

**Prom. Nr. 3596**

**Über die Identitäts-,  
Reinheits- und Gehaltsprüfung einiger  
Alkaloidbasen und -salze**

Von der  
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN  
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

zur Erlangung  
der Würde eines Doktors der Naturwissenschaften  
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von

ANGELA REIFFER

eidg. dipl. Apothekerin

von Winterthur (Kt. Zürich)

Referent: Herr Prof. Dr. J. Büchi

Korreferent: Herr Prof. Dr. H. Flück

Juris Druck + Verlag Zürich  
1965

Leer - Vide - Empty

Meinen lieben Eltern

Leer - Vide - Empty

Die vorliegende Arbeit wurde an der chemischen Abteilung des Pharmazeutischen Institutes der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich unter Leitung von

Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. J. Büchi

ausgeführt.

Meinem hochverehrten Lehrer möchte ich für die vielseitigen Anregungen und für die Förderung, die er meiner Arbeit angedeihen liess, recht herzlich danken.

Auch an Herrn Rudolf Schwegler, Verwalter am Pharmazeutischen Institut, richte ich meinen aufrichtigen Dank für seine allzeitige und freundliche Hilfsbereitschaft.

Leer - Vide - Empty

## INHALTSVERZEICHNIS

1.	Einleitung	11
2.	Allgemeiner Teil	12
2.1.	Die untersuchten Handelsmuster als Testmaterial	12
2.2.	Sinnenprüfungen	12
2.3.	Stammlösungen	13
2.4.	Identitätsprüfungen	13
2.4.1.	Allgemeine Bemerkungen	13
2.4.2.	Alkaloid-Fällungsreagenzien	14
2.4.2.1.	Ammoniumreineckat	14
2.4.2.2.	Tetraphenylbor-Natrium (Kalignost)	15
2.4.2.3.	Pikrinsäure	16
2.4.2.4.	Verschiedene weitere Fällungsreagenzien	17
2.4.3.	Papierchromatographische Prüfungen	18
2.4.4.	Identitätsprüfungen auf die Anionen	19
2.5.	Reinheitsprüfungen	20
2.5.1.	Allgemeine Reinheitskriterien	20
2.5.2.	Physikalisch-chemische Prüfungen	21
2.5.2.1.	Schmelzbereich	21
2.5.2.2.	Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen	21
2.5.2.3.	Spezifische Drehung	22
2.5.2.4.	Spektrophotometrie	22
2.5.2.5.	Bestimmung des pH-Wertes	23
2.5.3.	Chemische Reinheitsprüfungen	24
2.5.3.1.	Allgemeine Bemerkungen zur Methodik	24
2.5.3.2.	Grenzprüfung auf Alkalimetalle, Schwermetalle, Chlorid und Sulfat	25
2.5.3.3.	Grenzprüfung auf Schwefelsäure färbende Stoffe	27
2.5.4.	Feuchtigkeits-, Wasser- bzw. Kristalllösungsmittel-Gehalt	28
2.5.5.	Verbrennungsrückstand	29
2.6.	Gehaltsbestimmungen	29
2.6.1.	Allgemeine Bemerkungen	29

2.6.2.	Gravimetrische Methoden	30
2.6.3.	Massanalytische Methoden	31
2.6.3.1.	Alkalimetrische Gehaltsbestimmungen	31
2.6.3.2.	Azidimetrische Gehaltsbestimmungen	32
2.6.3.3.	Argentometrische Gehaltsbestimmungen	32
2.6.3.4.	Titration mit Perchlorsäure in Eisessig	34
2.6.3.5.	Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl	36
2.6.4.	Optische Methoden	39
2.6.4.1.	Kolorimetrische Gehaltsbestimmungen	39
2.6.4.2.	UV-Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen	40
2.7.	Reagenzienliste	41
3.	Spezieller Teil	
3.1.	Gliederung des Textes	43
3.2.	Anordnung der Abschnitte	43
3.2.1.	Definition, Nomenklatur, Konstitutionsformel und Bezeichnung	43
3.2.2.	Vorkommen	43
3.2.3.	Darstellung, Mögliche Verunreinigungen	44
3.2.4.	Prüfungen	44
3.2.5.	Untersuchung von Handelsmustern	44
3.2.6.	Abfassung von Monographievorschlägen	45
3.3.	Monographien	45
3.3.1.	Atropinum basicum	45
3.3.2.	Atropinium sulfuricum	74
3.3.3.	Ephedrinum basicum	89
3.3.4.	Ephedrinium chloratum	125
3.3.5.	Reserpinum basicum	142
3.3.6.	Ergotaminium tartaricum	184
3.3.7.	Dihydroergotaminium methansulfonicum	226
4.	Zusammenfassung	250
5.	Literaturzusammenstellung	252

### ABKUERZUNGEN

Brit. Pharm. Cod.	=	British Pharmaceutical Codex
Brit. Ph. 1958	=	British Pharmacopoeia 1958
Codex Gall. 7	=	Codex Medicamentarius Gallicus 1949
DAB 6	=	Deutsches Arzneibuch, 6. Ausgabe
F. Espan. IX	=	Farmacopoea Official Espanola 1954
Komm. DAB 6	=	Kommentar zum Deutschen Arzneibuch, 6. Ausgabe
Merck Index	=	The Merck Index of Chemicals and Drugs
Nederl. Ph. V	=	Nederlandsche Pharmacopee 1926, Neudruck 1951
N. N. R. 1941	=	New and Nonofficial Remedies 1941
Ph. Austr. 1960	=	Pharmacopoea Austriaca 1960
Ph. Belg. IV	=	Pharmacopée Belge, Quatrième Edition 1930
Ph. Dan. IX	=	Pharmacopoea Danica 1948
Ph. Helv. V	=	Pharmacopoea Helvetica 1933, Ausgabe 1953
Ph. Int.	=	Pharmacopoea Internationalis 1955
Svenska F. XI	=	Svenska Farmakopén XI, 1946
U. S. P.	=	The Pharmacopoeia of the United States of America

In den Tabellen sowie bei der Prüfung von Handelsmustern bedeuten:

verd.	=	verdünnt
konz.	=	konzentriert
=	:	entsprechend den Forderungen
+	:	positiver Ausfall einer Reaktion
-	:	negativer Ausfall einer Reaktion

Römische Zahlen bedeuten die Nummer des untersuchten Handelsmusters.

Wir danken den nachfolgend aufgeführten Herstellerfirmen für die Ueberlassung von Untersuchungsmustern:

C. F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim  
CIBA Aktiengesellschaft, Basel  
Cilag-Chemie, Aktiengesellschaft, Schaffhausen  
dott. Inverni & Della Beffa S.p.A., Milano  
Knoll & Cie. AG., Ludwigshafen/Rhein  
E. Merck AG, Darmstadt  
Merck, Sharp & Dohme Internat., New York  
Lilly, Eli & Company, Indianapolis  
Parke, Davis & Company, Detroit  
S.B. Penick & Company, New York  
Sandoz, Aktiengesellschaft, Basel  
Dr. A. Seebach, Zürich

## 1. EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit stellte sich zur Aufgabe, Prüfungsvorschriften einiger Alkaloidbasen und -salze für die Ph. Helv. VI nach den neuen Richtlinien auszuarbeiten.

Zur Uebersarbeitung bestehender Ph. Helv. V-Vorschriften gelangten Atropinium sulfuricum und Ephedrinum chloratum, während neu Vorschriften für die Alkaloidbasen Atropinum basicum und Ephedrinum basicum bearbeitet wurden. Neu in die Ph. Helv. VI werden Reserpinum basicum, Ergotaminium tartaricum und Dihydroergotaminium methansulfonicum aufgenommen, für die ebenfalls Vorschläge ausgearbeitet wurden.

Bei den Identitätsreaktionen wurde vor allem die Brauchbarkeit von Alkaloid-Fällungsreagenzien untersucht; verschiedene interessante Beobachtungen gestatten neue Identifizierungsvorschriften anzugeben.

Für die Identitäts- und Reinheitsprüfung erschien es uns zweckmässig, die Möglichkeit der Papierchromatographie abzuklären; unsere Befunde gestatten ihre Verwendung für Atropinum basicum, Atropinium sulfuricum, Dihydroergotaminium methansulfonicum, Ergotaminium tartaricum und Reserpinum basicum.

Als Methoden der Gehaltsbestimmung wurden vor allem die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, die Titration in wasserfreiem Milieu, die Wasserbestimmung nach Karl Fischer, die kolorimetrische Bestimmung und die UV-Spektrophotometrie vergleichend überprüft, da die genannten Verfahren neu in die Supplemente II und III der Ph. Helv. V eingeführt wurden und künftig auf breiterer Basis verwendet werden sollen.

Zwecks Auswertung unserer Untersuchungsergebnisse wurden die Prüfungsvorschläge nach den neuen redaktionellen Normen der Ph. Helv. VI aufgestellt.

## 2. ALLGEMEINER TEIL

### 2.1. DIE UNTERSUCHTEN HANDELSMUSTER ALS TESTMATERIAL

Die Ausarbeitung der Prüfungsvorschriften nahmen wir anhand von handelsüblichen Stoffen vor, welche uns von den Herstellerfirmen zur Verfügung gestellt wurden. Es war uns im besonderen daran gelegen, von jedem Arzneistoff möglichst viele Muster in die Prüfung einzubeziehen, damit eine vergleichende Beurteilung der Leistungsfähigkeit der pharmazeutischen Industrie, sowie die Gewähr, dass unsere Forderungen erfüllbar sind, gegeben waren. Bei der Aufstellung der Prüfungsnormen wurden die von uns am besten beurteilten Muster als verbindlich betrachtet; sie schalten Substanzen mit offensichtlichen Mängeln aus. Wie wir feststellen konnten, stimmen unsere Forderungen weitgehend mit denjenigen schon bestehender Prüfungsvorschriften anderer Pharmakopöen, sowie mit den Unterlagen, welche uns die pharmazeutische Industrie lieferte, überein.

### 2.2. SINNENPRUEFUNGEN

Die untersuchten Substanzen lagen - mit einer Ausnahme - alle als fein kristalline Pulver vor. Die Farbe der Substanzmuster wurde, wenn nötig nach feinem Pulverisieren, gegen völlig weisses Filtrierpapier verglichen. Nur bei zwei Substanzen muss eine schwache Gelb- bzw. Graufärbung zugelassen werden.

Die Geruchsprobe wurde nach der folgenden Vorschrift ausgeführt:

"2 g des Stoffes werden in ein Wägegläschen von 500 mm innerem Durchmesser und 30 mm Höhe gebracht. Die Substanz ist so zu verteilen, dass sie eine möglichst grosse Oberfläche zeigt. Das Wägegläschen wird hierauf sofort verschlossen. Nach 5 Minuten wird dieses geöffnet und geprüft, ob auf Entfernung von 2 - 4 cm ein Geruch wahrnehmbar ist".

In einigen Fällen musste diese Prüfung infolge Substanzmangel mit einer kleineren als der vorgeschriebenen Substanzmenge vorgenommen werden.

Von Geschmacksproben haben wir, da es sich bei den geprüften Substanzen fast durchwegs um Venena mit kleiner Maximaldosis handelt, absehen müssen, um toxische Einflüsse zu vermeiden.

### 2.3. STAMMLOESUNGEN

Sofern die zu prüfende Substanz genügende Löslichkeit in Wasser aufwies, nahmen wir die Identitäts- und Reinheitsprüfungen weitgehend in der wässrigen Stammlösung (= S) vor, deren Konzentration je nach Prüfsubstanz zwischen 0,0035 und 0,22 molar lag.

Bei den in Wasser unlöslichen Substanzen verwendeten wir eine Lösung in Weingeist bzw. Chloroform als Stammlösung (= S<sub>2</sub>). Zudem führten wir gewisse Reinheitsprüfungen in einem wässrigen Auszug aus, welchen wir der besseren Formulierung wegen ebenfalls als Stammlösung (= S<sub>1</sub>) bezeichnen.

In der Mehrzahl der Fälle wurden die Stammlösungen mit genau gewogener Substanz hergestellt, da sie für Reinheitsprüfungen mit quantitativem Charakter herangezogen werden.

Sofern die Stammlösungen aus Gründen der Haltbarkeit innerhalb einer gewissen Zeit zu verwenden sind, finden sich in den Einzelartikeln entsprechende Bemerkungen.

Die so bereiteten Stammlösungen dienten uns auch zur Feststellung der vollständigen Löslichkeit (unlösliche Verunreinigungen, Filterpapierreste, Staub etc.) und einer unzulässigen Färbung. Die für die Ph. Helv. VI in Aussicht genommenen Vorschriften über die Bestimmung der Opaleszenz und Trübung einerseits, und die höchst zulässige Färbung nach Ph. Helv. V, Suppl. III, andererseits, erwiesen sich bei unseren Untersuchungen als brauchbar.

### 2.4. IDENTITAETSPRUEFUNGEN

#### 2.4.1. Allgemeine Bemerkungen

Als Identitätsreaktionen auf die Basen resp. den Basenteil der Alkaloidsalze fanden sich in der Literatur in erster Linie unspezifische Farbreaktionen, welche wir auf ihre Brauchbarkeit für Pharmakopöe-Zwecke überprüften. Trotz ihrer Unspezifität schien es uns angezeigt, die eine oder andere Reaktion vorzuschlagen, obwohl bei positivem Ausfall damit vielfach nur die Zugehörigkeit eines Alkaloides zu einer bestimmten Alkaloidgruppe nachgewiesen werden kann, d. h. diese Reaktionen lediglich den Charakter und Wert von Gruppenreaktionen besitzen.

Eine weitere Möglichkeit zur Identifizierung des Basenanteils der untersuchten Alkaloide sahen wir in der Herstellung von Derivaten (Salze und Komplexverbindungen) mit Alkaloid-Fällungsreagenzien (z.B. Ammoniumreineckat, Tetraphenylbor-Natrium, Pikrinsäure) und nachfolgender Bestimmung des Schmelzbereiches der erhaltenen Derivate.

#### 2.4.2. Alkaloid-Fällungsreagenzien

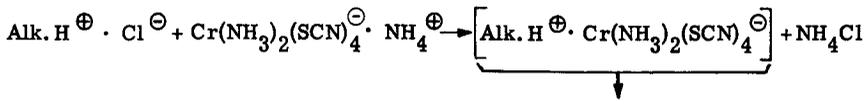
Der Herstellung von kristallinen, eindeutig definierten Derivaten haben wir in dieser Arbeit besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Soweit uns Substanzmuster in genügender Menge zur Verfügung standen, haben wir auch Nebenalkaloide der zu untersuchenden Substanzen zur Bildung von Derivaten herangezogen. Es schien uns wichtig, festzustellen, ob die Schmelzbereiche der Derivate nahe verwandter Alkaloide genügende Abweichung voneinander zeigen, damit deren Bestimmung als Spezifizierung der weiter oben angegebenen Farbreaktionen und damit im günstigsten Falle als Identifizierung des betreffenden Alkaloides betrachtet werden kann.

In der Literatur fanden sich wenig und z. T. ungenaue Angaben über die Herstellung von Derivaten unserer Substanzen. Es galt daher in Reihenuntersuchungen festzustellen, in welchem Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch eine kristalline Fällung erhalten werden kann. Die für die Fällung optimale Konzentration der zu prüfenden Substanz und der Reagenzien musste ebenfalls in zahlreichen Versuchen ermittelt werden. Um enge Schmelzbereiche zu erhalten, ist in einigen Fällen wiederholtes Umkristallisieren ausschlaggebend, und es musste experimentell das hierfür am besten geeignete Lösungsmittel oder Lösungsmittelgemisch gefunden werden. In Fällen, wo die Umkristallisation keine merkliche Erhöhung und Einengung des Schmelzbereiches zur Folge hatte, haben wir darauf verzichtet.

##### 2.4.2.1. Ammoniumreineckat

Mit Ammoniumreineckat, dem Ammoniumsalz der Tetra-rhodanotodiamin-chromisäure, bilden viele Alkaloide und alkaloidähnliche Substanzen schwerlös-

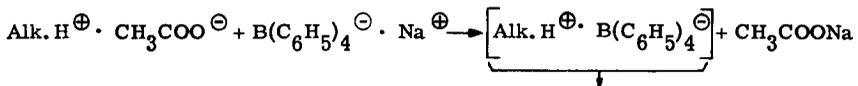
liche Niederschläge nach folgender Gleichung:



Wir verwendeten als Reagens eine 2,5 %ige wässrige Lösung von Ammoniumreineckat, wie sie auch in USP XV offizinell ist, und versuchten damit kristalline Reineckate unserer Versuchssubstanzen zu erhalten. Dieses gelang in jedem Falle, bei Atropin und Ephedrin aus mit wenig Salzsäure angesäuerten wässrigen Lösungen, bei den übrigen Substanzen aus Azeton-Wasser-Mischungen verschiedener Zusammensetzung. Leider wiesen sämtliche der hergestellten Reineckate einen Zersetzungspunkt auf, weshalb sie sich zur Identifizierung der zu prüfenden Substanzen weniger eignen und deshalb nicht herangezogen wurden.

#### 2.4.2.2. Tetraphenylbor-Natrium (Kalignost)

Unter Kalignost versteht man das Natriumsalz der Tetraphenyl-Borwasserstoffsäure, welches von Wittig (1) eingeführt wurde. Es bildet mit Kalium, Ammonium, sowie mit alkaliähnlichen Stickstoffbasen fein kristalline Niederschläge, welche aus eindeutig definierten, komplexen Salzen bestehen:



Die Verwendung von Kalignost schien uns zur Herstellung von kristallinen Derivaten der zu prüfenden Substanzen geeignet zu sein. Bei unseren Versuchen stützten wir uns z.T. auf die Arbeiten von Aklin und Dürst (2), sowie von Aklin (3), welche das Verhalten zahlreicher Alkaloide gegenüber Kalignost testeten und für einige Alkaloide gravimetrische Bestimmungsmethoden angeben. Als Reagens verwendeten genannte Autoren (2) eine 0,1 m (= ca. 3 %ige) wässrige Lösung von Kalignost, welche durch Zugabe von 0,2 n Aluminiumchloridlösung bis pH ca. 6-7 und nachherige Filtration stabilisiert wird. Diese Reagenslösung zeigte keinerlei Nachtrübung und erwies sich als sehr zweckmässig.

Die Reaktion ist sehr empfindlich, z.B. tritt bei Atropinsulfat in 0,0001 m Lösungen noch eine Fällung ein.

Bei Atropin und Ephedrin, für welche Alkaloide wir auch gravimetrische Bestimmungsmethoden mit Kalignost ausarbeiteten, erfolgte die Bildung kristalliner Niederschläge am besten in der mit verdünnter Essigsäure und einigen Tropfen 0,2 n Aluminiumchloridlösung auf pH 5 - 6 eingestellten, auf 70° bzw. 40° erwärmten, wässrigen Lösung. Zugabe von Aluminiumchlorid ist zu empfehlen, damit allzu fein suspendierte Niederschläge zusammenballen und dadurch besser filtrierbar werden.

Das Reserpintetraphenylborat erhielten wir aus einer Lösung der Substanz in verdünnter Essigsäure unter Eiskühlung, die Derivate von Ergotamin und Dihydroergotamin aus Mischungen von Azeton und Wasser.

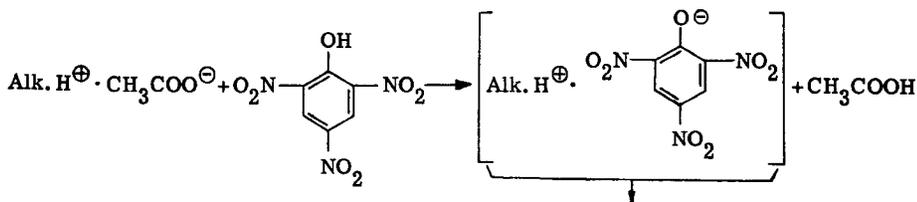
Mit allen Substanzen ergaben sich schon bei der Fällung bzw. nach kürzerem oder längerem Stehenlassen in der Kälte kristalline Derivate; bei Reserpin und den Mutterkornalkaloiden musste eine geringere Kristallisierfähigkeit festgestellt werden. Die Umkristallisation kann aus Azeton-Wasser-Mischungen vorgenommen werden; auch Methylalkohol hat sich als geeignet erwiesen.

Wie wir feststellten, sind die Derivate der untersuchten Substanzen thermolabil und werden deshalb mit Vorteil ohne Wärmeanwendung im Exsikkator getrocknet. In einigen Fällen erwies es sich als notwendig, bei der Bestimmung des Schmelzbereiches das Heizbad vorzuwärmen.

Die Kalignost-Derivate von Atropin und Ephedrin wiesen gut erkennbare Schmelzbereiche auf, die Tatsache jedoch, dass die Derivate einiger Nebenalkaloide praktisch bei der gleichen Temperatur schmelzen, verunmöglicht die sichere Identifizierung der genannten Alkaloide. Von den übrigen Derivaten, die alle unter Zersetzung schmelzen, kann höchstens dasjenige des Ergotamins zur Identifizierung herangezogen werden, da der Zersetzungspunkt hier relativ gut wahrnehmbar ist.

#### 2.4.2.3. Pikrinsäure

Pikrinsäure ist das in den Monographien am häufigsten aufgeführte Fällungsmittel und wird auch von der Ph. Helv. V für viele Substanzen verwendet.



Die Fällungen erfolgten mit der 1,2 %igen Reagenslösung aus essigsäuren, wässrigen Lösungen der Substanzen bzw. aus Azeton-Wasser-Mischungen und ergaben für alle Substanzen kristalline Derivate. Zum Umkristallisieren verwendeten wir je nach Substanz Wasser, Aethylalkohol oder Benzol.

Die Schmelzbereiche der Derivate von Atropin und Ephedrin sind äusserst scharf, weshalb eine Identifizierung der beiden Alkaloide durch ihre Pikrate möglich ist. Bei Reserpinpikrat und Dihydroergotaminpikrat allerdings handelt es sich um Zersetzungspunkte, die jedoch gut wahrnehmbar und somit für die Charakterisierung der Substanzen brauchbar sind. Ergotamin liefert ein Pikrat, welches sich schon etwa 20° vor dem Schmelzintervall schwarz färbt, wodurch dieses schwer erkennbar wird.

Zusammenfassend ist zu bemerken, dass sich die Fällung mit Pikrinsäure für die zu prüfenden Substanzen als sehr geeignet erwiesen hat, da durchwegs kristalline Derivate erhalten wurden, deren Schmelzbereiche - mit einer Ausnahme allerdings - zur Identifizierung der Substanzen in Betracht gezogen werden können.

#### 2.4.2.4. Verschiedene weitere Fällungsreagenzien

Für einzelne Alkaloide versuchten wir durch Anwendung anderer Fällungsreagenzien zu weiteren Unterscheidungsmöglichkeiten zu gelangen.

Die Fällung mit Dragendorff - Reagens gestattet eine sichere Unterscheidung von l-Ephedrin und dl-Ephedrin anhand der Kristallform ihrer Derivate. Basierend auf der Arbeit von Poethke und Hädicke (4) arbeiteten wir eine Vorschrift für den betreffenden Pharmakopöe-Artikel aus.

Silikowolframsäure erzeugt in wässrigen Lösungen von l-Ephedrin bzw. seiner Salze eine amorphe Fällung, während dl-Ephedrin sowie d-Pseudoephedrin mit genanntem Reagens kristalline Derivate bilden.

In einigen Monographien (USP<sup>1</sup> XIV, Brit. Ph. 1958) wird die Fällung mit Goldchlorwasserstoffsäure zur Identifizierung von Atropin angewendet. Nach unseren Feststellungen eignet sich dieses Reagens sehr gut zur Unterscheidung von Atropin und Hyoscyamin, weil deren Derivate scharfe und voneinander abweichende Schmelzbereiche aufweisen. Wir ziehen jedoch in diesem Falle die Differenzierung mittels der Pikrate vor, da sie bezüglich der Herstellung am zugänglichsten sind.

Für Reserpin schlägt DAK Praeparater die Fällung mit Perchlorsäure vor, wobei ein kristallines Derivat erhalten wird, welches unter Zersetzung schmilzt, und uns deshalb zur Identifizierung wenig geeignet schien.

### 2.4.3. Papierchromatographische Prüfung

Die besondere Eignung der Papierchromatographie für unsere Aufgabe ergab sich aus der Art des vorliegenden Prüfungsmaterials. Handelt es sich bei den untersuchten Substanzen doch durchwegs um Naturstoffe, welche vorwiegend durch Isolierung aus pflanzlichen Materialien gewonnen werden. Die hierzu verwendeten Extraktions-, Ausschüttelungs-, Fällungs- und Salzbildungsverfahren ergeben Substanzen, bei denen die Möglichkeit einer Verunreinigung mit ihren Nebenalkaloiden ohne weiteres gegeben ist.

Von den verschiedenen Anwendungsmöglichkeiten zogen wir die Papierchromatographie daher zur Identitäts- und Reinheitsprüfung auf Nebenalkaloide heran; die Identität unserer Substanzen ist durch Kombination mit anderen Prüfungen eindeutig festgelegt. Im weiteren sahen wir eine Möglichkeit mit Hilfe der Papierchromatographie Zersetzungsprodukte, welche sich unter Lichteinfluss bei der Lagerung leicht zersetzlicher Substanzen bilden können, nachzuweisen.

Bei den Untersuchungen gingen wir so vor, dass wir die in der Literatur für die einzelnen Alkaloide beschriebenen Verfahren eingehend studierten, einige davon einer experimentellen Ueberprüfung unterzogen, und falls sich damit brauchbare Ergebnisse erzielen liessen, für unsere Zwecke modifizierten.

Dabei ermittelten wir in zahlreichen Versuchen die verschiedenen Faktoren, welche eine genügende Trennschärfe und Empfindlichkeit gestatten, wie z. B. Zeitdauer der Imprägnierung, Klimatisierungszeit, Auftragen der Substanzen (punkt- oder streifenförmig), sowie den Zusammenhang zwischen der aufgetragenen Substanzmenge und der Fleckengrösse.

In die Prüfungen wurden sämtliche Nebenalkaloide einbezogen, soweit uns diese zur Verfügung standen. Wir ermittelten die  $R_f$ -Werte des Hauptalkaloides sowie der Nebenalkaloide in den verschiedenen Systemen und stellten anhand von Mischungen fest, ob eine einwandfreie Auftrennung möglich ist. Um dem Zwecke einer Reinheitsprüfung entsprechen zu können, galt es nun in zweiter Linie zu untersuchen, ob kleine Mengen eines bzw. mehrerer Nebenalkaloide von der

grossen Hauptmenge des zu untersuchenden Alkaloides abgetrennt werden können, und wie gross die maximale Alkaloidmenge ist, welche sich ohne Aenderung der RF-Werte und Deformation der Flecken gerade noch chromatographieren lässt. In vielen Fällen hat sich das streifenförmige Auftragen der Substanzen als sehr vorteilhaft erwiesen, weil sich durch Vergrösserung der Auftrage-Fläche grössere Substanzmengen chromatographieren lassen. Die Empfindlichkeit der Methode überprüften wir, indem wir das zu untersuchende Alkaloid jeweils mit seinen Nebenalkaloiden in wechselnden Mengen verunreinigten und feststellten, bis zu welcher Konzentration diese gerade noch nachweisbar sind.

Für unsere Arbeiten verwendeten wir die absteigende sowie die aufsteigende Chromatographiermethode. Die Sichtbarmachung der Alkaloidflecke erfolgte unter der UV-Lampe oder mit Sprühreagenzien, wobei zu sagen ist, dass der Nachweis der von uns untersuchten Substanzen mit UV-Licht weitaus empfindlicher ist.

Die für die einzelnen Alkaloide verschiedenen Verfahren haben wir in den Einzelartikeln beschrieben, wobei wir den eigenen Untersuchungen jeweils einen Ueberblick über die uns bis zum Abschluss der experimentellen Arbeiten bekannt gewordenen Methoden der Literatur voranstellen, bzw. auf Literaturzusammenstellungen verweisen.

Für die Ausführung der Versuche hielten wir uns an die von der Ph. Helv. V, Suppl. III gestellten allgemeinen Bedingungen. Für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen war es uns so möglich, brauchbare Prüfungsvorschriften aufzustellen, welche wir zur Aufnahme in unser Arzneibuch empfehlen möchten. Bei Formulierung des für den Pharmakopöe-Artikel vorgesehenen Textes war es uns ungeachtet der dadurch etwas langatmigen Prüfungsvorschriften daran gelegen, die Versuchsbedingungen aufs genaueste zu beschreiben, damit sich reproduzierbare Resultate ergeben.

Wie unsere papierchromatographischen Untersuchungen zeigten, waren die von der pharmazeutischen Industrie zur Verfügung gestellten Handelsmuster bezüglich vorhandener Nebenalkaloide nicht zu beanstanden.

#### 2.4.4. Identitätsprüfungen auf die Anionen

Bei *Atropinium sulfuricum* und *Ephedrinium chloratum* erfolgte der Nachweis des Säureanteiles nach Ph. Helv. V. Als Identitätsprüfung auf Tartrat fand

die in den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI aufgeführte Mikroidentitätsreaktion Verwendung, welche wir für Ergotaminium tartaricum modifizierten. Bei Dihydroergotaminium methansulfonicum wurde der Säureanteil durch Nachweis des beim Aufschluss mit wasserfreiem Natriumkarbonat entstandenen Sulfates nach Ph. Helv. V identifiziert.

## 2.5. REINHEITSPRUEFUNGEN

### 2.5.1. Allgemeine Reinheitskriterien

Wenn man von einigen ausgesprochenen Identitätsprüfungen absieht, sind alle in den Monographien bzw. Prüfungsvorschriften aufgeführten Untersuchungsmethoden exakt genommen Reinheitsprüfungen, welche gesamthaft zur Beurteilung des Reinheitsgrades der zu prüfenden Substanz dienen, ganz gleich, ob sie qualitativer oder quantitativer Art sind.

Die Reinheitsprüfungen, die wir bei Sichtung der Literatur vorgefunden haben, umfassen im allgemeinen: die Prüfung auf klare Löslichkeit und Ermittlung des pH-Wertes der wässrigen Lösung, die Bestimmung des Schmelzbereiches und der spezifischen Drehung, die Bestimmung von Feuchtigkeits- bzw. Wassergehalt und Verbrennungsrückstand, die Prüfung auf Abwesenheit fremder Kationen und Anionen sowie organischer Substanzen. In neueren Prüfungsvorschriften werden zudem die Ultraviolett-Adsorption und die Papierchromatographie als wichtige Reinheitskriterien herangezogen.

Als Verunreinigungen kommen vor allem Stoffe in Betracht, die vom Ausgangsmaterial, von der Herstellung oder von Zersetzungen bei ungeeigneter Lagerung herrühren, wobei zu sagen ist, dass in den meisten Monographien diesbezügliche Prüfungen fehlen.

Da die untersuchten Alkaloide noch in der Mehrzahl aus Drogenmaterial gewonnen werden, richteten wir das Hauptaugenmerk auf die Erfassung von Nebenalkaloiden, wozu die im Abschnitt Identitätsprüfungen (s. Seite 18) beschriebene Papierchromatographie die Methode der Wahl darstellt.

## 2.5.2. Physikalisch-chemische Prüfungen

### 2.5.2.1. Schmelzbereich

Die Bestimmung des Schmelzbereiches wurde bei sämtlichen Substanzen nach der Vorschrift und mit der Bestimmungsapparatur der Ph. Helv. V, welche unkorrigierte Schmelzbereiche ergibt, vorgenommen. Unsere Vorschläge beziehen sich daher auf das von der Ph. Helv. V. geforderte Intervall zwischen Sinterung und Ausbildung eines Meniskus, ohne dass eine klare Schmelze erreicht wird. Die experimentell ermittelten Werte haben wir nach den Angaben des Kommentars zur Ph. Helv. V, welche der Arbeit von Liem (5) entnommen sind, umgerechnet. Somit sind in unserer Arbeit stets zwei Intervalle aufgeführt, wovon das eine unkorrigiert, das andere korrigiert ist, wodurch der Vergleich mit den Angaben anderer Prüfungsvorschriften, welche sich in der Mehrzahl auf korrigierte Schmelzbereiche beziehen, möglich wird.

Bei einigen der untersuchten Substanzen liess sich kein scharfer Schmelzbereich bestimmen, da sie sich beim Erhitzen zersetzen (Reserpin, Ergotamin-tartrat, Dihydroergotamin-methansulfonat). Die Zersetzungstemperatur ist abhängig von der Art und Weise des Aufheizens und nur bei Einhaltung ganz bestimmter Bedingungen (Einbringen in die vorgewärmte Apparatur bei einer bestimmten Temperatur, Beschleunigung der Temperatursteigerung) konnten reproduzierbare Werte erhalten werden. Bei der Bestimmung der genannten Substanzen mussten wir von der allgemeinen Ausführungsform der Ph. Helv. V abweichen, was wir in den betreffenden Monographien jeweils vermerken.

### 2.5.2.2. Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen

Diese Prüfung wird bei Herstellung der Stammlösung, wobei die Substanzen zuerst in einer etwas grösseren als ihrer Löslichkeit entsprechenden Menge des Lösungsmittels gelöst werden, bzw. bei einigen weniger gut löslichen Substanzen mit der Stammlösung selbst vorgenommen. Als Lösungsmittel dienten dabei je nach Löslichkeit der zu prüfenden Substanz frisch ausgekochtes und wieder erkaltetes Wasser, ferner Aethanol 94 % oder Chloroform.

