

## LITERATURVERZEICHNIS

- [1] E. FISCHER, Ber. deutsch. chem. Ges. 28, 1145 (1895).  
 [2] F. EHRLICH & R. GUTTMANN, Ber. deutsch. chem. Ges. 66, 220 (1933).  
 [3] S. MORELL & K. P. LINK, J. biol. Chemistry 100, 385 (1933); J. K. N. JONES & M. STACEY, J. chem. Soc. 1947, 1340.  
 [4] C. NIEMANN & K. P. LINK, J. biol. Chemistry 104, 195 (1934).  
 [5] P. A. LEVENE & L. C. KREIDER, J. biol. Chemistry 120, 597 (1937).  
 [6] S. LUCKETT & F. SMITH, J. chem. Soc. 1940, 1106, 1114, 1506; H. G. WALKER, M. GEE & R. M. MCCREADY, J. org. Chemistry 27, 2100 (1962); H. G. WALKER & R. M. MCCREADY, Canad. J. Chemistry 41, 3133 (1963).  
 [7] J. M. HAIS & K. MACEK, Handbuch der Papierchromatographie, Bd. 1, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1958.  
 [8] R. J. ABRAHAM, L. D. HALL, L. HOUGH & K. A. McLAUCHLAN, J. chem. Soc. 1962, 3699; L. D. HALL, Chemistry & Ind. 1963, 950.  
 [9] J. AUGESTAD & E. BERNER, Acta chem. scand. 8, 251 (1954).  
 [10] E. F. JANSEN & R. JANG, J. Amer. chem. Soc. 68, 1475 (1946).  
 [11] C. T. BISHOP & F. P. COOPER, Canad. J. Chemistry 40, 224 (1962); 41, 2743 (1963); siehe dort auch für weitere Literatur.  
 [12] F. G. FISCHER & H. DÖRFEL, Z. physiol. Chem. 301, 224 (1953).  
 [13] E. STAHL, Dünnschichtchromatographie, Springer-Verlag, Berlin 1962.  
 [14] F. EHRLICH, Ber. deutsch. chem. Ges. 65, 352 (1932).  
 [15] E. A. McCOMB & R. M. MCCREADY, Analyt. Chemistry 24, 1630 (1952).

**96. Dosage ampérométrique rapide, en une seule opération  
 et sans séparation, du calcium et du magnésium  
 dans le sérum sanguin et dans l'urine**

par **D. Monnier** et **A. Rouèche**

(13 III 64)

La plupart des méthodes de dosage du calcium et du magnésium dans le sérum sanguin et dans l'urine sont basées sur la complexométrie à l'acide éthylènediamine-tétracétique avec mise en évidence des points équivalents au moyen d'indicateurs métalliques [1]<sup>1</sup>). Pour le calcium seul on utilise des méthodes spectrophotométriques [2] ou la spectrophotométrie de flamme [3]. Dans presque tous les dosages calcium-magnésium ce dernier est obtenu par différence. Dans certains cas pourtant on le sépare des autres éléments avant le dosage.

*Principe de la méthode:* l'importance pratique de ce dosage nous a incités à mettre au point une méthode rapide et directe permettant de déterminer successivement, en un seul titrage et sans séparation, le calcium puis le magnésium. Elle consiste à doser en milieu alcalin et en présence du tampon éthanolamine 10<sup>-1</sup>M, le calcium par l'ion éthylèneglycol-bis-(amino-2-éthyléther)-N,N'-tétracétate (EGTA), et le magnésium, par l'ion éthylènediamine-tétracétate (EDTA). La détermination ampérométrique des points équivalents est basée sur l'apparition du courant d'oxydation du mercure en présence d'un excès d'EGTA (fin du titrage du calcium) ou d'un excès d'EDTA (fin du

<sup>1</sup>) Les chiffres entre crochets renvoient à la bibliographie, page 873.

titrage du magnésium). Les bases théoriques de la méthode ont été développées dans un précédent article [4].

