

La fraction 3^o a été partagée en diverses fractions: F. 186–188, 0,4 g, F. 180–181, 0,75 g, F. 169–169,5^o, 1,5 g, et d'autres fractions intermédiaires. La seconde fraction a donné une dinitrophénylhydrazone F. 123–124^o. En mélange avec le produit de *Grütter*, F. 131^o, elle fondait à 125,5–127,5^o. Les deux produits sont donc identiques, bien que le nôtre ne soit pas encore tout à fait pur.

C ₁₂ H ₂₁ ON ₃ (223,312)	Calculé C 64,54	H 9,48	N 18,82%
Semicarb. F. 186–188 ^o	Trouvé „ 64,56	„ 9,42	„ 18,74%
Semicarb. F. 169–169,5 ^o	„ „ 64,39	„ 9,40	„ 18,80%

Dinitro-2,4-phénylhydrazone F. 123–124^o (à partir de la semicarbazone F. 180–181^o).

C ₁₇ H ₂₂ O ₄ N ₄ (346,378)	Calculé C 58,94	H 6,41	N 16,18%
	Trouvé „ 58,86	„ 6,49	„ 16,38%

RÉSUMÉ.

En partant de la méthyl-6-méthylène-5-heptanone-2, on a préparé le diméthyl-3,7-méthylène-6-octène-2-al, d'après la méthode de *Arens & van Dorp*.

Genève, laboratoires de la Maison
Firmenich & Cie (Successeurs de Chuit, Naef & Cie).

97. Etude et dosage polarographiques du tryptophane nitré

par D. Monnier et Z. Besso.

(23 II 52)

Généralités. Nous avons entrepris des essais systématiques de nitration du tryptophane en vue de son dosage polarographique. Les phénomènes observés sont très différents selon la concentration de l'acide nitrique, non seulement quant au nombre de groupes NO₂ introduits, mais aussi dans le mécanisme de la réaction.

Les conditions de stabilité des dérivés nitrés obtenus, ainsi que l'effet du pH sur la courbe potentiel-courant, ont aussi été étudiés.

1^o *Appareillage.* Nos déterminations ont été effectuées sur les polarographes Radiomètre POe et *Sargent XXI*. La cathode est constituée d'une électrode à gouttes de mercure, la surface de mercure joue le rôle d'anode.

2^o *Etude de la nitration.* a) *Rôle de la concentration de l'acide nitrique dans l'aspect de la courbe polarographique et la hauteur du saut.* 500 mg de tryptophane sont traités 2 h. au b.-m. avec 20 cm³ d'acide nitrique à diverses concentrations. Après refroidissement, on ajoute de l'hydroxyde de potassium jusqu'au virage de la coloration, du jaune clair au brun-rouge (pH 7). On porte alors la solution au pH 5 par addition d'un tampon (v. p. 779) puis on élimine l'oxygène dissous par un courant d'hydrogène. Les polarogrammes sont obtenus au moyen du Radiomètre, sensibilité 1000. La concentration du tryptophane est de 0,4 g/l.

Conc. de HNO ₃	15-m.	7,5-m.	3-m.	1,5-m.	0,3-m.	0,15-m.	0,07-m.
Saut en μa	24,2	22,8	19,2	16,9	12,7	0	0

Nous remarquons que le tryptophane ne se nitre plus avec l'acide nitrique de concentration égale ou inférieure à 0,15-m., même après 2 h. d'ébullition au bain d'air alors que, dans ces conditions, la tyrosine se colore en jaune. Il est difficile de savoir quels sont les composés issus de ces réactions. Une foule de facteurs interviennent; le temps, la concentration de l'acide, la température, parfois même la nature des récipients. Mais si on travaille dans des conditions bien déterminées, dans le pyrex par exemple, les courbes polarographiques sont parfaitement reproductibles.

Pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, nous portons notre choix sur l'acide 3-m.

b) *Quantité d'acide nécessaire.* L'expérience montre que pour obtenir une nitration reproductible, il faut un grand excès d'acide. Avec 20 cm³ d'acide nitrique 15-m. ou 7,5-m., on peut nitrer jusqu'à 400 mg de tryptophane. Lorsque l'acide n'est pas en quantité suffisante, il se produit un trouble puis un précipité floconneux, et les sauts sont trop petits. Voici les valeurs obtenues avec des quantités croissantes de tryptophane et une quantité constante (20 cm³) d'acide nitrique (polarogrammes obtenues au Radiomètre avec des solutions amenées à la concentration de 0,5 g de tryptophane par litre et tamponnées au pH 5).

