

5. Aus den Ergebnissen der Isotopenanalysen geht einwandfrei hervor, dass das abgespaltene Ammoniak quantitativ aus dem Harnstoff stammt.

Der Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich sind wir für die Bereitstellung von Mitteln zu vielem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Bei der Synthese der Harnsäure aus 4,5-Diamino-uracil und Harnstoff stammt das abgespaltene Ammoniak quantitativ aus dem Harnstoff, während die Aminogruppen des Uracils quantitativ in den Imidazolring der Harnsäure eingebaut werden.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich.

166. Reaktionen mit ^{15}N .

X. Reduktion und Oxydation der Stickstoffwasserstoffsäure

von Klaus Clusius und Hans Hürzeler.

(18. VII. 53.)

Problemstellung.

1. Seit den klassischen Untersuchungen von *F. Raschig* scheint die Reduktion und Oxydation der Stickstoffwasserstoffsäure nicht wieder von allgemeinen Gesichtspunkten aus untersucht worden zu sein¹). Wenn auch *Raschig's* theoretische Vorstellungen mit unseren heutigen Ansichten nicht ohne weiteres zu vereinbaren sind, so erleidet der Wert der experimentellen Ergebnisse dieses zuverlässigen und einfallsreichen Beobachters dadurch keinen Abbruch. Wir benutzten seine Vorschriften, deren Brauchbarkeit sich in jeder Hinsicht bestätigte, um einige Umsetzungen der Stickstoffwasserstoffsäure mit schwerem Stickstoff näher zu untersuchen.

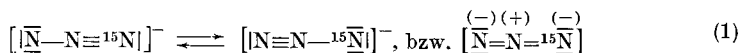
Vor einiger Zeit haben wir zur Konstitution des Phenylazids Stellung genommen²). Dabei ergab sich, dass die Azidgruppe linear gebaut ist und dass alle drei Stickstoffatome durch isotope Reaktionen scharf unterscheidbar sind. Im folgenden haben wir es in Abweichung zum Verhalten des Phenylazids stets mit dem Azid-Ion zu tun, für das wir ebenfalls eine lineare Struktur annehmen dürfen. Beim Azidion sind die beiden äusseren Stickstoffatome nicht voneinander unterscheidbar, wohl aber diese vom zentralen Stickstoff.

¹) *F. Raschig*, Schwefel- und Stickstoffstudien, Verlag Chemie 1924, S. 77, 201 u. 213ff.

²) *K. Clusius & H. R. Weisser*, *Helv.* **35**, 1548 (1952).

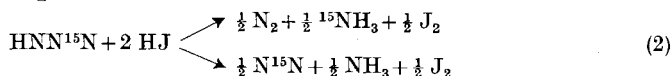
Die negative Ladung des Ions dürfte an keiner bestimmten Stelle der Kette fixiert, sondern über sie im Mittel verteilt sein, was durch die bekannten elektromeren Grenzformeln veranschaulicht wird.

Um ein markiertes Azidion zu erhalten, benutzten wir die elegante Synthese von *Thiele-Stollé*¹⁾ aus Hydrazinhydrat und markiertem Äthylnitrit bei Gegenwart von Kaliummethylat. Letzteres verdient den Vorzug vor der Natriumverbindung, da Kaliumazid schwerer löslich und durch einen grösseren Temperaturkoeffizienten der Löslichkeit ausgezeichnet ist. Die Ausbeuten werden dadurch merklich erhöht. Diese Synthese liefert ein Azidion, das an dem einen Ende markiert ist:



Seine Reaktionen bei der Reduktion und Oxydation lassen sich verstehen, wenn man annimmt, dass dabei die Molekel von einem Ende her „aufgerollt“ wird.

2. So erhält man bei saurer Reduktion mit Jodwasserstoff eine Atomverteilung nach



und dasselbe Resultat ergibt sich bei der sauren Reduktion mit Zinnchlorür.

