

Ein universelles System für 2-Phasen-Säure/Base-Titrationsen

S. Wolf

Abteilung Qualitätskontrolle, F. Hoffmann-La Roche, CH-4002 Basel, Schweiz

A universal solvent system for two-phase acid/base titrations

Summary. A universal potentiometric acid/base titration system using a two-phase mixture of cyclohexanone/water has been developed. The potential of the electrodes is stable, brought about by the aqueous phase. The presence of the solvent improves the titration reaction by extraction of the reaction products as organic acid or base from the equilibrium into the organic phase. Titrations to a preset endpoint are possible. The high reproducibility makes the method suitable for quantitative evaluations, and in addition qualitative identification of the titrated substances may be carried out by means of the "apparent" pK-values. These are more specific than in water, due to the coefficient of distribution in the aqueous/organic phase. First the method serves as a valuable supplement, and secondly as an alternative for the existing technique of "non-aqueous titrations".

Einleitung

2-Phasen-Säure/Base-Titrationsen sind zwar in der Literatur schon mehrfach beschrieben (wie [1–4] und dort angegebene Literatur), haben sich jedoch bisher nicht durchgesetzt. Ein Grund hierfür mag sein, daß der Analytiker sich scheut, potentiometrische Titrationsen in einem Gemisch von Wasser mit Lösungsmitteln durchzuführen, in der Meinung, damit seien Potentialinstabilität und fehlerhafte Resultate verknüpft. Das ist unter vernünftigen Voraussetzungen nicht stichhaltig, wie unsere Ausführungen zeigen werden. Es ergeben sich im Gegenteil eine Reihe von Vorteilen gegenüber Titrationsen in einer Phase, sei es, daß diese Phase Wasser oder ein organisches Lösungsmittel ist. Die 2-Phasen-Säure/Base-Titrationsen stehen zwischen den genannten einphasigen Titrationsen und sind in ihrer Mittelstellung außerordentlich flexibel. So können nach unseren Erfahrungen durch die Wahl des Lösungsmittels, durch Benutzung einer Mischung von Lösungsmitteln, durch Änderung des Verhältnisses Wasser zu Lösungsmittel usw. interessante Variationen zur Bestimmung auch mehrerer Substanzen in einem Titrationsgang erzielt werden. Ein weiterer Vorteil ist es, daß durch die Extraktion des Reaktionsproduktes von der wäßrigen in die Lösungsmittelphase die Reaktion vollständiger ist.

Wir haben eine Vielzahl von Lösungsmitteln getestet und fanden im Cyclohexanon ein Solvent mit ausgezeichneten Eigenschaften für die 2-Phasen-Säure/Base-Titrationsen. Damit ist die Basis für eine generelle Anwendung dieser interessanten Titrationstechnik gegeben, welche nicht nur eine quantitative Aussage — anhand des Titriermittelverbrauches — sondern auch eine qualitative Aussage — mittels des „scheinbaren“ pK-Wertes — gestattet. Weil der Verteilungskoeffizient wäßrige/organische Phase in den „scheinbaren“ pK-Wert beim 2-Phasen-System eingeht, ist dieser spezifischer als der pK für das reinwäßrige einphasige System. Die nachfolgenden Beispiele aus der pharmazeutischen Applikation sollen die Möglichkeiten dieser analytischen Technik aufzeigen. Obwohl die Anwendungen hierfür besonders günstig sind, bedeutet das keine Einschränkung nur für dieses Gebiet.

Experimenteller Teil

Instrumentierung. Für alle Titrationsen im Rahmen dieser Arbeit wurde der Titroprozessor E 636 der Fa. Metrohm AG, Herisau, mit 1 ml-Büretten und Wechseleinheiten für die Titranten 1 mol/l HCl und 1 mol/l NaOH verwendet.

Als Indicatorelektrode wurde eine niederohmige Glaselektrode des Typs T der Fa. Metrohm verwendet, als Bezugselektrode eine separate Kalomelektrode, gefüllt mit 3 mol/l KCl-Lösung.