*Le dispositif* est constitué d'une électrode indicatrice à surface de mercure d'environ 1 cm<sup>2</sup> et d'une électrode de calomel saturée à faible résistance (ou de deux électrodes indicatrices à mercure identiques), qui sont introduites dans la solution à analyser et auxquelles on applique une différence de potentiel de 20 mV par rapport à l'électrode de calomel saturée. On place dans le circuit un galvanomètre susceptible de déceler des courants de l'ordre de 0,1  $\mu$ A. Le titrage s'effectue au moyen de deux burettes graduées au centième de ml, renfermant l'une une solution titrée d'EGTA, l'autre une solution titrée d'EDTA. Un agitateur électromagnétique assure l'homogénéisation de la solution au cours du titrage. Si l'agitation n'est pas trop énergique, il n'est pas nécessaire de l'arrêter lors de la lecture du galvanomètre.

*Réactifs.* – 1. Solution tampon (pH = 10,5). On introduit 6,5 g d'éthanolamine dans un ballon jaugé de 1 l, ajoute de l'eau presque au litre et porte la solution au pH = 10,5 par addition d'HNO<sub>3</sub> concentré. On complète avec de l'eau bidistillée au trait de jauge.

2. Solutions de calcium et de magnésium 10<sup>-2</sup>M et 10<sup>-3</sup>M (préparées à partir de CaCO<sub>3</sub> et de MgCO<sub>3</sub>).

3. Solutions d'EDTA 10<sup>-3</sup>M et 10<sup>-4</sup>M, préparées à partir du sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tétracétique.

4. Solutions d'EGTA 10<sup>-3</sup>M et 10<sup>-4</sup>M. On dissout 0,3803 g d'acide éthylèneglycol-bis-(amino-2-éthyléther)-N,N'-tétracétique dans 5 ml de NaOH 1 M, en chauffant légèrement. On complète au litre avec de l'eau bidistillée. Les solutions sont titrées par les solutions standard de calcium et de magnésium 10<sup>-3</sup>M.

5. Solution tampon complexante de citrate et de tartrate. 1,00 g de citrate de sodium C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>Na<sub>3</sub>, 5 1/2 H<sub>2</sub>O et 1 g de tartrate sodicopotassique sont dissous dans 100 ml d'eau bidistillée. Cette solution sert à masquer le Fe<sup>3+</sup>.

*I. Dosage du calcium et du magnésium dans le sérum sanguin.* – *Mode opératoire*: on introduit 0,5 à 1 ml de sérum dans un ballon de 10 ml, on porte au trait de jauge avec une solution de NaCl 0,9%. Après homogénéisation, on prélève 2 ml de cette solution, on y ajoute 0,1 ml de la solution complexante 5 et 10 ml de la solution tampon 1. On complète à 30 ml par de l'eau bidistillée.

On titre le calcium au moyen d'une solution d'EGTA 10<sup>-3</sup>M (solution 3) et le magnésium au moyen d'une solution d'EDTA 10<sup>-4</sup>M (solution 4). Si on ne dispose pas d'au moins 0,5 ml de sérum, on procède sur la totalité du sérum (addition de 0,1 ml de la solution 5, etc.) sans dilution avec la solution NaCl 0,9%. La quantité minimum de sérum nécessaire est de 0,05 ml.

Dans le tableau I nous donnons les résultats du dosage du calcium et du magnésium dans des échantillons de 7 sérums et dans un sérum standard fourni par la Maison MERZ & DADE.

Nous avons tenu compte, pour chaque dosage, de la valeur du blanc obtenue comme indiqué ci-dessus, mais sans addition de sérum (Tableau I).