Bei der Prüfung auf vollständige Löslichkeit wurden die Lösungen der Substanzen mit der gleichen Menge des entsprechenden Lösungsmittels verglichen.

Geringe mechanische Verunreinigungen wie Filterfäserchen oder Staubpartikel können hierbei nicht beanstandet werden.

Zur Prüfung auf färbende Verunreinigungen zogen wir die Farbvergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III heran, welche sich für diesen Zweck sehr gut eignen, da sie eine objektive Beurteilung der verschiedenen Färbungen ermöglichen.

In den meisten Fällen kann für die Lösungen unserer Substanzen Farblosigkeit gefordert werden; wo dies nicht der Fall ist, wird die höchst zulässige Färbung mittels Farbvergleich festgelegt.

### 2.5.2.3. Spezifische Drehung

Die Bestimmung des Drehungswinkels ist bei den Alkaloiden ein sehr wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Reinheit und zudem bei Substanzen, welche keinen Drehungswinkel aufweisen dürfen (Atropin), oder welche durch den Drehungswinkel von ihren optischen Antipoden bzw. Razematen unterschieden werden können (Ephedrin), eine wichtige Ergänzung der Identitätsreaktionen.

Die Untersuchungen wurden mit dem Kreispolarimeter nach Zeiss, welches eine Ablesegenauigkeit von  $0,01^{\circ}$  gestattet, vorgenommen. Als Lösungsmittel verwendeten wir 36%ige Essigsäure, Aethanol 94 %, Chloroform oder Pyridin. Nur bei Atropinsulfat und Ephedrinhydrochlorid konnte die mit genau abgewogener Substanz hergestellte wässrige Stammlösung verwendet werden.

Im Vergleich zu den Vorschriften anderer Arzneibücher fiel es uns auf, dass in der Ph. Helv. V eine Definition, was unter dem Fehlen der optischen Drehung zu verstehen sei, nicht angegeben wird. Da es jedoch nicht wahrscheinlich ist, dass bei optisch inaktiven Substanzen der Durchschnittswert aller Ableisungen immer genau Null ist, erscheint es uns richtig, dass die Ph. Helv. VI eine vom Nullpunkt höchst zulässige Abweichung ( $\pm 0,10$ ) tolerieren wird.

### 2.5.2.4. Spektrophotometrie

Einige der untersuchten Substanzen zeichnen sich im Spektralbereich des Ultraviolett durch charakteristische Absorptionsbanden aus, welche zur Identifi-

zierung der betreffenden Substanzen herangezogen werden können. Die Grösse der Lichtabsorption wird als Extinktion gemessen, aus dem experimentellen Wert erhält man durch Berechnung die molare oder prozentuale Extinktion. Die Messung der Extinktion in Lösungen von bekannter Konzentration gibt Aufschluss über den Reinheitsgrad des gelösten Stoffes und kann zur Gehaltsbestimmung verwendet werden, falls die diesbezüglichen Daten der Reinsubstanz bekannt sind. Für die Gehaltsbestimmungen ist es jedoch von Vorteil, wenn Standardsubstanzen zur Verfügung stehen, da die Reproduzierbarkeit der Messungen mit verschiedenen Instrumenten etwa  $\pm 1\%$  beträgt.

Wir führten die Untersuchungen mit einem Spektralphotometer Zeiss PMQ II aus. Zur Messung gelangten 0,0005 bis 0,005 %ige Lösungen in Aethanol 94% bzw. 1 %iger Weinsäure, wobei die Konzentrationen so gewählt wurden, dass wir in den optimalen Messbereich von Extinktionen zwischen 0,3 bis 0,6 gelangten. Aus den bei den Absorptionsmaxima ermittelten Extinktionen berechneten wir den prozentualen Extinktionskoeffizienten  $E_1^{1\%}$ , welcher die Extinktion einer 1 %igen Lösung der Substanz gemessen bei einer Schichtdicke von 1 cm angibt.

Wir empfehlen, die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten  $E_1^{1\%}$  für Reserpin, Ergotamintartrat und Dihydroergotamin-methansulfonat als weitere Identitäts- und Reinheitsprüfung in die Pharmakopöe aufzunehmen. Die Ausführung der Bestimmungen sowie die Absorptionskurven für die genannten Substanzen finden sich in den Einzelartikeln.

#### 2.5.2.5. Bestimmung des pH-Wertes

Wir bestimmten die Reaktion der Stammlösung bzw. bei den schwer löslichen Substanzen des wässrigen Auszuges mit dem Methrom-pH-Meter, Typ E 157, unter Verwendung einer hochohmigen Glas-Elektrode als Mess- und einer Kalomel-Elektrode als Bezugs-elektrode. Die potentiometrische pH-Bestimmung liefert exakte Werte, da die Bestimmungsfehler der kolorimetrischen Verfahren (Säure-Base-, Salzfehler, sowie gewisse Subjektivität der Beurteilung) ausgeschaltet werden können, und das verwendete Gerät zudem mit einer Mess-Genauigkeit von 0,05 pH-Einheiten arbeitet. Die potentiometrische Methode kann somit als Kontrolle für die kolorimetrischen Verfahren herangezogen werden.

Für die kolorimetrische pH-Bestimmung diene uns die pH-Farbvergleichstabelle der Ph. Helv. V, Suppl. III, und in den Fällen, wo diese infolge zu starker Alkalität einiger Alkaloidbasen nicht zur Anwendung gelangen konnte, (mit der Farbvergleichstabelle sind nur pH-Werte bis 9,6 messbar) die pH-Vergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III.

Da bei unseren Versuchen die Differenzen zwischen der kolorimetrischen und der potentiometrischen Bestimmung nur  $\pm 0,02 - 0,20$  pH-Einheiten betragen, erscheint uns die Genauigkeit der kolorimetrischen Verfahren hinreichend, weshalb wir die kolorimetrische pH-Bestimmung für die Pharmakopöe-Vorschriften vorschlagen.

Bei einer Substanz (Ergotamintartrat) konnte infolge Instabilität der wässrigen Lösung die Reaktion nur mit Lakmuspapier in einer Aufschwemmung der Substanz in Wasser geprüft werden.

### 2.5.3. Chemische Reinheitsprüfungen

#### 2.5.3.1. Allgemeine Bemerkungen zur Methodik

Die Reinheitsprüfungen auf fremde Kationen und Anionen wurden nach den von Mittelmann (6) für die Ph. Helv. VI ausgearbeiteten Vorschlägen ausgeführt. Diese Prüfungsmethoden stellen sogenannte Grenzprüfungen dar, dh. die anwesende Verunreinigung darf mengenmässig die bei den Einzelartikeln gestellte Grenze jeweils nicht überschreiten. Auch wenn keine nachweisbare Verunreinigung zugelassen ist, handelt es sich im erwähnten Sinne um eine Grenzprüfung, wobei die zugelassene obere Grenze der Verunreinigung der Nachweisgrenze entspricht.

Für die Ph. Helv. VI ist bezüglich der allgemeinen Reaktionen zur Reinheitsprüfung folgender Wortlaut vorgesehen:

"Die Reinheitsprüfungen werden in farblosen, alkaliarmen Reagensgläsern von etwa 180 mm Höhe und etwa 18 mm äusserem Durchmesser mit den vorgeschriebenen Reagenzien, jeweils in der angegebenen Reihenfolge und, wenn nichts anderes vorgeschrieben ist, bei Zimmertemperatur durchgeführt.

Bei den Grenzprüfungen wird die Reaktion der zu untersuchenden Substanz mit der im Einzelartikel geforderten Grenzreaktion durchgeführt.

Bei Grenzreaktion I lässt die Pharmakopöe eine bestimmte Menge der entsprechenden Verunreinigung zu.

Bei Grenzreaktion II darf die gesuchte Verunreinigung nicht nach-

weisbar sein.

Die zu prüfenden Lösungen müssen klar sein. Sie sind daher nötigenfalls vor der Prüfung, wenn nichts anderes vorgeschrieben ist, durch ein möglichst kleines aschefreies Filter klar zu filtrieren. Wenn der unlösliche Anteil auch geprüft werden muss, wird dieser samt Filter verascht und der Rückstand in der im Einzelartikel angegebenen Weise geprüft.

Die aufgetretenen Färbungen sind vor einem weissen matten, die Opaleszenz oder Trübungen vor einem schwarzen matten Hintergrund, bei diffussem Tageslicht, in horizontaler Durchsicht, jeweils nach der angegebenen Wartezeit zu beurteilen. Gefärbte Lösungen werden in einem Komparatorblock auf Opaleszenz oder Trübung geprüft".

Es wird ferner unterschieden zwischen Grenzreaktion a und Grenzreaktion b, je nachdem ob zur Prüfung der Substanz eine wässrige Lösung (Grenzreaktion a) verwendet, oder ob die Substanz mittels einer Säure in Lösung gebracht wird (Grenzreaktion b).

#### 2.5.3.2. Grenzprüfung auf Alkalimetalle, Schwermetalle, Chlorid und Sulfat

Da zur Isolierung der Alkaloide oft Kalium- oder Natriumkarbonat bzw. bei den Synthesen andere Natrium-haltige Agenzien verwendet werden, haben wir einige Substanzen mittels Flammenfärbung auf Alkalimetalle geprüft.

Wie für die Ph. Helv. VI vorgesehene Grenzprüfung lautet:

"Die Substanz wird an einem frisch ausgeglühten Platindraht in eine nicht leuchtende Flamme gebracht. Diese darf höchstens rasch vorübergehend gelb gefärbt werden".

Da die geprüften Substanzen ein negatives Resultat ergaben, kann von dieser Prüfung Abstand genommen werden.

Für einige der untersuchten Substanzen finden sich in den Monographien Prüfungen auf Schwermetalle. Wir prüften die entsprechenden Substanzen mit der Grenzprüfung a, die wir entweder in der Stammlösung S oder in einem wässrigen Auszug der schwer löslichen Alkaloidbasen mit den in den Monographien angegebenen Mengen nach der folgenden Allgemeinen Vorschrift ausführten:

"Das vorgeschriebene Volumen der Stammlösung S wird, wenn nötig mit 2 n Natriumhydroxyd RS neutralisiert. Hierauf werden in der Lösung 0,5g Ammoniumchlorid gelöst, die Lösung mit 2 Tropfen 2n Ammoniak RS versetzt und mit Wasser auf 10 ml ergänzt. Diese nötigenfalls filtrierte Lösung wird zu 1 Tropfen Natriumsulfid RS gegossen und umgeschüttelt. Es

darf höchstens eine sehr schwache weisse Opaleszenz, jedoch keine stärkere Trübung als bei der im Einzelartikel geforderten Grenzreaktion auftreten.

Grenzreaktion I: 1,0 ml Blei-Vergleichslösung oder bei einer graugrünlischen Färbung 1,0 ml Eisen-Vergleichslösung wird mit 8,5 ml Wasser verdünnt, in der Lösung 0,5 g Ammoniumchlorid gelöst und mit 2 Tropfen 2 n Ammoniak RS versetzt. Diese Lösung wird zu 1 Tropfen Natriumsulfid RS gegossen und umgeschüttelt. Grenzreaktion II: Eine Lösung von 0,5 g Ammoniumchlorid in 9,5 ml Wasser wird mit 2 Tropfen 2 n Ammoniak RS versetzt. Diese Lösung wird zu 1 Tropfen Natriumsulfid RS gegossen und umgeschüttelt".

Sämtliche geprüften Substanzmuster entsprachen der Grenzreaktion a II, d. h. Schwermetalle waren nicht nachweisbar.

Auf Chlorid und Sulfat werden von den Monographien die meisten Substanzen geprüft. Wir haben diese beiden Prüfungen bei sämtlichen Substanzen vorgenommen, da bei der Isolierung oder den Synthesen die Möglichkeit einer Verunreinigung mit diesen Anionen ohne weiteres gegeben ist. Mit der Stammlösung bzw. mit einem wässrigen Auszug der schwerlöslichen Alkaloidbasen wurden die Prüfungen nach der folgenden Allgemeinen Vorschrift ausgeführt:

"Grenzprüfung auf Chlorid:

Das vorgeschriebene Volumen der Stammlösung wird mit Wasser auf 13 ml ergänzt, 1 ml 2n Salpetersäure RS zugefügt und geschüttelt. Hierauf wird mit 3 Tropfen Silbernitrat RS versetzt und sofort während 10 Sekunden kräftig geschüttelt. Es darf keine stärkere Opaleszenz als bei der im Einzelartikel geforderten Grenzreaktion auftreten.

Grenzreaktion I:

1,0 ml Chlorid-Vergleichslösung wird mit 12 ml Wasser und 1 ml 2n Salpetersäure RS versetzt und umgeschüttelt. Hierauf werden 3 Tropfen Silbernitrat RS zugefügt, und es wird sofort während 10 Sekunden kräftig geschüttelt.

Grenzreaktion II:

Eine Mischung von 1 Tropfen Chlorid-Vergleichslösung + 13 ml Wasser + 1 ml 2n Salpetersäure RS wird mit 3 Tropfen Silbernitrat RS versetzt und sofort während 10 Sekunden kräftig geschüttelt. Die Prüfungen werden gleichzeitig durchgeführt, und der Ausfall der Reaktionen wird nach 3 Minuten verglichen".

"Grenzprüfung auf Sulfat:

Das vorgeschriebene Volumen der Stammlösung wird mit Wasser auf 13 ml ergänzt. In einem anderen Reagensglas werden 2 Tropfen Sulfat-Vergleichslösung mit 1 ml Bariumchlorid RS und 1 ml 2n Salzsäure RS versetzt und 1/2 Minute geschüttelt. Hierauf wird die zu prüfende Lösung zugegeben, und es wird wieder geschüttelt. Es darf keine stärkere Opaleszenz als bei der im Einzelartikel geforderten Grenzreaktion auftreten.

Grenzreaktion I:

2,0 ml Sulfat-Vergleichslösung werden mit 1 ml Bariumchlorid RS und 1 ml 2n Salzsäure RS versetzt, 1/2 Minute geschüttelt, hierauf mit Wasser auf 15 ml ergänzt und wieder umgeschüttelt.

**Grenzreaktion II:**

2 Tropfen Sulfat-Vergleichslösung werden mit 1 ml Bariumchlorid RS und mit 1 ml 2n Salzsäure RS versetzt, 1/2 Minute umgeschüttelt, hierauf mit 13 ml Wasser versetzt und wieder umgeschüttelt.

Die Prüfungen werden gleichzeitig vorgenommen, und der Ausfall der Reaktion wird nach 5 Minuten verglichen".

Chlorid und Sulfat waren bei den untersuchten Substanzmustern mit der angegebenen Methode nicht nachweisbar, was bedeutet, dass sie der Grenzreaktion a II entsprachen.

2.5.3.3. Grenzprüfung auf Schwefelsäure färbende Stoffe

Diese in der Ph. Helv. V bei vielen Substanzen angewendete Reinheitsprüfung besteht darin, dass eine bestimmte Menge Substanz in konzentrierter Schwefelsäure RS gelöst und eventuell noch eine bestimmte Zeit im Wasserbad erwärmt wird. Sie ist für die Ph. Helv. VI ebenfalls als Grenzprüfung vorgesehen. Die neue Ausführungsform beruht auf dem Vergleich der in konzentrierter Schwefelsäure RS gelösten Substanz mit Farbvergleichslösungen, wobei die höchst zulässige Färbung limitiert wird (s. Seite 22). Die Prüfungen führten wir nach folgender Allgemeiner Vorschrift aus:

"Die vorgeschriebene Menge fein verriebene Substanz wird in einem unmittelbar vorher mit konzentrierter Schwefelsäure RS ausgespülten Glasstopfen-Reagensglas von 12 mm (0,1 mm) innerem Durchmesser mit 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS versetzt. Die sofort nach dem Inlösengehen bei Zimmertemperatur, nach dem Stehenlassen während der vorgeschriebenen Zeit bei Zimmertemperatur oder nach 5 Minuten langem Erwärmen im siedenden Wasserbad auftretende, höchst zulässige Färbung wird mit Hilfe der Farbvergleichslösungen bestimmt. Die auftretenden Färbungen dürfen nicht stärker sein als dies für die einzelnen Substanzen zugelassen wird".

Die Färbungen haben wir bei unseren Untersuchungen sofort nach dem Inlösengehen der Substanz, nach Stehenlassen der Lösung bei Zimmertemperatur während 15, 30 und 60 Minuten, sowie nach Erwärmen im Wasserbad während 5 Minuten betrachtet.

Die Methode des Farbvergleichs in der beschriebenen Ausführung hat sich uns als sehr geeignet erwiesen, auch fanden wir die verschiedenen Farbnuancen und -intensitäten zur Definition der vorkommenden Färbungen als hinreichend. Allerdings lösen sich Dihydroergotaminium methansulfonicum, Ergotaminium

tartaricum und Reserpinum basicum in konzentrierter Schwefelsäure RS mit starker Eigenfarbe, weshalb die Schwefelsäureprobe nicht als Reinheitsprüfung herangezogen, sondern als Identitätsreaktion ausgewertet werden kann.

#### 2.5.4. Feuchtigkeits-, Wasser- bzw. Kristall-Lösungsmittel-Gehalt

Diese sehr wichtige Prüfung wird von den meisten Monographien vorgenommen. Für viele Substanzen ist ein möglichst geringer Feuchtigkeitsgehalt massgebend für den Gehalt, die Haltbarkeit und Lagerfähigkeit, während bei kristallwasserhaltigen Stoffen ein ganz bestimmter Gehalt an Kristallwasser deren Stabilität gewährleistet. Letzteres gilt in gleicher Weise für Substanzen, welche Kristall-Lösungsmittel binden.

Bei der Wahl des Trocknungsverfahrens richteten wir uns nach der Temperaturempfindlichkeit der zu prüfenden Substanzen. Diese dürfen keine Veränderungen erleiden, da die getrocknete Substanz oft zur Gehaltsbestimmung verwendet wird.

Der Feuchtigkeitsgehalt wurde bei den Substanzen, welche Trocknung bei 103 - 105° ohne Veränderung ertragen nach der Allgemeinen Bestimmungsmethode der Ph. Helv. V ermittelt, welche Methode in diesen Fällen völlig befriedigte. Wo wegen Veränderlichkeit der Substanzen niedrigere Temperaturen angewendet werden mussten, trockneten wir im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 60°, wobei die Gewichtskonstanz nach einigen Stunden erreicht war.

Zur Entfernung des Kristallwassers müssen höhere Temperaturen als 103 - 105° zur Anwendung gelangen, damit dieses quantitativ erfasst wird. Bei den kristallwasserhaltigen Substanzen (Atropinsulfat, Ephedrinbase) wurde der Wassergehalt mit der Methode nach Karl Fischer bestimmt, welche nach der Vorschrift zum Suppl. III der Ph. Helv. V vorgenommen wurde und eine bei Zimmertemperatur allgemein anwendbare und zuverlässige Wasserbestimmung auf titrimetrischem Wege gestattet. Die theoretischen Grundlagen lieferte uns die Veröffentlichung von Kerstan (7). Zur Erfassung des Titrationsendpunktes diente ein am Methrom-Titriskop anschliessbares Dead-Stop-Zusatzgerät E 171, weil der visuelle Farbumschlag von Gelb nach Braun sich nur bei einiger Einarbeitung und Übung mit Sicherheit erkennen lässt. Die Wasserbestimmung nach Karl Fischer

bringen wir für Ephedrinbase in Vorschlag, während sich bei Atropinsulfat das Kristallwasser durch Trocknen bei 120<sup>o</sup> vollständig entfernen lässt, und wir hier die einfachere Methode vorziehen möchten.

Das Kristall-Lösungsmittel (bei Ergotamintartrat und Dihydroergotaminmethansulfonat) lassen wir durch Trocknen im Vakuum über Phosphorpen-toxyd bei 95<sup>o</sup> bestimmen, welche Methode wir für die Ph. Helv. VI in Vorschlag bringen.

#### 2.5.5. Verbrennungsrückstand

Diese Bestimmung, welche in den meisten Monographien anzutreffen ist, ist sehr notwendig, denn nicht alle anorganischen Verunreinigungen lassen sich durch die übrigen Reinheitsprüfungen erfassen.

Wir richteten uns in der Ausführung an die Allgemeine Vorschrift der Ph. Helv. V, welche sich für die geprüften Substanzen als geeignet erwiesen hat. Die Bestimmungen erfolgten je nach Kostbarkeit der Substanz mit einer Einwaage von 0,1 - 0,5 g; somit entspricht der Forderung, dass der Verbrennungsrückstand unwägbare sein soll, ein maximaler Verbrennungsrückstand von 0,5 - 0,1 %. Im Sinne der Substanzerparnis gelangte in vielen Fällen ein der entsprechenden Substanz aliquoter Teil der Stammlösung nach Verdampfen des Lösungsmittels zur Anwendung.

### 2.6. GEHALTSBESTIMMUNGEN

#### 2.6.1. Allgemeine Bemerkungen

Wurde noch von der Ph. Helv. V für einige Alkaloidbasen von einer Gehaltsbestimmung abgesehen und bei den Alkaloidsalzen ihr Säureanteil für die Bestimmung herangezogen, so ist man bestrebt, für alle neu in unser Arzneibuch bzw. zu überarbeitenden Alkaloidbasen und -Salze Gehaltsbestimmungs-Methoden auszu- arbeiten, welche den therapeutisch wichtigen Basenanteil erfassen. Durch die in neuerer Zeit entwickelten Verfahren (Perchlorsäure-Titration, UV-Spektrophotometrie, Kolorimetrie), welche mehr und mehr Eingang in die pharmazeutische

Praxis gefunden haben und sogar schon Bestandteil der Supplemente bilden, ist die Möglichkeit dazu weitgehend gegeben.

In der Literatur finden sich neben den für Alkaloidbasen bzw. Alkaloidsalze sozusagen klassischen Methoden zur Gehaltsbestimmung, wie Gravimetrie, Alkalimetrie, Acidimetrie, Argentometrie, vorwiegend UV-spektrophotometrische, kolorimetrische, sowie seltener fluorimetrische Verfahren; im besonderen ist die Perchlorsäure-Titration in Eisessig bzw. Dioxan, welche sich sehr gut eingeführt hat, zu erwähnen.

Ueber die für die entsprechenden Substanzen allgemein verwendeten Bestimmungsmethoden geben wir in den Einzelartikeln jeweils einen Ueberblick und untersuchten diejenigen Verfahren, welche uns für Pharmakopöe-Zwecke als geeignet erschienen. Bei Auswahl der Vorschläge für unser Arzneibuch gaben wir in der Regel dem einfacheren Verfahren, vorausgesetzt dass dieses bezüglich Empfindlichkeit, Genauigkeit, Spezifität und Zuverlässigkeit dem Vergleich mit komplizierteren Verfahren standhält, den Vorzug. So wählten wir z.B. für die Gehaltsbestimmung von Ergotamin tartrat die Perchlorsäure-Titration anstelle der gebräuchlicheren kolorimetrischen Bestimmung nach van Urk.

Bei der Gehaltsbestimmung der Alkaloidsalze führten wir die auf den Säureanteil ansprechenden Bestimmungsmethoden zur Kontrolle aus und um die Leistungsfähigkeit der einzelnen Verfahren miteinander zu vergleichen.

### 2.6.2. Gravimetrische Methoden

Eine Möglichkeit der Gehaltsbestimmung von Alkaloiden besteht in der quantitativen Aufarbeitung der mit Alkaloidfällungsmitteln erhaltenen Niederschläge. Voraussetzung dafür ist, dass die Derivate praktisch unlöslich sind und eine von Konzentrations- und Mengenverhältnissen unabhängige und konstante Zusammensetzung aufweisen. Ist dies der Fall, so können die Niederschläge durch Trocknung in eine Wägeform übergeführt und gravimetrisch bestimmt werden.

Als Fällungsreagenzien zur quantitativen Alkaloidbestimmung werden neuerdings Reineckesalz und Tetraphenylbornatrium herangezogen (s. Seite 14,15). Aus der Literatur ersahen wir gravimetrische Bestimmungsmethoden für Atropin und Ephedrin durch Fällung als Tetraphenylborat bzw. für Atropin als Reineckat, welche wir auf ihre Brauchbarkeit und Zuverlässigkeit überprüften. Im Laufe der

Untersuchungen klärten wir die Auswirkung verschiedener Faktoren, wie für die Fällung bzw. Filtration optimale Einwaage, Menge des Waschwassers und Trocknungstemperatur, auf die Resultate ab. Ausführung und Ergebnisse der Bestimmungen sind in den Einzelartikeln beschrieben. Wie wir feststellten, ergibt die Bestimmung von Ephedrin als Tetraphenylborat viel zu tiefe Werte, ebenso verläuft die Reineckatfällung für Atropin nicht ganz quantitativ. Hingegen ergab die Bestimmung von Atropin durch Fällung als Tetraphenylborat brauchbare, wenn auch etwas streuende Werte.

Ganz allgemein sehen wir von der Verwendung gravimetrischer Methoden für Pharmakopöe-Zwecke jedoch ab, da diese durch die zeitraubende Trocknung zur Gewichtskonstanz recht arbeitsreich sind, und zur Gehaltsbestimmung der in dieser Arbeit geprüften Substanzen andere zuverlässige Verfahren zur Verfügung stehen.

### 2.6.3. Massanalytische Methoden

#### 2.6.3.1. Alkalimetrische Gehaltsbestimmungen

Alkaloidbasen lassen sich alkalimetrisch bestimmen, sofern deren Basizität hinreichend ist und sie in Wasser-Weingeist-Gemischen genügende Löslichkeit aufweisen. Alkalimetrische Gehaltsbestimmungen haben wir für Atropinbase, Atropinsulfat (Fällung und Ausschüttelung der Base) und Ephedrinbase vorgenommen, indem wir nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI ca. 1 Milliäquivalent der Substanzen, bzw. bei Atropinsulfat die mit einem Gemisch von Chloroform und Isopropylalkohol isolierte Base, in Aethanol 70% lösten und mit 0,1 N-Salzsäure unter Verwendung von Taschiro-Indikator RS bis zum Farbumschlag nach Rotviolett titrierten. Ausserdem verwendeten wir für verschiedene Titrationsen das in der Ph. Helv. V gebräuchliche Methylrot RS. Durch Ausführung elektrometrischer Titrationsen unter Mitführen des Indikators stellten wir fest, welcher der genannten Indikatoren besser geeignet sei. Aus den Titrationskurven, die wir in den betreffenden Einzelartikeln anführen, geht hervor, dass die Umschlagsgebiete beider Indikatoren im Bereich des grössten Potentialsprungs (Aequivalenzpunkt der zu titrierenden Base) liegen. Somit erweist sich sowohl Methylrot RS als auch Taschiro-Indikator RS für die Titrationsen als geeignet.

Die meisten Monographien führen eine indirekte Bestimmung aus, indem die Lösung der Alkaloidbase mit einem Ueberschuss an 0,1 N-Salzsäure versetzt, welcher dann mit 0,1 N-Natronlauge zurücktitriert wird. Wir haben für Atropinbase und Ephedrinbase auch das indirekte Verfahren angewandt, konnten damit aber keinen Vorteil gegenüber der direkten Bestimmung feststellen. Zur Gehaltsbestimmung von Atropinbase und Ephedrinbase schlagen wir daher die rasch durchführbare und zuverlässige direkte alkalimetrische Titration vor. Für Atropinsulfat ergaben sich zu tiefe Werte, was auf Verluste bei der Isolierung der Base zurückzuführen ist.

### 2.6.3.2. Acidimetrische Gehaltsbestimmungen

Bei einigen Alkaloidsalzen zogen wir die Titration des Säureanteiles mit Natronlauge als weitere Kontrolle zur Gehaltsbestimmung heran. Als Indikatoren gelangten bei Atropinsulfat und Dihydroergotamin-methansulfonat Phenolphthalein RS, bei Ergotamintartrat Kresolrot RS zur Verwendung. Die Bestimmung von Atropinsulfat erfolgte nach Vorschrift des Kommentars zur Ph. Hely. V in einem gegen Phenolphthalein neutralisierten Weingeist-Chloroform-Gemisch. Im Verlauf der Titration nimmt das Chloroform die freigesetzte, relativ starke Atropinbase auf, wodurch die vorzeitige Rötung des Phenolphthaleins durch die Atropinbase vermieden wird.

Bei den ausgeführten Bestimmungen ergaben sich durchwegs etwas hohe Resultate. Der Säureanteil scheint geringen Schwankungen zu unterliegen, die sich bei den geprüften Substanzen allerdings innerhalb der tolerierten pH-Intervalle bewegen. Bei Substanzen, welche wie z.B. Ergotamintartrat ein sehr hohes Molekulargewicht aufweisen, wirkt sich ein nur geringer Säureüberschuss auf das Endresultat gewichtig aus. Die Bestimmung des therapeutisch wichtigen Basenanteils ist daher gerade für Substanzen mit hohem Molekulargewicht unerlässlich.

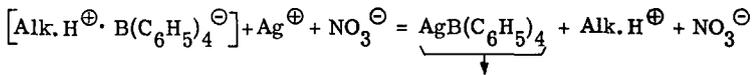
### 2.6.3.3. Argentometrische Gehaltsbestimmungen

Argentometrische Methoden finden in erster Linie Verwendung zur Bestimmung von Alkaloiden, welche als Halogensalze vorliegen, und sprechen daher

meist auf den Säureanteil der Verbindungen an. Eine weitere Anwendungsmöglichkeit der Argentometrie, wobei der Basenanteil der zu untersuchenden Substanzen erfasst wird, besteht in der massanalytischen Bestimmung der mit einigen Alkaloidfällungsmitteln erhaltenen Derivate.

Für die Bestimmung von Ephedrinhydrochlorid schreiben einige Monographien, wie auch Ph. Helv. V, die direkte Chlorid-Titration nach Mohr, andere dagegen die indirekte Methode nach Volhard vor, weshalb wir uns beider Verfahren bedienen. Die direkte Titration führten wir nach der Vorschrift der Ph. Helv. V aus, die indirekte Bestimmung erfolgte unter Verwendung von Nitrobenzol, wie es der Kommentar zur Ph. Helv. V für Chlorid-Titrationen nach Volhard allgemein empfiehlt. Wie wir feststellten, lieferten beide Verfahren für Ephedrinhydrochlorid etwas höhere Werte, als sie sich bei Bestimmungen des Basenanteiles ergaben, woraus zu schliessen ist, dass die stöchiometrischen Verhältnisse bei Alkaloidsalzen nicht immer ganz der Theorie entsprechen.

Im weiteren bildete die argentometrische Bestimmung der mit Tetraphenylbornatrium bzw. Reineckesalz erhaltenen Atropinderivate Gegenstand der Untersuchung. Die argentometrische Bestimmungsmethode der Tetraphenylborate basiert auf dem von Rüdorff und Zannier (8) für die Bestimmung von Kalium ausgearbeiteten Verfahren, welches sich nach Schultz und Goerner (9) auf die Bestimmung von stickstoffhaltigen Arzneistoffen, darunter auch auf Alkaloide, übertragen lässt. Das Verfahren beruht darauf, dass die Tetraphenylborsäure ein in Azeton schwer lösliches Silbersalz bildet, das Tetraphenylbor-Ion lässt sich daher wie Halogen-Ion titrieren:



Ein Aequivalent Silber entspricht somit einem Aequivalent  $\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$  und damit einem Aequivalent Alkaloid. Die Bestimmung kann durch direkte Titration (8, 9) unter Verwendung von Eosin als Indikator oder nach Volhard (10) erfolgen. Bei der Titration nach Volhard wird Aether zugesetzt, damit sich der Niederschlag von Tetraphenylborsilber in der Aetherphase anreichert. Die Ausführung der Bestimmungen sowie die mit den verschiedenen Verfahren erhaltenen Resultate finden sich im Artikel Atropinum basicum. Bei unseren Untersuchungen ergaben sich ziemlich tiefe Werte. Die Verfahren sind ausserdem etwas umständlich und zeitraubend und fallen daher als Pharmakopöe-Methoden nicht in Betracht.

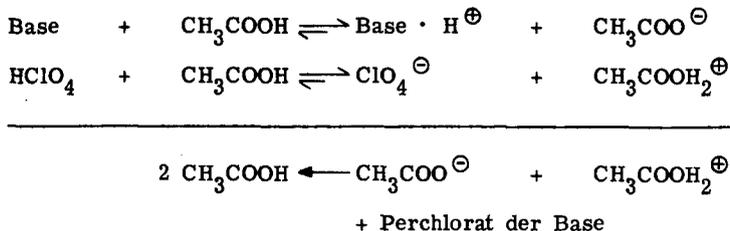
Die titrimetrische Auswertung der Bestimmung von Alkaloiden mit Reineckesalze besteht darin, dass der Alkaloid-Reineckatniederschlag durch Alkalien hydrolysiert wird und der Rhodanidanteil argentometrisch erfasst werden kann. Auf 1 Mol des Reineckatniederschlages werden 4 Mol Rhodanid frei, vier Äquivalente Silbernitrat entsprechen somit einem Äquivalent des zu bestimmenden Stoffes. Bei der Bestimmung von Atropinreineckat durch indirekte Titration nach Volhard hielten wir uns an die von Vogt (11) angegebene Vorschrift, wonach der Niederschlag in Azeton gelöst, mit Fehling II zersetzt, und das hierauf im Ueberschuss zugesetzte Silbernitrat mit Ammoniumrhodanid unter Verwendung von Eisenammoniumalaun als Indikator zurücktitiert wird. Der Umschlagspunkt ist infolge Adsorption des Indikators an den Niederschlag zu wenig scharf, so dass leicht übertitriert wird, und die Resultate dann zu tief ausfallen. Um diese Fehlerquelle auszuschalten, filtrierten wir den Niederschlag ab und führten die Bestimmung mit einem aliquoten Teil der Lösung durch. Wie wir bereits bei der gravimetrischen Bestimmung feststellten, scheint die Fällung von Atropin als Reineckat nicht ganz quantitativ zu verlaufen, was auch die bei der Titration erhaltenen sehr tiefen Werte zu erklären vermag.