Um während der Titration eine genügend kräftige Durchmischung von wäßriger und Lösungsmittel-Phase zu erreichen, ist ein Propellerrührer zweckmäßig (Typ EA 1039 der Firma Metrohm AG, Herisau).

Lösungs- bzw. Extraktionsmittel. Zur Anwendung kommt aufbereitetes Cyclohexanon. Im Handel käufliche Produkte enthalten infolge Keto-Enol-Umlagerung zumeist eine schwache Säure, mit einer Konzentration bis zu 0,01%, die bei Titrationsen mit NaOH miterfaßt würde. Durch Ausschütteln mit verdünnter KOH und anschließendem mehrfachen Ausschütteln mit dest. Wasser kann die saure Komponente problemlos eliminiert werden. Im derart gereinigten Cyclohexanon wurde mittels Karl-Fischer-Titration ca. 6% Wasser bestimmt.

Durchführung. Die zu titrierende Substanz oder Probe wird in ein hohes 50 ml-Becherglas gebracht und — je nach der besseren Löslichkeit — werden zuerst entweder 15 ml Wasser oder 15 ml Cyclohexanon zugesetzt. Gegebenenfalls

Tabelle 1. Titrationen mit NaOH

	„Scheinbarer“ pK-Wert in Cyclohexanon/Wasser 1:1	pK-Wert in Wasser	Δ , bezogen auf pK in Wasser
Chlordiazepoxid · HCl	< 2,4	4,5	~ -2,1
Flucytosin · HCl	2,9	3,3	-0,4
Amitryptilin · HCl	5,2	7,4	-2,2
Lidocain · HCl	5,7	7,8	-2,1
Mefenorex · HCl	6,2	9,0	-2,8
Procarbazin · HCl	6,4		
D-Pseudoephedrin · HCl	8,7	9,2	-0,5
Cetylpyridinium-chlorid	~ 11		
Flurazepam · 2 HCl	< 2,4	< 2,6	
	5,0	7,7	-2,7
Diamthazol · 2 HCl	3,7	4,1	-0,4
	6,8	9,2	-2,4
Dehydroemetin · 2 HCl	6,5 (2 Äquiv.)	6,9	~ -0,4
		8,9	~ -2,4
Dextromethorphan · HBr	6,8	9,6	-2,8
Chinin-sulfat	6,1 (2 Äquiv.)	8,3 (2 Äquiv.)	-2,2
Amphetamin-sulfat	8,3 (2 Äquiv.)	~ 10 (2 Äquiv.)	~ -1,7
Iproniazid-phosphat	3,3	3,7	-0,4
	7,0 (pK ₂ , H ₃ PO ₄)	6,9 (pK ₂ , H ₃ PO ₄)	
Azapetin-phosphat	4,3	6,9 (2 Äquiv.)	~ -2,6
	7,1 (pK ₂ , H ₃ PO ₄)		
Codein-phosphat	7,0 (2 Äquiv., davon eines pK ₂ , H ₃ PO ₄)	8,2 (2 Äquiv.)	~ -1,2
Midazolam-maleinat	3,4	5,6 (2 Äquiv.)	~ -2,2
	6,5 (pK ₂ , Maleins.)		
Chlorpheniramin-maleinat	6,6 (2 Äquiv.)	6,2 (pK ₂ , Maleins.)	
		~ 9	~ -2,4
Levorphanol-tartrat	4,4 (pK ₂ , Weins.)	4,2 (pK ₂ , Weins.)	
	6,9	9,0	-2,1
Nicotinylalcohol-tartrat	4,5 (2 Äquiv., davon eines pK ₂ , Weins.)	4,6 (2 Äquiv.)	
Phenindamin-tartrat	4,6 (2 Äquiv., davon eines pK ₂ , Weins.)	4,3 (2 Äquiv.)	
		7,4	~ -2,8

