



Titrimetrie

HET AUTOMATISEREN VAN DE DOSS-TITRATIE

C.A.M Mastenbroek-Posthumus,
Regionaal Controle Laboratorium der
Rotterdamse apotheken, Rotterdam.

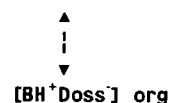
Samenvatting

Er zijn twee nieuwe methoden getest om de handmatige Doss-titratie te automatiseren. De Doss-titratie wordt veel gebruikt bij de analyse van farmaceutische stoffen in diverse toedieningsvormen.

Als eerste wordt getest een surfactant electrode. Hiermee kan een potentiometrische titratie uitgevoerd worden in waterig milieu, waarbij gebruik gemaakt wordt van de stof natriumtetrafenylboraat als titervloeistof. Tevens wordt getest een fotometrische titratie, waarbij net als bij de handmatige titratie getitreerd wordt in een tweefasen systeem. Beide methoden zijn getest op enkele farmaceutische stoffen: Papaverinehydrochloride, promethazinehydrochloride, noscapinehydrochloride, lidocaine(hydrochloride), depropinecitraat en codeinefosfaat. Het blijkt mogelijk te zijn om m.b.v. deze twee nieuwe methoden het gehalte van enkele stoffen in hun toedieningsvorm te bepalen. Beide methoden hebben ieder hun eigen voor- en nadelen.

Inleiding

Bij de controle van farmaceutische preparaten wordt veel gebruik gemaakt van een Doss-titratie. De Doss-titratie is een handmatig uitgevoerde titratie waarbij getitreerd wordt in een tweefasen systeem. Dit tweefasen systeem bestaat uit een waterlaag en een organische laag, waarbij de organische laag meestal uit chloroform bestaat. Het principe van de Doss-titratie berust op de vorming van een ionpaar in de waterfase. Omdat deze reactie niet volledig verloopt wordt een organische fase toegevoegd om het ionpaar uit de waterfase te extraheren. De reactie verloopt als volgt:



Hierbij is B de stikstofbevattende organische base die door zuuropname met het negatief geladen Doss-ion een ionpaar kan vormen.

Door toevoeging van een indicator, dimethylgeel, wordt het equivalentiepunt zichtbaar gemaakt door een kleurverandering van de organische fase van geel naar oranje/rood.

Het voordeel van deze handmatige Doss-titratie is dat het gehalte in relatief laaggedoseerde toedieningsvormen bepaald kan worden. Ook isolatie van de farmaceutische stof uit de toedieningsvorm is niet nodig.

Aan deze titratie kleven echter ook enkele nadelen. Tijdens de titratie moet krachtig geschud worden om het gevormde ionpaar te extraheren in de organische fase. Dit schudden heeft weer als gevolg dat er emulsievorming optreedt waardoor het equivalentiepunt moeilijk waar te nemen is. Ook blijkt de detectie van het equivalentiepunt persoonsafhankelijk te zijn.

Surfactant electrode

Met de surfactant electrode kunnen oppervlakte-actieve stoffen bepaald worden in allerlei preparaten. Aangezien bij de Doss-titratie ook gebruik gemaakt wordt van een oppervlakte-actieve stof, nl. de titrant natriumdioctylsulfosuccinaat of ook wel natriumlaurylsulfaat, is nagegaan of deze handmatige Doss-titratie ook met behulp van de surfactant electrode uitgevoerd kan worden.

De surfactant electrode is een membraan electrode en wordt gebruikt in combinatie met een double junction referentie electrode. Aangezien de surfactant electrode aangetast kan worden door meerdere organische vloeistoffen o.a. chloroform kan er alleen getitreerd worden in een waterige fase. Echter, een voorwaarde bij de handmatige Doss-titratie is de aanwezigheid van een organische fase om

het gevormde ionpaar uit de waterfase te extraheren en het evenwicht aflopend te maken.