Poids de tryptophane	0,1 g	0,2 g	0,4 g	0,5 g
Saut en μa	34,6	34,2	34,4	27,9

Remarque. Les valeurs ci-contre ne correspondent pas à celles données dans les autres tableaux car les déterminations ont été faites dans d'autres conditions.

Les essais effectués avec l'acide 1,5-m. montrent que 20 cm³ peuvent encore nitrer 20 mg de tryptophane. Il faut donc au moins 1 cm³ de cet acide par mg de tryptophane.

c) *Effet de traces de nitrite sur la nitration.* La nitration en acide dilué est considérablement facilitée par de petites quantités de nitrite (~ 20 mg). Les sauts obtenus sont alors plus grands. Avec 0,4 g de tryptophane et de l'acide nitrique 1,5-m. pur, on obtient un saut de 60 mm contre 97 mm après une nitration effectuée en présence de nitrite. Les $E_{1/2}$ par contre sont très rapprochés.

3^o *Etude du pH.* Après nitration du tryptophane avec l'acide 7,5-m., nous avons neutralisé la solution puis porté cette dernière à divers pH par addition de solutions tampons, constituées d'un mélange d'acide citrique et de phosphate disodique (v. *Helv.* 34, 1298 (1951)). Les hauteurs des sauts en μa sont portés dans le tableau suivant:

Tryptophane 0,4 g/l, appareil Radiomètre							
pH .	3,2	4	5	5,6	6	7	8
μa .	20	24,1	24,1	24,0	22,8	20,0	17,8

Aux pH compris entre 4 et 5,6, la polarographie donne des sauts plus nets et des vagues mieux dessinées et plus reproductibles qu'en milieu alcalin. Dans le premier cas, on a probablement formation de fonctions aminées avec mise en jeu de 6 électrons alors qu'aux pH alcalins, la réduction sur l'électrode à gouttes conduit à l'hydroxylamine (4 électrons). Le rapport des hauteurs est en effet sensiblement de 6:4. Nos essais montrent que le pH 5 convient particulièrement bien au dosage. Au pH 3,2, il n'y a plus de saut, celui-ci est remplacé par un courant résiduel assez fort.

4^o *Dosage du tryptophane. Etablissement de la courbe d'étalonnage.* a) *Mode opératoire.* Des prises de tryptophane s'échelonnant de 50 à 10 mg sont traitées dans un becher pyrex de 100 cm³ par une quantité suffisante d'acide nitrique 3-m. On couvre avec un verre de montre et chauffe 2 h. au b.-m. Après refroidissement, on neutralise avec précaution la solution avec de la potasse caustique 4-m. (virage du jaune clair au brun).

Cette solution est introduite dans un ballon jaugé de 100 cm³, on ajoute 25 cm³ d'une solution tampon composée de 12,8 cm³ de phosphate disodique 0,2-m., et 12,2 cm³ d'acide citrique 0,1-m. On complète au trait de jauge avec de l'eau bidistillée. On chasse l'oxygène par un courant d'hydrogène ou d'azote pendant 10 min. et on effectue le polarogramme, au polarographe Radiomètre puis au *Sargent*. Pour ce dernier, nous avons les caractéristiques suivantes: Vitesse d'écoulement du mercure 3 mg/sec. Sensibilité 0,1 et 0,2. Hauteur du mercure 20 cm. Temps de gouttes 3 sec. Température 20^o.

Tryptophane						
g/l	mol/l	id	E _{1/2,m}	K	Kc	Sensibilité
0,1	4,9 · 10 ⁻⁴	8,1	—	6,1	4,3	0,1
0,15	7,35 · 10 ⁻⁴	11,0	0,73	5,6	4,3	0,1
0,20	9,8 · 10 ⁻⁴	13,4	0,75	5,1	4,15	0,1
0,25	1,23 · 10 ⁻³	16,0	0,72	4,55	4,13	0,1
0,30	1,47 · 10 ⁻³	18,9	0,76	4,72	4,17	0,1
0,35	1,72 · 10 ⁻³	21,2	0,77	4,55	4,06	0,1
0,40	1,96 · 10 ⁻³	24,1	0,74	4,55	4,16	0,2
0,50	2,45 · 10 ⁻³	27,4	0,80	4,10	3,80	0,2

$K = id/m^{3/2} \cdot t^{1/6} \cdot c$. C'est la constante du courant de diffusion. E_{1/2,m} est le potentiel de demi-vague mesuré. id = courant de diffusion.