Tabelle 2
Titrationen mit HCl

	„Scheinbarer“ pK-Wert in Cyclohexanon/Wasser 1:1	pK-Wert in Wasser	Δ , bezogen auf pK in Wasser
Na-benzoat	6,3	4,2	+2,1
Na-salicylat	5,6	3,0	+2,6
Saccharin-Na	3,4	1,3	+2,1
Lasalocid-Na	6,8		
Ceftriaxon-di-Na	4,2 (2 Äquiv.)		
Na-D-pantothenat	4,7	4,4	+0,3
Ca-D-pantothenat	4,6 (2 Äquiv.)		
di-Na- β -glycerophosphat ^a	6,5 (nur 1 Äquiv!)		
Ca-glycerophosphat ^a	6,3 (nur 1 Äquiv!)	6,3	± 0
Menadiol-diphosphat- tetra-Na ^b	6,6 (nur 2 Äquiv!)		
Estramustin-dihydrogen- phosphat-di-Na	8,4		
	5,3		

^a Obwohl hier 2 Na bzw. 1 Ca im Molekül vorhanden sind, resultiert nur ein Sprung für 1 Äquivalent! Das 2. Äquivalent muß deshalb mit einer derart sauren Stufe der H₃PO₄ verknüpft sein, daß der Sprung außerhalb des erfaßbaren Bereiches liegt (pK < 2,5) bzw. die Verdrängungsreaktion mit HCl nicht stattfinden kann

^b Hier gilt das Gleiche wie bei ^a. Es sind jedoch 4 Na im Molekül vorhanden, während der Sprung für 2 Äquivalente erfolgt

kann durch Ultraschall die Auflösung beschleunigt werden. Nach dem Lösen wird als Gegenphase entweder 15 ml Cyclohexanon oder 15 ml Wasser zugefügt, am Titrierstand abgeschlossen und mit 1 mol/l HCl oder 1 mol/l NaOH mit monotonen Volumeninkrementen von fallweise 10 bis 40 μ l

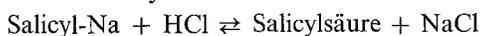
titriert. Die Berechnung des ml-Verbrauches am Äquivalenzpunkt anhand der drei größten Potentialdifferenzen wurde für monotone Volumeninkremente bereits vor längerer Zeit entwickelt und publiziert [5]. Eine Verfeinerung dieser Auswertemethode wurde später noch vorgenommen [6].

Resultate und Diskussion

Die hier mit der 2-Phasen-Titration (Cyclohexanon/Wasser 1:1) titrierten sauren und basischen Komponenten, in der Hauptsache pharmazeutische Wirkstoffe, sind in den Tabellen 1 und 2 aufgeführt.

Als 2-Phasen-Säure/Base-Titration in ihrer ursprünglichen Form bezeichnen wir solche mit Titrationsreaktionen, wo entweder durch den Titrant HCl eine schwächere organische Säure aus dem Verband mit einer Base verdrängt und dann aus der wäßrigen Phase in diejenige des Lösungsmittels extrahiert wird oder umgekehrt durch den Titrant NaOH eine schwächere organische Base aus dem Verband mit einer Säure verdrängt und entsprechend extrahiert wird. Die derart titrierbaren Substanzen – als Beispiele seien hier Natriumsalicylat und Dextromethorphan-Hydrobromid dargestellt – nennen wir „typische Substanzen“:

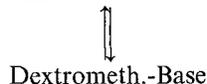
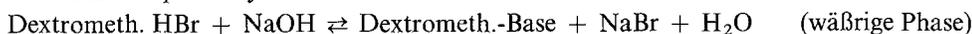
Natriumsalicylat:



(wäßrige Phase)

(organische Phase)

Dextromethorphan-Hydrobromid:



(wäßrige Phase)

(organische Phase)