3. Bei der alkalischen Reduktion mit Aluminium wird neben Ammoniak noch Hydrazin gebildet. Das Ergebnis ist formal hier so, als ob ein Bruchteil des primär entstandenen Stickstoffs zu Hydrazin weiter reduziert wird:

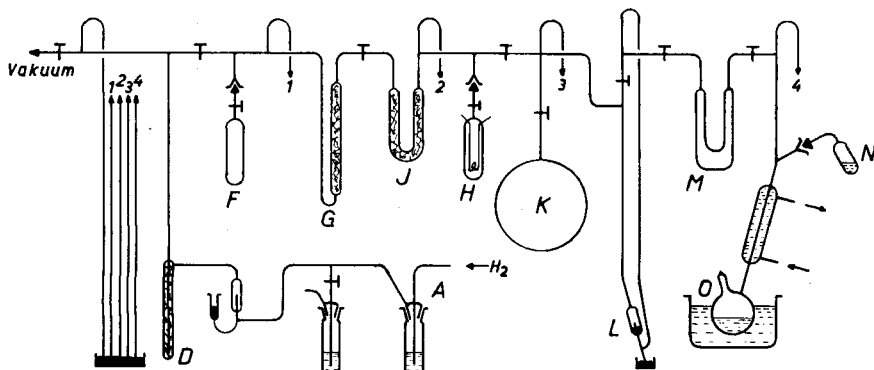
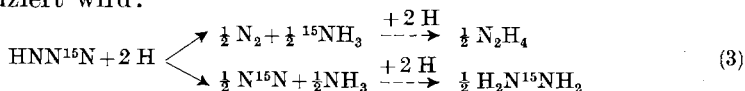


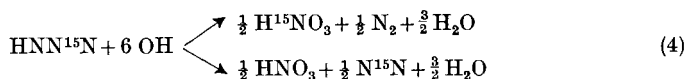
Fig. 1.

Anordnung zur Isolierung der gasförmigen Reaktionsprodukte bei der sauren Oxydation der Stickstoffwasserstoffsäure mit Permanganat.

¹⁾ *J. Thiele*, B. **41**, 2681 (1908); *R. Stollé*, B. **41**, 2811 (1908).

Daher stimmt die Zusammensetzung des Hydrazinstickstoffs mit der des gasförmig entwickelten Stickstoffs innerhalb der Fehlergrenzen überein.

4. Die saure Oxydation der Azide mit Jod oder Cerisalz u. dergl. führt nur zu Stickstoff und bietet in dem von uns gegenwärtig benutzten Konzentrationsbereich von ^{15}N kein Interesse¹⁾. Dagegen liefert die Oxydation mit Permanganat in saurer Lösung Salpetersäure neben Stickstoff und wenig Distickoxyd. Die Hauptreaktion verläuft formal hier ganz entsprechend wie bei der Reduktion nach:



Experimentelles.

1. Äthylnitrit $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}^{15}\text{NO}$: 2,6 g $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$) mit 2,57% ^{15}N werden in 5,3 cm³ Wasser gelöst, mit 4,5 cm³ Äthanol und tropfenweise unter Eiskühlung mit 3,2 cm³ konz. Salzsäure versetzt. Das gebildete Äthylnitrit wird aus einem Wasserbad von 30° durch ein Röhrchen mit geglühter Pottasche in eine eisgekühlte Vorlage destilliert. Ausbeute: 2,8 cm³ Äthylnitrit.

2. Kaliumazid KNN^{15}N . In 14 cm³ Methylalkohol werden am Rückflusskühler 2,2 g Kalium aufgelöst und unter Eiskühlung mit 28 cm³ absolutem Äther, 2,8 cm³ Hydrazinhydrat und 2,8 cm³ markiertes Äthylnitrit versetzt. Das Gemisch bleibt erst unter Eiskühlung und dann bei Zimmertemperatur 24 Std. stehen. Das auskristallisierte Kaliumazid wurde abgesaugt und mit Methanol-Äther und Äther gewaschen; die Ausbeute betrug 2,2 g K^{15}N_3 (72%, bezogen auf $\text{Na}^{15}\text{NO}_2$).

3. Reduktion mit Jodwasserstoff. 0,405 g (5 mMol) markiertes Kaliumazid wurden mit 3 g KJ in 5 cm³ H_2O gelöst. Diese Lösung und 10 cm³ 18-proz. Salzsäure wurden in einem Zweikammerkolben im Vakuum durch wiederholtes Ausfrieren und Abpumpen von Luft befreit. Darauf wurden beide Flüssigkeiten im Vakuum zusammengewaschen und über Nacht stehengelassen. Vom entwickelten Stickstoff untersuchten wir eine Probe, nachdem sie bei -190° getrocknet war. Die J_2 -Titration eines aliquoten Teils der Reaktionsflüssigkeit mit 0,1-n. Natriumhydrogensulfatlösung (Thiosulfat ist nicht anwendbar!) zeigte, dass 4,15 mMol Azid, d. h. 83%, abregiert hatten. Die restliche Reaktionslösung wurde mit etwas festem Kaliumhydroxyd versetzt und das Ammoniak in 5 cm³ 2-n. Salzsäure destilliert. Beim Verdampfen erhielt man 4,2 mMol Ammoniumchlorid in Übereinstimmung mit der entstandenen Jodmenge. Ein Teil des Ammoniumchlorids wurde auf seinen ^{15}N -Gehalt untersucht.