Uit experimenten blijkt dat een titratie uitgevoerd in alleen een waterige fase geen goede resultaten oplevert wanneer er gebruik gemaakt wordt van natriumdioctylsulfosuccinaat of natriumlaurylsulfaat als titrant. Er vindt niet of nauwelijks een potentiaalsprong plaats. Uiteindelijk blijken met een in dit verband minder bekende titervloeistof nl. natriumtetrafenylboraat ($C_{24}H_{20}BNa$) betere resultaten gevonden te worden. Er vindt een duidelijke potentiaalsprong plaats en er kan getitreerd worden in een waterige oplossing.

Natriumtetrafenylboraat is meerdere malen beschreven in de literatuur. Deze stof wordt veel gebruikt ter bepaling van univalente kationen, verscheidene alkaloïden, kationische oppervlakteactieve stoffen quaternaire ammoniumverbindingen en amines. De methoden zijn gebaseerd op de vorming van slecht oplosbare tetrafenylboraatzouten. Zowel gravimetrische als titrimetrische methoden worden hiervoor gebruikt. (lit. 1,2)

Met natriumtetrafenylboraat als titrant wordt als eerste nagegaan of de farmaceutische stoffen in de grondstofvorm te bepalen zijn via deze methode. De resultaten die gevonden zijn, zijn vergeleken met een perchloorzuurtitratie. (Een veel gebruikte methode om het gehalte van een grondstof te bepalen.)

Vervolgens is nagegaan of het gehalte van deze stoffen ook in hun toedieningsvorm te bepalen is.

De volgende stoffen zijn getest:

- Promethazinehydrochloride (in tablet en siroop)
- Noscapinehydrochloride (in siroop en tablet)
- Deptropinecitraat (in drank)
- Lidocaïne (in zetpil en zalf)
- Codeinefosfaat

Indien mogelijk wordt de toedieningsvorm opgelost in de waterige oplossing. In het geval van een zetpil of zalf als toedieningsvorm wordt deze opgelost in water door zacht verwarmen. Onder roeren wordt afgekoeld en vervolgens wordt er getitreerd.

Resultaten

Promethazinehydrochloride en noscapinehydrochloride kunnen in beide toedieningsvormen goed bepaald worden. Er wordt getitreerd met een 0,005 m titrantoplossing, net als bij de handmatige titratie. Het blijkt dat de beste resultaten worden gevonden wanneer getitreerd wordt bij een pH van 3.

Voor de bepaling van deptropinecitraat in de gelijknamige drank wordt bij de handmatige titratie een titrantconcentratie van 0,0005 m gebruikt. Bij de potentiometrische titratie met natriumtetrafenylboraat wordt met deze concentratie een te vlakke curve gevonden. Er vindt nauwelijks nog een potentiaalsprong plaats. Uit onderzoek is gebleken dat de gevonden potentiaalsprong o.a. afhangt van de sterkte van de titer-vloeistof die gebruikt is. Daarom is gekozen voor een concentratie van 0,001 m natriumtetrafenylboraat. Bij deze titrantconcentratie vindt een duidelijke potentiaalsprong plaats en er is tevens niet al te veel drank nodig voor een redelijk verbruik (ca. 30 ml drank).

Het gehalte lidocaïne blijkt niet bepaald te kunnen worden wanneer getitreerd wordt met 0,005 m natriumtetrafenylboraat. Er ontstaat een nagenoeg vlakke curve. Wordt de concentratie tien maal versterkt, dan blijkt er wel een potentiaalsprong op te treden. In principe kan het gehalte lidocaïne op deze manier ook in zijn toedieningsvormen bepaald worden. Maar aangezien de electrode door de vette bestanddelen van beide toedieningsvormen redelijk snel dichtslibt blijkt dit toch nog een omslachtige methode te zijn om deze stof in zijn toedieningsvorm te bepalen.