Während bei einer Titration in reinwäßriger Phase unter bestimmten Voraussetzungen der pK-Wert als pH-Wert bei 50% der bis zum Äquivalenzpunkt notwendigen Menge Titrant ablesbar ist, trifft dies im 2-Phasensystem in dieser Form nicht zu, weil ein wesentlicher Teil der freigesetzten Säure bzw. Base ins Lösungsmittel extrahiert wird. Man erhält somit einen „scheinbaren“ pK-Wert, der – je nach der Löslichkeit dieser freigesetzten Säure oder Base im Solvent bzw. Wasser – mehr oder weniger verschoben ist: bei Säuren nach höheren Werten, bei Basen nach tieferen Werten, bezogen auf den pK-Wert in Wasser (vgl. hierzu Tabellen 1 und 2).

Man erkennt, daß die Differenz Δ zwischen pK-Wert in Wasser und „scheinbarem“ pK-Wert direkt vom Verteilungskoeffizient wäßrige/organische Phase der durch die Verdrängungsreaktion freigesetzten organischen Base bzw. Säure abhängt. Δ ist um so größer, je besser letztere in der organischen Phase des Cyclohexanon löslich sind. Δ ist kleiner, wenn die Reaktionsprodukte noch relativ wasserlöslich sind. Das ist besonders gut bei den Dihydrochloriden erkennbar. In der ersten Reaktionsstufe entsteht das noch wasserlösliche Monohydrochlorid mit kleinem Δ , während erst in der zweiten Reaktionsstufe die Base freigesetzt wird, womit ein wesentlich größerer Δ -Wert resultiert.

Bei den Phosphaten, Maleinaten und Tartraten der Wirkstoffe ist nur die stärkste Säurestufe (pK₁) eine Bindung mit der organischen Base eingegangen, während die schwächere (pK₂) frei und direkt mit NaOH titrierbar ist. Je nach dem pK-Wert der Base kann der Potentialsprung für die organische Säure hinter oder vor dem der Base liegen oder aber auch mit dieser zusammenfallen. Durch die im 2-Phasen-System eintretende pK-Verschiebung kann die Situation hier wiederum anders sein als im Wasser. Die Abbil-

dungen 1 und 2 sowie die Zahlenwerte in Tabelle 1 machen dies deutlich. Während Midazolam-maleinat (Abb. 1) in Wasser nur einen einzigen Sprung mit 2 Äquivalenten liefert, tritt im 2-Phasen-System eine Auftrennung ein. Hingegen ist das Umgekehrte beim Chlorpheniramin-maleinat der Fall, weil die Base dieses Wirkstoffes stärker als diejenige des Midazolam-maleinats ist und folglich durch die pK-Verschiebung mit pK₂ der Maleinsäure, welche sich zwischen Wasser und 2-Phasen-System kaum ändert, zusammenfällt. Ebenso verhält sich auch Dehydroemetin · 2 HCl gemäß Abb. 2. Trotzdem ist auch hier wegen des wesentlich steileren Potentialsprunges die 2-Phasen-Technik zu bevorzugen.

Die beiden pharmazeutischen Wirkstoffe D-Pseudoephedrin und Dextromethorphan · HBr werden häufig kombiniert benutzt. Ihre pK-Werte in Wasser sind 9,2 bzw. 9,6, d.h. sie fallen bei der Titration mit NaOH in Wasser zusammen (Abb. 3a). Geht man hingegen ins 2-Phasen-System

Cyclohexanon/Wasser (1:1) über, so sind die „scheinbaren“ pK-Werte 8,7 bzw. 6,8. Das erlaubt eine titrimetrische Trennung (Abb. 3b).

Der „scheinbare“ pK-Wert ist für gegebene Bedingungen, d.h. Art des Solvent und Verhältnis Wasser/Solvent durchaus innerhalb $\pm 0,1$ reproduzierbar und kann deshalb zur Identifikation der titrierten, d.h. quantitativ bestimmten Substanzen, dienen (siehe hierzu [4]). Die Autoren dieser Arbeit weisen auch auf die Ähnlichkeit der zugrundeliegenden Gleichungen für die „scheinbare“ Säurekonstante einerseits und die Retentionszeit in der Chromatographie andererseits hin.

