

Ninhydrine *puriss.* 0,025%; 25 mg de ninhydrine dans 100 ml d'acétone.

3. *Hydrolyse intégrale* (voir <sup>5)</sup>, II, 3, p. 1815).

4. *Dosages des acides aminés* (dosages avec la ninhydrine, voir <sup>5)</sup>, II, 5, p. 1815) (v. tableau V).

Ce travail a bénéficié d'une subvention de la part de la FONDATION FRITZ HOFFMANN-LA ROCHE à laquelle nous exprimons ici encore nos très vifs remerciements.

#### SUMMARY

In the course of its development *Lactobacillus casei* ATCC 7469 produces peptides which exert a streptogenic activity upon its own growth. The purification of some of these peptides by paper electrophoresis at high voltage is described.

Laboratoires de chimie organique  
et pharmaceutique de l'Université de Genève

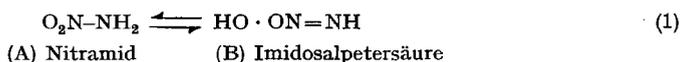
### 140. Reaktionen mit <sup>15</sup>N

#### XXXVI. Konstitution und Zerfall des Nitramids O<sub>2</sub>N·<sup>15</sup>NH<sub>2</sub><sup>1)</sup>

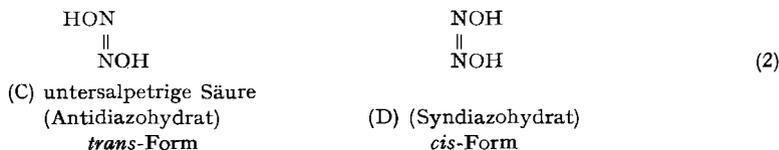
von K. Clusius

(6. V. 61)

1. THIELE & LACHMANN, die Entdecker des Nitramids, leiteten die Konstitution des Körpers von seiner Entstehung aus Nitrourethanderivaten ab<sup>2)</sup>. Wegen der sauren Reaktion der wässrigen Lösung zogen sie noch die Umlagerung in die tautomere Imidosalpetersäure in Betracht:



Diese Auffassung wurde von HANTZSCH lebhaft kritisiert, der mit KAUFMANN eine vergleichende Untersuchung des Nitramids und der isomeren untersalpetrigen Säure durchgeführt hatte<sup>3)</sup>. Für letztere nahm man schon damals eine symmetrische Konstitution an, woran sich bis heute nichts geändert hat. Prinzipiell sind zwei Stereoisomere denkbar:



Die Anschauungen von HANTZSCH waren weitgehend von seinen Vorstellungen über die Konstitution aromatischer Diazoverbindungen beherrscht. Ihn beunruhigte ausserdem die Konsequenz, dass nach der THIELE'schen Deutung Nitramid und

<sup>1)</sup> Reaktionen mit <sup>15</sup>N, XXXV: Helv. 43, 2063 (1960).

<sup>2)</sup> J. THIELE & A. LACHMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 27, 1909 (1894); Ann. 288, 297 (1895).

<sup>3)</sup> A. HANTZSCH & L. KAUFMANN, Liebigs Ann. Chem. 292, 339 (1896); A. HANTZSCH, *ibid.* 292, 340 (1896); 296, 111 (1897); A. HANTZSCH & A. SAUER, *ibid.* 299, 67 (1897).

untersalpetrige Säure *Struktur*-Isomerie zeigen sollten, eine Erscheinung, die in dem Reich der anorganischen Verbindungen noch nie beobachtet worden war. HANTZSCH vertrat daher die Meinung, dass es sich um einen Fall von *Stereo*-Isomerie handeln müsse, bei der dem Nitramid die *cis*-Form (D), der untersalpetrigen Säure die *trans*-Form (C) zukommt. Erst nach mehr als 30 Jahren sagte sich HANTZSCH von seiner ursprünglichen Ansicht los<sup>4)</sup>, die aber nochmals in einer interessanten Arbeit von HARTECK auflebte<sup>5)</sup>. Bei der Temperatur der flüssigen Luft entsteht nämlich durch die Einwirkung von atomarem Wasserstoff auf Stickoxyd ein Nitroxyl (NOH)<sub>n</sub>, das sich beim Erwärmen ab - 95° in N<sub>2</sub>O und H<sub>2</sub>O zersetzt und neben untersalpetriger Säure vielleicht auch das hypothetische Syndiazohydrat (D) enthält, denn von zwei Stereoisomeren ist die eine der beiden Formen meistens recht instabil<sup>6)</sup>. Die direkte Bildung eines Nitrokörpers scheint unter den gegebenen Umständen unwahrscheinlich zu sein, das Präparat gab jedoch bei Raumtemperatur auch die Nitramidreaktion. Die UV.-Spektren geben keinen Anhalt für eine *cis-trans*-Isomerie zwischen untersalpetriger Säure und Nitramid, das in Lösung praktisch ausschliesslich als tautomere Imidosalpetersäure (B) auftreten soll<sup>7)</sup>. RÖNTGEN-Spektroskopiker fanden für festes Nitramid eine Struktur, die auf die Formel (A) passt, und nahmen deren Konstitution auch für die gelöste Molekel an<sup>8)</sup>, kamen also zu der entgegengesetzten Schlussfolgerung wie die UV.-Spektroskopiker.