Uit enkele experimenten blijkt dat de stof codeïnefosfaat niet met de surfactant electrode te bepalen is. Deze stof reageert zeer onvoorspelbaar: er worden verschillende soorten curves gevonden bij steeds dezelfde titraties. Besloten is om deze stof niet verder uit te werken via deze methode.

Een voorbeeld van een gehaltebepaling met behulp van de surfactant electrode ziet er als volgt uit.

Gehaltebepaling Deptropinecitraat in
Mixture deptropini citratis 0,1 mg/ml
FNA

Apparatuur en instellingen

Surfactant electrode:

model 93-42 (Orion)

Double junction ref. electrode:

model 90-02 (Orion)

Binnenvloeistof: groene oplossing verzadigd met AgCl

Buitenvloeistof: bevat een oplossing van 10% KNO₃

Titroprocessor : nr. 686 (Metrohm)

Dosimat : nr. 665 (Metrohm)

Roermotor : nr. E649 (metrohm)

Instelling titroprocessor:

JET-methode :

titr.rate : 1,00 ml/min

anticip. : 5

start V : 2,5 ml

stop V : 20,00 ml

stop EP# : 1

EP crit. : 3

Gebruikte reagentia

Natrium tetrafenylboraat 0,001 m:

Weeg af ca. 342 mg stof en los op in 1 liter gedestilleerd water. Stel de titer op de stof deptropinecitraat.

Azijnzuur R: Azijnzuur 5 molair

Water, gedestilleerd

Analyse

Weeg ca. 30 gram drank af in een bekersglas van 100 ml en voeg toe 1 ml azijnzuur R.

Titreer onder goed roeren met een 0,001 m oplossing van Natriumtetrafenylboraat.

1 ml Natriumtetrafenylboraat 0,001 m komt overeen met 0,526 mg deptropinecitraat. De drank bevat (1/Dichtheid) mg deptropinecitraat per afgewogen gram drank.

Fotometer

Er is nagegaan of de Doss-titratie automatisch uitgevoerd kan worden via een fotometrische titratie. Er wordt met

dezelfde titrant getitreerd als bij de handmatige titratie (Natriumdioctylsulfosuccinaat) en er wordt ook getitreerd in een tweefasen systeem. Er wordt nadat het monster is opgelost dus direkt getitreerd en niet, wat veel in de literatuur beschreven is, eerst een extractie uitgevoerd en vervolgens als tweede stap getitreerd.

De detectie van het equivalentiepunt verloopt via een fotometer. Deze wordt in de te titreren oplossing gehangen. Aangezien er sprake is van twee fasen in deze oplossing is het belangrijk dat er tijdens de titratie krachtig geroerd wordt.

Hierdoor vindt uiteindelijk emulsievorming plaats, waardoor men kan spreken over een "homogene oplossing". De fotometer detecteert de kleurverandering van deze "homogene oplossing" tijdens de titratie.

De fotometer is verbonden aan een titroprocessor. Met behulp van een bepaalde methode die ingesteld kan worden (MET-methode) kan een curve opgenomen worden die vergelijkbaar is met een potentiaalsprongcurve. De fotometer wordt voor de titratie op een bepaalde beginwaarde van de transmissie ingesteld. Vervolgens wordt de titratie gestart. Er vindt geen continue reagensdosering plaats. Er wordt met een bepaald tijdsinterval een in te stellen volume titrant toegevoegd, waarna vervolgens de transmissie van de oplossing wordt gemeten. Rond het equivalentiepunt zal de transmissieverandering het grootst zijn en zal er een transmissiesprong optreden. Het equivalentiepunt wordt op dezelfde manier bepaald als bij de curve van een potentiaalsprong.