Mit dem Cyclohexanon als zweiter Phase haben wir ein Solvent gefunden, welches mit 5 bis 10% etwa gleichviel Wasser aufnimmt, wie sich umgekehrt Cyclohexanon in Wasser löst (gemäß The Merck Index, 10. Ed.). Es ist deshalb nicht nur für die geschilderten Verdrängungsreaktionen gut geeignet sondern auch für normale Säure/Base-Reaktionen, also Titrationen organischer Basen mit HCl bzw. organischer Säuren mit NaOH. Der Vorteil des Solvent liegt hier vornehmlich in den besseren Lösungseigenschaften im Vergleich zu Wasser. Mit der Fähigkeit des Cyclohexanons, beide beschriebenen Titrationsarten zu begünstigen, wird der Applikationsbereich deutlich erweitert.

Die obigen Beispiele zeigen, daß durch Anwendung der 2-Phasen-Titration, gegebenenfalls sogar in Kombination mit derjenigen im Wasser, viele Möglichkeiten zur Anpassung an die gegebene Problematik bestehen. Mit einer Änderung der Zusammensetzung der organischen Phase sowie auch mit einer Änderung des Verhältnisses organische Phase/Wasser ist eine weitere Flexibilität gegeben. Benutzt man statt Cyclohexanon allein eine Mischung dieses mit Cyclohexan (1:1), so resultiert eine Verschiebung des Kur-

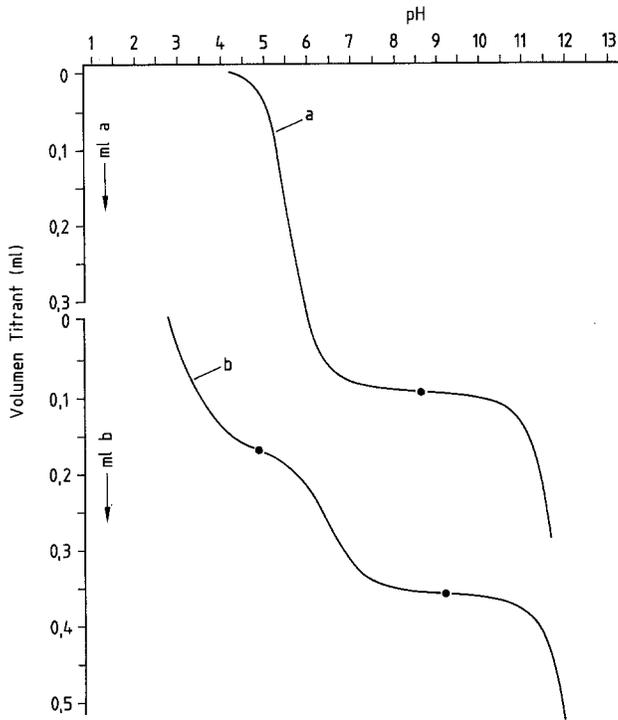


Abb. 1. Midazolam-maleinat titriert mit 1 mol/l NaOH *a* in Wasser; *b* im 2-Phasen-System Cyclohexanon/Wasser 1:1. Verbrauch (ml) bis 1. Endpunkt: Verdrängung der Midazolam-Base. Verbrauch (ml) 1. bis 2. Endpunkt: Maleinsäure, 2. Stufe