4. Reduktion mit Zinnchlorür. Einerseits wurden 0,405 g (5 mMol) markiertes Kaliumazid in 3 cm³ Wasser, andererseits 1,8 g SnCl_2 , 2 H_2O in 3 cm³ konz. Salzsäure gelöst und letztere Lösung mit 3 cm³ Wasser verdünnt. Beide Lösungen wurden im Vakuum im Zweikammerkolben wie oben beschrieben entgast, zusammengewaschen und 24 St. stehengelassen. Es entwickelten sich 3,15 mMol Stickstoff, die nach Trocknung bei -190° auf ^{15}N analysiert wurden. Aus der Reaktionslösung wurde nach Zusatz von festem Kaliumhydroxyd das Ammoniak abdestilliert und wie bei Versuch 3 auf Ammoniumchlorid (3,4 mMol) verarbeitet, von dem die Isotopenanalyse ausgeführt wurde.

1) Ganz anders lägen die Verhältnisse, falls etwa ein mittelständig mit reinem (oder wenigstens hochprozentigem) ^{15}N markiertes Azidion zur Verfügung stände. Die Verteilung des entstehenden Stickstoffs auf die verschiedenen Molekelsorten $^{14}\text{N}_2$, $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ und $^{15}\text{N}_2$ gestattet dann Einblicke in den Reaktionsmechanismus. Wir behalten uns vor, auf diese und verwandte Fragen später zurückzukommen.

2) K. Clusius & H. Hürzeler, Helv. 35, 1103 (1952).

5. Reduktion mit Aluminium. 0,405 g (5 mMol) markiertes Kaliumazid und 2,5 g NaOH wurden in 60 cm³ Wasser gelöst und in der Vakuumapparatur gründlich entgast. 0,540 g (20 mMol) dünne Aluminiumfolie waren auf ein Glasrohr mit eingeschmolzenem Eisenkern gewickelt und wurden magnetisch in die entgaste Lösung gebracht. In einem Wasserbad von 45° hatte das Metall nach 40' unter dauerndem magnetischem Rühren abreagiert. Das entstandene Gasgemisch wurde durch eine erste Ausfriertasche in flüssiger Luft und eine zweite in flüssigem Wasserstoff abgepumpt. In der ersten Falle blieb Wasser mit sehr wenig Ammoniak, in der zweiten quantitativ der gebildete Stickstoff zurück. Letzterer wurde durch Abpumpen vollständig von Wasserstoff befreit und auf seinen ¹⁵N-Gehalt analysiert.

Das Ammoniak wurde aus der alkalischen Lösung in Salzsäure destilliert, in diese noch das Ammoniak aus der Kühlfalle geblasen und etwa mitgerissenes Hydrazin nach der Abpufferung mit Natriumhydrogencarbonat durch 3 Tropfen 0,1-n. Jodlösung zerstört. Die gelbliche Lösung wurde erneut alkalisch gemacht und das nun sicher hydrazinfreie Ammoniak nochmals in Salzsäure destilliert. Durch Eindampfen ergaben sich 1,83 mMol Ammoniumchlorid (d. h. ~ 37% Ausbeute nach Gl. (3) in bezug auf Kaliumazid).

Die vom Ammoniak befreite Reaktionslösung wurde mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert und die restliche Stickstoffwasserstoffsäure in vorgelegtes Wasser destilliert, mit etwas Natronlauge versetzt, in einer Pt-Schale eingeeengt und im Vakuum nach dem Entgasen mit schwefelsaurer Ce^{IV}-Sulfatlösung zu Stickstoff oxidiert¹⁾. Eine Probedieses Gases lieferte die Zusammensetzung des restlichen Azids.