*II. Dosage du calcium et du magnésium dans l'urine.* Dans ce cas, l'application de notre méthode ampérométrique exige un traitement préalable de l'urine. En effet un certain nombre de matières organiques sont oxydables au potentiel ampérométrique du dosage. Le courant très important qui en résulte fausse les résultats en se superposant au courant d'oxydation du mercure en présence de complexon. Les substances gênantes doivent être détruites. Nous proposons deux processus: a) minéralisation de 50 ml d'urine; b) traitement de l'urine par une solution de KMnO<sub>4</sub> 1%, ce qui détruit suffisamment les substances organiques gênantes.

a) *Dosage après minéralisation.* Dans une capsule de platine, on évapore sous une calotte chauffante IR, 50 ml d'urine, additionnés de 5 ml de HNO<sub>3</sub> concentré. Le résidu est repris par 5 ml de HNO<sub>3</sub> concentré. On évapore à sec. On répète cette évaporation deux fois avec 2 ml d'eau bidistillée. On dissout, p. ex., 0,2075 g du résidu obtenu dans quelques gouttes d'HCl concentré et 10 ml d'eau bidistillée, transvase cette solution dans un ballon de 100 ml et complète au trait de jauge par de l'eau bidistillée (= solution A). Le dosage du calcium et du magnésium est effectué sur une prise de 5 ml de cette solution. A cet effet on ajoute à la prise 10 ml de tampon éthanolamine 10<sup>-1</sup>M, 0,1 ml de la solution citrate-tartrate et de l'eau bidistillée au volume total de 30 ml, et titre successivement le calcium (EGTA 10<sup>-3</sup>M) et le magnésium (EDTA 10<sup>-3</sup>M).

b) *Dosage après traitement au permanganate.* A 0,5–1,0 ml d'urine on ajoute 10 ml du tampon éthanolamine, 0,1 ml de la solution citrate-tartrate et 15 ml d'eau distillée, puis 0,2 ml de KMnO<sub>4</sub>

Tableau I. Résultats du dosage du calcium et du magnésium dans 8 échantillons de sérum sanguin, avec EGTA et EDTA 10<sup>-3</sup>M

Prises: 2 ml d'une solution contenant x ml de sérum dans 10 ml	Trouvé; mg/100 ml sérum		Ecartis extrêmes %		Déviation standard		Limite de confiance à 95%		Résultats trouvés par méthode complexo- métrique classique	
	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
0,6 ml	10,6 10,5 Moy. = 10,50	3,0 2,9 3,0 2,8 Moy. = 2,93	0,95	3,45	± 0,100 ou ± 0,95%	± 0,100 ou ± 3,41%	± 2,63%	± 9,45%	10,9	
0,8 ml	10,5 10,2 Moy. = 10,30	1,15 1,95 1,80 Moy. = 1,96	1,94	7,69	± 0,183 ou ± 1,78%	± 0,125 ou ± 6,38%	± 4,93%	± 17,67%	10,9	
0,4 ml	11,3 10,4 Moy. = 10,6	2,6 2,7 2,5 Moy. = 2,60	5,12	3,85	± 0,480 ou ± 4,53%	± 0,08 ou ± 3,08%	± 12,55%	± 8,54%	10,3	
1,2 ml	7,4 7,6 Moy. = 7,57	1,7 1,8 1,9 1,7 Moy. = 1,77	2,63	5,56	± 0,129 ou ± 1,70%	± 0,100 ou ± 5,68%	± 4,71%	± 15,74%	8,4	
1,7 ml	10,0 9,9 Moy. = 10,02	2,2 2,0 1,9 2,0 Moy. = 2,03	1,98	7,32	± 0,245 ou ± 2,44%	± 0,128 ou ± 6,30%	± 6,76%	± 17,45%	9,3	
1,4 ml	10,1 10,2 Moy. = 10,04	2,3 2,0 2,1 2,1 Moy. = 2,13	2,09	6,98	± 0,220 ou ± 2,20%	± 0,128 ou ± 6,00%	± 6,09%	± 16,62%	10,1	
0,5 ml	8,6 8,9 Moy. = 8,82	1,9 2,1 2,0 Moy. = 2,03	2,27	5,00	± 0,173 ou ± 1,96%	± 0,100 ou ± 4,93%	± 5,43%	± 13,66%	8,8	
Labtrol « Dale » sérum standard 2,0 ml	10,4 10,4 10,2 10,3 Moy. = 10,36	3,9 3,2 3,7 3,3 3,5 Moy. = 3,52	1,45	9,86	± 0,132 ou ± 1,27%	± 0,287 ou ± 8,15%	± 3,30%	± 19,20%	Ca <sup>++</sup> = 10,3* Mg <sup>++</sup> = 3,6*	

