

*Zusammenfassung*

Aus den Kulturen eines Stammes von *Streptomyces fradiae* wurde ein neues, zu den Actinomycinen gehörendes Antibioticum, das Actinomycin Z, isoliert. Durch Adsorptionschromatographie, CRAIG-Verteilung und Papierchromatographie konnte es in 6 Komponenten, die Actinomycine Z<sub>0</sub> bis Z<sub>5</sub>, aufgetrennt werden. Bei der Hydrolyse wurden aus allen Komponenten die 5 Aminosäuren Threonin, Sarkosin, N-Methylalanin, Valin und N-Methylvalin erhalten.

Forschungslaboratorium der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT,  
Pharmazeutische Abteilung, Basel,  
Institut für spezielle Botanik und Organisch-chemisches Laboratorium  
der Eidg. Technischen Hochschule, Zürich.

### 179. Détermination pH-métrique des constantes acide-base par la fonction de formation

par D. Monnier et I. Kapétanidis

(28 VII 58)

Pour la détermination des constantes acide-base d'un composé on peut avoir recours, entre autres, à la méthode pH-métrique ordinaire, à la méthode spectrophotométrique ou à celle de la mesure de la conductibilité. La première et la troisième ne conviennent pas si les constantes sont trop rapprochées, la seconde ne peut être appliquée que si le spectre d'absorption des particules s'y prête.

Nous inspirant des travaux de BJERRUM sur la fonction de formation, et de sa méthode de détermination des constantes de complexes successifs<sup>1)</sup>, nous proposons un processus permettant le calcul des constantes acide-base, partant de la courbe pH-métrique. Cette méthode peut s'appliquer à un grand nombre de cas, même si les constantes sont proches les unes des autres. Par analogie avec la méthode de BJERRUM, nous admettons que l'ion H<sup>+</sup> est le *complexant*, et R - le radical acide -, la particule complexée.

Soit un composé RH<sub>p</sub> susceptible de libérer p ions H<sup>+</sup> et possédant donc p constantes acide-base. Pour simplifier l'écriture, nous ne représenterons pas les charges des particules sauf pour l'ion H<sup>+</sup>. Les ( ) exprimeront les *activités*, les | | exprimeront les *concentrations*.

Nous pouvons poser :

$$\frac{|RH_p|}{|R| F_p(H^+)^p} = K_p, \text{ dans laquelle } 1/F_p = f_{RH_p}/f_R, \quad (1)$$

$$\frac{|RH_{p-1}|}{|R| F_{p-1}(H^+)^{p-1}} = K_{p-1}, \text{ dans laquelle } 1/F_{p-1} = f_{RH_{p-1}}/f_R, \quad (2)$$

<sup>1)</sup> G. CHARLOT & R. GAUGUIN, Les méthodes d'analyse des réactions en solution, Masson 1951; J. BJERRUM, Det Kgl. Danske Vidensk. Slsb. **21**, 1 (1944).

$$\frac{|\text{RH}|}{|\text{R}| F_1(\text{H}^+)} = K_1, \text{ dans laquelle } 1/F_1 = f_{\text{RH}}/f_{\text{R}} \quad (3)$$

$K_p, K_{p-1}, \dots, K_1$  sont des constantes de stabilité, et  $f_{\text{RH}_p}, f_{\text{RH}_{p-1}}, \dots$  les coefficients d'activité.