Aus der von Ammoniak und Stickstoffwasserstoffsäure befreiten Reaktionslösung wurde durch vorsichtiges Zutropfen von Benzaldehyd das Hydrazin als Benzalazin gefällt, abfiltriert und aus Äthanol umkristallisiert. Wir erhielten 0,46 mMol Benzalazin vom Smp. 92,5° (Lit.: 93°). Es wurde mit rauchender Jodwasserstoffsäure reduziert, dann nach *Kjeldahl* in Ammoniumchlorid übergeführt und letzteres auf seinen ¹⁵N-Gehalt geprüft.

6. Oxydation von Azid mit Permanganat. 0,405 g (5 mMol) markiertes Kaliumazid wurden in 5 cm³ Wasser gelöst und in den drehbaren Ansatz N gebracht (s. Fig. 1). In den Kolben O wurden 15 cm³ 1/3-m. Kaliumpermanganat-Lösung und 20 cm³ 2-n. Borsäure gegeben. Durch Auskochen unter ca. 100 mm Wasserstoff wurde die Lösung in O, durch Ausfrieren und Auftauen die Lösung in N von Luft befreit. Die ganze Apparatur wurde von A her mit Wasserstoff gespült, der durch die in flüssigen Wasserstoff tauchende Falle D von jeder Verunreinigung befreit worden war. Die Teile O, N, M der Apparatur wurden bis zum Bullerventil L mit ebenso gereinigtem Wasserstoff bis Atmosphärendruck gefüllt, die übrigen Teile vollständig evakuiert. Die Azidlösung wurde nach O gegossen und das Reaktionsgemisch auf dem siedenden Wasserbad belassen. Das entwickelte Gasgemisch wurde durch die Kühlfalle M bei -78° von Wasser und HN₃-Dämpfen befreit und vom Bullerventil L in den evakuierten Kolben K geleitet. Nach 5 Std. war alles Kaliumpermanganat zu Braunstein reduziert und die überstehende Lösung farblos. Das Gasgemisch aus O und K wurde langsam durch die Kühlfallen J (in flüssigem Stickstoff) und G (in flüssigem Wasserstoff) gepumpt; man erhielt so das Stickoxydul in J und den Stickstoff in G. Der Stickstoff wurde durch Abpumpen gründlich von Wasserstoff befreit und eine Probe davon in der Gaspipette F zur ¹⁵N-Analyse gebracht. Das Stickoxydul (es entsteht ca. 10mal weniger Stickoxydul als Stickstoff) wurde in die mit einer Pt-Spirale versehene Pipette H kondensiert und mit derselben Menge gereinigtem Wasserstoff während 3/4 Std. am hellrot glühenden Platindraht reduziert. Das Reaktionsgemisch wurde langsam durch J (in flüssigem Stickstoff) und G (in flüssigem Wasserstoff) gepumpt. Man erhielt so in G reinen, aus dem Stickoxydul gewonnenen Stickstoff, der in einer zweiten Gaspipette F' zur ¹⁵N-Analyse gesammelt wurde.

Die Reaktionslösung aus O wurde von Braunstein abfiltriert, mit verd. Schwefelsäure angesäuert und die restliche Stickstoffwasserstoffsäure abdestilliert. Die von HN₃ befreite Lösung wurde mit fester Pottasche neutralisiert und auf dem Wasserbad zur

¹⁾ *F. Sommer & H. Pinkas, B. 48, 1963 (1915).*

Trockene eingedampft. Der Rückstand wurde mit 5 cm³ konz. Schwefelsäure fein verrieben und daraus im Vakuum die Salpetersäure abdestilliert. Die Salpetersäure wurde in wenig Wasser aufgenommen und mit fester Pottasche nicht ganz neutralisiert. Aus der schwach salpetersauren Nitratlösung kristallisierte beim Einengen das Kaliumnitrat in charakteristischen Nadeln aus. Das Nitrat wurde aus Alkohol—Wasser umkristallisiert. Man erhielt 70 mg (= 0,7 mMol) weisses, fein kristallines Kaliumnitrat. Durch Reduktion nach *Devarda* wurde es in Ammonchlorid übergeführt und davon der ¹⁵N-Gehalt bestimmt.

Ein Blindversuch zeigte, dass die verwendeten Chemikalien keinen Stickstoff enthielten.

Ergebnisse.