2. Es bestehen demnach noch beträchtliche Unklarheiten, bei denen uns Tautomeriefagen hier nur insoweit angehen, als sie die Möglichkeit einer symmetrischen Konstitution des Nitramids offenlassen. Diese Unsicherheit kann jedoch einwandfrei beseitigt werden, wenn eines der beiden N-Atome durch schweren Stickstoff markiert wird. Überall dort, wo man die symmetrische untersalpetrige Säure (C) als intermediäres Zwischenprodukt beim Zerfall einer <sup>15</sup>N-markierten Verbindung annehmen muss, entsteht verständlicherweise als Endprodukt neben Wasser ein Gemisch der Distickstoffoxyde <sup>15</sup>N<sup>14</sup>NO und <sup>14</sup>N<sup>15</sup>NO. Dieser Sachverhalt wurde für zerfallendes Hydroxylaminnitrit<sup>9)</sup> und die Zersetzung von Kalium-nitrosohydroxylaminsulfonat<sup>10)</sup> bewiesen. Ist auch das Nitramid symmetrisch gebaut, so sollte es nach der Markierung eines seiner beiden Stickstoffatome genau wie untersalpetrige Säure beim Zerfall ein Gemisch der beiden Distickstoffoxyde liefern. Ist seine Konstitution dagegen unsymmetrisch, so darf nur eines der beiden Distickstoffoxyde auftreten.

3. Das eingesetzte Urethan war mit 0,702% <sup>15</sup>N markiert und wurde mit gewöhnlichem Äthylnitrat (0,365% <sup>15</sup>N) nitriert, so dass für das Nitramid ein durchschnittlicher <sup>15</sup>N-Gehalt von  $\frac{1}{2}(0,702 + 0,365) = 0,533\%$  <sup>15</sup>N zu erwarten war; das aus ihm durch eine Spur Lauge entwickelte Distickstoffoxyd enthielt 0,542 und 0,549, im Mittel 0,545% <sup>15</sup>N. Die Übereinstimmung ist genügend, wenn berücksichtigt wird, dass das Urethan noch über 3 Stufen in Nitramid verwandelt werden musste. Dabei mögen verschiedene Isotopieeffekte auftreten, die sich wegen der schlechten Gesamt-

<sup>4)</sup> A. HANTZSCH, siehe Fussnote 5 in Ber. deutsch. chem. Ges. 63, 1272 (1930).

<sup>5)</sup> P. HARTECK, Ber. deutsch. chem. Ges. 66, 423 (1933).

<sup>6)</sup> ST. GOLDSCHMIDT, Stereochemie, Leipzig 1933, S. 141 ff.

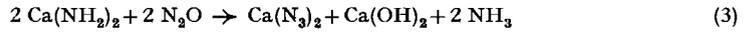
<sup>7)</sup> G. KORTÜM & B. FINCKH, Z. physik. Chem. B 48, 32 (1940).

<sup>8)</sup> C. A. BEEVERS & A. F. TROTMAN-DICKENSON, Acta crystallogr. 10, 34 (1957).

<sup>9)</sup> K. CLUSIUS & E. EFFENBERGER, Helv. 38, 1841 (1955).