\*) chiffres donnés par la maison MERZ & DADE

à 1%, chauffe la solution jusqu'à décoloration de la solution, jaune au départ, et formation d'un précipité de  $MnO_2$  (durée environ 1 min) et titre le calcium et le magnésium respectivement par EGTA  $10^{-3}M$  et EDTA  $10^{-3}M$ . On effectue un blanc comme dans le dosage du sérum.

Remarque: la détermination du point final du titrage du calcium demande une certaine attention. On observe en effet un brusque saut de courant avant le point équivalent, saut dû probablement au fait qu'une partie du calcium est complexée par des protéines. Le courant du circuit ampérométrique reprend sa valeur initiale après quelques s. Une nouvelle addition d'EGTA provoque le même phénomène. On poursuit le titrage du calcium jusqu'à ce que l'addition d'une goutte du réactif ne produise plus de diminution de courant. Le précipité de  $MnO_2$  ne gêne pas.

Dans le tableau II nous donnons les résultats obtenus par les deux procédés a) et b).

Tableau II. Dosage du calcium et du magnésium dans l'urine avec EGTA et EDTA  $10^{-3}M$

Procédé	Prise	Trouvé (mg/l)		Ecartes extrêmes %		Déviation standard		Limite de confiance à 95%			
		Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>		
a)	2 ml	197	185	94	102	4,46%	5,15%	± 7,95	± 4,27	± 11,41	± 12,24
	minéra- solution A)	199	182	92	95			(± 4,12%)	(± 4,42%)		
	lisation contenant	197	100								
	0,2075 g de			Moy. =	Moy. =						
	résidu dans	193	96,6								
	100 ml solution										
b)	0,5 ml	360	407	134	128	6,12%	4,48%	± 17,78	± 3,87	± 13,02	± 7,84
	Ox. par d'urine	373	373	136	140			(± 4,70%)	(± 2,83%)		
	KMnO <sub>4</sub>	386	132								
	1%	Moy. =	Moy. =								
		379,8	134,0								

III. Dosage du calcium et du magnésium dans un calcul<sup>2)</sup> recueilli dans les selles d'un malade. On dissout environ 0,25 g de calcul dans quelques gouttes de HCl 12N et 10 ml d'eau bidistillée, en chauffant légèrement, puis on transvase la solution dans un ballon de 100 ml. On complète au trait de jauge par de l'eau bidistillée.

A 2 ml de cette solution, on ajoute 10 ml de tampon éthanolamine, 0,2 ml de la solution citrate-tartrate, on complète à 30 ml par de l'eau bidistillée, et titre le calcium par l'EGTA  $10^{-3}M$  et le magnésium par l'EDTA  $10^{-2}M$ , le magnésium étant généralement en plus grande quantité ( $[Ca^{++}]/[Mg^{++}] \sim 1/10$ ).

Résultats: voir tableau III.