1. Die Ergebnisse der bandenspektroskopisch durchgeführten Isotopenanalysen sind in Tab. 1 zusammengestellt. Da das zur Synthese des Azids verwendete Nitrit 2,57% ¹⁵N enthielt und normaler Stickstoff einen Gehalt von 0,37% ¹⁵N aufweist, berechnet sich der Gehalt des aus Nitrit und Hydrazin gebildeten Azidions zu $\frac{1}{3}$ (2,57 + 2 · 0,37) = 1,10% ¹⁵N. Dabei ist strenge Stöchiometrie vorausgesetzt. Je nachdem, ob 1, 2 oder 3 unmarkierte Stickstoffatome mit einem markierten zusammen auftreten, wie es in den Gl. (2) bis (4) der Fall ist, ergeben sich folgende Konzentrationen:

$$\text{mit 1 N: } \frac{2,57+0,37}{2} = 1,47\% \text{ } ^{15}\text{N}$$

$$\text{mit 2 N: } \frac{2,57+2 \cdot 0,37}{3} = 1,10\% \text{ } ^{15}\text{N}$$

$$\text{mit 3 N: } \frac{2,57+3 \cdot 0,37}{4} = 0,92\% \text{ } ^{15}\text{N}$$

Diesen Möglichkeiten ist in der Spalte % ¹⁵N ber. Rechnung getragen.

Tabelle 1.

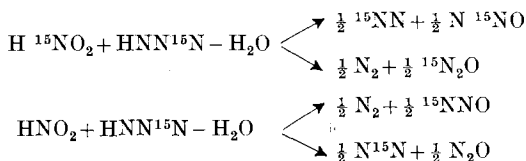
Isotopenanalysen zur Reduktion und Oxydation
der Stickstoffwasserstoffsäure.

Umsatz des Azids mit	Gebildete Substanz	% ¹⁵ N gef.	% ¹⁵ N ber.	Bemerkungen
	Kaliumazid	1,08	1,10	s. Gl. 1
HJ	Stickstoff	0,90	0,92	nach Gl. 2
	Ammoniak	1,50	1,47	
SnCl ₂	Stickstoff	0,87	0,92	nach Gl. 2
	Ammoniak	1,50	1,47	
Al	Ammoniak	1,50	1,47	nach Gl. 3
	Stickstoff	0,92	0,92	
	Benzalazin	0,90	0,92	
	Rest-Azid	1,05	1,10	
HMnO ₄	Stickstoff	0,89	0,92	nach Gl. 4
	Nitrat	1,44	1,47	
	Distickoxyd	1,28 u. 1,29	?	

Hinsichtlich der Genauigkeit der beobachteten Werte % ^{15}N gef. ist ein mittlerer Fehler von 2% anzunehmen. In fast allen Fällen stimmen innerhalb dieses Spielraums die berechneten und die beobachteten Werte überein. Im Durchschnitt wird der Gehalt des aus den Lösungen gasförmig entwickelten Stickstoffs etwas niedriger, der des in den Lösungen verbleibenden Ammoniaks etwas höher als erwartet gefunden. Dieser Effekt dürfte reell sein; doch reicht unsere gegenwärtige Messgenauigkeit nicht aus, um ihn als einen Isotopeneffekt sicherzustellen. Die naheliegende Vermutung, dass Luftreste in den Lösungen die ^{15}N -Konzentration des gasförmigen Stickstoffs herabdrücken, scheidet sicher aus.

Über den Mechanismus dieser Reaktionen und die mutmasslichen Zwischenkörper ist noch völliges Dunkel verbreitet. Während die sukzessive Reduktion durch Anlagerung von Wasserstoff an die Azidkette, wobei die mehrfachen Stickstoffbindungen aufgesprengt werden und vielleicht das hypothetische Diimid bei der Behandlung mit Aluminium kurzlebig auftritt, sich an bekanntere Verbindungstypen anschliesst, versagt die Vorstellung bei der Oxydation mit Permanganat.

2. Hier wissen wir tatsächlich nichts, und es ist nicht verwunderlich, dass sich für die auf eine Nebenreaktion zurückgehende Bildung des Distickoxyds keine einfache Deutung finden lässt. Falls die Bildung der Salpetersäure über salpetrige Säure erfolgt, kann diese teilweise mit Azid zu N_2O und N_2 abreagieren. Diese Reaktion führt nach



beim Distickoxyd zu einer Verteilung von 4 unmarkierten auf 4 markierte Atome, was einen Gehalt von 1,47% ^{15}N entspricht. Dieser Gehalt wird aber nach der letzten Zeile von Tab. 1 bestimmt unterschritten, wie durch zwei gut übereinstimmende Versuche belegt ist. Die Unterschreitung besagt, dass das mittlere N-Atom an der N_2O -Bildung stärker beteiligt ist, als die vorangehende Reaktionsfolge berücksichtigt. Übrigens ist es denkbar und wahrscheinlich, dass zwei verschiedene Mechanismen N_2O liefern. Das Analysenergebnis lässt dann den Rückschluss auf einen einzelnen Reaktionsablauf überhaupt nicht zu. Vielleicht spielt bei dem Befund die noch wenig bekannte persalpetrige Säure eine Rolle¹⁾.