Les constantes acide-base (BRÖNSTED) seront désignées par les lettres  $k_1, k_2, \dots, k_p$ . Entre ces deux genres de constantes nous avons les relations:

$$k_1 = K_{p-1}/K_p, k_2 = K_{p-2}/K_{p-1}, \dots, k_p = 1/K_1. \quad (4)$$

Posons maintenant l'expression de la fonction de formation  $\bar{n}$ :

$$\bar{n} = \frac{\text{conc. de l'hydrogène fixé sur le radical R}}{\text{conc. totale du composé sous toutes ses formes}}, \quad (5)$$

$$\text{donc } \bar{n} = \frac{p |\text{RH}_p| + (p-1) |\text{RH}_{p-1}| + \dots + |\text{RH}|}{|\text{RH}_p| + |\text{RH}_{p-1}| + \dots + |\text{R}|}. \quad (6)$$

En remplaçant  $|\text{RH}_p|, |\text{RH}_{p-1}|, \dots, |\text{R}|$  par leurs valeurs tirées des équations (1), (2), ... (3), on obtient, après avoir simplifié par  $|\text{R}|$ :

$$\bar{n} = \frac{p \cdot K_p(\text{H}^+)^p F_p + (p-1) K_{p-1}(\text{H}^+)^{p-1} F_{p-1} + \dots + K_1(\text{H}^+) F_1}{K_p(\text{H}^+)^p F_p + K_{p-1}(\text{H}^+)^{p-1} F_{p-1} + \dots + K_1(\text{H}^+) F_1 + 1}, \quad (7)$$

d'où:

$$\bar{n} = (p - \bar{n}) K_p(\text{H}^+)^p F_p + (p-1 - \bar{n}) K_{p-1}(\text{H}^+)^{p-1} F_{p-1} + \dots + (1 - \bar{n}) K_1(\text{H}^+) F_1 \quad (8)$$

On connaît l'activité de  $\text{H}^+$ , et les  $F$  peuvent être calculés par approximations successives à partir des coefficients d'activité.

*Calcul de  $\bar{n}$ .* – Soit  $V$  le volume initial de la solution renfermant le composé. Soit  $|\text{R}_t|$  la concentration de celui-ci (sous toutes ses formes):

$$|\text{R}_t| = |\text{RH}_p| + |\text{RH}_{p-1}| + \dots + |\text{R}|$$

$|\text{R}_t|$  reste constant, à la dilution près, pendant la titration.

Soit encore  $|\text{H}_i^t|$  la concentration initiale de l'hydrogène total (sauf celui combiné à l'eau). Cette concentration diminue au cours de la titration par la soude caustique, par le fait de la dilution, mais aussi et surtout parce qu'une partie des ions  $\text{H}^+$  se combine avec les hydroxyles.

Pendant tout le titrage on peut écrire:

$$|\text{H}_t| = (|\text{H}_i^t| V - aN) \cdot 1000/(V+a).$$

$|\text{H}_t|$  est l'hydrogène total à l'instant considéré,  $N$  est la normalité de la solution de  $\text{NaOH}$  utilisée, et  $a$ , les ml de cette liqueur ajoutés à la solution.

L'hydrogène fixé sur le radical acide est donné par:

$$|\text{H}_i^t| V - aN - (\text{H}^+) (V+a)/f_{\text{H}^+}.$$

Quant à la concentration totale du composé en ce même point, elle est égale à  $|\text{R}_t| (V/(V+a))$ .

En introduisant ces valeurs dans l'équation (5) et en simplifiant, on obtient:

$$\bar{n} = \frac{|\text{H}_i^t| V - aN - (\text{H}^+) (V+a)/f_{\text{H}^+}}{|\text{R}_t| V} \quad (9)$$

et, comme  $|\text{H}_i^t| = p \cdot |\text{R}_t|$ , on obtient finalement:

$$\bar{n} = \frac{p |\text{R}_t| V - aN - (\text{H}^+) (V+a)/f_{\text{H}^+}}{|\text{R}_t| \cdot V}. \quad (10)$$

Cette formule permet de calculer  $\bar{n}$  en n'importe quel point de la courbe. On peut donc avoir autant de valeurs qu'il est nécessaire pour établir p équations dérivées de l'expression (8), dans lesquelles seules les constantes  $K_1$ ,  $K_2$ , ...  $K_p$  sont inconnues.