<sup>10)</sup> K. CLUSIUS & H. SCHUMACHER, Helv. 40, 1137 (1957).

ausbeute stark bemerkbar machen. Die Übereinstimmung ist zugleich ein Beweis dafür, dass während dieser Umsetzungen, bei denen mit hohen Konzentrationen von  $\text{NH}_3$ -Verbindungen gearbeitet wird, ein N-Austausch nicht erfolgt. Das Distickstoffoxyd wurde auf frisches Calciumamid einwirken gelassen und das gebildete Calcium-



azid mit Jodwasserstoffsäure zu Stickstoff und Ammoniak reduziert, die analysiert wurden. Dieses Verfahren gestattet selbst bei einer niedrigprozentigen Markierung der beiden funktionell verschiedenen N-Atome des Stickoxyduls die Verteilung der Stickstoffisotope genau festzustellen und zwischen ihnen zu unterscheiden<sup>11)</sup>. Theoretisch gibt es zwei Erwartungen für die Zusammensetzung des Distickstoffoxyds, die in der Tabelle angegeben sind.

Die Konstitution des Nitramids ist		symmetrisch	unsymmetrisch
Das Distickstoffoxyd besteht aus		$\frac{1}{2}^{15}\text{NNO} + \frac{1}{2}^{15}\text{NO}$	$^{15}\text{NNO}$
Berechnete Zusammensetzung des aus $\text{Ca}(\text{N}_3)_2$ mit HJ entwickelten	Stickstoffs	$\frac{1}{2}(3 \cdot 0,545 + 0,365) = 0,500\%^{15}\text{N}$	$0,528\%^{15}\text{N}$
	Ammoniaks	$\frac{1}{2}(0,545 + 0,365) = 0,455\%^{15}\text{N}$	$0,372\%^{15}\text{N}$

Beim Versuch wurden  $0,525\%^{15}\text{N}$  im Stickstoff und  $0,359\%^{15}\text{N}$  im Ammoniak gefunden. Man erkennt, dass nur die THIELE'sche Nitramidformel (A) bzw. (B) mit den Analysen verträglich ist. Beide Werte erreichen zwar nicht ganz den für die unsymmetrische Konstitution berechneten  $^{15}\text{N}$ -Gehalt. Dies erklärt sich aber weitgehend aus dem Umstand, dass bei der Reaktion (3) ein merklicher Isotopie- bzw. Austausch-effekt auftritt, indem das entwickelte Ammoniak mit  $0,378\%^{15}\text{N}$  etwas schwerer als das zur Darstellung des Calciumamids verwendete Ammoniak ( $0,365\%^{15}\text{N}$ ) ist. Die hier benutzte Beweisführung bedient sich eines viel schärferen Kriteriums als andere Untersuchungsmethoden, wie es etwa die Aufnahme eines stark verbreiterten Spektrums in wässriger Lösung ist. Man kann dann nie ausschliessen, dass nicht doch Spuren einer symmetrischen Form mit der unsymmetrischen ins Gleichgewicht treten. Solche Vorgänge würden sich durch einen vollständigen Isotopenaustausch verraten, selbst wenn sie so geringfügig sind, dass sie weit unter der Nachweisgrenze des optischen Verfahrens liegen. Auch in diesem Fall hätte man ein Gemisch beider Distickstoffoxyde erhalten müssen.

4. Im Hinblick auf die zu erwartende geringe Ausbeute bei der Synthese<sup>2)12)</sup> des Nitramids und auf die grosse Messgenauigkeit des ATLAS-CH<sub>4</sub>-Massenspektrometers wurde mit niedrigen  $^{15}\text{N}$ -Konzentrationen gearbeitet. Markiertes Urethan erhielt man in 2 Ansätzen aus je 32,2 g Chlorameisensäureester, den man zu konz. wässrigem Ammoniak (12,2 g  $^{15}\text{NH}_3$ ) in einem geschlossenen System bei äusserer Kühlung langsam unter Rühren zutropfen liess. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Alkohol betrug die Ausbeute 22 g (83% d. Th.) Urethan, die mit  $0,702\%^{15}\text{N}$  markiert waren, während aus der Reaktionslösung Ammoniumchlorid mit  $0,731\%^{15}\text{N}$  isoliert wurde. Die Chlorsubstitution durch die Aminogruppe ist also mit einem erheblichen Isotopie-

<sup>11)</sup> K. CLUSIUS & H. SCHUMACHER, *Helv.* 47, 972 (1958). Dort findet sich Näheres über die Berechnung der Zusammensetzung der aus  $^{15}\text{NNO}$  und Calciumamid in schwach gegabelter Reaktion entstehenden Calciumazide.