#### 2.6.3.4. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig

Alkaloide mit sehr schwach basischen Eigenschaften sind in wässriger Lösung nicht mit hinreichender Genauigkeit titrierbar, weil die bei der Neutralisation entstehenden Salze zu stark hydrolysieren. Wird jedoch anstelle von Wasser ein anderes Lösungsmittel, z.B. wasserfreier Eisessig, verwendet, so wird die massanalytische Bestimmung schwach basischer Alkaloide ermöglicht, da diese in genanntem Lösungsmittel den Charakter stärkerer Basen annehmen. Die theoretischen Grundlagen für die Entwicklung von Titrationsmethoden in wasserfreien Lösungsmitteln waren durch die Brönsted'sche Säure-Basen-Theorie gegeben (12).

Ueber die Entwicklung und die praktische Ausführung der Titrationsen in wasserfreien Medien im allgemeinen, und der Titrationsen mit Perchlorsäure in Eisessig im speziellen, orientierten wir uns bei Rösli (13), wo neben den zum Verständnis der Vorgänge notwendigen theoretischen Erklärungen eine Zusammenstellung der wichtigsten auf diesem Gebiet erschienenen Arbeiten gegeben wird.

Die Titration einer schwachen Base mit Perchlorsäure in Eisessig verläuft nach folgender Gleichung:



Ein Vorteil der wasserfreien Titrationsmethode besteht darin, dass ausser den Alkaloidbasen auch Alkaloidsalze mit organischen Säureresten sowie Hydrochloride bestimmbar sind, wobei sich die Bestimmung bei den ersteren auf den Basenanteil der Verbindung erstreckt. Bei den Alkaloidhalogeniden (Quecksilberazetat-Methode) hingegen wird der Säureanteil bestimmt. Somit ist die Gehaltsbestimmung vieler Alkaloidsalze möglich geworden, für deren Bestimmung man früher zu komplizierten Verfahren greifen musste.

Wir haben die Titration mit Perchlorsäure in Eisessig für Atropinbase, Ephedrinbase, Ephedrinhydrochlorid, Ergotamintartrat und Reserpinbase vorgenommen. Zur Bestimmung gelangten jeweils ca. 0,5 - 1 Milliäquivalent der - wenn nichts anderes vermerkt - getrockneten Substanzen, welche wir in der vorgeschriebenen Menge wasserfreien Eisessigs lösten. Um den Einfluss der Luftfeuchtigkeit auszuschalten wurden der Vorlage noch 3 ml Essigsäureanhydrid zugesetzt. Bei Ephedrinhydrochlorid, wo wegen der Möglichkeit einer Azetylierung kein überschüssiges Essigsäureanhydrid anwesend sein darf, kann durch Zusatz von Dioxan die endpunktverzögernde Wirkung der Luftfeuchtigkeit vermindert werden. Zur Bindung der Chlorid-Ionen gelangte bei der genannten Substanz ausserdem noch gesättigte Quecksilberazetatlösung in Eisessig zur Anwendung. Als Masslösung verwendeten wir 0,05 - 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig, als Indikator Kristallviolett RS, welches sich zur Titration sämtlicher untersuchter Substanzen als geeignet erwies. Die Farbänderung von Kristallviolett verläuft von Violett über Blau, Grünblau, Grün, Gelbgrün nach Gelb. Da die Farbe des Indikators, auf welche titriert werden muss, mit der Stärke der Base variiert, haben wir unter Mitführen des Indikators für die einzelnen Substanzen das Potential am Endpunkt bestimmt. Aus den Titrationskurven, welche wir in den Einzelartikeln anführen, ist die Farbänderung des Indikators nach Zusatz jeweils gleicher Volumenteile der Masslösung ersichtlich. Beim grössten Potentialsprung erfolgte der Indikator-Umschlag von Reinblau nach Grünstichigblau bzw. von Violettstichigblau

nach Reinblau. Die potentiometrischen Bestimmungen, die wir für jedes Substanzmuster durchführten, erfolgten mit dem auf Potentiometrie umgeschalteten Metrohm-pH-Meter unter Verwendung einer hochohmigen Glas- und einer gesättigten Kalomel-Bezugselektrode. Das für die Titrations verwendete Gefäß mit seitlichem Einführungsstutzen für die Elektrode war mit einem Gummistopfen, welcher eine Öffnung für die Bürettenspitze, sowie einen Spalt als Luftventil aufwies, verschlossen. Die Masslösung wurde in einer automatischen Bürette über Kalziumchlorid aufbewahrt. Die bei der Bestimmung von Ephedrinbase bezüglich der Apparatur getroffenen besonderen Massnahmen sind im Einzelartikel beschrieben.

Die Titration mit Perchlorsäure in Eisessig stellt eine zuverlässige, rasch durchführbare Bestimmungsmethode dar und hat sich auch bei unseren Untersuchungen als sehr geeignet erwiesen. Gewisse Nachteile der Methode, wie Vermeidung des Feuchtigkeitszutrittes und Temperaturkorrektur fallen dabei nicht ins Gewicht. Wir schlagen die Titration mit Perchlorsäure in Eisessig zur Gehaltsbestimmung von Ephedrinhydrochlorid, Ergotamintartrat und Reserpinbase vor.

#### 2.6.3.5. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl

Diese Methode kann zur Gehaltsbestimmung stickstoffhaltiger Substanzen herangezogen werden. Sie beruht darauf, dass manche organische Stickstoffverbindungen beim Erhitzen mit konzentrierter Schwefelsäure und einem geeigneten Katalysator ihren Stickstoff in Form von Ammoniak abspalten. Nach Zerstörung der organischen Verbindung wird das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt, mit Lauge alkalisch gemacht, das hierdurch in Freiheit gesetzte Ammoniak mit Wasserdampf überdestilliert, in Säure aufgefangen und anschliessend massanalytisch bestimmt. Aus der ermittelten Stickstoffmenge einer Substanz kann auf den Gesamtgehalt der betreffenden Verbindung geschlossen werden. Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl für die Gehaltsbestimmung von Alkaloidsalzen angewendet, erlaubt die Bestimmung des therapeutisch wichtigen Basenanteiles, wobei allerdings stickstoffhaltige Verunreinigungen bzw. Verfälschungen miterfasst werden. Dagegen ist jedoch anzunehmen, dass solche bereits bei den Reinheitsprüfungen erkannt würden.

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, welche in die Ph. Helv. VI aufgenommen werden soll, wurde für alle in dieser Arbeit untersuchten Substanzen als zusätzliche Gehaltsbestimmung vorgenommen. In der Ausführung hielten wir uns an die für unser Arzneibuch vorgesehene Vorschrift:

"In einen Kjeldahlkolben von 100 ml Inhalt gibt man eine 5 - 15 mg Stickstoff entsprechende und in den einzelnen Artikeln angegebene Substanzmenge (genau gewogen), sowie 3 g ( $\pm$  0,1 g) Katalysator für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl. Die Substanzeinwaage erfolgt mit Hilfe eines stickstofffreien Papierschiffchens so, dass am Kolbenhals keine Substanz kleben bleibt. Man übergiesst nun mit 5 ml konzentrierter Schwefelsäure RS, wobei dafür zu sorgen ist, dass die Substanz mit der Schwefelsäure vollständig benetzt wird. Bei Substanzen, die während des Aufschlusses zu starkem Schäumen neigen, werden noch ca. 5 mg Stearinsäure zugesetzt, was jeweils in den einzelnen Artikeln vorgeschrieben wird. Nach Zugabe von 5 Glasperlen und Aufsetzen eines kleinen Trichters erhitzt man ganz vorsichtig den um ca. 45° geeigneten Kolben auf kleiner Flamme, bis Schäumen und Aufblähen der Mischung aufhören. Einige Substanzen bilden von Anfang an klare Lösungen. Dann schraubt man die Flamme langsam höher, bis die Flüssigkeit gleichmässig und kräftig siedet. Es ist aber dafür zu sorgen, dass während des Siedens die Schwefelsäure nicht höher als bis ca. in die Mitte des Kolbenhalses aufsteigt. Die nötige Aufschlusszeit ist für jede Substanz in den entsprechenden Artikeln angegeben. In der Regel ist für nicht ringgebundene Stickstoffe 1 Stunde, für ringgebundene Stickstoffe 2 - 3 Stunden erforderlich. Etwas längere Aufschlusszeiten schaden nicht. Nach beendetem Aufschluss muss eine klare, farblose Lösung vorliegen. Nach dem Erkalten verdünnt man mit 20 ml Wasser in einem Guss und kühlt den Kolben unter fließendem Wasser rasch auf Zimmertemperatur ab. Die leere Apparatur wird zunächst mit Wasserdampf bei abgestelltem Kühler während ca. 15 Minuten ausgedämpft. Dann spült man die kalte, verdünnte Aufschlusslösung mit insgesamt 5 mal 5 ml Wasser quantitativ in den Kolben A der Apparatur. Man legt in einem Erlenmeyerkolben B von 150 ml Inhalt 30 ml Borsäurelösung für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vor, so dass das Kühlrohr eintaucht. Durch Einführen von 20 ml Thiosulfatlösung durch den Trichter C wird alkalisiert und sofort die Wasserdampfdestillation in Gang gesetzt. Vom Moment an, da die Indikatorfarbe nach Grün umschlägt, wird 10 Minuten destilliert. Dann senkt man die Vorlage so weit, dass das Kühlrohr 0,5 - 1 cm über die Flüssigkeit zu stehen kommt und destilliert noch 3 Minuten. Dann lässt man vollständig abtropfen. Das Kühlrohr wird mit wenig Wasser aussen abgespritzt, worauf man die Vorlage entfernt. Man titriert mit 0,05 N-Salzsäure auf rotstichiges Violett. In gleicher Weise ist unter Verwendung derselben Reagenzien unter Ersatz der zu analysierenden Substanz durch 0,2 g Glycosum ad iniectionem ein Blindwert zu bestimmen, der vom Titrationsergebnis in Abzug zu bringen ist.

Zur Berechnung dient folgende Formel:

$$\% N = \frac{70,04 \cdot a \cdot f}{b}$$

a = ml 0,05 N-Salzsäure

b = Einwaage in mg

f = Faktor der 0,05 N-Salzsäure

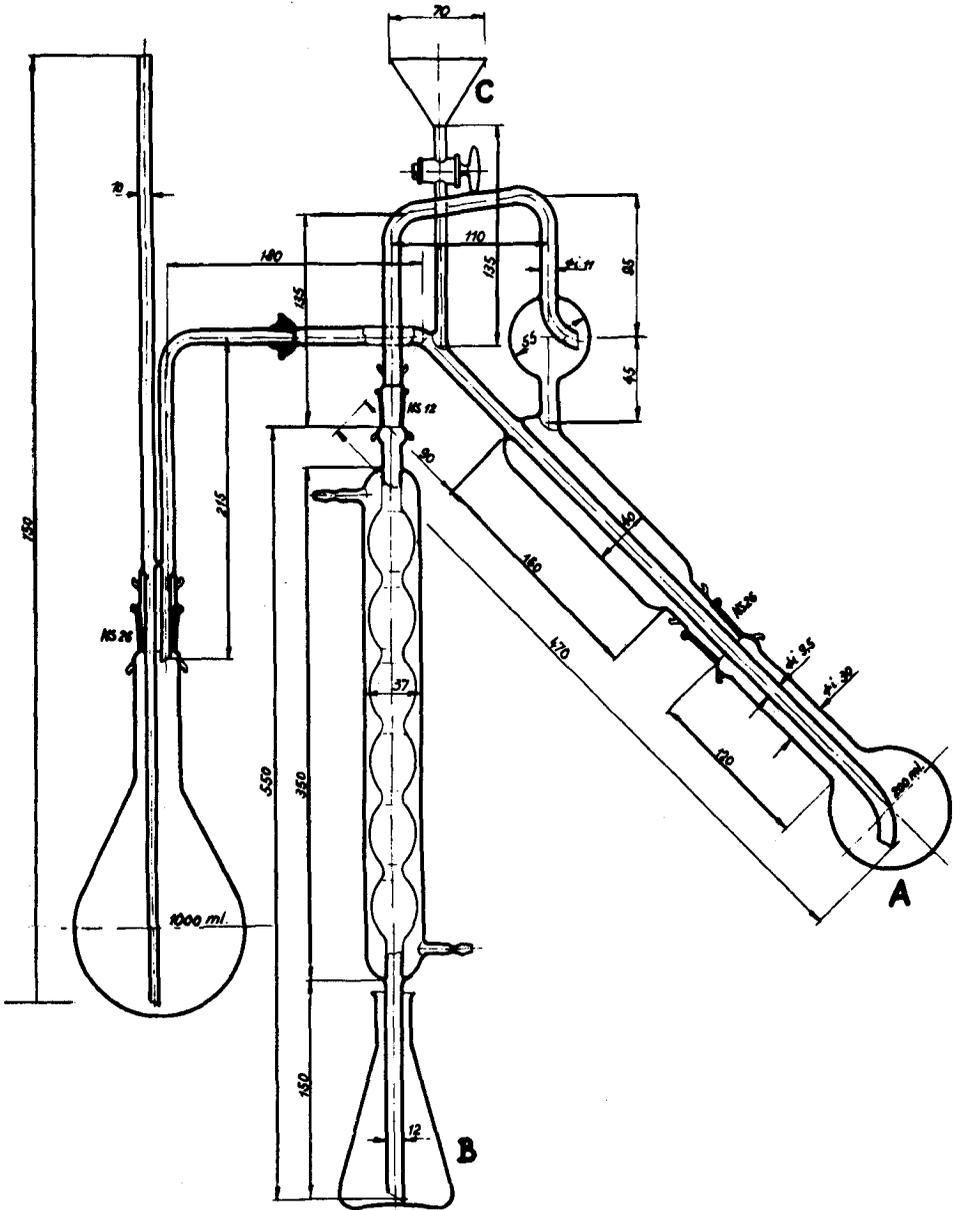


Abb. 1 Für die Ph. Helv. VI vorgeschlagene Apparatur zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

**Erfahrungen:** Anstelle von stickstofffreien Papierschiffchen können bei der Einwaage der Substanz mit Vorteil Ampullenböden verwendet werden. Wie wir feststellten, muss die Wasserdampfdestillation länger in Gang gehalten werden als in der Vorschrift angegeben wird. Vom Moment des Indikator-Umschlags nach Grün muss anstatt 10 mindestens 15 Minuten destilliert werden, damit nicht zu tiefe Werte resultieren. Mit den in den Einzelartikeln angegebenen Aufschlusszeiten und einer längeren Destillationsdauer ergaben sich für alle geprüften Substanzen einwandfreie Ergebnisse. Die Methode, welche anfänglich etwas kompliziert erscheinen mag, ist bei einiger Uebung und Einarbeitung verhältnismässig rasch durchführbar. Wir schlagen die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zur Gehaltsbestimmung von Atropinsulfat vor.

#### 2.6.4. Optische Methoden

##### 2.6.4.1. Kolorimetrische Gehaltsbestimmungen

Ueber kolorimetrische Bestimmungsmethoden, welche ganz allgemein den Vorteil aufweisen, bei geringem Substanzverbrauch schnell ausführbar und bei Anwendung geeigneter Messinstrumente verhältnismässig empfindlich zu sein, bestehen für die zu untersuchenden Substanzen zahlreiche Publikationen, aber nur wenige dieser Verfahren eignen sich zur Aufnahme in ein Arzneibuch.

Bei den zur Alkaloidbestimmung angewandten kolorimetrischen Verfahren handelt es sich einerseits um die quantitative Auswertung der zum Nachweis von Alkaloiden gebräuchlichen Farbreaktionen, andererseits können die mit Alkaloidfällungsmitteln erhaltenen Niederschläge nach Abtrennen und Wiederauflösen für kolorimetrische Messungen herangezogen werden. Eine weitere Möglichkeit besteht in der chemischen Umwandlung der Substanzen in Derivate oder Abspaltung von Molekülbruchstücken, deren kolorimetrische Konzentrationsbestimmung möglich ist. Zur Bestimmung der zu prüfenden Alkaloide finden sich in der Literatur Verfahren, welche von allen genannten Möglichkeiten Gebrauch machen, und die wir jeweils in den betreffenden Einzelartikeln anführen.

Einer experimentellen Ueberprüfung haben wir zwei Verfahren unterzogen, da diese uns für Pharmakopöe-Zwecke brauchbar erschienen, zumal sie auch von anderen modernen Arzneibüchern zur Gehaltsbestimmung empfohlen werden. Die kolorimetrische Bestimmung nach van Urk, die wir für Ergotamintartrat und

Dihydroergotamin-methansulfonat vorgenommen haben, beruht auf der Blaufärbung, welche sich durch Reaktion der Alkaloide mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure und unter Einfluss eines Oxydationsmittels ( $\text{FeCl}_3$ ) einstellt. Wir haben für beide Substanzen - für die Bestimmung von Ergotamintartrat stand eine Standardsubstanz zur Verfügung - mit der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, sowie bei Ergotamintartrat mit der Perchlorsäure-Titration vergleichbare Ergebnisse erhalten.

Das zur Gehaltsbestimmung von Reserpinbase ausgeführte kolorimetrische Verfahren beruht auf der Umwandlung von Reserpin in 3-Dehydro-reserpin, welche sich unter Einwirkung von Natriumnitrit und konzentrierter Salzsäure vollzieht. Das Umwandlungsprodukt ist von grünlich-gelber Farbe und somit kolorimetrisch messbar. Die nach USP XVI unter Verwendung einer Bezugssubstanz vorgenommene Bestimmung ergab ebenfalls brauchbare, mit der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und der Perchlorsäure-Titration vergleichbare Werte.

Für die Messungen stand uns im Spektralphotometer Zeiss PMQ II ein Gerät von hoher Präzision zur Verfügung.

Für die Gehaltsbestimmung von Ergotamintartrat und Reserpinbase bringen wir keine kolorimetrischen Verfahren in Vorschlag, da uns die für genannte Substanzen anwendbare Perchlorsäure-Titration als Methode der Wahl erscheint. Hingegen möchten wir für Dihydroergotamin-methansulfonat die kolorimetrische Blauwert-Bestimmung nach van Urk vorschlagen.

#### 2.6.4.2. UV-Spektrophotometrische Gehaltsbestimmungen

In neueren Publikationen wird die UV-Spektrophotometrie immer häufiger zur Gehaltsbestimmung von Alkaloiden herangezogen, wohl auch, weil das Verfahren den Vorteil aufweist, mit sehr geringen Substanzmengen auszukommen. Wir haben unsere diesbezüglichen Untersuchungen bereits im Kapitel "Physikalisch-chemische Reinheitsprüfungen" (s. Seite 22) aufgeführt. Die Bestimmung von  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ , welche wir in dieser Arbeit für Dihydroergotamin-methansulfonat, Ergotamintartrat und Reserpinbase als Reinheitsprüfung vorgenommen haben, ist gleichzeitig ein Mass für den Gehalt des betreffenden Alkaloides.

## 2.7. REAGENZIENLISTE

Wo immer es möglich war, versuchten wir mit dem Reagenziensatz der Ph. Helv. V und der Supplemente auszukommen. Die nachfolgend beschriebenen Reagenzien waren für unsere Untersuchungen jedoch unumgänglich. Die mit \*) versehenen Reagenzien werden als Neueinführung vorgeschlagen bzw. den Vorschlägen für die Ph. Helv. VI entnommen. Nach der Nomenklatur der Ph. Helv. VI werden alle Reagenzlösungen mit "RS" bezeichnet.

Aluminiumchlorid \*) (ca. 0,2 n) : 2,7 g Aluminiumchlorid,  $\text{AlCl}_3$  (Mol.-Gew. 133,4) werden in Wasser zu 100 ml gelöst.

Ammoniumreineckat: 0,5 g Ammoniumreineckat,  $\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4\text{NH}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (Mol.-Gew. 354,5) werden mit 20 ml Wasser während einer Stunde geschüttelt und die Lösung filtriert. Das Reagens muss innerhalb 48 Stunden verwendet werden. Prüfung: Vgl. USP XV, p. 964.

Ammoniumsulfamat:  $\text{NH}_4\text{OSO}_2\text{NH}_2$  (Mol.-Gew. 114,1) Smp. 130 - 133°, weisses geruchloses kristallines Pulver, welches sich beim Erhitzen zersetzt. Leicht löslich in Wasser. Prüfung: Vgl. USP XV, p. 964.

Borsäurelösung zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl \*):

Darstellung: 30 g Borsäure werden in heissem Wasser zu 1 Liter gelöst. Einem Liter dieser Lösung mischt man 10 ml Indikatorlösung für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl zu.

Prüfung: 1 Volumen der mit Indikatorlösung versetzten Borsäure muss beim Verdünnen mit 2 Volumen Wasser die Umschlagsfarbe des Indikators zeigen (rotstichiges Violett). Andernfalls ist mit Salzsäure oder Natronlauge zu korrigieren.

Dragendorff-Reagens \*): (ca. 0,05 n): 1,5 g Bismutum subnitricum werden in der Mischung von 7,5 ml verdünnter Salpetersäure RS und 80 ml Wasser unter Erwärmen gelöst. Diese Lösung wird allmählich in eine Lösung von 7,5 g Kalium iodatum + 10 ml Wasser eingetragen. Dann wird abkühlen gelassen, auf 100 ml mit Wasser ergänzt und wenn nötig filtriert.

Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie \*) nach Munier und Macheboeuf, Bull. soc. Chim. biol. 32, 192, 304 (1950) :

Lösung A: 0,85 g Bismutum subnitricum werden in der Mischung von 40 ml Wasser und 10 ml Eisessig gelöst.

Lösung B: 8 g Kalium iodatum werden in 20 ml Wasser gelöst.

Verbrauchslösung: 5 ml Lösung A + 5 ml Lösung B werden mit 20 ml konzentrierter Essigsäure RS + 100 ml Wasser verdünnt.

Goldchlorwasserstoffsäure (Goldchlorid): 0,2 g  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  (Mol.-Gew. 393,9) werden in Wasser zu 10 ml gelöst.

Prüfung: Vgl. Brit. Ph. 1958, p. 760

n-Heptan \*):  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$  (Mol.-Gew. 100,2), farblose Flüssigkeit mit einem Siedepunkt von  $98,4^\circ$  und einem Brechungsindex von  $n_D^{20} = 1,388$ . Aufbewahrung: Vor Feuer geschützt.

Indikatorlösung für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl \*): 0,080 g Bromkresolgrün und 0,016 g Methylrot werden in Aethanol 94 % zu 100 ml gelöst.

Kalignost \*): 3,4 g Tetraphenylbor-Natriumsalz,  $(\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{BNa}$ , (Mol.-Gew. 342,2) werden in 90 ml Wasser gelöst und diese Lösung mit Aluminiumchlorid RS bis pH ca. 6 - 7 versetzt. Dann wird mit Wasser auf 100 ml ergänzt und filtriert.

Kaliumazetat \*) (ca. 2 n): 10 g Kaliumazetat,  $\text{CH}_3\text{COOK}$  (Mol.-Gew. 98,15) werden in Wasser zu 100 ml gelöst.

Katalysator für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl \*): 3 g gelbes Quecksilberoxyd werden mit 97 g Kaliumsulfat gleichmässig verrieben.

Ninhydrin: 0,1 g Ninhydrin ( $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_4$ , Mol.-Gew. 178,15) werden in Methylalkohol zu 100 ml gelöst.

Silikowolframsäure: 5 g  $\text{SiO}_2 \cdot 12 \text{WO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$  (Mol.-Gew. der wasserfreien Säure 2844) werden mit Wasser zu 100 ml gelöst.  
Prüfung: Vgl. Brit. Ph. 1958, p. 789.

Taschiro-Indikator \*): 10 ml Methylrot RS und 1 ml Methylenblau RS werden gemischt.

Thiosulfatlauge für Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl \*): Zu einer 40 %igen Lösung von stickstofffreiem Natriumhydroxyd in Wasser werden 2 % Natriumthiosulfat zugesetzt.

Wasserstoffsuperoxyd, konzentriertes \*) = Hydrogenium peroxydatum concentratum

Zimtaldehyd \*): 1,0 g Zimtaldehyd,  $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCHO}$  (Mol.-Gew. 132,15) werden in Methylalkohol zu 100 ml gelöst.

### 3. SPEZIELLER TEIL

#### 3.1. GLIEDERUNG DES TEXTES

Da es sich bei den untersuchten Substanzen um Alkaloide verschiedener chemischer Struktur handelt, wurde jede Substanz in einem in sich abgeschlossenen Abschnitt beschrieben, welcher neben einer Aufstellung der aus der Literatur ersichtlichen Daten und Prüfungsmethoden unsere eigenen Untersuchungen und Ergebnisse enthält. Dieses Vorgehen gestattet die Möglichkeit, einzelne Reaktionen an Ort und Stelle zu kommentieren.

#### 3.2. ANORDNUNG DER ABSCHNITTE

Zur übersichtlichen Gestaltung wurden die Abschnitte in verschiedene Unterabschnitte gegliedert.

##### 3.2.1. Definition, Nomenklatur, Konstitutionsformel und Bezeichnung

Zu Beginn eines jeden Artikels führen wir eine Definition der Substanz, die Konstitutionsformel, sowie die verschiedenen Bezeichnungen (Pharmakopöebezeichnungen, Trivialnamen, Spezialitätennamen) an.

##### 3.2.2. Vorkommen

Da die untersuchten Substanzen Drogeninhaltsstoffe darstellen, geben wir sodann einen Ueberblick über die Herkunft, die Stammpflanzen und die Nebenalkaloide, von denen wir vielfach auch Konstitutionsformeln anführen.

### 3.2.3. Darstellung, Mögliche Verunreinigungen

In diese Abschnitte entfallen Beschreibung der verschiedenen Extraktionsverfahren und Formulierung der möglichen Synthesewege, sowie daraus abgeleitet, eine Aufstellung der Verunreinigungen, die sich aus der Darstellung ergeben können.

### 3.2.4. Prüfungen

Diese sind eingeteilt nach:

- Sinnenprüfung
- Identitätsprüfungen
- Reinheitsprüfungen
- Quantitative Bestimmungen

Die papierchromatographische Prüfung ist unter "Identitätsprüfungen" aufgeführt. Die Reinheitsprüfungen umfassen: physikalisch und physikalisch-chemische Prüfungen sowie chemische Reinheitsprüfungen. Die Bestimmung des Schmelzbereiches ist unter "physikalisch-chemische Prüfungen" eingereiht. Unter "Quantitative Bestimmungen" finden sich die Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes (bzw. Wassergehalt oder Gehalt an Kristalllösungsmittel) sowie die Gehaltsbestimmungen.

### 3.2.5. Untersuchung von Handelsmustern

Im Anschluss an den Abschnitt "Gehaltsbestimmungen" geben wir jeweils eine tabellarische Zusammenstellung über die Prüfungsergebnisse der untersuchten Handelsmuster, aus welcher ersichtlich ist, wie sich die verschiedenen Muster bei der von uns vorgeschlagenen Prüfung verhalten haben.

### 3.2.6. Abfassung von Monographievorschlägen

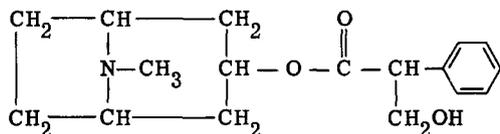
Den Abschluss bilden die Monographievorschläge, welche nach den redaktionellen Normen der Ph. Helv. VI abgefasst sind.

## 3.3. MONOGRAPHIEN

### 3.3.1. Atropinum basicum

Syn.: dl-Hyoscyaminum basicum

Atropin ist der dl-Tropasäure-tropinester



$C_{17}H_{23}O_3N$

Mol.-Gew. 289,4

Atropine	USP XIV, p. 60; Brit. Ph. 1958 p. 62 Codex Gall. 7, p. 78
Atropinum	Ph. Int. Vol. I, p. 45
Atropina	F. Espan. IX, p. 129

#### Vorkommen

Atropin, welches aus verschiedenen Solanaceenarten gewonnen wird, ist primär in den frischen Drogen, wie beispielsweise in Radix Belladonnae, nicht oder nur in geringen Mengen vorhanden. Es entsteht bei der Verarbeitung der Droge erst sekundär durch Razemerisierung aus dem Hauptalkaloid, l-Hyoscyamin.

#### Bildung

Bedingungen, wie Erhitzen im Vakuum, Einwirkung von starken Alkalien in kalter, alkoholischer Lösung oder in Ammoniak (14), Gegenwart von Tropin (15), sogar siedendes Chloroform (16) oder kaltes Wasser (17) können die Umwandlung

von 1-Hyoscyamin in das racemische Atropin bewirken. Bei der Extraktion von 1-Hyoscyamin muss deshalb die Einwirkung von Wärme und Alkali möglichst vermieden werden, um die Racemisierung hintanzuhalten.

### Darstellung

#### a) Durch Extraktion:

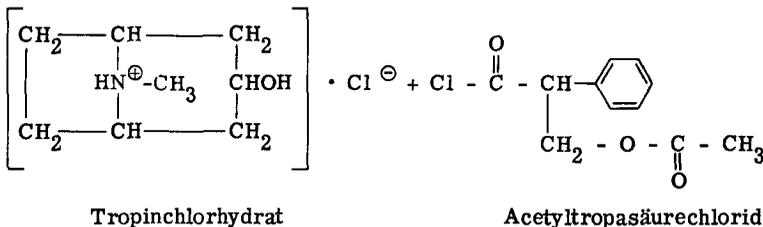
Als Ausgangsmaterialien dienen meistens Radix Belladonnae, Samen Stramonii oder Hyoscyamus muticus. Die Extraktion und Aufarbeitung kann nach folgendem Prinzip erfolgen (18):

"Die gepulverte Droge wird zur Freisetzung der Alkaloidbasen mit wässriger Natriumkarbonatlösung befeuchtet und mit Aether oder Benzol extrahiert. Die Alkaloidbasen werden mit Essigsäure aus dem organischen Lösungsmittel ausgezogen, und die saure Lösung wird solange mit Aether geschüttelt bis dieser noch gefärbt ist. Dann werden die Basen mit Natriumkarbonat in Freiheit gesetzt, und der Niederschlag nach Waschen und Trocknen in Aether oder Azeton gelöst. Diese Lösung wird mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und dann filtriert. Nach Konzentrieren und Kühlen der Lösung kristallisieren Atropin und Hyoscyamin aus. Die rohe kristalline Masse wird filtriert und in Alkohol gelöst. Nach Zusatz von Natriumhydroxyd wird die Lösung bis zur vollständigen Racemisierung stehen gelassen. Das rohe Atropin wird aus Azeton umkristallisiert."

Im weiteren sei auf die Verfahren von Rabourdin, Pesci, Gerrard und Stuart (19) verwiesen. Ein anderes Herstellungsverfahren besteht in der Umlagerung von 1-Hyoscyamin durch alkoholisches Natron (20) oder durch Erhitzen von 1-Hyoscyamin über seinen Schmelzpunkt.

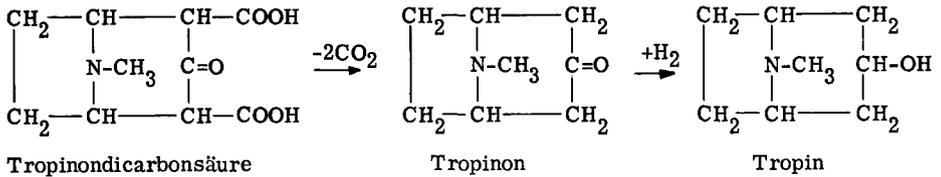
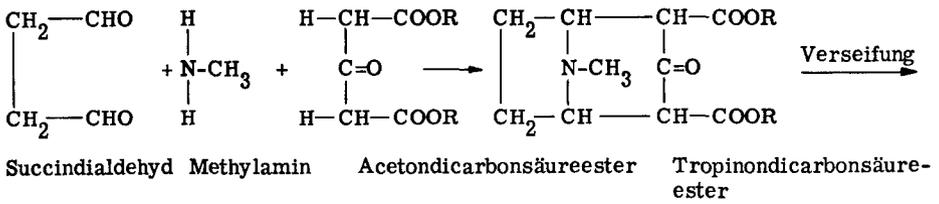
#### b) Durch Synthese:

Umsetzen von Tropinchlorhydrat mit Acetyltropasäurechlorid in der Wärme:

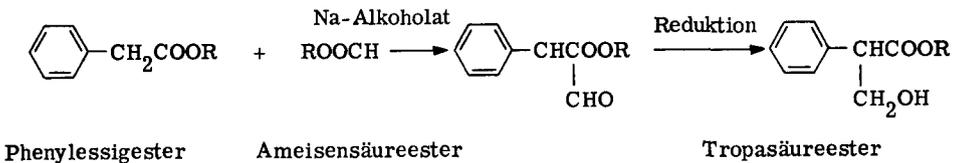


Das nach D.R.P. 151189 erhaltene Acetyltropyltropein wird nach Buchler (21) mit dem 5-fachen Volumen konz. Salzsäure 24 Stunden lang bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, wodurch die Abspaltung der Acetylgruppe bewirkt wird. Dann wird das Reaktionsprodukt alkalisch gemacht zur völligen Ausfällung der Alkaloidbase.