Pour illustrer cet exposé, nous donnerons deux exemples. Le premier aura pour objet la détermination des constantes acide-base de l'acide oxalyl-dihydroxamique. On pourra comparer cette détermination à celle effectuée dans un travail précédent<sup>2)</sup> par la méthode pH-métrique ordinaire. Le second exemple s'appliquera à un acide ayant 4 constantes, très rapprochées deux à deux, et qu'il est par conséquent impossible de déterminer par le processus ordinaire.

*1<sup>er</sup> Exemple: Détermination des constantes acide-base de l'acide oxalyl-dihydroxamique.* – Nous représenterons ce composé par  $RH_2$ . 100 ml d'une solution  $10^{-2}$ -m. de cet acide sont titrés par une solution de NaOH  $10^{-1}$ -m. Valeurs obtenues voir tableau I.

Tableau I. *Titration de l'acide oxalyl-dihydroxamique par NaOH  $10^{-1}$ -m.*

ml NaOH	pH	$\bar{n}$	ml NaOH	pH	$\bar{n}$
0,0	4,50	1,997	11,0	8,13	0,90
0,5	5,67	1,95	11,5	8,23	0,85
1,0	6,00	1,90	12,0	8,32	0,80
1,5	6,22	1,85	12,5	8,42	0,75
2,0	6,36	1,80	13,0	8,51	0,70
2,5	6,50	1,75	13,5	8,59	0,65
3,0	6,59	1,70	14,0	8,66	0,60
3,5	6,69	1,65	14,5	8,73	0,55
4,0	6,77	1,60	15,0(A <sub>2</sub> )	8,80 8,80	0,50
4,5	6,86	1,55	15,5	8,88	0,45
5,0(A <sub>1</sub> )	6,94 6,92	1,50	16,0	8,96	0,40
5,5	7,02	1,45	16,5	9,04	0,35
6,0	7,10	1,40	17,0	9,15	0,30
6,5	7,17	1,35	17,5	9,26	0,25
7,0	7,26	1,30	18,0	9,36	0,20
7,5	7,36	1,25	18,5	9,48	0,15
8,0	7,44	1,20	19,0	9,63	0,10
8,5	7,55	1,15	19,5	9,90	0,05
9,0	7,66	1,10	20,0	10,26	
9,5	7,77	1,05	21,0	10,82	
10,0	7,90 7,89	1,00	23,0	11,24	
10,5	8,02	0,95	25,0	11,80	

Le calcul de  $\bar{n}$  (v. tableau I) est très simplifié dès le second point. En effet le dernier terme de la formule (10) devient rapidement négligeable. Comme le nombre d'atomes d'hydrogène mis en jeu est  $p = 2$ , nous avons:

$$\bar{n} = 2 - aN. \quad (11)$$

Les activités n'interviennent donc pas dans ce calcul.

<sup>2)</sup> D. MONNIER & C. JEGGE, Helv. **40**, 513 (1957).

Pour la détermination de  $K_1$  et  $K_2$  nous faisons appel à l'expression (12) tirée de (8):

$$\bar{n} = (2 - \bar{n}) K_2 (H^+)^2 F_2 + (1 - \bar{n}) K_1 (H^+) F_1. \quad (12)$$

Comme deux équations sont nécessaires, nous les établissons pour les points  $A_1$  et  $A_2$ , soit pour des valeurs de 1,5 et 0,5 pour  $\bar{n}$  (tableau I). Les activités  $f_R$  et  $f_{RH}$  sont calculées par approximations successives, en partant des constantes obtenues précédemment pour simplifier le travail. Les valeurs de  $F_1$  et  $F_2$  pour les points  $A_1$  et  $A_2$  sont tirées des expressions  $F_1 = f_R/f_{RH}$  et  $F_2 = f_R/f_{RH_2}$ .

Nous ferons  $f_{RH_2} = 1$ .

Au point  $A_1$  nous avons:  $F_1 = 0,784$ ,  $F_2 = 0,723$ .

Au point  $A_2$  nous avons:  $F_1 = 0,633$ ,  $F_2 = 0,544$ .