Tableau III. Dosage du calcium et du magnésium dans un calcul synthétique par EDTA  $10^{-2}M$  et EGTA  $10^{-3}M$

Prise	Trouvé %		Ecartes extrêmes %		Déviation standard		Limite de confiance à 95%			
	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>		
2 ml d'une solution	0,26	0,22	17,1	16,9	8,33%	1,76%	± 0,02	± 0,22	± 15,20	± 3,07
contenant 0,2573 g	0,22	0,23	17,0	17,0			(± 6,30%)	(± 1,28%)		
du calcul dans	0,25	0,24	17,2	17,4						
100 ml	0,24	16,8								
	Moy. =	Moy. =								
	0,237	17,06								

<sup>2)</sup> Calcul provoqué par absorption médicamenteuse à base de magnésie calcinée.

## RÉSUMÉ

Un dosage ampérométrique simple (réalisé en une seule opération) et très rapide (25') du Ca et de Mg dans le sérum, l'urine et les calculs est proposé. Le calcium est dosé par l'ion éthylèneglycol-bis-(amino-2-éthyléther)-N,N'-tétracétate, et le magnésium, par l'ion éthylènediamine-tétracétate en présence d'un tampon (pH = 10,5) et d'un complexant (citrate-tartrate). Les courbes de polarisation montrent que le mercure est oxydé à 20 mV en présence d'EGTA ou d'EDTA. Le courant qui se manifeste dans ces conditions marque la fin des titrations. La précision est de  $\pm 2,5\%$  pour le Ca et  $\pm 5,0\%$  pour le Mg. Dans le cas de l'urine un traitement oxydant préalable est nécessaire (minéralisation complète ou traitement au  $\text{KMnO}_4$ ). La précision est de  $\pm 5,0\%$  pour les deux éléments.

Laboratoire de chimie minérale et analytique  
de l'Université de Genève

Nous tenons à remercier le FONDS NATIONAL SUISSE, POUR LA SCIENCE ATOMIQUE, grâce auquel il nous a été possible de mener à bien ce travail.

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] NILS E. SARIS, Duodécim. (Helsinki), 79, 482 (1963); H. SCHIRARDIN & P. MÉTAIS, Répert. médical pratique [13] 3, 17 (1962); A. A. ABD EL RAHEM, J. pharmaceut. Sci. United Arab Republ., cité d'après Chem. Abstr. 56, 7636a (1962); L. R. GJESSING, Scand. J. clin. Lab. Invest. 11, 190 (1959); G. H. HUNTER, Analyst, 84, 24 (1953).  
[2] V. SCHMELAR & M. HODANOVA, Chem. Abstr. 59, 4261 (1963); J. ETTORI & S. M. SCOGGAN, Clin. chim. Acta, 6, 861 (1961).  
[3] I. GREKH, Laboratornoe Delo 8, 8 (1962).  
[4] D. MONNIER & A. ROUËCHE, Helv. 47, 103 (1964).

---

## 97. Über die Herstellung von 2-Amino-5-Pyrazincarbonsäure und Derivaten

von E. Felder, D. Pitré und E. B. Grabitz

(9. III. 64)

Die von ELLINGSON & HENRY [1]<sup>1)</sup> nach der ROSENMUND'schen Methode aus dem nicht ohne weiteres zugänglichen 2-Amino-5-brom-pyrazin in geringer Ausbeute erhaltene 2-Aminopyrazin-5-carbonsäure (I) hat infolge ihrer Isosterie mit *p*-Aminobenzoessäure noch in jüngster Zeit Interesse an einer einfachen Synthese erweckt [2]. 2,5-Dicarbamoyl-pyrazin bzw. 2-Carbamoyl-5-äthoxycarbonyl-pyrazin liessen sich nicht nach HOFFMANN zu I abbauen [1] [2]. Dagegen konnte durch CURTIUS'schen Abbau des 5-Äthoxycarbonyl-pyrazin-2-carbonsäureazids das 2-(N-Benzyl-oxycarbonylamino)-5-äthoxycarbonyl-pyrazin erhalten werden, das durch saure Hydrolyse in I übergeführt wurde [2].

<sup>1)</sup> Die Ziffern in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, Seite 876.