Die Synthese von Tropin nach Robinson (22) ist die folgende:



dl-Tropasäure ist auf folgendem Wege zugänglich:



### Mögliche Verunreinigungen

Andere Solanaceenalkaloide, wie Hyoscyamin, Scopolamin, Apotropin, Belladonin, Tropin; ferner dl-Tropasäure, Atropasäure; Natrium, Kalium, Kalzium, Sulfat, Chlorid, Karbonat, Azetat.

### Sinnenprüfung

Vier der fünf geprüften Muster stellten weisse kristalline Pulver dar, wovon eines von ganz besonders feiner Struktur war. Ein Muster bestand aus farblosen, nadelförmigen Kristallen. Sämtliche Muster waren völlig geruchlos. Von einer Geschmacksprobe haben wir in Anbetracht der Giftigkeit der Substanz abgesehen.

### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Auf die Herstellung einer wässrigen Stammlösung von genau bekannter Konzentration musste wegen der Schwerlöslichkeit der Substanz in Wasser verzichtet werden. Wir verwendeten für einige Reinheitsprüfungen eine heiss-gesättigte Lösung, die wie folgt erhalten wird:

"0,3 g Substanz werden mit 9 ml siedend heissem Wasser in einem Reagensglas mit Glasstopfen während 1 Minute kräftig geschüttelt. Das nach dem Erkalten erhaltene Filtrat dient als Stammlösung S I."

#### Nachweis der Atropinbase:

Farbreaktion nach Vitali: Als Identitätsreaktion figuriert in den Monographien die Vitali'sche Farbreaktion, welche nicht spezifisch ist auf Atropin, sondern mit allen Tropasäurealkaloiden positiv ausfällt. Sogar Veratrin, Strychnin und Apomorphin geben ähnliche Färbungen, doch sind diese schmutzig-violetten Färbungen nicht mit der reinen violetten Farbe der Tropasäurealkaloide zu verwechseln. In Anlehnung an den Artikel Atropinum sulfuricum der Ph. Helv. V wird die Vitali-Reaktion folgendermassen formuliert:

"Versetzt man etwas Substanz in einem Porzellanschälchen mit 5 Tropfen konzentrierter Salpetersäure RS und verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne, so bleibt ein Rückstand, der nach dem Erkalten auf Zusatz von 5 Tropfen weingeistiger Kalilauge eine violette Färbung zeigt."

Als sinnvolle Ergänzung der Vitali-Reaktion ist die Bestimmung des Schmelzbereiches der Base, sowie die Prüfung auf Abwesenheit einer optischen Drehung zu bezeichnen. Erst nach Ausführung dieser drei Bestimmungen ist eine eindeutige Identifizierung möglich.

#### Alkaloidfällungsreagenzien:

Herstellung des Tetraphenylborates: Scott und Doukas (23) geben für die Tetraphenylborate der Solanaceenalkaloide folgende Schmelzintervalle an:

Atropintetraphenylborat	141 - 144 <sup>0</sup>
Hyoscyamintetraphenylborat	142 - 145 <sup>0</sup>
Scopolamintetraphenylborat	145 - 148 <sup>0</sup>

Atropintetraphenylborat wurde wie folgt hergestellt:

"50 mg Atropinbase wurden in einem Becherglas von 100 ml Inhalt mit 10 Tropfen verdünnter Essigsäure RS in Lösung gebracht. Dann wurden 50 ml Wasser und 3 Tropfen Aluminiumchlorid RS zugesetzt und die Mischung auf 70° erwärmt. Die heisse Lösung wurde tropfenweise mit 2,6 ml Kalignost RS unter ständigem Umrühren mit einem Glasstab versetzt und das Fällungsgemisch darauf 2 Stunden im Eisschrank belassen. Dann wurde der kristalline Niederschlag abgenutscht, mit 25 ml 0,2%iger Essigsäure gewaschen, aus einer Mischung von 4 ml Azeton und 6 ml Wasser umkristallisiert und bei 100° getrocknet".

Die Schmelzbereiche von Atropintetraphenylborat sowie der Tetraphenylborate von Hyoscyamin und Scopolamin, welche nach der gleichen Vorschrift erhalten wurden, betragen:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
Atropintetraphenylborat	128 - 132°	129,7 - 133,9°
Hyoscyamintetraphenylborat	129 - 133°	130,9 - 134,9°
Scopolamintetraphenylborat	133 - 137°	134,9 - 137,4°

Bei unseren Bestimmungen ergaben sich im Vergleich zu den Angaben von Scott und Doukas (23) wesentlich tiefere Werte, welche auch nach nochmaliger Umkristallisation keine Veränderung zeigten. Die Tetraphenylborate der genannten Alkaloide eignen sich nicht zu deren Unterscheidung, da die Schmelzbereiche zu nahe beieinanderliegen.

Herstellung des Reineckates: Nach Evans und Partridge (24) betragen die Schmelzbereiche der Reineckate (unter Zersetzung):

Atropinreineckat	157 - 158°
Hyoscyaminreineckat	156 - 157°
Scopolaminreineckat	171 - 172° (nach Sintern bei 169 - 170°)

Für die Herstellung von Atropinreineckat legten wir folgende Vorschrift zugrunde:

"60 mg Atropinbase wurden in 20 ml 0,1 N-Salzsäure gelöst und die Lösung mit 30 ml Wasser versetzt. Durch Zusatz von 50 ml Aluminiumreineckat RS wurde das Alkaloid gefällt, das Fällungsgemisch 1 Stunde

im Eisschrank belassen und der Niederschlag abgenutscht. Letzterer wurde mit 20 ml Eiswasser gewaschen und zweimal aus 8 ml einer Mischung von 2,5 ml Azeton und 7,5 ml Wasser in der Wärme umkristallisiert und bei 100° getrocknet."

Die Reineckate von Hyoscyamin und Scopolamin wurden analog hergestellt. Scopolaminreineckat musste vor der Filtration einige Stunden stehen gelassen werden, da die Fällung anfänglich schwer filtrierbar war. Es ist blasser rötlich gefärbt als die Reineckate von Atropin und Hyoscyamin.

Die von uns ermittelten Schmelzbereiche (unter Zersetzung) betragen:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
Atropinreineckat	156 - 158 <sup>0</sup>	159 - 161,1 <sup>0</sup>
Hyoscyaminreineckat	155 - 157 <sup>0</sup>	157,9 - 160 <sup>0</sup>
Scopolaminreineckat	167 - 168 <sup>0</sup>	170,5 - 171,6 <sup>0</sup>

Da die Reineckate unter Zersetzung schmelzen (die Verfärbung tritt schon ca. 10 - 20° vor Schmelzbeginn auf) und die Schmelzbereiche von Atropin- und Hyoscyaminreineckat sich nicht wesentlich unterscheiden, eignet sich dieses Derivat nicht zur Identifizierung von Atropinbase.

Herstellung des Pikrates: Der Schmelzbereich von Atropinpikrat und Hyoscyaminpikrat beträgt nach den Literaturangaben:

	<u>Atropinpikrat</u>	<u>Hyoscyaminpikrat</u>
Merck Index 6 <sup>th</sup> Ed. (59)	175 - 176 <sup>0</sup>	165 - 166 <sup>0</sup>
Carr und Reynolds (26)	175 - 176 <sup>0</sup>	165 - 166 <sup>0</sup>
Mühlemann und Bürgin (27)	175 - 176 <sup>0</sup>	162 <sup>0</sup>

King (25) gibt für Scopolaminpikrat, welches aus Scopolaminhydrobromid von Pharmakopöe-Qualität hergestellt wurde, ein Schmelzintervall von 165 - 185° an. Atropinpikrat wurde nach folgender Vorschrift erhalten:

"25 mg Atropinbase wurden in der Mischung von 3 Tropfen verd. Essigsäure RS und 5 ml Wasser gelöst. Dann wurden tropfenweise 2 ml Pikrinsäure RS zugesetzt. Der entstandene ölige Niederschlag wurde durch leichtes Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Das nach dem Erkalten auskristallisierte Pikrat wurde abgenutscht, mit 5 ml Wasser gewaschen und bei 103 - 105° getrocknet".

Die Schmelzbereiche von Atropinpikrat, sowie der in gleicher Weise hergestellten Pikrate von Hyoscyamin und Scopolamin betragen:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
Atropinpikrat	171,5 - 173,5	175,7 - 177,3
Hyoscyaminpikrat	161,0 - 163,0	164,2 - 166,3
Scopolaminpikrat	162,0 - 163,0	165,3 - 166,3

Umkristallisation aus heissem Wasser bewirkte keine Aenderung des Schmelzbereiches. Da Atropinpikrat und Hyoscyaminpikrat scharfe, voneinander abweichende Schmelzintervalle aufweisen, eignet sich dieses Derivat sehr gut zur Identifizierung von Atropinbase.

Herstellung des Aureates: USP XIV und Brit. Ph. 1958 schreiben neben der Vitali-Reaktion die Herstellung des Aureates als weitere Identitätsprüfung vor, wobei Brit. Ph. 1958 für Atropinaureat einen Schmelzpunkt von ca. 136<sup>0</sup> (korr.) fordert. USP XIV verzichtet auf die Bestimmung des Schmelzbereiches, indem sie lediglich das Aussehen des Derivates beschreibt. Dieses weist im Gegensatz zu Hyoscyaminaureat ein mattes, glanzloses Aussehen auf.

Die Schmelzbereiche der Aureate betragen nach den Literaturangaben:

	<u>Atropinaureat</u>	<u>Hyoscyaminaureat</u>
Merck Index 6 <sup>th</sup> Ed. (59)	136 <sup>0</sup>	165 <sup>0</sup>
Carr und Reynolds (26)	137 - 139 <sup>0</sup>	165 <sup>0</sup>
Brit. Ph. 1958	ca. 136 <sup>0</sup>	
Mühlemann und Bürgin (27)	135 - 137 <sup>0</sup>	163 <sup>0</sup>

Wir stellten das Atropinaureat nach folgender Vorschrift her:

"25 mg Atropinbase wurden in der Mischung von 2 ml Wasser und 10 Tropfen verdünnter Salzsäure RS gelöst. Nach Zusatz von 12 Tropfen Goldchlorwasserstoffsäure RS entstand eine zitronengelbe ölige Fällung, welche nach ca. 4 Stunden kristallin wurde. Die matten und glanzlosen Kristalle wurden abgenutscht, mit 5 ml Wasser gewaschen und bei 105<sup>0</sup> getrocknet".

Der Schmelzbereich des Atropinaureats lag zwischen  $135,0$  und  $137,0^{\circ}$  (unkorr.) bzw.  $137,0$  und  $139,0^{\circ}$  (korr.). Durch Umkristallisation aus heissem Wasser änderte sich das Schmelzintervall nicht.

In der gleichen Weise wurde das Hyoscyaminaureat hergestellt, welches sozusagen spontan kristallin ausfiel. Der Schmelzbereich des Hyoscyaminaureates lag zwischen  $159$  und  $162^{\circ}$  (unkorr.) bzw.  $162,1$  und  $165,3^{\circ}$  (korr.).

Von den aufgeführten Möglichkeiten der Identifizierung der Atropinbase durch Herstellung eines Derivates erweist sich die Herstellung des Aureates am geeignetsten, da die Schmelzbereiche von Atropinaureat und Hyoscyaminaureat einen Unterschied von nahezu  $30^{\circ}$  aufweisen und die Substanzen ohne Zersetzung schmelzen.

In Anbetracht, dass Goldchlorid als Reagens in der Ph. Helv. V nicht aufgeführt ist, und wir in der Regel mit den Ph. Helv. V-Reagenzien auskommen möchten, schlagen wir vor, das Pikrat herstellen zu lassen. Dieses Derivat weist einen Schmelzbereich ohne Zersetzung auf, welcher von demjenigen des Hyoscyaminpikrates um  $10^{\circ}$  abweicht.

Um festzustellen, ob die Schmelzbereiche der Derivate auch ein Charakteristikum für die Reinheitsprüfung darstellen, wurden der reinen Atropinbase  $10\%$  Hyoscyaminbase zugemischt und mit diesem verunreinigten Atropin wurde das Aureat und das Pikrat hergestellt. Der Schmelzbereich des Aureates erlitt keine Veränderung, derjenige des Pikrates betrug uncorr.  $171 - 173^{\circ}$  (Pikrat der reinen Atropinbase  $171,5 - 173,5^{\circ}$ ). Wie hieraus ersichtlich ist, müssen erhebliche Mengen Hyoscyamin zugegen sein um eine wesentliche Änderung der Schmelzbereiche zu bewirken und die Herstellung eines Derivates kann somit nur als Identitätsnachweis gewertet werden.

#### Papierchromatographische Prüfung:

Ueber die bisherigen papierchromatographischen Untersuchungen der Solanaceenalkaloide orientierten wir uns bei Schumacher (29), wo eine sehr umfangreiche Zusammenstellung der auf diesem Gebiet erschienenen Arbeiten gegeben wird. Die eigenen Untersuchungen erfolgten nach dem von Schumacher (29) angegebenen Chromatographieverfahren A, welches eine Auftrennung der Solanaceenalkaloide gestattet ohne das razemische Atropin in seine optischen

Antipoden zu zerlegen. Wir wählten dieses Verfahren, welches ohne eine optisch aktive Säure auskommt, weil uns für die Reinheitsprüfung eine Auftrennung von Atropin in d- und l-Hyoscyamin als nicht notwendig erschien. Aus einem nach dem Chromatographierverfahren C hergestellten Chromatogramm, welches neben genannter Auftrennung gleichzeitig auch die Auftrennung der übrigen Alkaloide gestatten würde, wäre nicht ersichtlich, ob das aufgetragene Atropin unzulässiges Hyoscyamin enthalten würde, da das aus dem Atropin stammende Hyoscyamin und das als Verunreinigung anwesende Hyoscyamin den gleichen Rf-Wert aufweisen würde. Die Auftrennung des razemischen Atropins hätte nur als Identitätsprüfung Bedeutung. Die Identität scheint uns aber durch die Kombination anderer Prüfungen (Schmelzbereich der Base, Abwesenheit einer optischen Drehung, Rf-Wert von ca. 0,20 beim Chromatographierverfahren A) eindeutig festgelegt.

Zur Chromatographie gelangten jeweils 500 µg Atropinbase, welche wir in Chloroform lösten. Die Lösung wurde Punkt um Punkt streifenförmig auf der Startlinie aufgetragen. Die Papierstreifen wurden mindestens acht Stunden lang klimatisiert. Im übrigen hielten wir uns genau an die von Schumacher angegebene Vorschrift, welche wir im Artikelvorschlag formulieren.

Sämtliche unserer fünf Muster erwiesen sich als reine Substanzen, das heisst, ihre Chromatogramme wiesen nur einen einzigen Farbleck vom Rf-Wert ca. 0,20 auf. Wir chromatographierten Atropin, Scopolamin, Apotropin, Tropin sowie Mischungen genannter Substanzen. Die Rf-Werte betragen im Mittel für Atropin 0,20 ; für Tropin 0,03; für Scopolamin 0,55 ; für Apotropin 0,68.

Die Empfindlichkeit des Nachweises überprüften wir, indem wir Mischungen gleicher Teile der Nebenalkaloide herstellten und der reinen Atropinbase in wechselnden Mengen zusetzten. Dann chromatographierten wir je 500 µg dieser "verunreinigten" Atropinbase, welche 2,5 µg, 5 µg, 7,5 µg und 10 µg eines einzelnen Nebenalkaloides enthielten. Die Entwicklung erfolgte durch Besprühen mit Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie (siehe Reagenzienliste p. 41). Es zeigte sich, dass kleine Mengen von 5 µg noch gut nachweisbar sind und ohne weiteres von der relativ grossen Menge (500 µg) abgetrennt werden können. Es kann also mit dieser Methode noch ca. 1 % eines Nebenalkaloides erfasst werden.

Wir schlagen vor, die papierchromatographische Prüfung nach Schumacher (29) in den Pharmakopöetext aufzunehmen und damit maximal 1 % verunreinigende Nebenalkaloide zuzulassen.

### Reinheitsprüfungen

#### a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfung

Schmelzbereich: Das Schmelzintervall 113,5 - 115<sup>0</sup> (unkorr.) wird bereits in Artikel Atropinum sulfuricum von der Ph. Helv. V. für die freigesetzte Atropinbase gefordert. Die Mehrzahl der Monographien toleriert ein Intervall von 2<sup>0</sup>.

Die Monographien fordern folgende Schmelzintervalle:

Ph. Int. 1955	114 - 118 <sup>0</sup> (korr.)
Brit. Ph. 1958	114 - 116 <sup>0</sup> (korr.)
USP XIV	114 - 116 <sup>0</sup> (korr.)
Codex Gall. 1949	115 - 116 <sup>0</sup>
F. Espan. 1930	ca. 115,8 <sup>0</sup>

Die mit unseren Mustern erhaltenen Schmelzbereiche (Mittelwert aus 3-4 Bestimmungen) betragen:

<u>Muster</u>	<u>Schmelzbereich</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	113,5 - 115 <sup>0</sup>	114,6 - 116,2 <sup>0</sup>
II	113,5 - 115 <sup>0</sup>	114,6 - 116,2 <sup>0</sup>
III	113,5 - 114,5 <sup>0</sup>	114,6 - 115,7 <sup>0</sup>
IV	113 - 114,5 <sup>0</sup>	114,1 - 115,7 <sup>0</sup>
V	113 - 114 <sup>0</sup>	114,1 - 115,2 <sup>0</sup>

Die Forderung muss streng sein, da die Schmelzbereiche von Atropinbase und Hyoscyaminbase sehr nahe beieinanderliegen. (Für die aus Hyoscyaminum sulfuricum freigesetzte Base fordert Ph. Helv. V einen Schmelzbereich von 104 - 107<sup>0</sup>).

Um festzustellen, wieweit die Bestimmung des Schmelzbereiches als Reinheitsprüfung in Betracht gezogen werden kann, wurden der reinen Atropinbase wechselnde Mengen Hyoscyaminbase zugemischt. Wir erhielten die folgenden Schmelzintervalle:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
2 %	112,5 - 114,5 <sup>0</sup>	113,6 - 115,7 <sup>0</sup>
5 %	112,5 - 114,5 <sup>0</sup>	113,6 - 115,7 <sup>0</sup>
10 %	112,0 - 114,0 <sup>0</sup>	113,1 - 115,2 <sup>0</sup>
50 %	104,0 - 113,0 <sup>0</sup>	104,8 - 114,1 <sup>0</sup>

Es ist ersichtlich, dass schon geringe Beimengungen von Hyoscyaminbase eine Depression und eine Vergrösserung des Schmelzintervalles bewirken. Somit kommt der Bestimmung des Schmelzbereiches als Reinheitsprüfung grosse Bedeutung zu, weil Hyoscyamin die wahrscheinlichste Verunreinigung von Atropin darstellt (nicht völlig razemisierte Produkte).

Wir glauben uns der strengen Forderung der Ph. Helv. V anschliessen zu können, und ein Schmelzintervall von 113,5 - 115,0 (unkorr.) bzw. 114,6 - 116,2 (korr.) vorzuschreiben, obwohl zwei Muster diese Forderung nicht erfüllten. Die genannten Muster befriedigten jedoch auch in anderer Hinsicht nicht völlig.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Bei der Herstellung der Lösung, welche zur Bestimmung der optischen Drehung dient, wird auf weingeistunlösliche und färbende Verunreinigungen geprüft. 2,0 g Atropinbase müssen sich in 10 ml Aethanol 94 % klar und farblos völlig lösen. Drei der untersuchten Muster erfüllten diese Forderung. Ein Muster löste sich mit gelblicher Farbe, ein anderes wies ungenügende Löslichkeit auf.

Reaktion der wässrigen Lösung: In keiner der Pharmakopöen, in denen Atropinbase aufgeführt ist, findet sich eine genaue Angabe des pH-Wertes. USP XIV, Brit-Ph. 1958 und Ph. Int. 1955 begnügen sich mit der Forderung, dass eine gesättigte wässrige Lösung alkalisch gegenüber Phenolphthalein reagieren soll. Codex Gall. 1949 bezeichnet die Atropinbase als starke Base, welche Säuren neutralisiert und Lackmus bläut. Nach Merck Index 6<sup>th</sup> Ed. (59) soll der pH-Wert einer 0,0015 m Lösung 10,0 betragen. Wir erhielten elektrometrisch bestimmt für eine 0,2 %ige ca. 0,007 m wässrige Lösung einen pH-Wert von 10,45 und in einer heissgesättigten wässrigen Lösung betrug der pH-Wert 10,70.

Die heissgesättigte Lösung erhielten wir durch Schütteln von 0,3 g Atropinbase mit 9 ml siedend heissem Wasser während genau einer Minute und Abfiltrieren des ungelösten Rückstandes nach dem völligen Erkalten. Diese Lösung bezeich-

nen wir als Stammlösung S I, die noch für weitere Reinheitsprüfungen dient. Von einem Substanzmuster stellten wir drei solche Lösungen her und erhielten elektrometrisch bestimmt folgende pH-Werte: 10,70; 10,73; 10,75;. Damit ist der Beweis erbracht, dass nach dieser Vorschrift hergestellte Lösungen des gleichen Substanzmusters praktisch konstante pH-Werte aufweisen. Da die starke Alkalität der Atropinbase den Gebrauch der Farbtabelle der Ph. Helv. V, Suppl. III, verunmöglicht, zogen wir die pH-Vergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III, heran.

Die von uns ermittelten pH-Werte betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u> <u>potentiometrisch</u>	<u>pH-Wert</u> <u>pH-Vergleichslösungen</u>
I	10,72	10,60
II	10,70	10,50
III	10,65	10,50
IV	10,78	10,90
V	10,76	10,60

Auf Grund der erhaltenen Werte fordern wir, dass der pH-Wert der heiss-gesättigten Lösung zwischen 10,40 und 11,00 liegen muss.

Optische Drehung: Die Bestimmung der optischen Drehung ist im Falle der Atropinbase als Reinheitsprüfung von Bedeutung, weil gelegentlich nicht völlig razemerisierte Atropinbase im Handel angetroffen wird. Im weiteren ergänzt sie die mit allen Tropasäure-Alkaloiden erhaltene Vitali-Reaktion und erhält so den Charakter einer Identitätsprüfung.

Die Herstellung der Lösung erfolgt durch Lösen von ca. 2 g Atropinbase (genau gewogen) in 10 ml Aethanol 94 % und Ergänzung dieser Lösung im Messkölbchen auf 20 ml. Obschon diese Lösung optisch inaktiv sein soll, muss genau gewogen werden, weil die Lösung in der Folge auch zur Bestimmung des Verbrennungsrückstandes dienen soll.

Die Monographien, welche die optische Drehung bestimmen lassen (F. Espan, 1930 und Codex Gall. 7 verzichten auf diese wichtige Prüfung) tolerieren eine geringe Linksdrehung. USP XIV verwendet eine 5 %ige Lösung in 50 %igem Alkohol und schreibt vor, dass der Drehungswinkel dieser Lösung - 0,70 nicht über-

schreiten dürfe. Brit. Ph. 1958 führt die Bestimmung mit einer 10 %igen Lösung in 90 %igem Alkohol durch und gestattet ein Drehungsintervall von  $-0,7^{\circ}$  bis  $+0,7^{\circ}$ . Ph. Int. 1955 fordert, dass die optische Drehung einer 10 %igen Lösung in 60 %igem Alkohol bei  $20^{\circ}$  höchstens  $+0,1^{\circ}$  oder  $-0,1^{\circ}$  betragen dürfe. Nach Gadamer (28) beträgt die spezifische Drehung der Hyoscyaminbase in absolutem Alkohol  $-20,89^{\circ}$ . Der abgelesene Drehungswinkel für eine 10 %ige Lösung von reiner Hyoscyaminbase im 2 dm Rohr bestimmt beträgt somit  $-4,18^{\circ}$ .

Ein Drehungswinkel von  $-0,1^{\circ}$  entspricht einer Konzentration von 0,239 g Hyoscyaminbase in 100 ml Lösung. Weist daher eine 10 %ige Lösung von Atropinbase einen Drehungswinkel von  $-0,1^{\circ}$  auf, so enthält die Atropinbase 2,4 % Hyoscyamin. Rechnet man mit einer Genauigkeit der polarimetrischen Ablesung von  $0,1^{\circ}$ , so würde diesem Drehungswinkel also 2,4 % Hyoscyamin entsprechen. Der Erfassung einer kleineren unzulässigen Menge wird durch die Genauigkeit der polarimetrischen Bestimmung eine Grenze gesetzt.

Alle unsere Substanzmuster waren optisch inaktiv, der Durchschnittswert der Ablesungen betrug  $0,0^{\circ}$ . Wir führten unsere Bestimmungen mit dem Kreis-polarimeter  $0,01^{\circ}$  nach Zeiss durch, welches eine Genauigkeit von  $0,01^{\circ}$  gestattet. Da anzunehmen ist, dass nicht immer Polarimeter von so grosser Empfindlichkeit zur Verfügung stehen, wäre es angebracht, ein kleines Drehungsintervall zu gestatten, womit durch die Genauigkeit der Ablesung bedingte Abweichungen vom Nullpunkt nach links bzw. nach rechts noch zulässig wären. Die von der Ph. Helv. V vorgeschriebenen Polarimeter sollen mindestens Ablesungen von  $0,1^{\circ}$  gestatten, woraus wohl zu verstehen ist, dass kleinere Drehungen als unmessbar gelten.

Wir schlagen vor, die Forderung analog der Ph. Int. 1955 zu formulieren und vorzuschreiben, dass der Drehungswinkel der 10 %igen weingeistigen Lösung, bei  $20^{\circ}$  im 2 dm-Rohr bestimmt, höchstens  $+0,1^{\circ}$  oder  $-0,1^{\circ}$  betragen darf.

#### b) Chemische Reinheitsprüfung

##### Abwesenheit von Alkalimetallen und Kalzium:

"Einige Kristalle Atropinbase dürfen nach dem Verbrennen am Platindraht die nicht leuchtende Flamme höchstens rasch vorübergehend gelb, jedoch nicht ziegelrot und bei Betrachtung durch das Kobaltglas nicht rosa färben (Natrium Kalium, Kalzium)".

In unseren Mustern waren höchstens zulässige Spuren von Natrium zugegen. Diese Prüfung wird von keiner der Monographien angeführt. Wir sehen für den Artikel Atropinum basicum ebenfalls davon ab.

Abwesenheit von Chlorid, Sulfat und Schwermetallen: Diese Prüfungen wurden nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI in der Stammlösung vorgenommen. Da unsere Muster der Grenzreaktion a II entsprachen, wird die Forderung entsprechend formuliert.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen: Die Prüfung wurde mit 20 mg Atropinbase in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS vorgenommen und die Lösungen mit den Farbvergleichslösungen verglichen.

Unsere Muster zeigten die folgenden Färbungen:

<u>Muster:</u>	I	II	III	IV	V
sofort	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
5'	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
10'	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
20'	farblos	farblos	farblos	farblos	= G <sub>6</sub>
30'	farblos	farblos	farblos	= G <sub>6</sub>	= G <sub>6</sub>
5' Wasserbad	alle dotterblumengelb				
10' Wasserbad	alle dotterblumengelb (nicht intensiver gefärbt als nach 5' Wasserbad)				

Wir formulieren die Forderung für den Pharmakopöetext wie folgt:

"20 mg in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS gelöst, müssen noch nach 30 Minuten klar und farblos sein; beim nachfolgenden Erwärmen im siedenden Wasserbad tritt eine dotterblumengelbe Färbung auf".

Abwesenheit von konzentrierte Salpetersäure färbenden Stoffen: Ph. Helv. V schreibt eine Prüfung auf Morphin und Bruzin bei den meisten Alkaloiden vor, um Verwechslungen mit diesen stark wirkenden Substanzen zu vermeiden. Morphin färbt konzentrierte Salpetersäure orangerot, Bruzin blutrot. Im Artikel Atropinum sulfuricum wird diese Prüfung mit der Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen kombiniert und Farblosigkeit verlangt.

USP XIV lässt die Salpetersäure ebenfalls zu der Lösung der Alkaloidbase in konzentrierter Schwefelsäure fügen und gestattet eine geringe Gelbfärbung. Die anderen Monographien führen weder eine Prüfung mit konzentrierter Schwefelsäure noch mit konzentrierter Salpetersäure an.

Wir schlagen folgende Formulierung vor:

"20 mg in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS gelöst, müssen farblos sein (Morphin, Bruzin)".

#### Ammoniakprobe:

"25 mg werden mit Hilfe von 2 Tropfen verdünnter Salzsäure RS in 1 ml Wasser gelöst. Wird diese Lösung mit 6 Tropfen verdünntem Ammoniak RS versetzt, so muss sich die Lösung trüben; auf nachträglichen Zusatz von 2 ml Wasser muss die Trübung wieder verschwinden".

Eine ähnliche, sich auf in Wasser schwerlösliche Alkaloide, hauptsächlich Apoatropin und Belladonin, erstreckende Prüfung wird im Artikel Atropinum sulfuricum der Ph. Helv. V durchgeführt. Im Gegensatz zu Atropinsulfat muss die Base mit Salzsäure in Lösung gebracht werden. Andere Monographien führen ebenfalls Prüfungen mit Ammoniak auf Apoatropin aus.

Kaliumpermanganatprobe: Brit. Ph. 1958 macht von der Kaliumpermanganat reduzierenden Eigenschaft des Apoatropins Gebrauch. Nach der dort angegebenen Vorschrift werden 5 ml einer 1 %igen Lösung von Atropinbase in 0,2 N-Salzsäure mit 0,25 ml einer 0,1 N-Kaliumpermanganatlösung versetzt. Die Forderung lautet, dass die Farbe des Permanganates innerhalb 5' nicht ganz verschwunden sein darf.

Wir überprüften die Empfindlichkeit dieser Vorschrift, indem wir der zu untersuchenden Atropinbase Apoatropinbase in Konzentrationen von 1 %, 0,5 %, 0,25 %, 0,2 %, 0,1 % zufügten und feststellten, bei welcher Konzentration eine Aenderung der Kaliumpermanganatfärbung gerade noch wahrnehmbar ist. Als Vergleich diente die bei Verwendung von reiner Atropinbase während der vorgeschriebenen Zeit beständige Violett färbung. In den Apoatropinbase enthaltenen Lösungen konnten wir je nach Konzentration eine stärkere oder schwächere Aenderung von Violett nach Bräunlich beobachten. Die Grenzkonzentration, bei welcher eine Farbänderung gerade noch sichtbar war, betrug 0,2 % Apoatropin. Somit lassen sich also mit dieser Reaktion 0,2 % Apoatropin noch nachweisen,

eine Empfindlichkeit, welche sogar diejenige des papierchromatographischen Nachweises übertrifft.

Wir schlagen diese Prüfung neben der Ammoniakprobe vor und kommen zu folgender Formulierung:

"50 mg werden in 5 ml 0,2 N-Salzsäure gelöst und diese Lösung mit 0,25 ml 0,1 N-Kaliumpermanganat versetzt. Die Violettfärbung darf innerhalb 5 Minuten nicht völlig verschwunden sein".

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Feuchtigkeitsgehalt

Wir trockneten die Muster bei 103 - 105<sup>o</sup> und erreichten bereits nach einer Stunde Gewichtskonstanz. Die Bestimmung wurde mit 1 g ausgeführt.

Die Resultate (Mittelwert aus 3 Bestimmungen) sind die folgenden:

I	0,08 %
II	0,13 %
III	0,10 %
IV	0,08 %
V	0,36 %

Alle Monographien sehen von einer Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes ab. Wir schlagen vor, einen Feuchtigkeitsgehalt von höchstens 0,2 % zuzulassen. Wie ersichtlich ist, wurde diese Forderung von einem Muster nicht erfüllt. Dieses entsprach jedoch auch einigen anderen Forderungen nicht und muss als nicht konform bezeichnet werden.

#### b) Verbrennungsrückstand

Im Interesse der Substanzersparnis verwendeten wir 5 ml der zur Bestimmung der optischen Drehung benützten Lösung, entsprechend 0,5 g Atropinbase. Da sämtliche Muster einen unwägbaren Rückstand aufweisen, wird diese Forderung entsprechend formuliert. Die anderen Monographien gestatten als höchst zulässige Menge 0,1 %, was unserer Forderung entspricht.

### c) Gehaltsbestimmungen

Neben der alkalimetrischen Bestimmungsmethode kann Atropinbase nach den Angaben der Literatur auf verschiedene Arten bestimmt werden. Eine gravimetrische Methode als Silicowolframat hat Taigner (30) vorgeschlagen. Allport und Wilson (31) beschreiben eine kolorimetrische Methode, welche auf der quantitativen Auswertung der Farbreaktion nach Vitali beruht. Ein anderes Verfahren gibt Romeicke (32) an, welche Atropin mit Silicomolybdänsäure fällt und das nach Reduktion entstandene Molybdänblau photometrisch bestimmt. Weitere Methoden beruhen auf der gravimetrischen und titrimetrischen Erfassung über das Reineckat (9, 33) oder das Tetraphenylborat (11).