Toutes opérations effectuées, nous obtenons les équations:

$$\text{Point } A_1 \quad 1,5 = -0,9213 \cdot K_1 \cdot 10^{-7} + 0,9981 \cdot K_2 \cdot 10^{-14}.$$

$$\text{Point } A_2 \quad 0,5 = 0,5015 \cdot K_1 \cdot 10^{-9} + 2,05 \cdot K_2 \cdot 10^{-18}.$$

D'où  $K_1 = 0,96 \cdot 10^9$  et  $K_2 = 0,92 \cdot 10^{16}$ , et  $k_1 = 1,05 \cdot 10^{-7}$  et  $k_2 = 1,05 \cdot 10^{-9}$ .

Les valeurs obtenues précédemment par pH-métrie ordinaire pour les constantes acide-base de cet acide, sont  $k_1 = 1,08 \cdot 10^{-7}$  et  $k_2 = 1,01 \cdot 10^{-9}$ .

2<sup>e</sup> Exemple: Détermination des constantes acide-base de l'acide éthylèneglycol-bis-( $\beta$ -aminoéthyléther)-N,N'-tétracétique, que nous désignerons par  $RH_4$ . – 100 ml d'une solution d'acide  $10^{-3}$ -m. sont titrés par une solution de NaOH  $10^{-1}$ -m. Valeurs obtenues voir tableau II.

Tableau II. Titration de l'acide  $RH_4$   $10^{-3}$ -m. par NaOH  $10^{-1}$ -m.

ml NaOH	pH	$\bar{n}$	ml NaOH	pH	$\bar{n}$	ml NaOH	pH	$\bar{n}$
0 (A)	2,91	0,705	1,7	3,89		3,22	9,82	0,78
0,2	2,96		1,8	4,12		3,30	9,86	0,70
0,3	3,01		1,9	4,54		3,40	9,92	0,60
0,4	3,04		2,0	6,22		3,50 (E)	10,01	0,51
0,5	3,07	0,600	2,1	8,27	1,9	3,62	10,11	0,38
0,6	3,12		2,2	8,67	1,8	3,7	10,18	0,30
0,7	3,16		2,3	8,89	1,7	3,8	10,26	0,20
0,8	3,21		2,4	9,05	1,6	3,9	10,34	0,10
0,9	3,25		2,5 (D)	9,18	1,5	4,0	10,42	
1,0	3,30	0,470	2,6	9,28	1,4	4,1	10,51	
1,1	3,34		2,7	9,38	1,3	4,2	10,58	
1,2	3,39		2,8	9,46	1,2	4,3	10,66	
1,3	3,46		2,9	9,55	1,1	4,4	10,73	
1,4	3,54		3,0	9,63	1,0	4,5	10,79	
1,5 (B)	3,63	0,250	3,12	9,72	0,88	5,0	11,04	
1,6	3,75							

L'examen de la courbe de neutralisation de cet acide montre que nous pouvons faire des simplifications. Les constantes  $k_1$  et  $k_2$  sont proches l'une de l'autre mais très éloignées des deux autres,  $k_3$  et  $k_4$ ; aussi, en milieu acide admettons-nous que les deux derniers hydrogènes de notre acide sont très fortement liés à la molécule, et nous n'en tiendrons pas compte dans le calcul de  $|H_1^+|$ . Nous n'envisagerons donc que les particules  $RH_4$ ,  $RH_3^-$ , et  $RH_2^{2-}$ . Nous retombons dans le cas d'un acide bivalent (constantes  $k_1$  et  $k_2$ ) et nous admettons que la particule  $RH_2$  n'est pas dissociée.

En milieu alcalin par contre nous ne considérerons que les particules  $\text{RH}_2^{--}$ ,  $\text{RH}^{---}$  et  $\text{R}^{----}$ , nous admettrons donc que les particules  $\text{RH}_3^-$  et  $\text{RH}_4$  sont inexistantes. Nous sommes de nouveau en présence d'un acide bibasique ayant deux constantes très rapprochées ( $k_3$  et  $k_4$ ).