De fotometer meet de transmissie van de oplossing bij een bepaalde golflengte. Wordt dimethylgeel als indicator gebruikt, dan wordt de golflengte op 520 nm ingesteld. bij deze waarde heeft de geprotoneerde indicator (rode kleur) een maximale absorptie, terwijl de absorptie van de ongeprotoneerde indicator minimaal is (gele kleur). Wordt een titratie uitgevoerd, dan geeft een maximale transmissiedaling het equivalentiepunt aan.

Wat van invloed bleek te zijn bij de

titratie was de weglengte van de fotocel. Wordt een weglengte van 2x 1 cm gebruikt, dan blijkt de troebeling die tijdens de titratie ontstaat een te grote invloed te hebben op de metingen. Er worden verkeerde resultaten gevonden. Een fotocel met een weglengte van 2x 0,5 cm geeft betere resultaten. Met deze weglengte zijn ook de verdere experimenten uitgevoerd.

Aangezien de kleurverandering tijdens het equivalentiepunt duidelijk moet zijn wanneer de waterfase en de organische fase gemengd zijn, wordt de hoeveelheid toegevoegde indicator vergroot. Bij de handmatige titratie is dit meestal enkele druppels van een 0,05% oplossing. Met de fotometrische titratie wordt 0,5 ml van een 0,1% indicatoroplossing toegevoegd.

Tevens wordt de hoeveelheid zuur die toegevoegd wordt verhoogd. (enkele ml ijsazijn, ca. 17 molair) i.p.v. enkele ml 5 molair azijnzuur). Er is nagegaan is of de hoeveelheid indicator die wordt toegevoegd van invloed is op het resultaat. Dit blijkt niet het geval te zijn. De fotometrische titratie is op de volgende stoffen getest:

- Promethazinehydrochloride (in tablet en siroop)
- Noscaphinehydrochloride (in siroop en tablet)
- Deptropinecitraat
- Lidocaïne(hydrochloride) (in oogdruppels en zalf)
- Codeïnefosfaat (zetspil)

Resultaten

Promethazinehydrochloride en noscaphinehydrochloride kunnen via deze methode redelijk goed bepaald worden. Wanneer een tablet getitreerd wordt blijkt de transmissie tijdens de titratie vaak niet stabiel te blijven, maar redelijk veel te variëren. Dit geeft vaak een vals equivalentiepunt. Het werkelijke equivalentiepunt blijkt hierdoor niet te worden beïnvloed.

Aangezien deproprinecitraat in de drank laag gedoseerd is, moet er getitreerd worden met een 0,0005 m titrantoplossing. Bij de handmatige titratie wordt het equivalentiepunt gevonden wanneer het grensvlak van de twee fasen waarin

getitreerd wordt juist een rode gloed heeft. Bij de fotometrische titratie is de kleurverandering met deze titrantconcentratie tijdens het equivalentiepunt zo weinig dat er geen transmissiesprong optreedt. Er wordt geen equivalentiepunt gevonden. Om deze reden wordt deproprinecitraat via deze methode niet verder uitgewerkt.

De gehaltebepaling van lidocaïne(hydrochloride) in beide toedieningsvormen blijkt op deze manier zeer goede resultaten op te leveren. Er wordt een duidelijke S-vormige curve gevonden en tijdens de titratie blijft de extinctie redelijk goed stabiel.

Ook de stof codeïnefosfaat in zetspillen kan via deze methode goed bepaald worden. Hoewel hier niet echt sprake is van een S-vormige curve is er toch duidelijk een transmissiesprong aanwezig. Codeïnefosfaat komt in meerdere combinaties voor in zetspillen. Ook de zetspilbasis die gebruikt wordt kan nog wel eens verschillen. Deze variaties kunnen van invloed zijn op de extinctie van de oplossing en uiteindelijk op de gevonden curve. Voor elk soort zetspil moet daarom om deze reden weer experimenteel de juiste omstandigheden gevonden worden om een goed resultaat te krijgen.

Een voorbeeld van een gehaltebepaling met behulp van de fotometer ziet er als volgt uit.