Keine der Pharmakopöen, ausser Brit. Ph. 1958, welche eine indirekte alkalimetrische Titration der Base vorschreibt und einen Gehalt von 99 bis 100 % fordert, lässt eine Gehaltsbestimmung ausführen.

#### 1. Indirekte Titration

"Ca. 0,2 g Atropinbase (genau gewogen) werden in 5 ml säurefreiem Aethanol 70 % gelöst. Dann werden 20 ml 0,1 N-Salzsäure zugefügt. Der Säureüberschuss wird unter Verwendung von 5 Tropfen Methylrot RS mit 0,1 N-Natronlauge bis zur Gelbfärbung zurücktitriert."

Die Base wird zuerst in Aethanol 70 % gelöst, da die Lösung in 0,1 N-Salzsäure sehr viel Zeit beansprucht.

<u>Resultate in %:</u>	<u>Muster</u>				
	I	II	III	IV	V
	99,84	99,73	99,75	99,60	98,85
	100,04	99,60	99,67	99,59	98,94
	99,79	99,78	100,12	99,72	98,65
	99,92	99,88	99,84	99,79	98,94
	100,04	99,91	99,96	99,49	98,73
Mittel	99,93	99,78	99,86	99,64	98,82

## 2. Direkte Titration

Muster I titrierten wir potentiometrisch und führten als Indikator entweder Methylrot RS oder Taschiro-Indikator RS mit, um festzustellen, welcher der beiden Indikatoren besser geeignet sei. Wir legten folgende Vorschrift zu Grunde:

"Ca. 0,3 g Atropinbase (genau gewogen) werden in 10 ml säurefreiem Aethanol 70 % gelöst und nach Zusatz von 3 Tropfen Methylrot RS bzw. 3 Tropfen Taschiro-Indikator RS mit 0,1 N-Salzsäure bis zum Farbumschlag in Rot bzw. in Rotviolett titriert (s. Abb. 2)."

Es ergaben sich die folgenden Resultate:

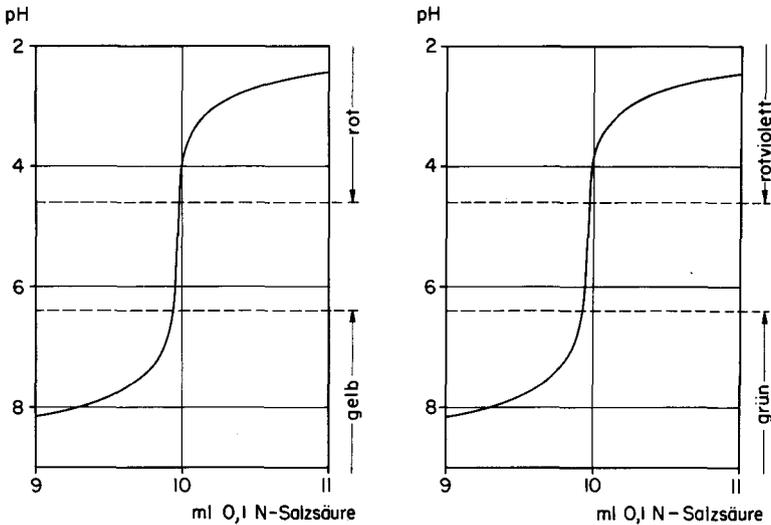
<u>Methylrot RS</u>		<u>Taschiro-Indikator RS</u>	
<u>visuell</u>	<u>potentiometrisch</u>	<u>visuell</u>	<u>potentiometrisch</u>
99,80 %	99,69 %	99,84 %	99,70 %
99,75 %	99,61 %	99,82 %	99,71 %
99,82 %	99,73 %	99,79 %	99,65 %
99,79 %	99,67 %	99,82 %	99,69 % Mittelwert

Die mit den verschiedenen Indikatoren erhaltenen Werte stimmen gut überein. Sie liegen etwas höher als die potentiometrisch ermittelten. Die direkte Titrationsmethode erweist sich ebenfalls als geeignet.

Im Interesse der Substanzerparnis wollten wir anfänglich die für die Bestimmung der optischen Drehung verwendete weingeistige Lösung für die Gehaltsbestimmung verwenden. Es resultierten jedoch bei allen Mustern Werte, die konstant um ca. 1 % zu tief lagen. Die Erklärung liegt darin, dass die Pipetten bezüglich der Auslaufgeschwindigkeit für wässrige Lösungen geeicht sind. Kolthoff (34) weist auf Nachfluss- und Benetzungsfehler beim Abpipettieren von Flüssigkeiten hin, welche eine wesentlich andere Oberflächenspannung und Viskosität als Wasser aufweisen.

Indem wir bei der Verwendung der weingeistigen Lösung die Auslaufzeiten von 5 sec. bis 40 sec. variierten, machten wir die Feststellung, dass bei Innehaltung einer Auslaufzeit der Pipetten von 40 sec. brauchbare Werte erhalten werden können.

In Anbetracht dieser Fehlerquellen ist es wohl zu empfehlen, von der Verwendung der zur optischen Drehung benützten Lösung für die Gehaltsbestimmung abzusehen und die Substanz für jede Titration neu einzuwägen.



**Abb. 2** Titrationskurve von Atropinbase

Einwaage: 1 Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 11 ml 0,1 N-Salzsäure. Indikator: Methylrot RS oder Taschiro-Indikator RS

### 3. Bestimmungen über das Tetraphenylborat:

Wir führten diese Bestimmungen mit Muster I. aus.

α Gravimetrische Methode: Es handelt sich um die von Schultz und Mayer (33) vorgeschlagene Methode, die wir modifizierten und zu folgender Vorschrift gelangten:

"Ca. 0,05 g Atropinbase (genau gewogen) werden in einem Becherglas von 100 ml mit 10 Tropfen verdünnter Essigsäure RS in Lösung gebracht. Dann werden 50 ml Wasser und 3 Tropfen Aluminiumchlorid RS zugesetzt und die Mischung auf 70° erwärmt. Die heisse Lösung wird tropfenweise mit 2,6 ml Kalignost RS unter ständigem Umrühren mit einem Glasstab versetzt. Die Mischung wird 3 Stunden lang im Kühlschrank stehen gelassen. Der Niederschlag wird durch Porzellanfiltertiegel A<sub>2</sub> filtriert, mit 25 ml 0,2 %iger kalter Essigsäure in 4 - 5 Anteilen gewaschen und bei 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet."

$$p \cdot f = \text{Atropinbase}$$

p = Gewicht des Niederschlages in g

f = Proportionalitätsfaktor = 0,4747

Die Resultate waren die folgenden:

99,2 %; 99,8 %; 99,6 %; 99,6 %; 99,8 %; 99,4 % Mittelwert: 99,56 %

Diese Methode ist recht arbeitsreich und ergibt ziemlich streuende Werte.

### β Titrimetrische Methoden

1. Direkte Titration: Die Bestimmung erfolgte argentometrisch nach der von Schultz und Goerner (9) angegebenen allgemeinen Vorschrift, die wir für unseren speziellen Fall modifizierten.

"Ca. 0,1 g Atropinbase (genau gewogen) werden mit 12 Tropfen verdünnter Essigsäure RS in Lösung gebracht, 50 ml Wasser und 3 Tropfen Aluminiumchlorid RS zugefügt. Das Lösungsgemisch wird auf 70° erwärmt und bei dieser Temperatur 5,2 ml Kalignost RS unter ständigem Umrühren zugetropft. Das Fällungsgemisch wird 3 Stunden lang in den Kühlschrank gestellt, dann abfiltriert und mit 30 ml 0,2 %iger eisgekühlter Essigsäure unter Nachspülen des Fällungsgefäßes gewaschen. Der Niederschlag wird mit dem Filter in das Fällungsgefäß gebracht und in 15 ml Azeton gelöst. Nach Zusatz von 5 ml 2 N-Essigsäure, 1 ml 0,1 N-Kaliumbromid und 2 Tropfen einer 1 %igen Eosin-Lösung wird mit 0,1 N-Silbernitrat bis zum Farbumschlag nach Rot titriert. Von den verbrauchten ml 0,1 N-Silbernitrat ist die Anzahl ml abzuziehen, die durch das zugesetzte Kaliumbromid verbraucht werden. Der Titer der 0,1 N-Kaliumbromid ist vorher zu bestimmen".

1 ml 0,1 N-Silbernitrat entspricht 0,02894 g Atropinbase.

Die gefundenen Werte (94,8 %; 96,6 %; 94,8 %; 94,5 %; 95,9 %) sind bis zu einem gewissen Grade konstant, liegen aber viel zu tief. Da die Fällung des Atropintetraphenylborates gleich erfolgt wie bei der gravimetrischen Bestimmung, und letztere bessere Resultate liefert, muss der Fehler in der titrimetrischen Methode liegen. Der Umschlag des Indikators ist scharf. Der Verbrauch an Silbernitrat der erforderlichen Reagenzien (Azeton, Essigsäure, Kaliumbromid) wurde in Blindversuchen ermittelt und in Abzug gebracht.

2. Indirekte Titration: Als zweite titrimetrische Methode wurde die von Ruedorff und Zannier (35) vorgeschlagene indirekte Titration nach Volhard ausgeführt. Dabei wurde analog der Vorschrift von Aklin (3) verfahren, welcher Morphin und verschiedene Derivate mit Erfolg bestimmte.

"Fällen und Waschen des Niederschlages erfolgte gleich wie bei der gravimetrischen Bestimmung. Der Niederschlag wurde in 25 ml Azeton in einem Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen gelöst und der Lösung 5 ml 0,025 N-Silbernitrat zugesetzt. Man beobachtete sofort einen weissen Niederschlag von Silbertetraphenylborat. Nach 1 - 2 Minuten wurden der Mischung 15 ml dest. Wasser, 5 ml Aether, 4 ml Eisenammoniumalaun RS zugefügt. Der Erlenmeyerkolben wurde sodann verschlossen und energisch geschüttelt. Der Niederschlag des Silbersalzes reichert sich in der Aetherphase an, die unterstehende Flüssigkeit ist zitronengelb und fast klar. Das nicht verbrauchte Silbernitrat wurde mit 0,025 N-Ammoniumrhodanid zurücktitriert. Gegen Ende der Titration muss man den Niederschlag ganz absetzen lassen, um zu verhindern, dass der Farbstoff von den Teilchen des Niederschlages adsorbiert wird. Der Umschlag gegen Gelborange zeigt den Endpunkt der Titration an."

Es wurden eine Reihe von Titrationsen ausgeführt, der Umschlag war nie mit genügender Deutlichkeit wahrnehmbar. Infolge Uebertitration resultierten keine konstanten Werte, welche, da es sich um eine indirekte Methode handelt, viel zu tief lagen. Die Methode ist wegen des sehr fraglichen Umschlagspunktes von Zitronengelb nach Gelborange nicht geeignet.

#### 4. Bestimmung über das Reineckat

##### A. Gravimetrische Methode:

"Ca. 60 mg getrocknete Atropinbase (genau gewogen) werden in 20 ml 0,1 N-Salzsäure gelöst und mit 30 ml Wasser versetzt. Durch Zusatz einer Mischung von 10 ml frisch vorbereitetem und filtriertem Ammoniumreineckat RS + 40 ml Wasser wird das Alkaloid gefällt. Das Fällungsgemisch wird ca. 2 Stunden lang im Eisschrank belassen, der Niederschlag hierauf durch Porzellanfiltriertiegel A<sub>2</sub> filtriert und mit 20 - 30 ml Eiswasser in 4 Anteilen unter Nachspülen des Fällungsgefässes gewaschen. Dann wird bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, welche in ca. 1 Stunde erreicht ist."

Die mit dieser Vorschrift erhaltenen Resultate sind in Tabelle 1 festgehalten.

Bei der gravimetrischen Bestimmung ergaben sich konstante Werte, die aber 3 - 4 % zu tief liegen. Es zeigte sich, dass die Menge des verwendeten Waschwassers von Einfluss ist. Die Trocknungstemperatur von 100° ist in der Literatur (37) angegeben, vielleicht wäre aber auch im Falle der Reineckate eine Temperatur von 80° eher angezeigt.

Tabelle 1 Resultate der gravimetrischen Bestimmung von Atropinbase mit Ammoniumreineckat RS

Atropinbase vorgelegt mg	Atropinreineckat gefunden mg	Waschwasser ml	Atropinbase gefunden mg	Gehalt Alkaloidbase %
62,2	125,0	30	59,4	95,5
61,4	123,8	30	58,8	95,8
61,8	125,3	20	59,6	96,4
60,1	121,8	20	57,8	96,3
97,0	199,0	20	94,6	97,5
91,1	184,0	20	87,5	96,0

β Titrimetrische Methode: Die titrimetrische Auswertung der Methode besteht darin, dass der Reineckat-Niederschlag durch Alkalien zersetzt und der Rhodananteil argentometrisch durch indirekte Titration nach Volhard erfasst wird. Vogt (11) gibt folgende Vorschrift an:

"6 mg Atropinsulfat werden in 2 ml 0,1 N-Salzsäure gelöst und 3 ml Wasser zugefügt. Durch Zusatz von 1 ml frisch bereitetem filtriertem Ammoniumreineckat RS + 4 ml Wasser wird das Alkaloid gefällt, nach halbstündigem Stehen in Eis abgesaugt und mit 20 ml Eiswasser gewaschen. Der Niederschlag wird mit 2,5 ml Azeton in einen Erlenmeyerkolben gebracht, Filter und Trichter mit 40 ml Wasser nachgespült, und das Ganze nach Zusatz von 1 ml Fehling II-Reagens bei aufgesetztem Trichter 10 Minuten lang auf dem Drahtnetz zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit 20 ml verd. Salpetersäure RS angesäuert, mit 5 ml 0,1 N-Silbernitrat versetzt, und der Ueberschuss mit 0,1 N-Ammoniumrhodanid zurückgemessen. Als Indikator dient Eisenammoniumalaun RS."

Wir legten 60 mg Atropinbase vor und wendeten die zehnfache Menge der in obiger Vorschrift angegebenen Reagenzien an, da die Reineckate nur in stark verdünnten Lösungen quantitativ ausfallen. Das Waschwasser hingegen schien mit 100 ml reichlich bemessen zu sein, ebenso wurden zum Nachspülen von Filter und Trichter nur 100 ml Wasser verwendet. Das Fällungsgemisch wurde anstatt nur 1/2 Stunde 2 Stunden lang im Kühlschrank belassen, um eine vollständige Fällung sicherzustellen. Vorgelegt wurden 20,0 ml 0,1 N-Silbernitrat. Da 1 ml 0,1 N-Silbernitrat = 7,23 mg Atropinbase entspricht, verbrauchen 60 mg Atropinbase

8,29 ml 0,1 N-Silbernitrat. Zur Rücktitration sind daher über 11 ml 0,1 N-Ammoniumrhodanid notwendig. Die Menge des zugesetzten Eisenammoniumalaun betrug 10 ml, die zu titrierende Flüssigkeit betrug über 300 ml.

Die mit dieser modifizierten Vorschrift erhaltenen Resultate sind aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2 Resultate der indirekten Titration von Atropinreineckat nach Volhard

Atropinbase vorgelegt mg	Atropinbase gefunden mg	0,1 N-AgNO <sub>3</sub> ml	Waschwasser ml	Gehalt Atropinbase %
60,2	54,9	7,6	100	91,3
61,5	56,4	7,8	100	91,5
65,3	60,7	8,4	50	93,0
63,2	59,3	8,2	50	93,8
61,4	57,8	8,0	30	94,2
65,8	62,2	8,6	30	94,5

Die Werte liegen viel zu tief. Da bei Verwendung von weniger Waschwasser höhere Werte erhalten wurden, folgt, dass der Reineckat-Niederschlag doch etwas wasserlöslich ist. Die Menge des Waschwassers muss so gering als möglich gehalten werden.

Ferner ist der Umschlagspunkt infolge Adsorption des Indikators an den Niederschlag nicht sehr scharf, so dass leicht übertitriert wird. Da es sich um eine indirekte Titration handelt, erhält man dann zu tiefe Werte.

In der Literatur sind Minusfehler bis zu 4 % angegeben (36).

5. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig: Für die potentiometrischen Kontrollbestimmungen lösten wir 0,2894 g (= 1 Millimol) getrocknete Atropinbase in 50 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS zu und titrierten mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig. Zuerst ermittelten wir den Umschlagspunkt, indem wir die Farbe des Indikators beim grössten Potentialsprung beobachteten. Der Farbumschlag erfolgt von Reinblau nach Grünstichigblau. Aus Abb. 3 ist die Titrationskurve, sowie die Farbänderung

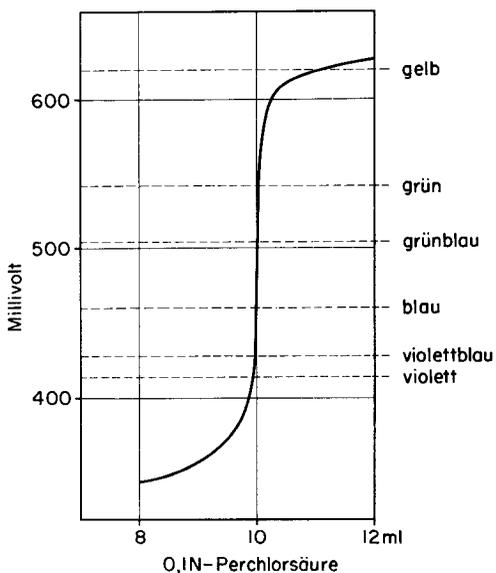
des Indikators im Bereiche des Umschlagspunktes nach Zusatz jeweils gleicher Volumenteile der Titrierflüssigkeit ersichtlich.

Für die visuelle Titration lösten wir ca. 0,3 g getrocknete Atropinbase (genau gewogen) in 50 ml wasserfreiem Eisessig und titrierten unter Verwendung von 3 Tropfen Kristallviolett RS mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum ersten Farbumschlag nach Grünstichigblau.

1 ml 0,1 N-Perchlorsäure entspricht 28,94 mg  $C_{17}H_{23}O_3N$

Es ergaben sich folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,1 N-Perchlorsäure</u>			
	visuell		potentiometrisch	
I	100,02 %	99,91 %	99,80 %	99,97 %
II	99,45 %	99,59 %	99,68 %	99,52 %
III	99,93 %	99,70 %	99,67 %	99,94 %
IV	99,29 %	99,12 %	99,43 %	99,08 %
V	98,54 %	98,71 %	98,61 %	98,78 %



**Abb. 3** Titrationskurve von Atropinbase

Einwaage: 1 Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 12 ml 0,1 N-Perchlorwäure. Indikator: Kristallviolett RS.

6. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Mit ca. 0,3 g getrockneter Atropinbase (genau gewogen) wurde der Stickstoffgehalt nach der im allgemeinen Teil beschriebenen Methode bestimmt. Nach dem Klar- und Farbloswerden des Reaktionsgemisches wurde noch ca. 30 Minuten zum Sieden erhitzt.

Wir ermittelten folgende Resultate:

<u>Handelmuster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	99,15 %	99,32 %
II	99,08 %	99,21 %
III	99,10 %	99,28 %
IV	98,75 %	98,82 %
V	98,45 %	98,23 %

Zur Gehaltsbestimmung von Atropinbase möchten wir die alkalimetrische Titration vorschlagen. Diese Bestimmungsmethode liefert sehr gute Werte und erfordert wenig Aufwand an Zeit.

#### Vorschläge zur Dosierung

Maximaldosen und Gebrauchsdosen bringen wir analog Atropinsulfat (s. Seite 84) in Vorschlag.

Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV	V
<u>Sinnenprüfung</u>					
Farbe	rein weiss	rein weiss	rein weiss	rein weiss	rein weiss
Geruch	-	-	-	-	-
<u>Identitätsprüfung</u>					
Vitali-Reaktion	+	+	+	+	+
Pikrat-Schmelzpunkt					
unkorr.	171,8 - 173,0°	172,3 - 173,5°	172,5 - 173,5°	171,7 - 173,2°	172 - 173,5°
korr.	175,6 - 176,8°	176,1 - 177,3°	176,3 - 177,3°	175,5 - 177,1°	175,8 - 177,3°
Papierchromatographische Prüfung	=	=	=	=	=
<u>Reinheitsprüfungen</u>					
Schmelzpunkt					
unkorr.	113,5 - 115°	113,5 - 115°	113,5 - 114,5°	113 - 114,5°	113 - 114°
korr.	114,6 - 116,2°	114,6 - 116,2°	114,6 - 115,7°	114,1 - 115,7°	114,1 - 115,2°
Löslichkeit	klar und farblos	klar und farblos	klar und farblos	klar, leicht gelblich	etwas trübe, leicht gelblich
Reaktion der heissgesättigten Lösung, potentiometrisch	10,72	10,70	10,65	10,78	10,76
pH-Vergleichslösungen	10,60	10,50	10,50	10,90	10,60
Drehungswinkel	-	-	-	-	-
Papierchromatographische Prüfung	-	-	-	-	-
Schwermetalle	-	-	-	-	-
Chlorid	-	-	-	-	-
Sulfat	-	-	-	-	-
konz. Schwefelsäure färbende Stoffe					
sofort	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
20' Zimmertemperatur	farblos	farblos	farblos	farblos	= G <sub>6</sub>
30' Zimmertemperatur	farblos	farblos	farblos	G <sub>6</sub>	= G <sub>6</sub>
5' Wasserbad			alle dotterblumengelb		
konz. Salpetersäure färbende Stoffe	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
Ammoniakprobe	-	-	-	-	-
Kaliumpermanganatprobe	-	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>					
Feuchtigkeit	0,08 %	0,13 %	0,10 %	0,08 %	0,36 %
Verbrennungsrückstand	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar
Gehalt					
alkalimetr. Titration	99,93 %	99,78 %	99,86 %	99,64 %	98,82 %
Perchlorsäure-Titration					
visuell	99,97 %	99,52 %	99,82 %	99,21 %	98,63 %
potentiometrisch	99,89 %	99,60 %	99,81 %	99,26 %	98,70 %
Stickstoff nach Kjeldahl	99,24 %	99,15 %	99,19 %	98,79 %	98,34 %

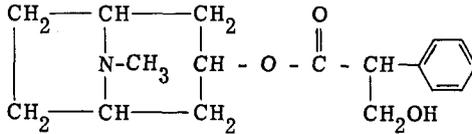
Atropinum basicum

Syn.: dl-Hyoscyaminum basicum

Atropin

Atropine

Atropina



$C_{17}H_{23}O_3N$

Mol.-Gew. 289,4

dl-Tropasäure-tropinester mit einem Gehalt von mindestens 99,2

(99,2-100,2) %  $C_{17}H_{23}O_3N$

Prüfung

Stammlösung S I: 0,3 g Substanz werden mit 9 ml siedend heissem Wasser in einem Reagenzglas mit Glasstopfen während einer Minute kräftig gestüttelt. Das nach dem Erkalten erhaltene Filtrat dient als S I für die Prüfungen 5, 10, 11 und 12.

Stammlösung S II: Ca. 2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 10 ml Aethanol 94 % gelöst. Diese Lösung muss klar und farblos sein und dient nach dem Verdünnen mit Aethanol 94 % auf 20 ml in einem Messkolben als S II für die Prüfungen 4 und 14.

1. Sinnesprüfung: Farblose, meist nadelförmige Kristalle oder weisses, kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch.

2. Nachweis der Atropinbase: a) Versetzt man etwas Substanz in einem Porzellanschälchen mit 5 Tropfen konzentrierter Salpetersäure RS und verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne, so bleibt ein Rückstand, der nach dem Erkalten auf Zusatz von 5 Tropfen weingeistiger Kalilauge eine violette Färbung zeigt.

b) 25 mg werden in der Mischung von 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS und 5 ml Wasser gelöst. Dann werden tropfenweise 2 ml Pikrinsäure RS zugesetzt. Der entstandene ölige Niederschlag wird durch leichtes Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Das nach dem Erkalten auskristallisierte Pikrat wird abgenutscht, mit 5 ml Wasser gewaschen und bei 103 - 105° getrocknet. Der Schmelzbereich muss zwischen 175,5 und 177,5 (korr.) liegen.

3. Schmelzbereich: 114,6 - 116,2 (korr.).

4. Optische Drehung: Höchstens  $+ 0,1^{\circ}$  oder höchstens  $- 0,1^{\circ}$ , bestimmt mit einer 10 %igen Lösung in Aethanol 94 % im 2 dm-Rohr.

5. Reaktion: pH von S I = 10,50 - 10,90, bestimmt mit pH-Vergleichslösungen.

6. Schwefelsäureprobe: 20 mg in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS müssen noch nach 30 Minuten klar und farblos sein; beim nachfolgenden Erwärmen im siedenden Wasserbad tritt eine dotterblumengelbe Färbung auf.

7. Morphin, Bruzin: 20 mg gelöst in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS müssen farblos sein.

8. Apoptropin, Belladonin: 25 mg werden mit Hilfe von 2 Tropfen verdünnter Salzsäure RS in 1 ml Wasser gelöst. Wird diese Lösung mit 6 Tropfen verdünntem Ammoniak RS versetzt, so muss sich die Lösung trüben; auf nachträglichen Zusatz von 2 ml Wasser muss die Trübung wieder verschwinden.

9. Apoptropin: 50 mg werden in 5 ml 0,2 N-Salzsäure gelöst und diese Lösung mit 0,25 ml 0,1 N-Kaliumpermanganat versetzt. Die Violett-färbung darf innerhalb 5 Minuten nicht völlig verschwunden sein.

10. Chlorid: 2 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

11. Sulfat: 2 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

12. Schwermetalle: 2 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

13. Feuchtigkeitsgehalt: Höchstens 0,2 %, bestimmt mit 1 g durch Trocknen bei  $103 - 105^{\circ}$  während 2 Stunden.

14. Verbrennungsrückstand: Unwägbar, bestimmt mit 5 ml S II nach dem Verdampfen des Lösungsmittels.

15. Papierchromatographie: Chromatographierpapier Whatman 1 wird in Streifen von 8 cm Breite und 46 cm Länge geschnitten, so dass die Längsseite quer zur Faserrichtung verläuft. Der Papierstreifen wird auf pH 6,6 gepuffert durch Eintauchen in eine Mischung von 72,2 ml einer 0,1 m primären Kaliumphosphatlösung und 27,8 ml einer 0,05 m Boraxlösung. Hierauf wird das Papier zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht abgepresst und 14 Stunden lang bei Zimmertemperatur zum Trocknen aufgehängt.

Die Wände des zur absteigenden Papierchromatographie bestimmten Glasgefäßes werden mit nassem Filtrierpapier ausgekleidet, welches in das den Boden 1 - 2 cm hoch bedeckende Wasser eintauchen soll. In die am Boden des Glasgefäßes befindliche Kristallisierschale wird eine Mischung von 100 ml Isobutanol und 100 ml Toluol gebracht. Die so vorbereitete Wanne wird zur Sättigung des Innenraumes mindestens 48 Stunden lang bedeckt stehen gelassen.

In einen Scheidetrichter von 500 ml Inhalt werden 100 ml Isobutanol, 100ml

Toluol und 100 ml Wasser gebracht. Das Gemisch wird zur Sättigung der organischen Phase mit Wasser wiederholt kräftig geschüttelt.

Auf der Startlinie des vorbehandelten Papiers, welche einen Abstand von ca. 8 cm vom oberen Rand aufweisen soll, werden ca. 3 cm von den seitlichen Rändern entfernt 2 Punkte, a und b, markiert, deren Abstand voneinander ca. 3 cm betragen soll.

0,05 g Substanz werden in 2 ml Chloroform gelöst. 0,02 ml dieser Lösung (entsprechend 500 µg) werden mittels einer Pipette streifenförmig, möglichst gleichmässig zwischen den Punkten a und b aufgetragen.

Der Papierstreifen wird hierauf in das Glasgefäss gehängt und mindestens 8 Stunden lang klimatisiert. Nach dieser Vorhängezeit wird das mit Wasser gesättigte Isobutanol-Toluol-Gemisch, welches die mobile Phase darstellt, aus dem Scheidetrichter in die Küvette gegossen, so dass die Schichthöhe ca. 15 mm beträgt.

Es wird absteigend chromatographiert, bis die Frontlinie der mobilen Phase ca. 30 cm über die Startlinie hinaus vorgedrungen ist. Hierauf wird der Papierstreifen sorgfältig herausgenommen, mit Bleistift die Frontlinie eingezeichnet und ca. 5 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet.

Der noch halbfeuchte Papierstreifen wird nun mittels eines Zerstäubers mit ca. 4 ml Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie gleichmässig besprüht.

Das Chromatogramm darf nur einen Farbfleck vom Rf-Wert 0,17 - 0,23 aufweisen. Weitere Farbflecken von kleineren Rf-Werten (Tropin) und grösseren Rf-Werten (Scopolamin, Apotropin) müssen fehlen.

16. Gehalt: Ca. 0,3 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 10 ml Aethanol 70 % gelöst und unter Verwendung von 3 Tropfen Taschiro-Indikator RS mit 0,1 N-Salzsäure bis zum Farbumschlag von Grün nach Rotviolett titriert.

1 ml 0,1 N-Salzsäure entspricht 28,94 mg  $C_{17}H_{23}O_3N$

Aufbewahrung: In gut verschlossenem Behälter, vor Licht geschützt.

Antimikrobielle Behandlung: Oelige Lösungen werden nach dem Aseptischen Verfahren bereitet unter Verwendung von sterilem Oel.

Maximaldosen:

Dosis maxima simplex 0,001 g  
Dosis maxima pro die 0,003 g

#### Venenum

Gebrauchsdosen (Vorschlag): Einzeldosis 0,0003 g  
Tagesdosis 0,0012 g

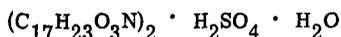
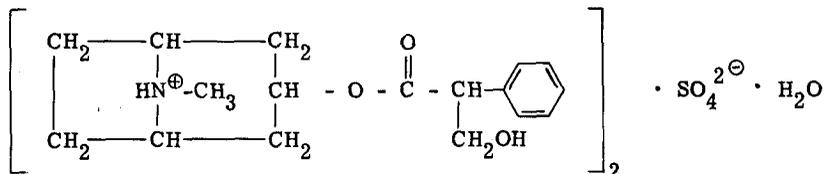
Löslichkeit: 1 T. löst sich in 600 T. Wasser, 3 T. Aethanol 94 %, 30 T. Glycerin, 25 T. Aether, 2 T. Chloroform; wenig löslich in fetten Oelen; die Löslichkeit in Paraffinöl kann erhöht werden, wenn die zu lösende Base mit der 25-fachen Menge Oelsäure angerieben wird.

Veränderlichkeit: Einfluss von Feuchtigkeit bewirkt allmähliche Verseifung in Tropin und Tropasäure.

Inkompatibilitäten: Alkalien und andere alkalisch reagierende Stoffe (Verseifung), Jod, Gerbsäure und gerbstoffhaltige Zubereitungen (Fällung).

### 3.3.2. Atropinium sulfuricum

Syn.: Atropini sulfas.



Mol.-Gew.: 695

Atropinum sulfuricum	Ph. Helv. V, Aug. 1953 p. 172 Ph. Belg. IV, p. 102, DAB 6, p. 81
Atropini sulfas	Ph. Dan. IX, Vol. II, p. 137, Svenska F., XI, p. 104, Ph. Int. Vol. I, p. 44
Sulfate D'Atropine	Codex Gall. 7, p. 79
Atropine Sulphate	Brit. Ph. 1958, p. 64
Atropine Sulfate	USP XV, p. 72
Sulfas Atropini	Nederl. Ph. V, Neudruck 1951, p. 472

Für die Darstellung, die möglichen Verunreinigungen (wobei Sulfat als Säurekomponente anwesend sein darf), die Identitäts- und Reinheitsprüfungen gelten die für Atropinum basicum gemachten Angaben sinngemäss. Es werden nur die abweichenden Daten beschrieben.

#### Darstellung

Die Darstellung erfolgt nach Chemnitius (38) durch Neutralisation einer Lösung der aus Aether umkristallisierten Base in absolutem Alkohol mit 50%iger alkoholischer Schwefelsäure, wobei die Kristallisation des Salzes durch vorsichtige Zugabe von Aether einsetzt.

Atropinsulfat kann auch erhalten werden durch tropfenweises Versetzen einer Lösung der Base in Aether mit der stöchiometrischen Menge Schwefelsäure in absolutem Alkohol, und Umkristallisation des abgeschiedenen Alkaloidsalzes durch Lösen in heissem absolutem Alkohol und Versetzen der Lösung mit Aze-ton bis zur beginnenden Trübung.

### Sinnenprüfung

Sämtliche Muster bestanden aus weissem, kristallinem Pulver von mehr oder weniger körniger Beschaffenheit und waren geruchlos. Von einer Geschmacksprobe haben wir in Anbetracht der starken Wirksamkeit der Substanz Abstand genommen. Die Mehrzahl der Monographien fordert ein weisses, kristallines, geruchloses Pulver oder farblose Kristalle. Nach Ph. Helv. V und Ph. Dan. IX kann das Pulver auch körnig sein. Die Formulierung der Ph. Helv. V wird der Beschaffenheit der geprüften Handelsmuster sehr gut gerecht, weshalb sie beibehalten werden kann.

### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Für die meisten Identitäts- und Reinheitsprüfungen verwendeten wir eine 10% ige Lösung (Herstellung vgl. unter Reinheitsprüfungen S. 77), welche ca. 0,14 m ist.