Le calcul de  $\bar{n}$  (v. tableau II) se fera selon ces considérations.

*Milieu acide: Détermination des constantes  $k_1$  et  $k_2$ .* Nous avons:

$$\frac{[\text{RH}_4]}{[\text{RH}_2] F_4 (\text{H}^+)^2} = K_4 \quad \text{et} \quad \frac{[\text{RH}_3]}{[\text{RH}_2] F_3 (\text{H}^+)} = K_3.$$

Les constantes de stabilités  $K_4$  et  $K_3$  sont reliées aux constantes acide-base  $k_1$  et  $k_2$  par les formules:

$$k_1 = K_3/K_4 \quad \text{et} \quad k_2 = 1/K_3, \quad \text{d'autre part} \quad F_4 = f_{\text{RH}_2}/f_{\text{RH}_4} \quad \text{et} \quad F_3 = f_{\text{RH}_2}/f_{\text{RH}_3}.$$

Pour le calcul des constantes de stabilité nous obtenons  $\bar{n}$  par la formule (10). Dans l'équation (8), nous faisons  $p = 2$  puisque nous admettons que deux hydrogènes seulement de notre acide entrent en jeu. Nous avons donc l'expression:

$$\bar{n} = (2 - \bar{n}) K_4 (\text{H}^+)^2 F_4 + (1 - \bar{n}) K_3 (\text{H}^+) F_3.$$

Les activités sont calculées par la méthode habituelle des approximations successives. Les valeurs calculées de  $\bar{n}$  sont données dans le tableau I, il ne reste donc que deux inconnues. Nous établissons alors deux équations, l'une au point A pour  $\bar{n} = 0,70$ , l'autre au point B pour  $\bar{n} = 0,25$ :

$$\text{Point A} \quad 0,70 = (2 - 0,70) \cdot 10^{-5,82} \cdot 0,828 K_4 + (1 - 0,70) \cdot 10^{-2,91} \cdot 0,870 K_3.$$

$$\text{Point B} \quad 0,25 = (2 - 0,25) \cdot 10^{-7,26} \cdot 0,792 K_4 + (1 - 0,25) \cdot 10^{-3,63} \cdot 0,845 K_3.$$

Ces équations donnent  $K_4 = 1,12 \cdot 10^5$  et  $K_3 = 1,62 \cdot 10^3$ , d'où les constantes acide-base

$$k_1 = 1,45 \cdot 10^{-2} \quad \text{et} \quad k_2 = 6,18 \cdot 10^{-4}.$$

*Milieu alcalin: Détermination des constantes  $k_3$  et  $k_4$ .* Les constantes de stabilité sont exprimées par les formules

$$\frac{[\text{RH}_2]}{[\text{R}] F_2 (\text{H}^+)^2} = K_2 \quad \text{et} \quad \frac{[\text{RH}]}{[\text{R}] F_1 (\text{H}^+)} = K_1; \quad F_2 = f_{\text{R}}/f_{\text{RH}_2}, \quad F_1 = f_{\text{R}}/f_{\text{RH}}.$$

Quant aux constantes des couples, elles sont obtenues par:

$$k_4 = 1/K_1, \quad k_3 = K_1/K_2.$$

$\bar{n}$  sera calculé par la formule (10) simplifiée en (11). Dans (10) nous ferons, là encore,  $p = 2$  puisque nous considérons  $\text{RH}_2$  comme la particule initiale. Nous appliquerons l'équation suivante aux points D et E du tableau II:

$$\bar{n} = (2 - \bar{n}) K_2 (\text{H}^+)^2 F_2 + (1 - \bar{n}) K_1 (\text{H}^+) F_1.$$

Nous procéderons ensuite comme il a été fait pour le milieu acide.