b) *Précision, sensibilité*. Comme on peut le constater, la courbe des id en fonction de la concentration ne passe pas par l'origine. Nous avons déjà fait cette observation à propos d'autres acides aminés¹⁾. C'est pour cette raison que les valeurs de K ne sont pas constantes. Si, du courant de diffusion, on retranche le courant «résiduel» donné par l'intersection de la courbe d'étalonnage avec l'axe des μa , on obtient pour K des valeurs Kc très constantes (voir tableau ci-dessus). Pour des concentrations supérieures à 0,4 g/l, la hauteur des sauts n'est plus proportionnelle à la concentration. Les résultats les meilleurs sont obtenus pour des concentrations comprises entre 0,1 et 0,4 g/l, dans les conditions de notre méthode. La précision est en moyenne de 3%. Dans certains cas, l'application de l'étalon interne permet d'augmenter sensiblement la précision des dosages. Voici quelques résultats d'analyses:

Tryptophane	Méthode ordinaire		Etalon interne	
pesé . . .	20 mg	34 mg	15 mg	15 mg
trouvé . .	19,3 mg	34,7 mg	14,9 mg	14,7 mg

Remarque. Il est possible d'effectuer le dosage du tryptophane avec de l'acide nitrique 1,5-m.; la détermination est alors plus rapide. Il suffit en effet de porter le mélange à nitrer à l'ébullition pendant ½ heure. Nous avons constaté une bonne proportionnalité entre la concentration et le saut. D'autre part on peut encore réduire le temps de nitration en utilisant de l'acide plus concentré. Quant aux substances gênantes, une étude ultérieure donnera des précisions. On peut d'ores et déjà dire que la méthode présente une certaine sélectivité, tant par le fait que la nitration s'effectue avec un acide dilué que parce que le potentiel de demi-vague est inférieur (en valeur absolue) à 1 volt (E_{1/2} ≅ 0,75 volt).

¹⁾ Helv. 34, 1297, 1943 (1951).

Si on examine les courbes polarographiques obtenues au cours de l'établissement de la courbe d'étalonnage (au *Sargent*), on constate qu'elles ont une forme assez semblable à celles de l'albumine nitrée où on observe aussi un fort courant résiduel après la réduction des nitrodérivés. Les valeurs de n calculées en divers points de la courbe sont à peu près constantes, ce qui semble prouver que nous avons une réduction simple sur la goutte de mercure. Ces valeurs ne correspondent pas au nombre d'électrons échangés car la réaction électrolytique n'est pas réversible. Les valeurs de n trouvées sont voisines de 0,40.

SUMMARY.

The nitration of tryptophane by means of nitric acid in various concentrations has been studied. A polarographic method for the determination of tryptophane after nitration by heating on the water-bath for two hours with 3-m. nitric acid has been established. The method gives a precision of 3% for concentrations of about 10^{-4} -m.

Laboratoire de Chimie analytique et de Microchimie,
Université de Genève.

98. Über die Addition von Benzol an Methacrylsäure

von B. Prijs.

(26. II. 52.)

Eine kürzlich erschienene Mitteilung von *J. Colonge & G. Weinstein*¹⁾ über die Addition von aromatischen Kohlenwasserstoffen an Methacrylsäure veranlasst uns, über Versuche zu berichten, die wir bereits im Jahre 1949 im Zusammenhang mit der Synthese spirocyclischer Hydantoine²⁾ ausführten, die jedoch bisher nicht publiziert wurden, da wir noch keine Gelegenheit hatten, sie fortzusetzen.

Wir stellten hierbei nach *C. F. Koelsch et al.*³⁾ zunächst 3-Methylhydrindon-(1) (I) durch Anlagerung von Benzol an Crotonsäure mit Hilfe von AlCl_3 dar und bereiteten daraus nach der üblichen Methode das noch unbekannte *Spirocyclo*-3-methylhydrindenyl-(1)-hydantoin-(5') (II).

Wir versuchten nun, diese Reaktion auf die mit der Crotonsäure isomere Methacrylsäure (III) als Komponente zu übertragen. Überraschenderweise erhielten wir jedoch in mehreren Versuchen nicht das erwartete Hydrindonderivat, sondern als Hauptprodukt stets in guter Ausbeute eine Säure vom Smp. 76–78°. Sie liess sich auf Grund von Smp. und Analyse als Phenyl-dimethyl-essigsäure charakterisieren, eine Verbindung, die demnach isomer ist mit der beim nor-

¹⁾ Bl. 1951, 820.

²⁾ Vgl. *M. Trissler & B. Prijs*, Helv. 35, 390 (1952).

³⁾ *C. F. Koelsch, H. Hochmann & C. D. Le Claire*, Am. Soc. 65, 59 (1943).