Nachweis der Atropinbase: Neben der auf Atropin unspezifischen Farbreaktion nach Vitali lassen die meisten Monographien die Base isolieren und deren Schmelzbereich bestimmen. Nederl. Ph. V identifiziert die Base auf Grund der Kristallform des Perjodides, während USP XV das Aureat herstellen und das Infrarot-Spektrum bestimmen lässt.

Als Identitätsprüfungen empfehlen wir die Farbreaktion nach Vitali und die Isolierung der Base in der Formulierung der Ph. Helv. V, sowie die Herstellung des Pikrates nach der im Artikel-Vorschlag (s. S. 86) angegebenen Vorschrift.

Für die aus Atropinsulfat freigesetzte Base finden sich in den Monographien folgende Schmelzintervalle:

Ph. Helv. V	113,5 - 115 <sup>0</sup> (unkorr.)
Codex Gall. 7	115 <sup>0</sup>
DAB 6	115,5 <sup>0</sup>
Ph. Dan. IX	114 - 118 <sup>0</sup> (korr.)
Svenska F. XI	112 - 116 <sup>0</sup>

Unsere Muster zeigten folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Schmelzbereich der Base</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	113,5 - 114,6 <sup>0</sup>	114,6 - 115,8 <sup>0</sup>
II	113,5 - 115,0 <sup>0</sup>	114,6 - 116,2 <sup>0</sup>
III	113,7 - 114,7 <sup>0</sup>	114,9 - 115,9 <sup>0</sup>
IV	113,5 - 114,8 <sup>0</sup>	114,6 - 116,0 <sup>0</sup>

Die geprüften Muster entsprachen dem von Ph. Helv. V geforderten Schmelzbereich von 113,5 - 115<sup>0</sup> (unkorr.) bzw. 114,6 - 116,2<sup>0</sup> (korr.)

Papierchromatographische Prüfung:

Die Prüfung wird in der im Artikel Atropinum basicum beschriebenen Weise mit 0,02 ml einer Mischung von 0,5 ml Stammlösung + 1,5 ml Aethanol 94 % (entsprechend 500 µg Atropinsulfat) vorgenommen. In keinem der geprüften Handelsmuster konnten Nebenalkaloide nachgewiesen werden.

Nachweis des Säureanteiles: Die Stammlösung ergibt die Identitätsreaktion auf Sulfat.

Reinheitsprüfungen

a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelzbereich: Die Forderungen der Monographien für den Schmelzbereich von Atropinsulfat weisen erhebliche Schwankungen auf:

USP XV	nicht unter 188 <sup>0</sup> , Substanz 3 h bei 120 <sup>0</sup> getrocknet, (korr.)
Brit. Ph. 1958	191 - 196 <sup>0</sup> , Substanz 15 Min. bei 135 <sup>0</sup> getrocknet, (korr.)
Ph. Int. Vol. I	191 - 195 <sup>0</sup> , Substanz 4 h bei 110 <sup>0</sup> getrocknet (korr.)
Ph. Dan. IX	193 - 198 <sup>0</sup> , Substanz bei 120 <sup>0</sup> getrocknet, (korr.)
Svenska F. XI	ca. 185 <sup>0</sup> , wasserfreie Substanz
Nederl. Ph. V.	187 - 192 <sup>0</sup> , getrocknete Substanz
Ph. Belg. IV	ca. 180 <sup>0</sup>
Codex Gall. 7	184 <sup>0</sup> , getrocknete Substanz

Wir nahmen die Bestimmung mit der bei 120<sup>0</sup> bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz vor und erhielten folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Schmelzbereich</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	186,2 - 188,2 <sup>0</sup>	190,7 - 192,8 <sup>0</sup>
II	185,5 - 186,9 <sup>0</sup>	190,0 - 191,4 <sup>0</sup>
III	184,6 - 186,7 <sup>0</sup>	189,0 - 191,2 <sup>0</sup>
IV	187,3 - 189,0 <sup>0</sup>	191,9 - 193,6 <sup>0</sup>

Nach Merck (39) soll der Schmelzbereich durch rasches Erhitzen heraufgetrieben werden. Wir hielten uns beim Aufheizen an die Allgemeinen Bestimmungen der Ph. Helv. V, d. h. Temperatursteigerung um 2<sup>0</sup> pro Minute ab 10<sup>0</sup> unterhalb des Schmelzbereiches.

Wie die Mehrzahl der Monographien empfehlen wir, neben dem Schmelzbereich der freigesetzten Base noch denjenigen des Atropinsulfats zu bestimmen, da letzterer auch als Identitätsnachweis zur schnellen Unterscheidung von anderen Tropasäure-Alkaloiden herangezogen werden kann. Auf Grund der erhaltenen Werte möchten wir ein korr. Intervall von 189 - 194<sup>0</sup> vorschlagen.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Von den Monographien wird für 2 %ige bzw. 5 %ige wässrige Lösungen Klarheit und Farblosigkeit verlangt. Wir nahmen die Prüfung in der 10 %igen (ca. 0,14 m) Stammlösung vor. Diese erhielten wir durch Lösen von ca. 2 g getrockneter Substanz (genau gewogen) in 3 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser (Vergleich mit den Farbvergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III) und Verdünnen dieser Lösung in einem Messkölbchen von 20 ml mit frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser bis zur Marke. Es wird eine Stammlösung von genauer Konzentration hergestellt, weil diese in der Folge auch zur Bestimmung des Verbrennungsrückstandes dient. Sämtliche Muster lösten sich in 3 ml Wasser völlig klar. Die Lösungen von Muster I - III waren farblos, während diejenige von Muster IV wie Farbvergleichslösung BG<sub>6</sub> gefärbt war. Da dieses Muster allen anderen Forderungen entsprach, ist u. E. eine geringe Färbung der sehr konzentrierten Lösung zu gestatten.

Reaktion der Stammlösung: Der pH-Wert einer wässrigen Lösung wird von den Monographien wie folgt limitiert:

Brit. Ph. 1958	0,2 g Substanz gelöst in 10 ml Wasser dürfen bei Titration mit 0,02 N-Natronlauge oder 0,02 N-Salzsäure gegen Methylrot maximal 0,1 ml verbrauchen.
Ph. Int. Vol. I USP XV	1 g Substanz in 20 ml Wasser darf gegen 1 Tropfen Methylrot maximal 0,3 ml 0,02 N-Natronlauge verbrauchen.
Ph. Dan. IX	Wässrige Lösung schwach sauer, pH = 5,0
Svenska F. XI Nederl. Ph. V	5 %ige Lösung neutrale Reaktion
DAB 6 Codex Gall. 7 Ph. Belg. IV	Wässrige Lösung neutral gegen Lakmus.

Die Forderung der Ph. Helv. V lautet:

"Je 1 ml einer Mischung von 1 ml Stammlösung + 1 ml frisch ausgekochtes und wieder erkaltetes Wasser muss durch 1 Tropfen Bromthymolblau gelb oder grünlichgelb, aber nicht grün, durch 1 Tropfen Methylrot gelb, orange oder rot, aber nicht stärker rot gefärbt werden als 1 ml einer Mischung von 3 ml Natriumazetat + 3 ml verdünnte Essigsäure R + Wasser zu 20 ml."

Die Stammlösungen der untersuchten Muster wiesen folgende pH-Werte auf:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u>	<u>pH-Wert</u>
	<u>potentiometrisch</u>	<u>Farbtabelle Ph. Helv. V, Suppl. III</u>
I	4,22	4,20
II	4,28	4,20
III	6,02	6,00
IV	4,36	4,20

Wir schlagen vor, die Begrenzung des pH-Wertes mit 4,0 und 6,2 festzulegen.

Optische Drehung: Da das Fehlen einer optischen Drehung als bestes Kriterium für die Abwesenheit von Hyoscyamin gilt, nahmen wir diese wichtige Prüfung analog Brit. Ph. 1958, Ph. Int. Vol. I und Nederl. Ph. V in der 10 %igen Stammlösung vor. Die übrigen Monographien, wie auch Ph. Helv. V, prüfen in der 5 %igen, Ph. Dan. IX in der 2 %igen Lösung. Wir führten die Bestimmung mit dem

Polarimeter nach Zeiss, sowie mit dem Polarimeter nach Kern aus und konnten bei keinem Muster einen Drehungswinkel feststellen. Die Formulierung der Forderung erfolgt wie bei der Base.

b) Chemische Reinheitsprüfungen

Abwesenheit von fremden Alkaloiden: In sämtlichen Monographien finden wir Reinheitsprüfungen auf fremde Alkaloide (Apoatropin, Belladonin). Die Prüfungen beruhen darauf, dass die aus einer konzentrierten Lösung auf Zusatz von Ammoniak oder Natronlauge ausgefällte Atropinbase beim nachfolgenden Verdünnen mit Wasser oder überschüssigem Ammoniak wieder in Lösung geht, während ev. vorhandenes Apoatropin oder Belladonin ungelöst bleiben würde. USP XV prüft ausserdem noch mit Platinchlorid, wobei keine Fällung entstehen darf, und Brit.Ph.1958 lässt wie bei der Base mit Kaliumpermanganat auf Apoatropin prüfen. Wir nahmen die Prüfung nach der Vorschrift der Ph.Helv.V mit verdünntem Ammoniak RS vor und erhielten bei allen Mustern negativen Ausfall. Auch mit der im Artikel Atropinum basicum beschriebenen Kaliumpermanganatprobe konnten wir bei keinem Muster Apoatropin nachweisen.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Stoffe: Ausser Brit.Ph. 1958 und Ph.Int.Vol.I führen alle Monographien eine solche Prüfung durch. Die Forderungen lauten auf Farblosigkeit der Lösung, nur USP XV und Ph.Dan.IX lassen eine Grenzprüfung vornehmen.

Wir lösten 20 mg Substanz in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS. Nach 30 Minuten waren die Lösungen sämtlicher Muster noch klar und farblos, beim Erwärmen im siedenden Wasserbad färbten sie sich dotterblumengelb. Die Forderung für den Pharmakopöetext wird entsprechend aufgestellt.

Prüfung auf konzentrierte Salpetersäure färbende Stoffe: In mehreren Monographien wird diese Prüfung mit derjenigen auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Stoffe kombiniert. Die Lösung der Substanz in konzentrierter Schwefelsäure soll auf Zusatz von konzentrierter Salpetersäure entweder farblos bleiben (Nederl.Ph.V, Ph.Belg.IV) oder darf höchstens schwach gelb gefärbt werden (DAB 6, Codex Gall.7). Nach Ph.Helv.V, welche mit konzentrierter Salpetersäure auf Morphin und Bruzin prüft, sollen sich 20 mg Substanz in 1 ml konzen-

trierter Salpetersäure farblos lösen, welcher Forderung die geprüften Muster entsprachen. Wir empfehlen, diese Prüfung in der Formulierung der Ph. Helv. V aufzunehmen.

Abwesenheit von Schwermetallen: Mit 2 ml Stammlösung vorgenommen, entsprachen sämtliche Muster den Anforderungen der Grenzreaktion a II. Da diese Prüfung von keiner Monographie vorgeschrieben wird, kann für Pharmakopöezwecke davon abgesehen werden.

Abwesenheit von Chlorid: Eine Prüfung auf Chlorid wird vorgenommen von Ph. Helv. V, welche Abwesenheit verlangt, und von Ph. Dan. IX, welche mittels einer Grenzprüfung prüfen lässt. Wir führten die für die Ph. Helv. VI vorgesehene Grenzprüfung auf Chlorid mit 1 ml Stammlösung aus. Da bei keinem Muster stärkere Opaleszenz auftrat als bei Grenzprüfung a II kann die Forderung entsprechend formuliert werden.

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Kristallwasser- und Feuchtigkeitsgehalt

In den Literaturangaben finden sich folgende Forderungen für den Kristallwasser- und Feuchtigkeitsgehalt:

<u>Literaturangabe</u>	<u>Methode</u>	<u>Gehaltsforderung</u>
Ph. Helv. V	Trocknen bei 103 - 105 <sup>0</sup>	1 % - 3 %
Brit. Ph. 1958	Trocknen bei 110 <sup>0</sup>	maximal 4 %
Ph. Int. Vol. I	während 4 Stunden	
Codex Gall. 7	Trocknen bei 100 <sup>0</sup>	maximal 4 %
Nederl. Ph. V	Trocknen, keine Angabe der Temperatur	maximal 3 %
Ph. Dan. IX	Trocknen bei 120 <sup>0</sup>	2,5 - 4 %
Svenska F. XI	Trocknen bei 130 - 140 <sup>0</sup>	3,5 %
	während 1 Stunde	
USP XV	Trocknen bei 120 <sup>0</sup> während 3 Stunden oder nach Karl Fischer	maximal 4 %

Wir nahmen die Bestimmung vor durch Trocknen im Trockenschrank bei 120° während 3 Stunden (Einwaage ca. 2 g), sowie durch Titration nach Karl Fischer (Einwaage ca. 0,5 g) und ermittelten mit unseren Mustern folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Kristallwasser und Feuchtigkeitsgehalt</u>	
	<u>Trockenschrank 120°</u>	<u>K. Fischer-Titration</u>
I	3,70 %	3,82 %
II	2,98 %	3,07 %
III	3,86 %	
IV	3,91 %	3,87 %

Die mit den beiden Methoden erhaltenen Werte stimmen gut überein. Bei sämtlichen Mustern liegt der Wassergehalt über dem theoretischen Wert, welcher für das Monohydrat 2,6 % beträgt. Da das Kristallwasser durch Trocknen bei 120° während 3 Stunden hinreichend entfernt werden kann, möchten wir diese Bestimmungsart als die für Pharmakopöezwecke einfachere Methode vorschlagen. In Anlehnung an unsere Werte und an die Forderung der Ph.Dan.IX soll ein Mindestgehalt von 2,5 % und ein Höchstgehalt von 4 % festgesetzt werden.

#### b) Verbrennungsrückstand

Die Forderungen der Monographien für den Verbrennungsrückstand von Atropinsulfat schwanken zwischen 0,1 % und 0,5 %. Wir führten die Bestimmung mit 5 ml Stammlösung (entsprechend 0,5 g Substanz) nach Verdampfen des Lösungsmittels aus. Unser diesbezüglich schlechtestes Muster (IV) hinterliess einen Rückstand von 0,4 mg. Somit können wir fordern, dass der Verbrennungsrückstand von 0,5 g Substanz unwägbare sein, bzw. nicht mehr als 0,1 % betragen soll.

#### c) Gehaltsbestimmungen

Die Mehrzahl der Monographien verzichtet auf eine Gehaltsbestimmung. Ph. Helv. V und Nederl. Ph. V titrieren die Sulfatkomponente gegen PhenoIphthalein, während Brit. Ph. 1958 und Ph. Dan. IX die Base isolieren und durch indirekte Titration gegen Methylrot bestimmen. Die Forderungen, bezogen auf die wasser-

freie Substanz, lauten auf mindestens 99,3 % (Ph. Helv. V), 98 % (Brit. Ph. 1958) und auf 98,0 - 100,4 % (Ph. Dan. IX).

Wir haben folgende Methoden untersucht:

1. Titration des Säureanteiles: Nach der vom Kommentar zur Ph. Helv. V empfohlenen Vorschrift lösten wir ca. 0,35 g ungetrocknete Substanz (genau gewogen) in einem gegen Phenolphthalein RS neutralisierten Gemisch von 10 ml Aethanol 94 % + 5 ml Chloroform und titrierten unter Verwendung von 2 Tropfen Phenolphthalein RS unter kräftigem Umschwenken mit 0,1 N-Natronlauge bis zur Rosafärbung.

1 ml 0,1 N-Natronlauge entspricht 34,75 mg  $(C_{17}H_{23}O_3N)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$

Unsere Muster ergaben folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration des Säureanteiles:</u>		
I	100,27 %	100,09 %	99,96 %
II	100,07 %	100,10 %	100,02 %
III	99,52 %	99,57 %	99,69 %
IV	100,12 %	100,31 %	100,16 %

Die Methode liefert etwas hohe, jedoch gut übereinstimmende Werte. Da damit nur der therapeutisch nebensächliche Sulfat-Anteil erfasst wird, kann diese Bestimmungsart zur Gehaltsbestimmung von Atropinsulfat nicht völlig befriedigen.

2. Ausschüttelung und direkte alkalimetrische Bestimmung: In Anlehnung an die für die Ph. Helv. VI vorgesehene Bestimmung von Alkaloidsalzen legten wir folgende Vorschrift zugrunde:

"Ca. 0,35 g ungetrocknetes Atropinsulfat (genau gewogen) werden in einem Scheidetrichter von 100 ml Inhalt in 10 ml Wasser gelöst. Nach Zufügen von 5 ml verdünntem Ammoniak RS wird mit 25 ml eines Gemisches von 3 Vol. T Chloroform + 1 Vol. T. Isopropanol ausgeschüttelt. Nach Trennung der beiden Phasen wird die untere durch ein mit Chloroform befeuchtetes glattes Filter von 8 cm Durchmesser in einen Erlenmeyerkolben von 250 ml Inhalt abgelassen. Die Ausschüttelung wird noch 2 mal mit je 25 ml und 1 mal mit 10 ml des obigen Gemisches wiederholt, die durch das gleiche Filter filtrierten Auszüge im gleichen Erlenmeyerkolben gesammelt und durch Destillation auf dem Wasserbad vom Lösungsmittel befreit. Der Rückstand wird in 5 ml Aethanol 94 % aufgenommen und letzterer anschliessend auf dem Wasserbad völlig verdampft.

Nach Lösen des Rückstandes in 10 ml säurefreiem Aethanol 70 % wird unter Verwendung von 3 Tropfen Taschiro-Indikator RS bis zum Farbumschlag nach Rotviolett titriert."

1 ml 0,1 N-Salzsäure entspricht 34,75 mg  $(C_{17}H_{23}O_3N)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$

Es wurden folgende Werte erhalten:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration des Basen-Anteiles</u>		
I	97,10 %	96,86 %	97,24 %
II	97,05 %	96,64 %	
III	96,97 %	96,90 %	
IV	96,75 %	96,96 %	

Diese Methode lieferte mit den einzelnen Mustern übereinstimmende, aber durchwegs zu tiefe Resultate, woraus zu schliessen ist, dass die Ausschüttelung nicht ganz quantitativ verläuft. Das von uns verwendete Lösungsmittelgemisch (3 Vol.T. Chloroform + 1 Vol.T. Isopropanol) wird auch von Ph.Dan. IX zum Ausschütteln der Base vorgeschrieben.

3. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Der Stickstoffgehalt wurde nach der im allgemeinen Teil angegebenen Vorschrift mit 0,25 g ungetrockneter Substanz (genau gewogen) ermittelt. Nach dem Klar- und Farbloswerden des Reaktionsgemisches wurde noch ca. 30 Minuten zum Sieden erhitzt.

Unsere Muster zeigten folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Stickstoff-Bestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	98,86 %	98,74 %
II	99,25 %	99,42 %
III	98,90 %	98,81 %
IV	98,68 %	98,53 %

Da mit der Kjeldahl-Methode der Basenanteil bestimmt wird und sich zuverlässige Werte ergaben, möchten wir sie zur Gehaltsbestimmung von Atropinsulfat vorschlagen. Eine Gehaltsforderung von 98,0 - 101,0 % scheint uns angemessen.

Sterilisation von Lösungen

Nach Ph. Dan. IX können Lösungen mit einem Zusatz von 1 % 0,1 N-Salzsäure im Autoklav sterilisiert werden.

Vorschläge zur Dosierung

Die Maximaldosen wurden von Ph. Helv. V übernommen, Gebrauchsdosen finden sich in USP XV.

Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV
<u>Sinnenprüfung</u>				
Farbe	rein weiss	rein weiss	rein weiss	rein weiss
Geruch	-	-	-	-
<u>Identitätsprüfung</u>				
Vitali-Reaktion	+	+	+	+
Schmelzbereich der Base (korr.)	114,6 - 115,8 <sup>0</sup>	114,6 - 116,2 <sup>0</sup>	114,9 - 115,9 <sup>0</sup>	114,6 - 116,0 <sup>0</sup>
Schmelzbereich des Pikrats (korr.)	175,8 - 177,2 <sup>0</sup>	175,6 - 177,3 <sup>0</sup>	176,0 - 177,4 <sup>0</sup>	175,5 - 177,1 <sup>0</sup>
Papierchromatographische Prüfung	=	=	=	=
<u>Reinheitsprüfungen</u>				
Schmelzbereich (korr.)	190,7 - 192,8 <sup>0</sup>	190,0 - 191,4 <sup>0</sup>	189,0 - 191,2 <sup>0</sup>	191,9 - 193,6 <sup>0</sup>
2,0 g gelöst in 3 ml Wasser	klar und farblos	klar und farblos	klar und farblos	= BG <sub>6</sub>
pH der Stammlösung				
potentiometrisch	4,22	4,28	6,02	4,36
Farbtabelle	4,20	4,20	6,00	4,20
Drehungswinkel	-	-	-	-
Papierchromatographische Prüfung	-	-	-	-
konz. Schwefelsäure färbende Stoffe				
sofort	farblos	farblos	farblos	farblos
30' Zimmertemperatur	farblos	farblos	farblos	farblos
5' Wasserbad		alle dotterblumengelb		
konz. Salpetersäure färbende Stoffe	farblos	farblos	farblos	farblos
Ammoniakprobe auf fremde Alkaloide	-	-	-	-
Kaliumpermanganatprobe auf Apoptropin	-	-	-	-
Schwermetalle	-	-	-	-
Chlorid	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>				
Kristallwasser- und Feuchtigkeitsgehalt				
Trocknen bei 120 <sup>0</sup>	3,70 %	2,98 %	3,86 %	3,91 %
Titration nach KF	3,82 %	3,07 %		3,87 %
Verbrennungsrückstand	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar
Gehalt				
Titration des Säureanteiles	100,11 %	100,06 %	99,56 %	100,19 %
Titration des Basenanteiles	97,07 %	96,84 %	96,93 %	96,55 %
Stickstoff nach Kjeldahl	98,80 %	99,33 %	98,85 %	98,60 %

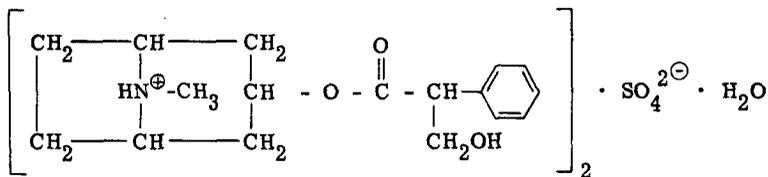
Atropinium sulfuricum

Syn.: Atropini sulfas

Atropiniumsulfat

Sulfate d'atropine

Solfato di atropina



$(\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Mol.-Gew. 695

Sulfat des dl-Tropasäure-tropinesters mit einem Gehalt von mindestens

98,0 (98,0 - 101,0)%  $(\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{O}_3\text{N})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Prüfung

**Stammlösung S:** Ca. 2 g Substanz (genau gewogen) werden in 3 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser gelöst. Diese Lösung muss klar und farblos sein oder darf nicht stärker gefärbt sein als Farbvergleichslösung BG<sub>6</sub>. Sie dient nach dem Verdünnen mit frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser in einem Messkölbchen von 20 ml Inhalt bis zur Marke für die Prüfungen 2, 3, 5, 6, 7, 9, 10, 12 und 14.

**1. Sinnenprüfung:** Weisses, kristallines, oft etwas körniges, geruchloses Pulver.

**2. Nachweis der Atropinbase:**

a) Versetzt man etwas Substanz in einem Porzellanschälchen mit 5 Tropfen konzentrierter Salpetersäure RS und verdampft auf dem Wasserbad zur Trockne, so bleibt ein Rückstand, der nach dem Erkalten auf Zusatz von 5 Tropfen weingeistiger Kalilauge eine violette Färbung zeigt.

b) Wird die Mischung von 1 ml S + 1 ml Wasser mit 10 Tropfen verdünntem Ammoniak RS versetzt, so entsteht eine milchige Trübung. Aus der Flüssigkeit scheiden sich allmählich am Boden des Reagensglases farblose, klebrige Tröpfchen ab, und bei längerem Stehen und gelegentlichem Reiben der Wandungen mit einem Glasstab kristallisiert die Base aus. Diese weist nach dem Abnutzen, Auswaschen mit 20 ml Wasser und Trocknen im Schwefelsäure-Exsikkator einen Schmelzbereich von 114,5 - 116,5° (korr.) auf.

c) Die Mischung von 0,5 ml S + 10 ml Wasser wird mit 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS und hierauf tropfenweise mit 4 ml Pikrinsäure RS versetzt. Der entstandene ölige Niederschlag wird durch Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Das nach dem Erkalten auskristallisierte Pikrat wird abgenutzt, mit

5 ml Wasser gewaschen und bei 103 - 105<sup>o</sup> getrocknet. Der Schmelzbereich muss zwischen 175,5 und 177,5<sup>o</sup> (korr.) liegen.

3. Nachweis des Sulfates: S gibt die Identitätsreaktion auf Sulfat.

4. Schmelzbereich: 189 - 194<sup>o</sup> (korr.), bestimmt mit der bei 120<sup>o</sup> bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz.

5. Optische Drehung: Höchstens + 0,1<sup>o</sup> oder höchstens - 0,1<sup>o</sup>, bestimmt mit S im 2 dm-Rohr.

6. Papierchromatographische Prüfung: Chromatographierpapier Whatman 1 wird in Streifen von 8 cm Breite und 46 cm Länge geschnitten, so dass die Längsseite quer zur Faserrichtung verläuft. Der Papierstreifen wird auf pH 6,6 gepuffert durch Eintauchen in eine Mischung von 72,2 ml einer 0,1 m primären Kaliumphosphatlösung und 27,8 ml einer 0,05 m Boraxlösung. Hierauf wird das Papier zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht abgepresst und 14 Stunden lang bei Zimmertemperatur zum Trocknen aufgehängt.

Die Wände des zur absteigenden Papierchromatographie bestimmten Glasgefässes werden mit nassem Filtrierpapier ausgekleidet, welches in das den Boden 1 - 2 cm hoch bedeckende Wasser eintauchen soll. In die Kristallisierschale auf dem Boden des Glasgefässes wird eine Mischung von 100 ml Isobutanol und 100ml Toluol gebracht. Die so vorbereitete Wanne wird zur Sättigung des Innenraumes mindestens 48 Stunden lang bedeckt stehen gelassen.

In einen Scheidetrichter von 500 ml Inhalt werden 100 ml Isobutanol, 100ml Toluol und 100 ml Wasser gebracht. Das Gemisch wird zur Sättigung der organischen Phase mit Wasser wiederholt kräftig geschüttelt.

Auf der Startlinie des so vorbehandelten Papiers, welche einen Abstand von ca. 8 cm vom oberen Rand aufweisen soll, werden ca. 3 cm von den seitlichen Rändern entfernt 2 Punkte, a und b, markiert, deren Abstand voneinander ca. 3 cm betragen soll. 0,02 ml einer Mischung von 0,5 ml S + 1,5 ml Aethanol 94 % (entsprechend 500 µg) werden mittels einer Pipette streifenförmig, möglichst gleichmässig zwischen den Punkten a und b aufgetragen.

Der Papierstreifen wird hierauf in das Glasgefäss gehängt und mindestens 8 Stunden lang klimatisiert. Nach dieser Vorhängezeit wird das mit Wasser gesättigte Isobutanol-Toluol-Gemisch, welches die mobile Phase darstellt, aus dem Scheidetrichter in die Küvette gegossen, so dass die Schichthöhe ca. 15 mm beträgt.

Es wird absteigend chromatographiert, bis die Frontlinie der mobilen Phase ca. 30 cm über die Startlinie hinaus vorgedrungen ist. Dann wird der Papierstreifen sorgfältig herausgenommen, mit Bleistift die Frontlinie eingezeichnet und ca. 5 Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet.

Der noch halbbeuchte Papierstreifen wird nun mittels eines Zerstäubers mit ca. 4 ml Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie gleichmässig besprüht.

Das Chromatogramm darf nur einen Farbfleck vom Rf-Wert 0,17 - 0,23 aufweisen. Weitere Farbflecken von kleineren Rf-Werten (Tropin) und grösseren Rf-Werten (Scopolamin, Apotropin) müssen fehlen.

7. Reaktion: pH von S = 4,0 - 6,2.

8. Schwefelsäureprobe: 20 mg gelöst in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS müssen noch nach 30 Minuten klar und farblos sein; beim nachfolgenden Erwärmen im siedenden Wasserbad tritt eine dotterblumengelbe Färbung auf.

9. Apoatropin, Belladonin: Wird die Mischung von 0,5 ml S + 1,5 ml Wasser mit 8 Tropfen verdünntem Ammoniak RS versetzt, so muss sich die Lösung trüben; auf nachträglichen Zusatz von 4 ml Wasser muss die Trübung wieder verschwinden.

10. Apoatropin: Das Gemisch von 0,5 ml S und 4,5 ml 0,2 N-Salzsäure wird mit 0,25 ml 0,1 N-Kaliumpermanganat versetzt. Die Violettfärbung darf innerhalb 5 Minuten nicht völlig verschwunden sein.

11. Morphin, Bruzin: 20 mg gelöst in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS müssen farblos sein.

12. Chlorid: 1 ml S muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

13. Kristallwasser- und Feuchtigkeitsgehalt: Mindestens 2,5 % und höchstens 4 %, bestimmt mit 2 g durch Trocknen bei 120° während 3 Stunden.

14. Verbrennungsrückstand: Unwägbar, bestimmt mit 5 ml S nach Verdampfen des Lösungsmittels.

15. Gehalt: Entsprechend einem Gehalt von 98,0 - 101,0 %  $(C_{17}H_{23}O_3N)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$  muss kristallwasserhaltiges Atropinsulfat  
3,95 - 4,07 % N,

bestimmt nach der im allgemeinen Teil beschriebenen Methode der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl mit ca. 0,25 g Substanz (genau gewogen), enthalten.

Aufbewahrung: In gut verschlossenem Behälter, vor Licht geschützt.

Antimikrobielle Behandlung von Lösungen: nach Zusatz von 0,1 % 0,1 N-Salzsäure im Autoklav.

Maximaldosen:

Dosis maxima simplex	0,001 g
Dosis maxima pro die	0,003 g

#### Venenum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

Einzeldosis	0,003 g
Tagesdosis	0,0012g

Löslichkeit: 1 T. löst sich in 1 T. Wasser, 4 T. Aethanol 94 %, 3 T. Glycerin. Fast unlöslich in Aether. Schwer löslich in Chloroform.

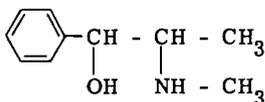
Veränderlichkeit: Beim Aufbewahren an trockener Luft verliert Atropinsulfat sein Kristallwasser bereits teilweise. Die wasserfreie Substanz ist ziemlich hygroskopisch. Einfluss von Feuchtigkeit bewirkt allmähliche Verseifung in Tropin und Tropasäure.

Inkompatibilitäten: Alkalien und andere alkalisch reagierende Stoffe (Verseifung), Jod, Gerbsäure und gerbstoffhaltige Zubereitungen (Fällung).

### 3.3.3. 1-Ephedrinum basicum

Syn.: 1-Phenylmethylaminopropanolum

1-Ephedrinbase ist 1-2-Methylamino-1-phenylpropanol



$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{ON}$

Mol.-Gew. 165,2

Ephedrine	USP XIV, p.205; Brit. Ph.1958, p.246; NNR 1941, p.213
Ephedrinum	Ph.Dan.1948 II, p.305; Svenska F. 1946, p.213 Ph.Belg.IV, Suppl.1951, p.15
Ephédrine	Codex Gall. 7, p. 256

1-Ephedrinbase ist entweder wasserfrei oder enthält  $\frac{1}{2}$  Molekül Kristallwasser. Die wasserfreie Base und das Hemihydrat unterscheiden sich in der Kristallform, im Schmelzpunkt, in der Stabilität sowie in der Löslichkeit in Oelen.

Im Codex Gall. 7 ist die wasserfreie Base offizinell, USP XIV lässt sowohl die wasserfreie als auch die kristallwasserhaltige Substanz zu, während es sich bei der in den übrigen Pharmakopöen aufgeführten 1-Ephedrinbase um das Hemihydrat handelt.

#### Vorkommen

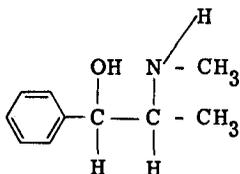
Ephedrin ist ein Alkaloid verschiedener, besonders chinesischer Ephedra-Arten. Die chinesische Droge "Ma Huang", als deren Stammpflanzen Ephedra equisetina Read et Liu und Ephedra sinica Stapf gelten, soll bis zu 2 % Alkaloide enthalten. Im weiteren kommen nordafrikanische und spanische Arten als natürliche Ausgangsmaterialien für die Ephedrin-Gewinnung in Betracht. Die gehandelten Drogen enthalten in der Regel ca. 1 % Alkaloide, wovon 1-Ephedrin ca. 70% der Gesamtalkaloide ausmacht. Brit.Pharm.Codex (40) fordert 1,25 % Gesamtalkaloide berechnet als Ephedrin.

Neben 1-Ephedrin kommt d-Pseudoephedrin, ein Stereoisomeres des Ephedrins, als wichtigstes Nebenalkaloid in der Droge vor. Die optischen Antipoden der beiden Alkaloide sind aus den synthetisch gewonnenen Razematen durch Spaltung mit optisch aktiven Säuren dargestellt worden.