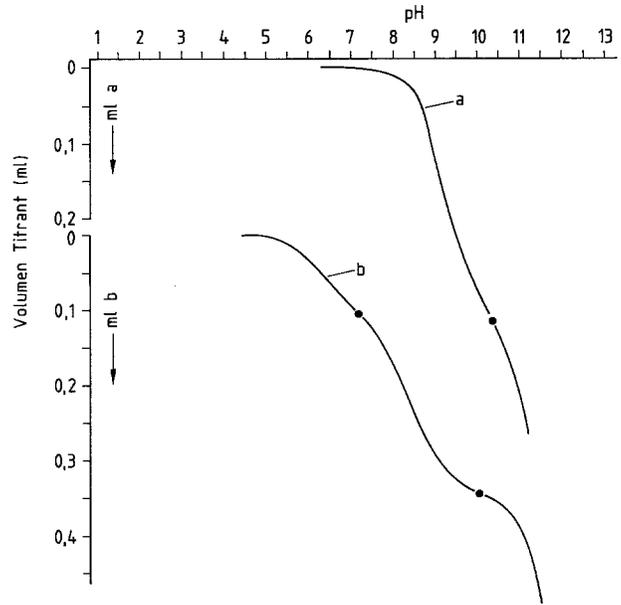


Abb. 3. D-Pseudoephedrin · HCl + Dextromethorphan · HBr in Tropfenlösung titriert mit 1 mol/l NaOH *a* in Wasser; *b* im 2-Phasen-System Cyclohexanon/Wasser 1:1. Verbrauch (ml) bis 1. Endpunkt: Dextromethorphan. Verbrauch (ml) 1. bis 2. Endpunkt: D-Pseudoephedrin

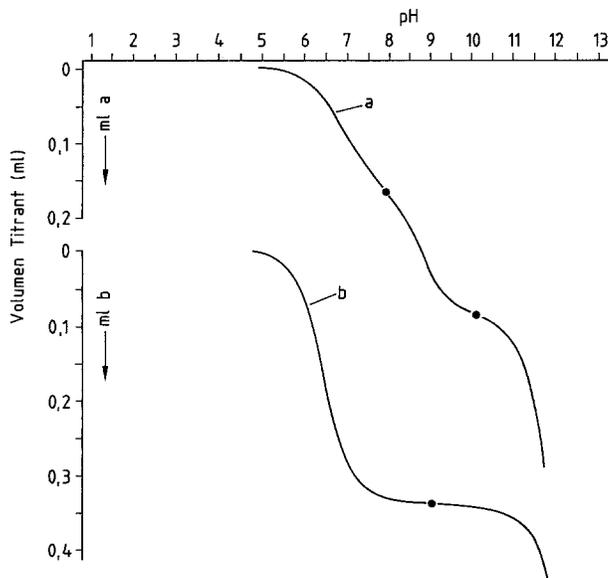


Abb. 2. Dehydroemetin · 2 HCl titriert mit 1 mol/l NaOH *a* in Wasser, Verbrauch (ml) bis 1. Endpunkt: Verdrängung der schwächer basischen Gruppe. Verbrauch (ml) 1. bis 2. Endpunkt: Verdrängung der stärker basischen Gruppe. *b* Im 2-Phasen-System Cyclohexanon/Wasser 1:1

