{,}26 \times 11{,}21}{1 \times 0{,}792 \times 0{,}1014} = -36{,}27^0$$ (Lösungsmittel Aceton)

Chromatographische Trennung eines Gemisches von N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokoll-methylester, N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-alanin-methylester, N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester und N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-leucin-methylester.

Von den untersuchten Adsorbentien: Calciumhydroxyd, Aluminiumoxyd und basisches Zinkcarbonat bewährte sich letzteres für unseren Zweck am besten. Als Entwicklungsflüssigkeit benützten wir nach verschiedenen Vorversuchen eine Mischung von 95% Ligroin (Sdp. 70—80°) und 5% Benzol.

Man löste je 50 mg der im Titel genannten 4 Methylester zusammen in 10 cm^3 Benzol auf. Die Adsorptionssäule von basischem Zinkcarbonat war 50 cm lang und hatte den Durchmesser 26 mm. Sie wurde mit 70 cm^3 Benzol vorgewaschen. Hierauf goss man die 10 cm^3 Benzollösung der 4 Aminosäurederivate ein und entwickelte das Chromatogramm durch Nachwaschen mit 430 cm^3 einer Mischung von Ligroin und Benzol (5% Benzol).

Nach der Entwicklung liessen sich im Chromatogramm deutlich vier gefärbte Zonen erkennen, die durch wenig gefärbte Schichten getrennt waren:

1. (Oberste) Farbzone, 3,5 cm lang, ergab bei der Elution mit verdünnter Natronlauge und Ansäuern der Lösung wenig N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokoll. Es hatte sich vielleicht erst bei der Elution aus dem Ester durch die Einwirkung der Lauge gebildet. Smp. 218°.

2. Farbzone. 10 cm lang. Elution mit Benzol, Eindampfen der Benzollösung, Auskochen des krystallisierten Rückstandes mit

Petroläther. Die Verbindung ist fast schmelzpunktreiner N-p-Phenyl-azobenzoyl-glykokollester (Smp. 118°, Mischschmelzp. 120—122°).

3. Farbzone, 8,5 cm lang. Elution mit Benzol, Krystallisation des Benzollösungsrückstandes aus Petroläther. Die Verbindung ist N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-alanin-methylester, Smp. 144°, Mischschmelzp. 144°.

4. Farbzone, 13 cm lang, wurde zur Elution in zwei Teile aufgeteilt. Aus dem oberen Teil liess sich durch Eindampfen der Elutionslösung zur Trockene, anschliessendem Waschen des Rückstandes mit wenig Petroläther und zweimaligem Umkrystallisieren aus Petroläther N-p-Phenyl-azobenzoyl-*d,l*-leucin-methylester isolieren. Smp. 127°, Mischschmelzp. 127—129°.

Der untere Teil der 4. Farbzone erwies sich als nicht einheitlich. Dieses Substanzgemisch wurde daher nach der Elution einer zweiten chromatographischen Trennung an basischem Zinkcarbonat unterworfen. Hierbei erfolgte Aufteilung in zwei Schichten, eine obere, ca. 7 cm lange, und eine untere, ca. 10 cm lange. Die untere Schicht gab nach der Elution mit Benzol, Verdampfen der Benzollösung und Waschen des Rückstandes mit wenig Petroläther einen ungelösten, krystallisierten Anteil, den man aus Petroläther umkrystallisierte. Schmelzpunkt (138°) und Mischschmelzpunkt (138°) zeigten, dass es sich um N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester handelte.

Die 7 cm lange obere Chromatogrammschicht war farbstoffarm; sie enthielt Reste des Leucinderivates (N-p-Phenyl-azobenzoyl-*d,l*-leucin-methylester).

Zur Identifizierung der chromatographisch getrennten 4 Verbindungen wurden die isolierten Fraktionen jeweilen mit den 4 reinen Substanzen bezüglich der Mischschmelzpunkte geprüft. Dabei ergaben sich folgende Feststellungen:

Derivat des	Smp. der reinen Verbindung	Smp. der isolierten Verbindung	Mischschmelzpunkt mit dem reinen Derivat des	
Glykokolls	128°	118°	Glykokolls	120—122°
			Alanins	von 115° an
			Leucins	ca. 100°
			Valins	von 110° an
l-Alanins	148°	144°	Alanins	144°
			Leucins	von 105° ab
			Valins	von 105° ab
l-Valins	138°	138°	Valins	138°
			Leucins	122—124°
d,l-Leucins	133°	127°	Leucins	127—129°
			Valins	120—124°

Somit ist die Reihenfolge der Haftfestigkeit der untersuchten Ester im Zinkcarbonatchromatogramm folgende:
Glykokollderivat > Alaninderivat > Leucinderivat > Valinderivat.

Da die grössere Haftfestigkeit des Leucinderivates im Vergleich mit dem Valinderivat überraschend war, haben wir mit der Mischung von N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester und N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-leucin-methylester die chromatographische Trennung wiederholt. Hier wurde, im Gegensatz zum ersten Versuch, das Derivat des optisch aktiven Leucins, nicht des Racemates, verwendet.

Die Mischung von 40 mg Valinderivat und 110 mg Leucinderivat in 8 cm³ Benzol gelöst, wurde nach dem Vorwaschen der Säule mit einer Mischung von 90% Ligroin und 10% Benzol in diese eingesaugt. (Länge der Adsorptionsschicht 30 cm, Durchmesser 27 mm). Nach der Entwicklung mit 370 cm³ Ligroin-Benzolmischung war eine gefärbte Schicht in den Durchlauf ausgewaschen, eine andere haftete noch in der Röhre. Aus letzterer gewann man nach der Elution 42 mg N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-leucin-ester vom Smp. 104°, während sich aus dem Durchlauf N-p-Phenyl-azobenzoyl-*l*-valin-methylester vom Smp. 138° isolieren liess.

Auch bei Verwendung des optisch aktiven Leucinderivates haftete dieses in der Zinkcarbonatsäule somit weniger als die Valinverbindung.

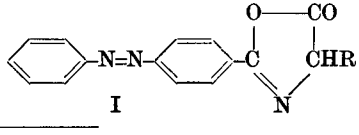
Zürich, Chemisches Institut der Universität.

6. Die Natur der *Waser*'schen spezifischen Farbreaktion auf α-Aminosäuren

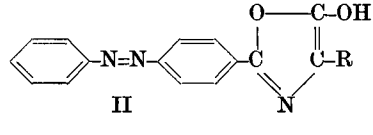
von **P. Karrer** und **R. Keller.**

(1. XII. 42.)

In der voranstehenden Abhandlung[1]) war gezeigt worden, dass bei der Einwirkung von Azobenzol-p-carbonsäurechlorid auf einige Aminosäuren (z. B. Leucin und Valin) „Lactone" gebildet werden, die dadurch charakterisiert sind, dass sie tief farbige, violettblaue bis blaue Alkalisalze bilden. Für diese „Lactone" treffen die tautomeren Formeln I und II zu, und die tiefen Farben der Salze wurden auf Mesomerie im Sinne der Bilder III, IV und V zurückgeführt.



I



II

[1]) Helv. **26**, 38 (1943).