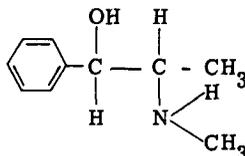
Ferner wurden die folgenden Alkaloide, die nur in geringen Mengen in der Droge vorkommen, isoliert: l-Norephedrin, d-Norpseudoephedrin, l-N-Methylephedrin, d-N-Methylpseudoephedrin und Ephedine, ein Alkaloid noch unbekannter Struktur. Ausserdem wurde von Chen, Stuart und Chen (41) aus Ephedra "Ma Huang" noch ein Amin, das Benzylmethylamin, isoliert.

Nach Wolfes (42) enthalten die europäischen Ephedra-Arten die gleichen Alkaloide wie die chinesischen Arten.

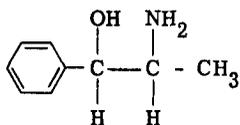
Die Strukturformeln der natürlichen Ephedra-Basen:



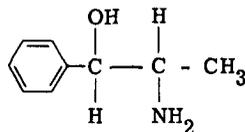
l - Ephedrin



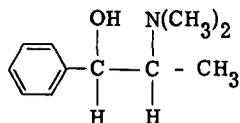
d - Pseudoephedrin



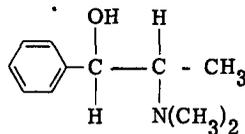
l - Norephedrin



d - Norpseudoephedrin



l - N - Methylephedrin



d - N - Methylpseudoephedrin

Das Alkaloid Ephedine besitzt die Summenformel  $C_8H_{18}N_2O_3$ .

### Darstellung

#### a) Durch Extraktion

Nach Chou (43) wird die Droge mit Benzol in der Kälte in Gegenwart von verd. Natriumkarbonatlösung extrahiert, der Benzol-Extrakt mit verd. Salzsäure ausgezogen und die saure Lösung geklärt. Dann werden die Alkaloide nach Zufügen einer genügenden Menge Kaliumkarbonat mit Chloroform extrahiert, der Chloroformauszug wird konzentriert, über Natriumsulfat getrocknet und schliesslich zur Trockne eingedampft.

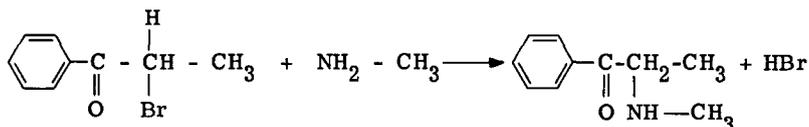
Die Trennung von l-Ephedrin und d-Pseudoephedrin erfolgt über das Oxalat. Das Salz des l-Ephedrins weist in der Kälte eine geringere Löslichkeit auf als dasjenige des d-Pseudoephedrins.

Nach Chen (44) wird die Droge mit 80 %igem Weingeist perkoliert bis das Perkolat farblos ist. Dieses wird bei vermindertem Druck zur Sirupdicke konzentriert, der Rückstand mit Wasser verdünnt, mit Ammoniak alkalisch gemacht und filtriert. Das schwer wasserlösliche d-Pseudoephedrin bleibt zurück, während

l-Ephedrin im Filtrat vorliegt. Letzteres wird nun mit Chloroform extrahiert, der Chloroformauszug der Destillation unterworfen, und der Rückstand nach Auflösen in wenig heissem Wasser mit verd. Salzsäure oder verd. Schwefelsäure neutralisiert. Das nach dem Abdampfen auf dem Wasserbad abgeschiedene Alkaloidsalz wird aus absolutem Alkohol unter Eiskühlung und Aetherzusatz umkristallisiert. Die Alkaloidbase wird zurückgewonnen, indem die Salzlösung mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit Chloroform ausgeschüttelt wird. Aus dem Chloroformauszug kristallisiert die Base in rosettenartigen Kristallen, welche leicht auseinanderbrechen, aus.

b) Durch Synthese

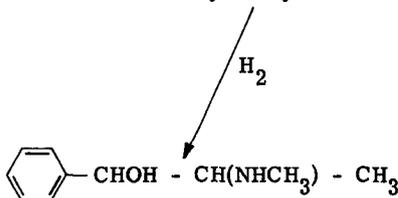
Nach Fourneau (45) wird Brompropiofenon, welches durch Umsetzen von  $\alpha$ -Brompropionsäurebromid mit Benzol nach Friedel-Crafts erhalten wird, mit Methylamin zur Reaktion gebracht. Das entstandene Phenylmethylaminomethylketon wird katalytisch hydriert, wobei durch die Reduktion der Ketogruppe zur sekundären Alkoholgruppe ein zweites Asymetriezentrum entsteht, welches die gleichzeitige Bildung von dl-Ephedrin und dl-Pseudoephedrin ermöglicht.



Brompropiofenon

Methylamin

Phenylmethylaminomethylketon

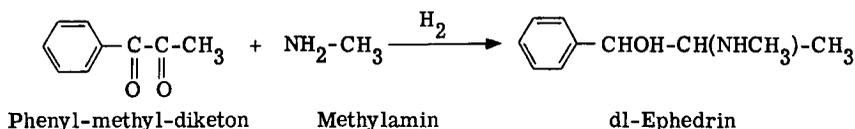


d, l-Ephedrin + d, l-Pseudoephedrin

Die Trennung der beiden stereoisomeren Formen erfolgt durch Ueberführen in die Chlorhydrate und Behandeln derselben mit Chloroform, letzteres zeigt grosses Lösungsvermögen für das Chlorhydrat des Pseudoephedrins, während dasjenige des Ephedrins in Chloroform unlöslich ist. Das therapeutisch wertlose Pseudoephedrin wird wieder zum Keton oxydiert und dieses von neuem hydriert.

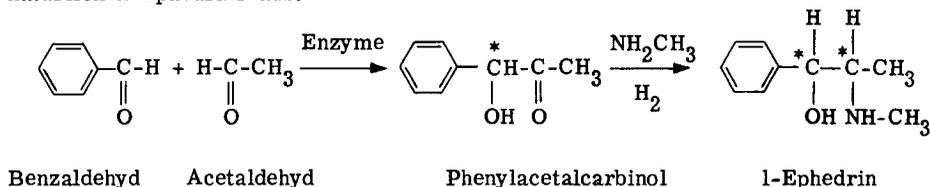
Zur Gewinnung des l-Ephedrins aus der bei der Synthese gebildeten racemischen Form, muss letztere noch mit Hilfe von d- oder l-Weinsäure aufgespalten werden, wobei 50 % Ephedrin erhalten werden. Die d-Form wird razemerisiert, so dass durch erneute Spaltung wieder 50 % l-Ephedrin entstehen.

Eine weitere von Manske und Johnsen (46) beschriebene Synthese liefert dl-Ephedrin, frei von dl-Pseudoephedrin, in vorzüglicher Ausbeute. Sie besteht in der katalytischen Reduktion von Phenyl-methyl-diketon bei Gegenwart von Methylamin.



Auch bei dieser Synthese ist das Endprodukt dl-Ephedrin, welches mit Hilfe von optisch aktiven Säuren in die l-Form und in die d-Form gespalten werden muss.

Eine andere Möglichkeit besteht in dem von Neuberg (47) aufgefundenen Verfahren, welches auf einer Acyloinkondensation beruht und auf direktem Wege l-Ephedrin liefert. Die Reaktion findet in einem Gärungsgemisch statt, indem der bei der Gärung von Melasse entstehende Acetaldehyd unter der katalytischen Wirkung von Enzymen mit zugesetztem Benzaldehyd kondensiert. Der entstandene optisch aktive Phenylacetylcarbinol wird neben anderen Produkten der Gärung ausgeäthert und in Gegenwart eines reduzierenden Mittels mit Methylamin umgesetzt. Die optische Aktivität bleibt voll erhalten, und es bildet sich am neu entstehenden Asymmetriezentrum, an das die Methylamino-Gruppe tritt, die Konfiguration des natürlichen Ephedrins aus.



#### Mögliche Verunreinigungen

Andere natürliche Ephedra-Alkaloide, vor allem d-Pseudoephedrin, sowie l-Norephedrin, d-Norpseudoephedrin, l-N-Methylephedrin, d-N-Methylpseudoephedrin, Ephedine; bei der synthetischen Darstellung gebildetes dl-Ephedrin und dl-Pseudoephedrin; Benzylmethylamin. Natrium, Kalium, Schwermetalle, Chlorid, Sulfat, Karbonat, Oxalat.

#### Bemerkung zu den Substanzmustern

Für die Untersuchungen standen uns anfänglich sechs Muster zur Verfügung, wovon drei als Hemihydrate, die übrigen drei als wasserfreie Substanzen deklariert waren. Wie es sich im Laufe der Untersuchungen dann herausstellte, waren die als wasserfrei deklarierten Muster während der Lagerung von ca. sechs Monaten in die stabile Form des Hemihydrates übergegangen. Wir beschafften uns in der Folge ein weiteres als wasserfrei deklariertes Muster, welches wir sofort nach Eingang in eine Hohlstopfenflasche umfüllten und über Silikagel aufbewahrten.

Aus dem Aussehen der Muster konnte nicht geschlossen werden, ob die wasserfreie Substanz oder das Hemihydrat vorlag.

### Sinnenprüfung

Drei der geprüften sieben Muster bestanden aus farblosen prismatischen Kristallen. Zwei weitere stellten ein grob kristallines Pulver dar, welches granulartig zusammengeballt war. Zwei Muster bestanden aus z.T. grossen Bruchstücken einer farblosen, wachsartigen Kristallmasse. Sämtliche Muster wiesen einen unangenehmen, schwach aminartigen Geruch auf und waren von bitterem Geschmack.

Wir kommen zu folgender Formulierung:

"Farblose Kristalle, wachsartige Kristallmasse, weisses kristallines Pulver oder Granulat von schwach aminartigem Geruch und bitterem Geschmack."

### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Wegen der relativ guten Löslichkeit der Ephedrinbase in Wasser konnte eine wässrige Stammlösung verwendet werden. Wir wählten eine Konzentration von 4 % (= ca. 0,22 molar) und führten die Identitäts- sowie die meisten Reinheitsprüfungen mit dieser Lösung aus (Herstellung siehe unter Reinheitsprüfungen, S.105).

Biuretreaktion: Als Identitätsreaktion führen die Monographien eine Farb-reaktion mit Kupfersulfat an, welche auch von der Ph. Helv. V für den Artikel Ephedrinum hydrochloricum vorgeschrieben ist.

Um die Violettfärbung hervorzurufen genügt bei der Base der Zusatz des Kupfersulfates zur Stammlösung, da letztere stark alkalische Reaktion aufweist. Bei den Ephedrinsalzen hingegen tritt die Färbung nur in Gegenwart von Natronlauge auf. Ein Zusatz von Natronlauge empfiehlt sich aber auch bei der Base, um nach dem Ausschütteln mit Aether eine bessere Trennung der Phasen zu erreichen. Die Stammlösung muss verdünnt werden, weil die Farbe der wässrigen Phase durch überschüssiges Kupfersulfat verursacht wird. Amphetamin

ergibt mit Kupfersulfat eine hellblaue Fällung, die Aetherphase bleibt jedoch farblos. Diese Reaktion kann zur Unterscheidung von Ephedrin und Amphaetamin dienen.

Wir modifizierten die Vorschrift und schlagen für den Pharmakopöetext folgende Formulierung vor:

"Die Mischung von 0,5 ml Stammlösung und 0,5 ml Wasser ergibt mit 1 Tropfen Kupfersulfat RS eine intensiv violette Färbung. Wird die Flüssigkeit nach Zusatz von 1 ml verdünnter Natronlauge RS mit 1 ml Aether geschüttelt, so nimmt die Aetherphase eine purpurne Färbung an, während die Farbe der wässrigen Phase nach Hellblau umschlägt (Amphaetamin)."

Abspaltung von Benzaldehyd: Mit Natronlauge und Kaliumferrizyanid wird im Gegensatz zu Amphaetamin und Methylamphaetamin aus Ephedrin-Lösungen beim Erwärmen Benzaldehyd abgespalten, welcher am Geruch wahrnehmbar ist. Wir schlagen die Ausführung dieser zur weiteren Identifizierung und Unterscheidung gegenüber Amphaetamin und Methylamphaetamin dienenden Reaktion wie folgt vor:

"Wird die Mischung von 1 ml Stammlösung und 5 ml Wasser mit einem Kristall Ferrizyankalium und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge RS erwärmt, so entwickelt sich der Geruch nach Benzaldehyd (Amphaetamin, Methylamphaetamin)."

Alkaloid-Fällungsreagenzien:

Herstellung des Kaliumjodowismutates: Zur Unterscheidung von l-Ephedrinum hydrochloricum und dl-Ephedrinum hydrochloricum schlagen Poethke und Hädicke (4) für den Nachtrag zum DAB 6 die Fällung mit Kaliumjodowismutat-Lösung vor. l-Ephedrinhydrochlorid ergibt einen aus langen dünnen Nadeln bestehenden, dl-Ephedrinhydrochlorid einen aus dunkelroten Prismen bestehenden Niederschlag. Konzentration der zu verwendenden Ephedrinhydrochlorid-Lösung und Zusammensetzung der Reagenslösung werden vorgeschrieben. Wir überprüften die Methode für Ephedrinum basicum und versuchten dabei festzustellen, ob das Entstehen der beiden verschiedenen Kristallformen von gewissen Faktoren abhängig ist.

Nach der von genannten Autoren angegebenen Vorschrift wird 1 ml der wässrigen Lösung (1 + 49) mit 3 Tropfen verd. Schwefelsäure angesäuert und mit 2ml Kaliumjodowismutat-Lösung versetzt. Die Forderung lautet, dass nach dem Stehen

über Nacht bei der Betrachtung unter dem Mikroskop bei der l-Verbindung nur nadelförmige Kristalle, bei der dl-Verbindung nur dunkelrote Prismen erkennbar sein dürfen.

Wir verwendeten das für die Ph. Helv. VI vorgeschlagene Dragendorff-Reagens und führten die Fällung in Lösungen verschiedener Konzentrationen aus. Das mikroskopische Aussehen der Fällungen nach dem Stehen über Nacht ist aus Tabelle 3 ersichtlich.

Tabelle 3 Einfluss der Konzentration auf die Kristallform der Kaliumjodowismutate

ml Stammlsg. 4% (+ H <sub>2</sub> O ad 1 ml)	Kristallform	
	l-Ephedrin	dl-Ephedrin
0,05	Trübung, vereinzelt feine Nadeln	wenige sehr grosse Prismen
0,10	sehr grosse, breite Nadeln mit Spaltstücken	grosse Prismen mit sehr grossen Spaltstücken
0,20	meist sehr feine lange Nadeln, z.T. noch breite Nadeln	noch grosse Prismen mit z.T. kleineren Spaltstücken
0,30	feine Nadeln	kleine, gut ausgebildete Prismen, wenig grössere
0,40	sehr feine Nadeln	nur kleine, gut ausgebildete Prismen
0,50	wie 0,40	wie 0,40
0,60		
0,70	feine Nadeln, zu Büscheln vereinigt	kleinere Prismen in Verbänden
0,80	Nadeln mit steigender Konzentration immer grösser werdend, zu Büscheln vereinigt	Prismen mit steigender Konzentration immer kleiner werdend, in Verbänden
0,90		
1,00		

Wie ersichtlich ist, entstehen unabhängig von der Konzentration bei l-Ephedrin in allen Fällen Nadeln, bei der dl-Verbindung Prismen. Bei den kleinen Konzentrationen besteht der Niederschlag aus sehr langen breiten Nadeln und Bruchstücken derselben, letztere könnten Bruchstücke von Prismen vortäuschen. Bei

den höheren Konzentrationen (Verwendung von 0,70 ml Stammlösung und mehr) werden die Nadeln wieder grösser und sind zu Büscheln vereinigt, ev. vorhandene Prismen (aus Verunreinigungen mit der dl-Verbindung) können leicht übersehen werden. Am günstigsten für die Beurteilung des Niederschlages erwies sich die Verwendung von 0,50 ml Stammlösung, welche Konzentration auch von Poethke und Hädicke vorgeschrieben wird.

Im weiteren untersuchten wir bei der gewählten Konzentration den Einfluss der Fällungstemperatur auf die Beschaffenheit des Niederschlages. Wir führten Fällungen bei 15<sup>o</sup>, 20<sup>o</sup>, 25<sup>o</sup> und 30<sup>o</sup> aus und erhielten bei l-Ephedrin in jedem Falle Nadeln, bei dl-Ephedrin Prismen. Als einziger Einfluss ist mit steigender Temperatur eine geringe Zunahme der Grösse der Kristalle zu verzeichnen. Wir lassen die Fällung bei Zimmertemperatur vornehmen.

Da die Fällungsreaktion mit Dragendorff-Reagens nicht nur als Identitätsprüfung zur Unterscheidung von l-Ephedrin und dl-Ephedrin, sondern auch als Reinheitsprüfung zu betrachten ist, überprüften wir ihre Empfindlichkeit. Wir verunreinigten reine l-Ephedrinbase in Konzentrationen mit der dl-Verbindung von 25 %, 20 %, 5 %, 2,5 % und 1 % und stellten fest, bis zu welcher Konzentration die aus der dl-Verbindung entstandenen Prismen noch nachgewiesen werden können. Eine Verunreinigung von 1 % liess sich bei gründlicher Betrachtung noch erkennen.

Wir schlagen vor, diese Fällungsreaktion als Reinheitsprüfung in den Pharmakopöetext aufzunehmen und formulieren sie wie folgt:

"Wird die Mischung von 0,5 ml Stammlösung, 0,5 ml Wasser und 3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure RS mit 2 ml Dragendorff-Reagens versetzt und einmal kurz durchgeschüttelt, so entsteht binnen einiger Minuten eine voluminöse ziegelrote Fällung. Nach dem Stehen über Nacht dürfen bei der Betrachtung des Niederschlages unter dem Mikroskop nur nadelförmige Kristalle erkennbar sein (dl.-Ephedrin)."

Im weiteren bestimmten wir die Schmelzbereiche der Kaliumjodowismutate. Die nach obiger Vorschrift erhaltenen Niederschläge wurden mit 20 ml 5 %iger Kaliumjodidlösung gewaschen, scharf abgesaugt und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. In der Literatur fanden wir keine Angaben über Schmelzbereiche der Kaliumjodowismutate von Ephedra-Alkaloiden.

Die von uns bestimmten Schmelzbereiche betragen für das Derivat von:

l-Ephedrin 180,0 - 184,2<sup>o</sup> (korr.) unter Zersetzung, Verfärbung bei ca.  
170<sup>o</sup>  
176,0 - 180,0<sup>o</sup> (unkorr.)

dl-Ephedrin 168,4 - 171,6<sup>0</sup> (korr.) unter Zersetzung, Verfärbung bei ca. 155<sup>0</sup>  
165,0 - 168,0<sup>0</sup> (unkorr.)

Mit d-Pseudoephedrin entsteht eine klebrige, an den Wandungen des Reagensglases anhaftende Fällung, welche sich nach einigem Stehen teils amorph, teils in kristallinen Nadeln absetzt. Die Nadeln sind kürzer und breiter als beim l-Ephedrin-Derivat. Das Derivat von d-Pseudoephedrin wies einen unscharfen Schmelzbereich bei ca. 90<sup>0</sup> auf.

Da die Schmelzbereiche der Kaliumjodowismutate von l-Ephedrin und dl-Ephedrin sehr nahe beieinanderliegen und die Derivate unter Zersetzung schmelzen, verzichten wir für Pharmakopöezwecke auf die Bestimmung dieses Schmelzbereiches.

Herstellung des Reineckates: Aus der Literatur konnten wir keine Angaben über Herstellung und Schmelzbereiche der Reineckate von Ephedra-Alkaloiden entnehmen. Nach Bandelin (48) wird Ephedrin als Reineckat nicht quantitativ gefällt. Wir stellten die Reineckate von l-Ephedrin, dl-Ephedrin und d-Pseudoephedrin wie folgt her:

"Die Mischung von 1 ml Stammlösung und 4 Tropfen verdünnter Salzsäure RS wird mit 5 ml Ammoniumreineckat RS versetzt und das Fällungsgemisch 1 Stunde lang im Eisschrank belassen. Die kristalline Fällung wird abgesaugt, mit 5 ml Eiswasser gewaschen und in 5 ml siedendem Wasser gelöst. Nach zweistündigem Stehen im Eisschrank werden die aus der wässrigen Lösung abgeschiedenen Kristalle abgesaugt und während einer Stunde bei 80<sup>0</sup> getrocknet."

Die Derivate wiesen folgende Schmelzbereiche (unter Zersetzung) auf:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
l-Ephedrinreineckat	131,0 - 133,0 <sup>0</sup>	132,8 - 134,9 <sup>0</sup>
dl-Ephedrinreineckat	150,0 - 152,5 <sup>0</sup>	153,2 - 155,3 <sup>0</sup>
d-Pseudoephedrinreineckat	156,0 - 158,0 <sup>0</sup>	159,0 - 161,1 <sup>0</sup>

Etwa 5<sup>0</sup> vor dem angegebenen Schmelzbereich beginnen sich die Derivate zu verfärben, um dann während des Schmelzbereiches zu einer schwarzbraunen, klaren Schmelze zu zerfließen.

Herstellung des Tetraphenylborates: In Anlehnung an die von Keller und Weiss (49) für die quantitative Bestimmung von Ephedrin mit Kalignost angegebene Vorschrift stellten wir die Derivate folgendermassen her:

"1 ml Stammlösung wird mit 30 ml Wasser und 8 Tropfen verdünnter Essigsäure RS versetzt und die Mischung auf 40<sup>o</sup> erwärmt. Dann werden unter häufigem Umrühren tropfenweise 4 ml Kalignost RS zugefügt und das Fällungsgemisch auf 18<sup>o</sup> abgekühlt. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit 10 ml Wasser gewaschen und in 4 ml Methylalkohol gelöst. Tropfenweises Zufügen von 4 ml Wasser bewirkt das Ausfallen eines kristallinen Niederschlages, welcher nach Absaugen und Waschen mit 5 ml Wasser während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet wird. Bei der Bestimmung des Schmelzbereiches ist das Bad auf ca. 110<sup>o</sup> vorzuwärmen bevor die Substanzprobe eingeführt wird."

Wir fanden für die Derivate der drei untersuchten Alkaloide folgende Schmelzbereiche:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
l-Ephedrin-tetraphenylborat	118,0 - 120,0 <sup>o</sup>	119,3 - 121,4 <sup>o</sup>
dl-Ephedrin-tetraphenylborat	118,8 - 121,5 <sup>o</sup>	120,2 - 123,0 <sup>o</sup>
d-Pseudoephedrin-tetraphenylborat	117,5 - 120,0 <sup>o</sup>	118,8 - 121,4 <sup>o</sup>

Nach den Literaturangaben weist der Schmelzbereich von Ephedrin-tetraphenylborat erhebliche Schwankungen auf.

Keller und Weiss (49)	124 <sup>o</sup>	aus Ephedrinhydrochlorid hergestellt
Scott, Doukas und Schafer (50)	135-138 <sup>o</sup>	aus Ephedrinhydrochlorid hergestellt
Fischer und Karawia (51)	80- 83 <sup>o</sup>	aus Ephedrinsulfat hergestellt

Aus genannten Literaturstellen geht nicht hervor, ob es sich um l-Ephedrin oder um die dl-Verbindung handelt, ferner fehlen z.T. Angaben über Herstellung und Umkristallisation der Verbindung. Keller und Weiss (49) geben eine Trocknungstemperatur von 120<sup>o</sup> an. Wir stellten fest, dass bei dieser Temperatur sowohl das Derivat von l-Ephedrin, als auch dasjenige des Razemates zersetzt werden, und dass schon bei 80<sup>o</sup> Verfärbungen auftreten. Weiter machten wir die Beobachtung, dass durch Umkristallisieren in der Wärme schon bei etwa 50<sup>o</sup> der Schmelzbereich erniedrigt wird.

Herstellung des Silikowolframates: 1-Ephedrinbase:

"Die Mischung von 0,5 ml Stammlösung und 0,5 ml Wasser wird mit 1 ml Silikowolframsäure RS versetzt. Es entsteht eine milchige Trübung, beim Schütteln bildet sich allmählich eine amorphe Fällung, welche an der Reagensglaswandung anhaftet. Nach einigen Stunden setzt sich die Fällung ab. Unter dem Mikroskop betrachtet dürfen nur amorphe Teilchen aber keine Kristalle erkennbar sein (dl-Ephedrin, d-Pseudoephedrin)."

Bei dl-Ephedrin und d-Pseudoephedrin entsteht anfänglich ebenfalls eine milchige Trübung, welche sich aber nach einigem Schütteln als kristalline Fällung abscheidet. Die Kristalle sind bereits von Auge gut erkennbar. Diese wurden mit 10 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet.

Die Schmelzbereiche betragen:

	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
dl-Ephedrin-Silikowolframat	180,0 - 184,0 <sup>0</sup>	184,2 - 188,4 <sup>0</sup>
d-Pseudoephedrin-Silikowolframat	238,0 - 241,0 <sup>0</sup>	245,4 - 248,7 <sup>0</sup>

Bei beiden Substanzen fand keine Zersetzung am Schmelzpunkt statt, sie zerflossen zu einer klaren, durchsichtigen Schmelze.

Aus der Literatur sind keine Angaben über die Schmelzbereiche dieser Verbindungen bekannt.

Herstellung des Pikrates:

1-Ephedrinpikrat:

"Versetzt man 1 ml Stammlösung mit 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS und dann tropfenweise mit 3 ml Pikrinsäure RS, so entsteht eine gelbe Trübung, die sich unter schwachem Erwärmen wieder löst. Man lässt erkalten, bis die Trübung wieder erscheint und beschleunigt durch Reiben der Reagensglaswände mit einem Glasstab die Ausfällung. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit 5 ml Wasser gewaschen und in 4 ml heissem Benzol gelöst. Nach dem Erkalten hat sich das Pikrat in Form von feinen Nadeln abgeschieden. Die Kristalle werden abgesaugt, mit 5 ml Benzol gewaschen und während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Ihr Schmelzbereich muss zwischen 93<sup>0</sup> und 95<sup>0</sup> (korr.) liegen.

dl-Ephedrinpikrat:

"Versetzt man 1 ml Stammlösung mit 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS und dann tropfenweise mit 3 ml Pikrinsäure RS, so scheiden sich nach einigen Minuten aus der klaren Lösung gelbe, nadelförmige Kristalle ab.

Man lässt über Nacht stehen, bis die Ausscheidung vollständig ist. Die Kristalle werden abgesaugt, mit 5 ml Wasser gewaschen und aus 1,5 ml siedendem Wasser umkristallisiert. Ihr Schmelzbereich muss nach dem Trocknen bei 103 - 105° während einer Stunde zwischen 146° und 148° (korr.) liegen."

d-Pseudoephedrinpikrat:

"Versetzt man 1 ml Stammlösung mit 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS und dann tropfenweise mit 3 ml Pikrinsäure RS, so entsteht anfänglich eine gelbe Trübung, welche sich aber wieder fast völlig löst. Beim Schütteln der beinahe klaren Lösung scheiden sich dünne, zu Büscheln vereinigte Nadeln ab. Diese werden mit 5 ml Wasser gewaschen und aus 1,5 ml siedendem Wasser umkristallisiert. Ihr Schmelzbereich muss nach dem Trocknen bei 103 - 105° während einer Stunde zwischen 146° und 148° (korr.) liegen."

Nach einer Literaturstelle (52) werden die Pikrate aus siedendem Wasser umkristallisiert. Dies gelingt gut bei dl-Ephedrinpikrat und d-Pseudoephedrinpikrat, welche aus der wässrigen Lösung nach dem Erkalten sofort auskristallisieren. Bei l-Ephedrinpikrat hingegen scheiden sich die Kristalle erst nach längerem Stehen wieder ab. Wir schlagen deshalb vor, l-Ephedrinpikrat aus Benzol umzukristallisieren. Wie wir feststellten, weist aus Benzol umkristallisiertes l-Ephedrinpikrat den gleichen Schmelzbereich auf wie die aus Wasser erhaltene Substanz.

Die Schmelzbereiche der Pikrate nach den Literaturangaben, sowie unseren Bestimmungen, sind aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich.

	<u>Literatur</u>	<u>eigene Bestimmungen</u>	
		<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
l-Ephedrinpikrat	93 - 95° (59, 52)	92,8 - 94,2°	93,2 - 94,6°
dl-Ephedrinpikrat	142° bzw. 145 - 147° (52)	144,0 - 145,2°	146,4 - 147,7°
d-Pseudoephedrinpikrat	145 - 147° (59, 52)	144,0 - 145,5°	146,4 - 148,0°

Von den aufgeführten Möglichkeiten der Identifizierung der l-Ephedrinbase durch Herstellung eines Derivates, scheint uns das Pikrat am geeignetsten, da dieses einen scharfen Schmelzbereich besitzt, welcher zudem genügenden Abstand von demjenigen des dl-Ephedrinpikrates aufweist. Wir schlagen deshalb die Herstellung des Pikrates vor unter Aufnahme der oben angeführten Formulierung in den Pharmakopöetext.

Papierchromatographische Prüfung:

a) Bisherige Untersuchungen:

Einzelne Ephedra-Alkaloide, vornehmlich Ephedrin, wurden im Verband mit anderen sympathicomimetischen Substanzen papierchromatographisch untersucht; eine Auftrennung der in den Ephedra-Arten vorkommenden natürlichen Alkaloide ist hingegen noch nicht beschrieben worden. In der Reihe der Sympathicomimetica fanden am häufigsten aus n-Butanol, Eisessig und Wasser zusammengesetzte Verteilungsmittel Verwendung. Nach Pohloudek-Fabini und König (53) soll im besonderen das sogenannte Partridge-Gemisch (n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5) günstige Verteilungsergebnisse liefern. Mit der papierchromatographischen Trennung von d-Ephedrin und l-Ephedrin beschäftigten sich Kariyone und Hashimoto (54), welche aufsteigend mit dem Gemisch n-Butanol-Eisessig-Wasser 5:1:4 arbeiteten. Die angegebenen Rf-Werte (dl-Ephedrin 0,78, l-Ephedrin 0,82, d-Ephedrin 0,79) lassen erkennen, dass die optischen Isomeren in diesem System nicht getrennt werden können. Wickström und Salvesen (55) chromatographierten u. a. l-Ephedrin und d-Pseudoephedrin in verschiedenen sauren Systemen (n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5, n-Butanol-Toluol-Wasser-Eisessig 10:10:5:5, Aethylazetat-Wasser-Eisessig 3:3:1, Chloroform-Wasser-Eisessig 10:5:4) konnten aber keine Trennung der beiden diastereomeren Substanzen erreichen. Eine Trennung der optischen Isomeren war bei den untersuchten Sympathicomimetica mit diesen Systemen ebenfalls nicht möglich. Wagner (56) verwendete als mobile Phase n-Butanol mit Wasser gesättigt und chromatographierte Ephedrin neben anderen Sympathicomimetica an gepufferten Papieren (pH = 3,0 - 12,0). Die besten Trennungen erhielt der Autor bei pH = 4,0 (Rf-Wert für Ephedrin = 0,64). Ein Verfahren zur Auftrennung der optischen Isomeren in der Reihe der Sympathicomimetica wurde von Alessandro und Calderera (57) beschrieben. Die Autoren arbeiteten nach der Rundfiltermethode mit Zuführung der mobilen Phase (n-Butanol-Eisessigsäure 95 % - Wasser 4:1:5) durch eine Kapillare von oben und fanden für die optischen Antipoden unterschiedliche Rf-Werte. Diese betragen für l-Ephedrin 0,89 und für d-Ephedrin 0,55. Bei einer Nachbearbeitung von Wagner (56) erwies sich das Verfahren jedoch als nicht reproduzierbar. Pohloudek-Fabini und König (53) untersuchten die Brauchbarkeit des Partridge-Gemisches als Verteilungsmittel für eine Anzahl Sympathicomimetica. Die Autoren chromatographierten aufsteigend nach der Zylindermethode und geben Rf-Werte von 16 Substanzen an. Für Ephedrin beträgt der Rf-Wert 0,73, für Norephedrin 0,71. Mit Hilfe der Rundfilterchromatographie, sowie später auch aufsteigend (Zylindermethode) gelang den Autoren die Trennung von Ephedrin und Norephedrin. Sie verwendeten dabei mit Phenol imprägnierte Papiere als stationäre und 0,01 N-Salzsäure als mobile Phase; es werden diesbezüglich keine Rf-Werte angeführt.

b) Eigene Untersuchungen:

Wir arbeiteten zunächst mit dem Partridge-Gemisch (n-Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5) und stellten die Verteilung der als Reinsubstanzen erhältlichen Ephedra-Alkaloide fest. Zur Verwendung gelangte Whatman Papier Nr. 1, auf 10-18/46 cm geschnitten, so dass die Laufrichtung quer zur Faserrichtung ver-

läuft. Die Substanzen wurden in Form ihrer Basen oder Salze in Methylalkohol gelöst und in 50 µg entsprechenden Anteilen auf die Startlinie aufgetragen. Die Papierstreifen wurden sodann in das Chromatographiergefäß gebracht und mit der unteren Phase des erwähnten Gemisches während ca. 10 Stunden gesättigt. Die Entwicklung erfolgte aufsteigend mit der Oberphase. In ca. 18 - 20 Stunden wandert die Lösungsmittelfront ca. 30 cm. Zur Sichtbarmachung der Alkaloide wurden die Papierstreifen mit Ninhydrin RS besprüht und bis zum Auftreten der charakteristischen violetten Flecke im Trockenschrank bei 100<sup>o</sup> erhitzt. 1-N-Methylephedrin, welches auf Grund der vollständigen Methylierung am Stickstoff-Atom nicht mit Ninhydrin RS reagiert, wurde mit Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie entwickelt. Wie aus den nachstehend angeführten Rf-Werten (Mittelwerte aus 10 Einzelbestimmungen) ersichtlich ist, liefert das Partridge-Gemisch keine Trennung der Ephedra-Alkaloide.