<sup>12)</sup> G. BRAUER, *Handbuch d. präparativ. anorg. Chem.*, 1960, S. 445.

effekt verbunden, bei dem das  $^{14}\text{NH}_4^+$ -Ion etwa 1,04mal schneller als das  $^{15}\text{NH}_4^+$ -Ion reagiert. Ammoniumnitrourethan fiel aus 25 g  $^{15}\text{NH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$  in einer Ausbeute von 20 g (46,5%) an und wurde mit einer Ausbeute von 19,8 g (82%) in Kaliumnitrocarbaminat verwandelt. Aus 18,2 g dieses Salzes ergaben sich schliesslich nach wiederholtem Umkristallisieren aus Petroläther 1,9 g reines Nitramid (36%) in einer Gesamtausbeute von 11%, bezogen auf eingesetztes  $^{15}\text{NH}_3$ . Von dem Präparat wurden 0,35 g in 3 ml Wasser gelöst und im Vakuum mit einigen Tropfen  $\sim 5$ -proz. Kalilauge versetzt, die sofortigen Zerfall unter Distickstoffoxydentwicklung bewirkten. Das Gas wurde getrocknet, sublimiert und bei 100 bis 120° in der früher beschriebenen Apparatur 10 Tage auf frisch bereitetes Calciumamid einwirken gelassen, worauf das gebildete  $\text{Ca}(\text{N}_3)_2$  wie oben erwähnt analysiert wurde. Zwei andere Gasproben wurden im Hochspannungslichtbogen zerlegt und der entstandene Stickstoff ebenfalls mit dem ATLAS-Spektrometer analysiert.

Der STIFTUNG FÜR WISSENSCHAFTLICHE FORSCHUNG AN DER UNIVERSITÄT ZÜRICH bin ich für die Gewährung von Mitteln und dem SCHWEIZERISCHEN NATIONALFONDS für die Bereitstellung des ATLAS-Massenspektrometers zu vielem Dank verpflichtet. Ebenso spreche ich meinen besten Dank Frl. VERENA FONTANA für ihre Hilfe bei den Experimenten aus.

#### ZUSAMMENFASSUNG

$^{15}\text{N}$ -markiertes Nitramid wird dargestellt und durch Kalilauge zerlegt. Aus der isotopen Zusammensetzung des entwickelten Distickstoffoxyds,  $^{15}\text{NNO}$ , geht einwandfrei hervor, dass nur eine unsymmetrische Konstitution, wie  $\text{NO}_2 \cdot ^{15}\text{NH}_2$  oder  $\text{HO} \cdot \text{ON} = ^{15}\text{NH}$ , vorliegen kann, nicht aber eine symmetrische Konfiguration – auch nicht in Spuren – die lange in der Literatur diskutiert wurde.

Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Zürich

### 141. Ergebnisse der Tieftemperaturforschung

#### XXXVI. Die Dampfdruckdifferenz von $^{14}\text{N}^{14}\text{NO}$ und $^{15}\text{N}^{14}\text{NO}$ zwischen Schmelz- und Siedepunkt<sup>1)</sup>

von K. Clusius und K. Schleich<sup>2)</sup>

(10. V. 61)

1. Im Zuge einer systematischen Durchmusterung der Dampfdrucke isotoper Gase haben wir uns jetzt den Distickstoffoxyden zugewandt. Diese Gase bieten besonderes Interesse, weil man die beiden isotop-isobaren Molekelsorten  $^{15}\text{N}^{14}\text{NO}$  und  $^{14}\text{N}^{15}\text{NO}$  synthetisieren und ihre Dampfdrucke mit dem des gewöhnlichen, überwiegend aus  $^{14}\text{N}^{14}\text{NO}$  bestehenden  $\text{N}_2\text{O}$  vergleichen kann. Auf diesem Wege sollte sich der Einfluss der Massenverteilung bei Isotopisobaren auf den Dampfdruck studieren lassen, worüber ausser einigen Angaben bei einigen Deuteriumverbindungen fast nichts bekannt ist. Der Gegenstand verdient wegen des vermuteten Zusammenhangs von Dampfdruck und Thermodiffusion Beachtung, denn beides sind Phänomene, die von

<sup>1)</sup> Tieftemperaturforschung XXXV: Helv. 44, 343 (1961).

<sup>2)</sup> An der Gasdarstellung und einem Teil der Messungen war Herr Dr. F. ENDINGER beteiligt.