Der *Stiftung für wissenschaftliche Forschung an der Universität Zürich* sind wir für die Bereitstellung von Mitteln zu vielem Dank verpflichtet.

Zusammenfassung.

Bei der Reduktion und Oxydation verhält sich das Azidion so, als ob seine lineare Kette von einem Ende her angegriffen würde. Die beiden äusseren N-Atome sind durch isotope Markierung nicht unterscheidbar, wohl aber das mittlere N-Atom von den endständigen.

¹⁾ Siehe z. B. K. Gleu & E. Roell, Z. anorg. Ch. **179**, 253 (1929).

Die saure Reduktion mit Jodwasserstoff, bzw. Zinnchlorür führt zu Stickstoff und Ammoniumchlorid, die alkalische Reduktion mit Aluminium liefert daneben noch Hydrazin. Die saure Oxydation mit Permanganat gibt hauptsächlich Stickstoff und Salpetersäure. Die beobachtete Isotopenverteilung stimmt mit der erwarteten in allen diesen Fällen gut überein. Bei der Oxydation tritt als Nebenprodukt etwas Distickoxyd von solcher isotopen Zusammensetzung auf, dass eine einfache stöchiometrische Beziehung für seine Entstehung nicht angegebbar ist.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich.

167. Über Steroide und Sexualhormone.

191. Mitteilung¹⁾.

Die Konfiguration der 4-Oxy-cholestane²⁾

von A. Fürst³⁾ und R. Scotoni jr.

(18. VII. 53.)

Bei unseren Untersuchungen über das Verhalten epimerer Oxyd-Paare in der Steroid-Reihe liess es sich zeigen, dass die reduktive Öffnung der Oxido-Brücke jeweils zu denjenigen Alkoholen führt, in welchen die Hydroxyl-Gruppe polar⁴⁾ angeordnet ist⁵⁾.

Diese Tatsache haben wir nun benutzt, um die Konfiguration der beiden seit 1935 bekannten 4-Oxy-cholestane⁶⁾ auf eindeutige Weise zu bestimmen. Zu diesem Zwecke war es vorerst nötig, das bisher unbekannte 3,4 β -Oxido-cholestan (V) herzustellen.

Die Oxydation des Δ^3 -Cholestens⁷⁾ (I) mit Persäuren führte zu einer einheitlichen Oxido-Verbindung C₂₇H₄₆O, die sowohl durch Reduktion mit LiAlH₄ als auch durch katalytische Hydrierung 3 α -Oxy-cholestan (III) lieferte. Damit ist die Konfiguration des neuen Oxydes als 3,4 α -Oxido-cholestan (II) bewiesen.

Zur Überführung des α -Oxydes II in das β -Isomere V haben wir eine Reaktionsfolge angewendet, die sich für solche Umwandlungen

¹⁾ 190. Mitt. Helv. **36**, 482 (1953).

²⁾ Die Resultate dieser Arbeit wurden in einem Vortrag an der Winterversammlung der Schweiz. Chem. Gesellschaft in Bern am 25. Februar 1951 bekanntgegeben.

³⁾ Gegenwärtige Adresse: F. Hoffmann-La Roche & Co. Aktiengesellschaft, Basel.

⁴⁾ D. H. R. Barton, Exper. **6**, 316 (1950).

⁵⁾ A. Fürst & Pl. A. Plattner, Helv. **32**, 275 (1949); A. Fürst & Pl. A. Plattner, 12th Internat. Congr. Pure and Applied Chem., New York 1951, Abstr. Papers S. 409; vgl. auch spätere Mitteilungen dieser Reihe.

⁶⁾ R. Tschesche & A. Hagedorn, B. **68**, 2247 (1935).

⁷⁾ G. Lardelli & O. Jeger, Helv. **32**, 1817 (1949).