$$\text{Point D:} \quad f_{\text{RH}_2} = 0,735; \quad f_{\text{RH}} = 0,498; \quad f_{\text{R}} = 0,291; \quad F_2 = 0,396; \quad F_1 = 0,584.$$

$$\text{Point E:} \quad f_{\text{RH}_2} = 0,670; \quad f_{\text{RH}} = 0,406; \quad f_{\text{R}} = 0,203; \quad F_2 = 0,302; \quad F_1 = 0,500.$$

En introduisant ces valeurs dans l'équation donnée plus haut, on obtient un système qui permet de calculer  $K_2 = 9,35 \cdot 10^{19}$  et  $K_1 = 3,67 \cdot 10^{10}$ , et par la suite  $k_4 = 2,73 \cdot 10^{-11}$  et  $k_3 = 3,90 \cdot 10^{-10}$ .

*Conclusions.* — La méthode proposée est générale et parfois très rapide lorsqu'il est possible d'éliminer certains termes, quand on travaille à force ionique constante ou lorsque les constantes sont suffisamment éloignées les unes des autres pour qu'il soit possible de les prendre séparément comme si on avait à faire à des acides monovalents, ou deux à deux comme dans l'exemple précédent. Il est du reste probable que, pour certaines valeurs du couple acide-base, ce procédé soit préférable à la méthode pH-métrique ordinaire. Lorsque les

constantes sont très rapprochées, les résultats ont en général une bonne précision et la méthode proposée prend alors tout son intérêt, puisque les autres procédés de calcul ne sont plus utilisables. Nous poursuivrons l'étude de cette méthode pour en établir les possibilités et les limites. Nous rechercherons aussi l'ordre de grandeur des erreurs commises selon la valeur des couples acide-base et de la force ionique.

Nous tenons à remercier le professeur G. CHARLOT qui s'est intéressé à ce travail et a bien voulu nous donner conseils et encouragements, de même que la maison J. R. GEIGY S. A. de Bâle qui a aimablement mis à notre disposition l'acide éthylèneglycol-bis-( $\beta$ -aminoéthyléther)-N, N'-tétraacétique.

## SUMMARY

A new method is proposed for the calculation of the dissociation constants of mono- and polybasic acids. This method permits the pH-metric determination of the constants, even and especially if their values are very close, and is of wide application.

Two examples are given: determination of the two constants of oxalylhydroxamic acid and of the four constants of ethyleneglycol-bis-( $\beta$ -aminoether)-N, N'-tetraacetic acid.

Laboratoires de Chimie Minérale,  
de Chimie Analytique et de Microchimie de l'Université  
de Genève

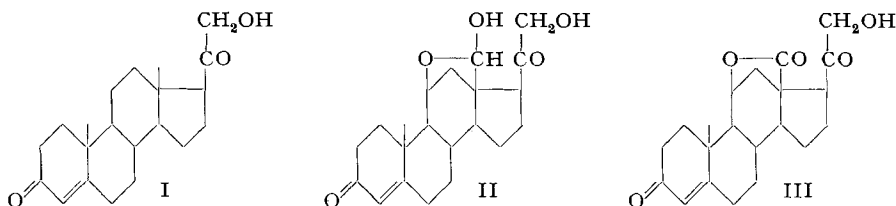
180. Über 11,18-dioxygenierte Derivate des Testosterons<sup>1)</sup>

Über Steroide, 154. Mitteilung<sup>2)</sup>

von P. Wieland, K. Heusler und A. Wettstein

(6. VIII. 58)

Die Einführung einer 11- und 18-Sauerstoff-Funktion in ein Steroid kann seine physiologische Wirkung sowohl hinsichtlich der Stärke als auch der Art grundlegend beeinflussen.



<sup>1)</sup> XII. Mitt. über Synthesen in der Aldosteron-Reihe; Mitt. XI dieser Reihe, siehe <sup>2)</sup>.

<sup>2)</sup> 153. Mitt.: P. WIELAND, K. HEUSLER & A. WETTSTEIN, *Helv.* **41**, 1561 (1958).