Gehaltebepaling lidocaïnehydrochloride in Ototoguttæ lidocaini 0,5% FNA

Apparatuur en instellingen

Fotometer : nr. 662 (Metrohm)
Titrprocessor : nr. 686 (Metrohm)
dosimat : nr. 665 (Metrohm)
roermotor : nr. E649 (Metrohm)
roervlo : lengte 3,5 cm

Instelling titrprocessor:

MET-methode

Vol.step : 0,20 ml
t(wait) : 20 s
stop V : 20,00 ml
stop EP# : 1
start V : 5,50 ml
EP. crit.U : 45 mV

Gebruikte reagentia

Natriumdioctylsulfosuccinaat 0,005 m:
Los op ca. 2,5 gram in 800 ml kokend water. Vul na afkoelen aan tot 1000 ml. Stel de titer op de stof papaverine hydrochloride.
Water, gedestilleerd
Chloroform
IJsazijn : azijnzuur 17 molair
dimethylgeelopl. 0,1% :
Los op 100 mg dimethylgeel in 100 ml alcohol 90%

Analyse

Weeg ca. 2 gram van de oordruppel af in een erlenmeyer van 50 ml. Los op in 20 ml water. Voeg vervolgens toe 5 ml ijsazijn, 25 ml chloroform en 0,5 ml dimethylgeelopl. Stel de transmissie van de fotocel in op 25%. Titreer onder goed roeren (stand 4) met een 0,005 m oplossing van Doss-Na.

1 ml 0,005 m Doss-Na komt overeen met 1,444 mg lidocaine HCl

Vergelijking van beide methoden

Er is nagegaan of de Doss-titratie, wat een handmatige titratie is, vervangen kan worden door een methode waarmee automatisch een gehaltebepaling uitgevoerd kan worden. Getest zijn twee methoden, een potentiometrische titratie met een surfactant electrode en een fotometrische titratie met een fotocel.

Een groot voordeel (op milieugebied) van de potentiometrische titratie is, dat er geen organische fase meer nodig is. Bij de fotometrische bepaling is dit nog wel het geval. Daarentegen is de verminderde gevoeligheid van de electrode een nadeel. Het tijdens de titratie gevormde neerslag beïnvloedt het electrodemembraan. Hierdoor vermindert de respons van de electrode: de potentiaalsprong wordt kleiner en krijgt een vlakkere helling. Er kunnen om deze reden problemen ontstaan wanneer er analyses in serie worden uitgevoerd. De electrode heeft tijd nodig om weer te conditioneren, vooral wanneer er met een grote titrantconcentratie wordt getitreerd. Dit i.t.t. de fotocel, waarbij op dat gebied geen rekening gehouden hoeft te worden met de respons van de fotocel.

Een nadeel van de fotocel is, dat de transmissie tijdens een titratie onverwachts kan variëren. Hierdoor kan soms een te vroeg (vals) equivalentiepunt worden gevonden. Ook blijkt de samenstelling van een toedieningsvorm van invloed te zijn op de gevonden curve.

Conclusie

Er bestaan mogelijkheden om de handmatige Doss-titratie te automatiseren. Voor enkele farmaceutische stoffen is nagegaan of het gehalte in hun toedieningsvorm potentiometrisch met een surfactant-electrode of fotometrisch via een fotometrische titratie bepaald kan worden. Er worden bij beide onderzochte methoden redelijke resultaten gevonden. Er is echter nog meer onderzoek nodig om na te gaan of deze methoden de handmatige titratie geheel kunnen vervangen.

Literatuur

1. Tsubouchi, M. and Mitsushio, H., "Application of one-phase end-point change system in two-phase titration to amine drug analysis", J. Pharm. Sci., 70 (1981), p. 1286-1288.
2. Roushdi, I.M. and Shafik, M., 'The use of sodium tetraphenylboron for the semimicro analysis of some organic bases', J. Pharm. Sci., 9 (1968), p 47-56.