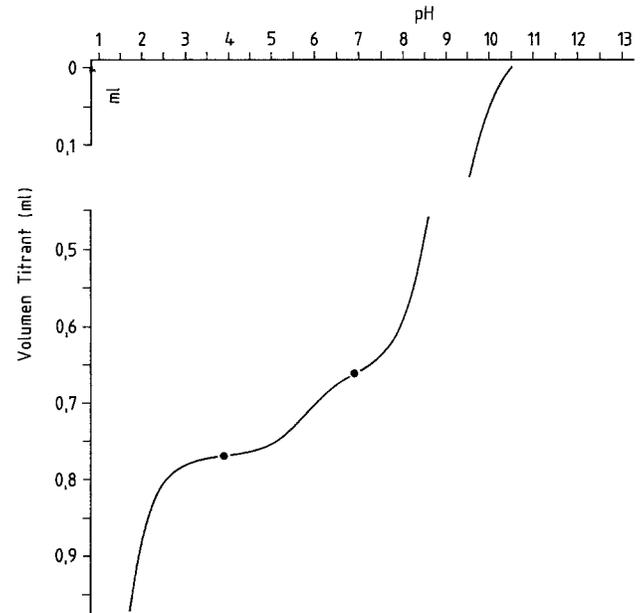


Abb. 4. Trimethoprim + Sulfamethoxazol-Na in Ampullenlösung titriert mit 1 mol/l HCl im 2-Phasen-System Cyclohexanon/Wasser 1:1. Verbrauch (ml) bis 1. Endpunkt: Sulfamethoxazol-Na. Verbrauch (ml) 1. bis 2. Endpunkt: Trimethoprim

venbildes und Beeinflussung der Kurvensteilheit der beiden Komponenten. Diese Anwendung hat sich in gewissen Fällen als vorteilhaft erwiesen. Es kann auch die Titration „auf Endpunkt“ von Vorteil sein, was im 2-Phasen-System Cyclohexanon/Wasser 1:1 problemlos möglich ist.

Zugleich kann auch anstelle des Verhältnisses 1:1 für Cyclohexanon/Wasser ein solches von 2:1 benutzt werden,

womit in der Randzone an der oberen oder unteren Seite der pH-Skala noch Titrationsendpunkte zu erhalten sind, die anderenfalls nicht erfaßbar sind. Die Mischung 2:1 stellt allerdings eine Grenze dar.

Am Beispiel der Kombination von Trimethoprim und Sulfamethoxazol sei gezeigt, daß sich in einem Titrationsgang mit HCl als Titrant beide Wirkstoffe nebeneinander bestim-

men lassen. Sulfamethoxazol, hier als lösliche Natrium-Verbindung vorhanden und damit eine „typische Substanz“, unterliegt der Verdrängungsreaktion unter Freisetzung der resultierenden sauren Verbindung, während Trimethoprim als basische Verbindung direkt titrimetrisch mit HCl erfaßt wird (Abb. 4).

Der pH-Bereich, in welchem der pK-Wert der zu bestimmenden Verbindung im Falle der 2-Phasen-Titration mit HCl bzw. NaOH als Titrant liegen muß, ist ca. 3 bis 11. An den Grenzen dieses Bereichs im Sinne stärkerer Säure und stärkerer Base wird dieser gegenüber Wasser als einer Phase erweitert. Beispiele hierfür sind Cetylpyridiniumchlorid in Tabelle 1 und Ceftriaxon-di-Na in Tabelle 2. Diese Substanzen liefern im Medium Wasser keinen Endpunkt. Sind die beteiligten Säuren oder Basen allerdings noch stärker, dann ist die Verdrängungsreaktion nicht möglich.

Unter den beschriebenen Bedingungen – mit 1 ml-Bürette – beträgt die Reproduzierbarkeit, z.B. ermittelt durch 10fache Titration separater Einwagen von 150 bis 160 mg Amitriptylin · HCl mit 1 mol/l NaOH als Titrant, s_{rel}

$\pm 0,11\%$. Das ist in der gleichen Größenordnung, wie man es von den routinemäßigen titrimetrischen Gehaltsbestimmungen pharmazeutischer Wirkstoffe gewohnt ist.

Dank. Herrn Dr. J. Knöbel sei an dieser Stelle für mannigfache Hilfe und Beratung gedankt.

Literatur

1. Hux RA, Puon S, Cantwell FF (1980) *Anal Chem* 52:2388–2392
2. Johansson PA, Hoffmann G, Stefansson U (1982) *Anal Chim Acta* 140:77–88
3. Johansson PA, Stefansson U, Hoffmann G (1983) *Anal Chim Acta* 151:49–63
4. Johansson PA, Thelander S (1987) *Anal Chim Acta* 192:17–31
5. Wolf S (1970) *Fresenius Z Anal Chem* 250:13–17
6. Randin M, Persönliche Mitteilung

Eingegangen am 4. Juni 1988; neue Fassung 2. Dezember 1988