<u>Substanz</u>	<u>Rf-Wert</u>
l-Ephedrin	0,72
d-Ephedrin	0,71
dl-Ephedrin	0,70
d-Pseudoephedrin	0,71
l-Norephedrin	0,70
l-N-Methylephedrin	0,72

Versuche, welche wir mit dem von Schumacher (29) zur Auftrennung der natürlichen Alkaloidgruppen verwendeten Lösungsmittelgemisch Isobutanol-Toluol 1:1, mit Wasser gesättigt, vornahmen, führten ebenfalls nicht zum Erfolg. Wir chromatographierten aufsteigend an nach Kolthoff (58) gepufferten Whatmann Nr. 1 Papieren (pH = 3,2 - 6,6), welche auf 10-20/46 cm geschnitten waren, Laufrichtung quer zur Faserrichtung. Die Alkaloidbasen bzw. -Salze wurden in Methylalkohol gelöst und in 50 µg entsprechenden Anteilen auf die Startlinie aufgetragen. Nach einer Vorhängezeit von ca. 14 Stunden in dem mit Wasser und der mobilen Phase gesättigten Chromatographiergefäß wurden die Papierstreifen entwickelt. Nachdem die mobile Phase ca. 30 cm vorgedrungen war (ca. 4 Stunden) wurden die Papierstreifen herausgenommen, und es wurde sofort die Frontlinie markiert. Die noch halbfeuchten Chromatogramme wurden mit Ninhydrin RS besprüht und bis zum Erscheinen der violetten Flecke im Trok-

kenschrank bei 100° erhitzt. Die Sichtbarmachung von l-N-Methylephedrin erfolgte mit Dragendorff-Reagens für Papierchromatographie. Die Alkaloide weisen in der mobilen Phase sehr geringe Löslichkeit auf, d. h. die Flecke befinden sich nahe der Startlinie. Der Rf-Wert von l-Ephedrin beträgt 0,07, derjenige von l-N-Methylephedrin 0,10. Die übrigen untersuchten Alkaloide (d-Ephedrin, dl-Ephedrin, l-Norephedrin, d-Pseudoephedrin) wandern wie l-Ephedrin. Ein Einfluss der Reaktion auf die Verteilung konnte im geprüften pH-Bereich nicht festgestellt werden. Es war auch kein Unterschied im Verhalten von Alkaloidbasen und Alkaloidsalzen zu bemerken.

Die Tatsache, dass die Ephedra-Alkaloide Stereoisomere bzw. chemisch sehr nahe verwandte Verbindungen darstellen (z. B. Ephedrin und l-N-Methylephedrin) liess eine Auftrennung dieser Alkaloidgruppe bisher nicht gelingen. Auf die papierchromatographische Identitäts- und Reinheitsprüfung von l-Ephedrinbase und l-Ephedrinhydrochlorid für Pharmakopöezwecke muss daher vorderhand verzichtet werden. Bezüglich der Reinheitsprüfung ist zu bemerken, dass anwesende Nebenalkaloide bei den genannten Substanzen bereits durch andere Prüfungen (z. B. Forderung eines sehr engen Drehungsintervalles) weitgehend erfasst würden.

### Reinheitsprüfungen

#### a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelzbereich: Der Schmelzbereich von l-Ephedrinbase weist nach den Literaturangaben erhebliche Schwankungen auf. Merck Index (59) gibt für die wasserfreie Base einen Schmelzpunkt von 34°, Manske und Holmes (60) einen solchen von 38,1° an. Diese Unterschiede sind darin zu suchen, dass die wasserfreie Substanz sehr hygroskopisch ist und ihr Schmelzbereich durch Wasserabsorption erhöht wird. Für das Hemihydrat, welches einen theoretischen Kristallwassergehalt von 5,17 % aufweist, geben genannte Autoren einen Schmelzbereich von 40° an. Die Monographien fordern für die ungetrocknete Substanz folgende Schmelzbereiche:

USP XIV	33° - 40° (Hemihydrat + wasserfreie Substanz offizinell!)
Brit. Ph. 1958	40° - 41° Hemihydrat

Ph. Dan. 1948 II	39,5 - 42,5 <sup>0</sup>	Hemihydrat
Ph. Belg. IV Suppl.	40 - 41 <sup>0</sup>	Hemihydrat
Svenska F. 1946	40 - 42 <sup>0</sup>	Hemihydrat
Codex Gall. 7	39 - 40 <sup>0</sup>	wasserfreie Substanz

Wir fanden für die ungetrockneten Substanzen folgende Schmelzbereiche:

I	39,5 - 41,5 <sup>0</sup>
II	38,0 - 41,5 <sup>0</sup>
III	37,0 - 41,0 <sup>0</sup>
IV	36,0 - 39,0 <sup>0</sup>
V	39,5 - 42,0 <sup>0</sup>
VI	38,0 - 41,5 <sup>0</sup>
VII	37,5 - 39,0 <sup>0</sup>

Die Substanzen I - VI sind Hemihydrate, VII stellt die wasserfreie Substanz dar.

Da der Schmelzbereich der Base bei verhältnismässig tiefer Temperatur liegt (nur etwa 20<sup>0</sup> über Zimmertemperatur) und auch die Muster des stabilen Hemihydrates ein z.T. grosses Intervall aufweisen, schlagen wir vor, von der Bestimmung dieses Schmelzbereiches abzusehen und analog NNR 1941 den Schmelzbereich des Hydrochlorides bestimmen zu lassen. Brit.Ph.1958 führt neben dem Schmelzbereich der Base ebenfalls noch denjenigen des Hydrochlorides an.

Die Schmelzbereiche des Hydrochlorides betragen nach den Literaturangaben:

Merck Index 6 <sup>th</sup> Ed. (59)	216 - 220 <sup>0</sup>
Manske und Holmes (60)	220 - 221 <sup>0</sup>
Lebeau und Janot (61)	215 <sup>0</sup>
Merck (62)	218 - 219 <sup>0</sup>

Brit.Ph. 1958 fordert im Artikel Ephedrine für das aus der Base hergestellte Hydrochlorid ca. 218<sup>0</sup>, NNR 1941 214 - 220<sup>0</sup>.

Wir stellten das Hydrochlorid wie folgt her und schlagen diese Formulierung für den Pharmakopöetext vor:

"Die Lösung von 0,2 g 1-Ephedrinbase in 30 ml Chloroform wird etwa 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die nach dem Verdunsten des Chloroforms ausgeschiedenen Kristalle werden zuerst mit 10 ml Chloroform, dann noch zweimal mit je 5 ml Chloroform gewaschen. Die Kristalle geben die Identitätsreaktion auf Chlorid und zeigen nach dem Trocknen bei 103 - 105° einen Schmelzbereich von 217,0 - 220,0° (korr.)"

Die Schmelzbereiche der nach dieser Vorschrift hergestellten Hydrochloride unserer Muster betragen:

<u>Muster</u>	<u>Schmelzbereiche</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	212,5 - 213,5°	218,4 - 219,5°
II	212,5 - 214,0°	218,4 - 219,9°
III	212,0 - 213,0°	217,9 - 218,9°
IV	212,3 - 213,8°	218,2 - 219,8°
V	212,5 - 214,0°	218,4 - 219,9°
VI	213,0 - 214,0°	218,9 - 219,9°
VII	212,5 - 213,8°	218,4 - 219,8°

Ph. Helv. V fordert im Artikel Ephedrinum hydrochloricum ein Schmelzintervall von 212 - 215° (unkorr.) bzw. 217,9 - 221,1° (korr.).

Da die Schmelzbereiche der Hydrochloride unserer Muster an der unteren Intervallgrenze liegen, wäre es u. E. angezeigt, das Schmelzintervall vorzuverlagern und zu fordern, dass der Schmelzbereich des aus der Base hergestellten Hydrochlorides zwischen 217,0° und 220,0° (korr.) liegen muss.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen:

"0,8 g feinst pulverisierte 1-Ephedrinbase müssen sich in 20 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser klar und farblos völlig lösen."

Diese Lösung (4 %ig = ca. 0,22 molar) verwendeten wir als Stammlösung S für die meisten Identitäts- und Reinheitsprüfungen. Die Prüfung auf völlige Löslichkeit ist von Bedeutung, denn d-Pseudoephedrinbase ist in Wasser weit weniger löslich. Deshalb lassen wir auch eine konzentriertere Stammlösung herstellen als Ph. Dan. (2 %ig) und Svenska F. (1 %ig). Ein Vergleich der Färbungen mit den Farbvergleichslösungen ist nicht notwendig, denn alle Muster ergaben wasserklare und farblose Lösungen.

Reaktion der Stammlösungen: Nach Merck Index (59) soll der pH-Wert einer 0,5 %igen wässrigen Lösung der Base 10,80 betragen. USP XIV, Brit. Ph. 1958 und NNR 1941 fordern, dass die wässrige Lösung alkalisch gegenüber Lakmus reagieren muss, während Ph. Belg. IV, Suppl. 1951, Ph. Dan. II 1948 und Svenska F. 1946 nur alkalische Reaktion verlangen.

Wir führten die Prüfung mit den Stammlösungen unserer Muster aus. Die potentiometrische Bestimmung erfolgte mit der kombinierten Elektrode 121 UX, welche bis zum pH-Wert 14 verwendet werden kann. Da die starke Alkalität der l-Ephedrinbase den Gebrauch der Farbtabelle des III. Supplementes zur Ph. Helv. V verunmöglicht, wurden die pH-Vergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III herangezogen, die sich bei unseren Untersuchungen bewährten.

Die ermittelten pH-Werte betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u> <u>potentiometrisch</u>	<u>pH-Wert</u> <u>pH-Vergleichslösungen</u>
I	11,19	11,00
II	11,12	10,90
III	11,23	11,10
IV	11,16	11,00
V	11,20	11,10
VI	11,25	11,20
VII	11,21	11,10

Im Hinblick auf die erhaltenen Werte stellen wir die Forderung auf, dass der pH-Wert der Stammlösung bestimmt mit pH-Vergleichslösungen zwischen 10,80 und 11,40 liegen muss.

Spezifische Drehung: Für die spezifische Drehung der l-Ephedrinbase fanden sich in der Literatur folgende Angaben:

Manske und Holmes (60)	$[\alpha]_D^{20} = -6,3^\circ$ (Hemihydrat in Alkohol)
Lebeau und Janot (61)	$[\alpha]_D^{20} = -6,0^\circ$ (in Alkohol)
Svenska F. 1946	$[\alpha]_D^{20} = +13^\circ$ (4 %ige Lösung in Wasser)

Die Monographien, mit Ausnahme von Svenska F., lassen die spezifische Drehung mit dem Hydrochlorid bestimmen. Auch Merck Index führt keine spezifische Drehung der Base an, sondern enthält die Angabe, dass die Bestimmung am besten mit dem Hydrochlorid auszuführen sei.

Wir schliessen uns den Vorschlägen der Monographien an und lassen die Bestimmung ebenfalls in einer salzsauren Lösung vornehmen.

Die spezifische Drehung von 1-Ephedrinhydrochlorid beträgt nach den Literaturangaben:

Manske und Holmes (60)	$[\alpha]_D^{20} = - 34^\circ$	in Wasser
Lebeau und Janot (61)	$[\alpha]_D^{20} = - 36,6^\circ$	in Wasser 5 %ige Lösung
Merck Index 6 <sup>th</sup> Ed. (59)	$[\alpha]_D^{20} = - 33$ bis $- 35,5^\circ$	5 %ige Lsg.

Die Monographien gestatten für die salzsaure Lösung der Base folgende Drehungsintervalle:

USP XIV	in 5 %iger Lösung <sup>*)</sup>	: -33 bis -35,5 <sup>o</sup>
Brit.Ph.1958	in 5 %iger Lösung	: -33 bis -35,5 <sup>o</sup>
Ph.Dan. II 1948	in 4,7%iger Lösung	: -33 bis -36,2 <sup>o</sup>
Ph.Belg. IV Suppl. 1951	in 5,8%iger Lösung	: -33 bis -35 <sup>o</sup>
NNR 1941	in 12,2%iger Lösung	: -33 bis 35,5 <sup>o</sup>

\*) Die Prozent-Gehalte der Lösungen wurden von uns auf das Hydrochlorid bezogen.

Die Mittelwerte unserer Muster betragen für eine 5 %ige Lösung (Gew./Vol.)

I	- 34,69 <sup>o</sup>
II	- 34,70 <sup>o</sup>
III	- 34,63 <sup>o</sup>
IV	- 34,91 <sup>o</sup>
V	- 34,57 <sup>o</sup>
VI	- 34,80 <sup>o</sup>
VII	- 34,75 <sup>o</sup>

In Anlehnung an diese Werte, glauben wir uns der sehr strengen Forderung der Ph. Helv. V, welche für den Artikel Ephedrinum hydrochloricum ein Drehungsintervall von  $-34^{\circ}$  bis  $-35^{\circ}$  gestattet, anschliessen zu können. Die Forderung muss streng sein, da die Bestimmung der spezifischen Drehung eine sehr wichtige Prüfung zur Erkennung von Nebenalkaloiden und dl-Ephedrin darstellt.

Wir schlagen für den Pharmakopöetext folgende Formulierung vor:

"Die spezifische Drehung der salzsauren Lösung des Alkaloides muss zwischen  $-34^{\circ}$  und  $-35^{\circ}$  liegen.  
(Dementsprechend darf der Drehungswinkel einer Lösung von 0,8637 g ungetrockneter kristallwasserhaltiger l-Ephedrinbase, entsprechend 1,0000 g l-Ephedrinhydrochlorid, in 6 ml 1 N-Salzsäure + Wasser zu 20 ml, bei  $20^{\circ}$  im 200-mm-Rohr bestimmt, nicht weniger als  $-3,4^{\circ}$  und nicht mehr als  $-3,5^{\circ}$  betragen)."

b) Chemische Reinheitsprüfung

Abwesenheit von Alkalimetallen: Einige Kristalle l-Ephedrinbase dürfen nach dem Verbrennen am Platindraht die nicht leuchtende Flamme höchstens rasch vorübergehend gelb, bei Betrachtung durch das Kobaltglas jedoch nicht rosa färben (Natrium, Kalium). In allen Mustern waren zulässige Spuren Natrium nachweisbar.

Abwesenheit von Schwermetallen: Diese Prüfung wird einzig von Ph. Dan. II 1948 vorgenommen, welche fordert, dass in der 2 %igen Stammlösung keine Schwermetalle nachweisbar sein dürfen. Wir führten die Prüfung nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI aus und schreiben ebenfalls Abwesenheit von Schwermetallen vor, da diese Forderung von sämtlichen Mustern erfüllt wurde.

Abwesenheit von Chlorid und Sulfat: Die Mehrzahl der Monographien lässt auf Chlorid und Sulfat prüfen. Diese Prüfung ist nicht nur als Reinheitsprüfung wichtig, sondern auch um Verwechslungen der Base mit den im Handel gebräuchlichen Salzen auszuschliessen. Die Prüfungen wurden nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI in der Stammlösung vorgenommen und fielen mit allen Mustern negativ aus. Die Forderungen für den Pharmakopöetext werden entsprechend formuliert.

Abwesenheit von Oxalat: Auf Oxalat, welches aus der Darstellung anwesend sein kann, lässt nur Brit.Ph.1958 prüfen; sie verwendet für diese Prüfung 0,5 g Substanz. Da nach unseren Feststellungen mit folgender Reaktion noch etwa 0,1 % Oxalsäure nachgewiesen werden kann, schien uns die Ausführung mit 5 ml Stammlösung bzw. 0,2 g 1-Ephedrinbase für angemessen. Wir formulieren die Reaktion wie folgt:

"5 ml Stammlösung werden mit verdünnter Salzsäure RS neutralisiert. Auf Zusatz von 1 ml Kalziumchlorid RS darf innerhalb 10 Minuten weder eine Fällung noch eine Trübung entstehen (Oxalsäure)."

Sämtliche der geprüften Muster entsprachen dieser Forderung.

Prüfung auf konz. Schwefelsäure färbende Verunreinigungen: Ausser Ph. Dan. II 1948, welche für die Färbung eine Grenzprüfung anführt, und Svenska F. 1946, welche Farblosigkeit der Lösung verlangt, lässt keine der Monographien auf konz. Schwefelsäure färbende Verunreinigungen prüfen.

Die Lösungen von 60 mg 1-Ephedrinbase in 2 ml konz. Schwefelsäure zeigten beim Vergleich mit den Farbvergleichslösungen folgende Färbungen:

Muster	I	II	III	IV	V	VI	VII
sofort	= G <sub>6</sub>						
5 Min. Zimmer- temperatur	= G <sub>6</sub>						
30 Min. Zimmer- temperatur	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>6</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>6</sub>	= BG <sub>5</sub>
5 Min. Wasserbad	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>4</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>3</sub>	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>
10 Min. Wasserbad	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>4</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>3</sub>	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>

Für den Pharmakopötext formulieren wir die Forderung wie folgt:

"Die Lösung von 60 mg 1-Ephedrinbase in 2 ml konz. Schwefelsäure RS darf sofort betrachtet nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>6</sub>; nach 30 Minuten darf die Lösung höchstens die Färbung von Vergleichslösung BG<sub>5</sub> und nach Erwärmen im Wasserbad während 10 Minuten höchstens die Färbung von Vergleichslösung G<sub>3</sub> oder GG<sub>4</sub> aufweisen."

### Abwesenheit von konz. Salpetersäure färbenden Stoffen:

"Die Lösung von 30 mg l-Ephedrinbase in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS muss farblos sein (Morphin, Bruzin)."

Diese Prüfung wird von der Ph. Helv. V bei den meisten Alkaloiden vorgenommen, um Verwechslungen mit den beiden stark wirkenden Substanzen zu vermeiden. Sämtliche der geprüften Muster lösten sich farblos.

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Wasser- bzw. Feuchtigkeitsgehalt

Die Monographien, mit Ausnahme von NNR 1941, führen keine Bestimmung des Wasser- bzw. Feuchtigkeitsgehaltes an, sondern berücksichtigen diesen bei der Gehaltsbestimmung. Nach NNR 1941 wird die Base in Aether gelöst, dieser unter vermindertem Druck abdestilliert, und der Rückstand über Kalziumchlorid getrocknet. Die Forderung lautet, dass die kristallwasserhaltige Base mindestens 3 % und höchstens 6 % Wasser, die wasserfreie Base höchstens 1,5 % Feuchtigkeit enthalten dürfe. Mit dieser Methode ermittelten wir bei unseren kristallwasserhaltigen Mustern nach Trocknen über Kalziumchlorid während 48 Stunden Wassergehalte, die zwischen 3,5 % und 4 % lagen und somit der gestellten Forderung entsprechen.

Nach unseren Erfahrungen ist das Hemihydrat jedoch eine sehr stabile Substanz und weist nahezu den theoretischen Kristallwassergehalt von ca. 5,2 % auf, so dass die mit dieser Methode erhaltenen Werte nicht den wahren Verhältnissen entsprechen.

Durch Trocknen im Schwefelsäure-Exsikkator während 48 Stunden wies eine sofort nach Eingang bestimmte wasserfreie Substanz einen Feuchtigkeitsgehalt von 1,56 % auf. Bei den kristallwasserhaltigen Substanzen konnte mit dieser Trocknungsart ein Wasserverlust von etwa 3 % erreicht werden. Nachher ist der Wasserverlust nur noch unbedeutend und nach längerer Trocknungsdauer auch nicht mehr genau feststellbar, da l-Ephedrinbase schon bei Zimmertemperatur erheblich flüchtig ist. Read (63) machte die Feststellung, dass der Gewichtsverlust eines der Luft ausgesetzten Musters nach 4 1/2 Monaten 33 % betrug. Wir stellten fest, dass ein im Schwefelsäure-Exsikkator aufbewahrtes Muster innerhalb von 6 Monaten einen Gewichtsverlust von 9,47 % aufwies. Bei längerer

Trocknungsdauer gehen also Wasserverlust und Gewichtsverlust, letzterer bedingt durch Flüchtigkeit der Substanz, nebeneinander her.

Da die Wasserbestimmung nach Karl Fischer für kristallwasserhaltige Verbindungen die Methode der Wahl darstellt, möchten wir dieser Bestimmungsart den Vorzug geben.

Die mittels der Karl Fischer-Titration festgestellten Wasser- bzw. Feuchtigkeitsgehalte in % sind die folgenden:

Muster	I	II	III	IV	V	VI	VII
Wassergehalt	5,09	5,08	5,12	5,07	5,14	5,03	
Feuchtigkeitsgehalt							0,14 <sup>*)</sup>

\*) Muster Nr. VII = wasserfreie Base, über Silikagel aufbewahrt.

In Anlehnung an diese Resultate können wir fordern, dass der Wassergehalt der kristallwasserhaltigen l-Ephedrinbase bestimmt mit 1 g nach Karl Fischer mindestens 4,8 % und höchstens 5,4 % betragen muss.

Untersuchungen bezüglich der Hygroskopie: Wie bereits erwähnt, waren die als wasserfrei deklarierten Muster während der Lagerung von etwa 6 Monaten in die kristallwasserhaltigen Verbindungen übergegangen. Die Muster waren in einem Schraubdeckelglas - wie wir sie vom Hersteller bezogen hatten - aufbewahrt und während dieser Zeit nicht geöffnet worden. Dieses Verhalten der Substanz gab uns Anlass, festzustellen, in welcher Zeit die wasserfreie Base bei einem konstanten Angebot von Luftfeuchtigkeit in das Hemihydrat übergeht. Gleichzeitig überprüften wir das Verhalten des Hemihydrates, welches nach Moore und Tabern (64) eine stabile Substanz darstellt, die weder Wasser aufnimmt, noch leicht Wasser abgibt.

Für diese Untersuchung verwendeten wir frisch eingegangene l-Ephedrinbase, deren Gehalt im Mittel 98,28 % betrug. Je 0,5 g fein pulverisierte Base wurden im Schwefelsäure-Exsikkator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Trocknung erfolgte während 48 Stunden, der ermittelte Feuchtigkeitsgehalt betrug 1,56 %. Drei auf diese Art vorbehandelte Proben desselben Musters wurden einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % ausgesetzt, dh. in einem Exsikkator aufbewahrt,

welcher mit 38 %iger Schwefelsäure beschickt war. Die Feuchtigkeitszunahme wurde auf das nach der Trocknung über konz. Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz ermittelte Gewicht bezogen. Die Wägungen erfolgten nach 30', 1<sup>h</sup>, 4<sup>h</sup>, 6<sup>h</sup>, 24<sup>h</sup> und 3 Tagen.

Die Feuchtigkeitszunahme in % nach den einzelnen Wägungen ist in folgender Tabelle veranschaulicht.

Tabelle 4 Feuchtigkeitszunahme einiger Muster innerhalb von 3 Tagen

Zeit	Feuchtigkeitszunahme in %			
	Probe I	Probe II	Probe III	Mittelwert
30'	0,22	0,14	0,16	0,17
60'	0,36	0,26	0,33	0,32
4 <sup>h</sup>	3,16	3,79	2,92	3,29
6 <sup>h</sup>	3,85	4,15	4,15	4,05
24 <sup>h</sup>	4,21	4,87	4,41	4,50
48 <sup>h</sup>	4,65	4,99	4,79	4,81
3 Tage	4,88	5,16	5,04	5,03

In der ersten Stunde ist die Zunahme gering, um dann nach 6 Stunden bereits 4 % zu erreichen. Nachher erfolgt der Anstieg nicht mehr rasch. Nach 3 Tagen ist keine Zunahme mehr zu verzeichnen.

Der Feuchtigkeits- bzw. Wassergehalt der drei Proben nach Aufbewahrung in einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % beträgt somit:

Probe I	Probe II	Probe III
4,65 %	4,90 %	4,80 %

Von jeder der drei Proben wurde sodann der Wassergehalt nach Karl Fischer bestimmt. Es ergaben sich folgende Werte:

Probe I	Probe II	Probe III
5,07 %	5,15 %	5,22 %

Die mit der Karl Fischer-Methode ermittelten Werte liegen etwas höher. Der Grund dafür liegt darin, dass die bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Ausgangssubstanz noch etwas Feuchtigkeit enthielt, welche bei der nachfolgenden Prüfung auf Feuchtigkeitszunahme nicht erfasst werden konnte. Der theoretische Kristallwassergehalt des Hemihydrates beträgt 5,17 %. Die Werte der Karl Fischer-Bestimmung, welche als die genaueren zu betrachten sind, entsprechen diesem theoretischen Wert.

Gleichzeitig mit den Proben des wasserfreien Musters wurden zwei Proben eines als Hemihydrat vorliegenden Musters der relativen Luftfeuchtigkeit von 60% ausgesetzt. Dieses Muster wies einen mittleren Gehalt von 94,63 % auf. Die Proben zeigten innerhalb der beobachteten Zeit keine Gewichtszunahme.

Die Karl Fischer-Titration ergab folgende Werte:

Probe I	Probe II
5,13 %	5,26 %

Diese Wassergehalte entsprechen dem Hemihydrat, woraus folgt, dass letzteres eine beständige Substanz darstellt und nicht die Tendenz aufweist, in höher kristallwasserhaltige Verbindungen überzugehen.

Aus dem beschriebenen Versuch geht hervor, dass wasserfreie 1-Ephedrinbase ausserordentlich hygroskopisch ist und bei Einwirkung von Luftfeuchtigkeit soviel Feuchtigkeit aufnimmt, als zur Bildung des Hemihydrates notwendig ist. Das entstandene Hemihydrat ist stabil und behält auch bei weiterem Angebot von Luftfeuchtigkeit einen konstanten Kristallwassergehalt von ca. 5,2 %.

Das starke hygroskopische Verhalten der wasserfreien 1-Ephedrinbase veranlasste uns im weiteren dazu, ein Muster sofort nach Eingang in verschiedenartige Gläser abzufüllen und nach bestimmter Zeit den Feuchtigkeitsgehalt mittels der Karl Fischer-Methode zu überprüfen. Nach ca. zwei Monaten wies die in einem Schraubdeckelglas aufbewahrte Probe bereits 4,36 % Feuchtigkeit auf. Bei der in einer Glasstopfenflasche aufbewahrten Substanz resultierte der immerhin beträchtliche Gehalt von 2,80 %, während eine in einer Hohlstopfenflasche über Silikagel aufbewahrte Probe einen Gehalt von nur 0,14 % Feuchtigkeit zeigte.

Wir leiten daraus die Folgerung ab, dass wasserfreie 1-Ephedrinbase über einem Trocknungsmittel aufzubewahren ist, denn nur bei solcher Aufbewahrung ist ein konstanter Gehalt von annähernd 100 % Base gewährleistet.

b) Verbrennungsrückstand

Nach den meisten Vorschriften soll der nicht verbrennbare Anteil höchstens 0,1 % betragen. Svenska F. 1946, welche die Bestimmung mit nur 0,1 g Substanz vornehmen lässt, gestattet maximal 1 %. Wir verwendeten für die Bestimmung 0,5 g Substanz. Unser diesbezüglich schlechtestes Muster wies einen Rückstand von 0,1 % auf, während sämtliche übrigen Muster Rückstände von 0,05 % hinterliessen. In Anbetracht dieser Werte glauben wir uns den Forderungen der Monographien anschliessen zu können und verlangen, dass 0,5 g l-Ephedrinbase keinen wägbaren Verbrennungsrückstand hinterlassen dürfen (0,1 %).

c) Gehaltsbestimmungen

Nach den Angaben der Literatur kann l-Ephedrinbase auf verschiedene Arten bestimmt werden. Ein Verfahren nach Wickstrøm und Salveson (65) beruht auf der kolorimetrischen Bestimmung von Azetaldehyd, der durch Einwirkung von Perjodsäure aus Ephedrin entsteht. Bei dem von Chatten und Pugsley (66) entwickelten Verfahren wird die Farbe des Umsetzungsproduktes von Ephedrin mit Pikrylchlorid in Benzollösung spektrophotometrisch gemessen. Keller und Weiss (49) schlagen die quantitative Bestimmung mit Hilfe von Natriumtetraphenolborat vor.

Sämtliche Monographien lassen eine alkalimetrische Titration ausführen, wobei die alkoholische Lösung der Base mit einem Säureüberschuss versetzt, und dieser dann mit Lauge zurücktitriert wird. Nur Ph. Dan. II 1948 lässt die Base auf direktem Wege mit Säure titrieren.

Die Gehaltsforderungen der Monographien:

USP XIV	mindestens 94 % mindestens 98,5 %	(bei Vorliegen des Hemihydrates) (bei Vorliegen der wasserfreien Base)
Brit. Ph. 1958	94 - 95 %	(bezogen auf die wasserfreie Base)
Ph. Dan. 1948 II	98,4 - 100,2 % 93,3 - 95,0 %	(bezogen auf das Hemihydrat) (bezogen auf die wasserfreie Base)
Ph. Belg. IV Suppl. 1951	94 - 95 %	(bezogen auf die wasserfreie Base)
Codex Gall. 7	mindestens 98,5 %	wasserfreie Base
Svenska F. 1946	93,3 - 95,3 %	(bezogen auf die wasserfreie Base)
NNR 1941	98 - 100 % 94 - 96 %	(bei Vorliegen der wasserfreien Base) (bei Vorliegen des Hemihydrates).

Wir führten folgende Untersuchungen aus:

1. Indirekte alkalimetrische Titration: Ca. 0,3 g ungetrocknete l-Ephedrinbase (genau gewogen) lösten wir in 5 ml säurefreiem Aethanol 94 %, fügten 25 ml 0,1 N-Salzsäure (genau gemessen) und 5 Tropfen Methylrot RS hinzu und titrieren den Säureüberschuss mit 0,1 N-Natronlauge zurück.

1 ml 0,1 N-Salzsäure entspricht 0,01742 g  $C_{10}H_{15}ON \cdot \frac{1}{2} H_2O$

2. Direkte alkalimetrische Titration: Ca. 0,2 g ungetrocknete l-Ephedrinbase (genau gewogen) lösten wir in 10 ml säurefreiem Aethanol 70 % und titrieren unter Verwendung von 3 Tropfen Taschiro-Indikator RS mit 0,1 N-Salzsäure bis zum Farbumschlag in Rotviolett.

1 ml 0,1 N-Salzsäure entspricht 0,01742 g  $C_{10}H_{15}ON \cdot \frac{1}{2} H_2O$

Muster III titrierten wir ausserdem noch potentiometrisch und führten als Indikator entweder Methylrot RS oder Taschiro-Indikator RS mit, um festzustellen, welcher der beiden Indikatoren besser geeignet sei. Wir ermittelten folgende Werte in %:

<u>Methylrot</u>		<u>Taschiro-Indikator</u>	
<u>visuell</u>	<u>potentiometrisch</u>	<u>visuell</u>	<u>potentiometrisch</u>
99,77	99,71	99,67	99,72
99,89	99,75	99,87	99,74
99,68	99,69	99,77	99,72
99,78	99,72	99,77	99,74 Mittelwert

Wie aus den Titrationskurven (Abb. 4) ersichtlich ist, liegen die Umschlagspunkte beider Indikatoren im Bereich des grössten Potentialsprungs (Äquivalenzpunkt der zu titrierenden Base). Daraus geht hervor, dass für die alkalimetrische Titration von l-Ephedrinbase mit 0,1 N-Salzsäure sowohl Methylrot RS als auch Taschiro-Indikator RS verwendet werden kann.

3. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig: Diese Bestimmung wurde in einer gegen Luftfeuchtigkeit vollkommen abgeschlossenen Apparatur ausgeführt,

da die Substanz azetylierbar ist und deshalb weder Vorlage noch Lösungsmittel oder Titrierflüssigkeit Essigsäureanhydrid im Ueberschuss enthalten dürfen. Wir verwendeten die von der Ph. Helv. V, Suppl. III zur Bestimmung des Wassergehaltes nach Karl Fischer vorgeschriebene Apparatur. Das eine Vorratsgefäss enthielt den als Lösungsmittel bestimmten wasserfreien Eisessig, das zweite Vorratsgefäss die Titrierflüssigkeit (0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig). Die Trockenrohre der Vorratsgefässe waren mit Essigsäureanhydrid beschickt.

Für die potentiometrischen Kontrollbestimmungen lösten wir jeweils ein Millimol = 0,1742 g ungetrocknete l-Ephedrinbase in 50 ml wasserfreiem Eisessig und titrierten nach Zusatz von 3 Tropfen Kristallviolett RS mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum grössten Potentialsprung, indem wir die Farbänderung des Indikators beobachteten. Der Umschlag erfolgt von Reinblau nach Grünstichigblau und ist auf einen Tropfen genau zu erkennen. Die Titrationskurve ist aus Abb. 5 ersichtlich.

Für die visuelle Titration lösten wir jeweils ca. 0,2 g ungetrocknete l-Ephedrinbase (genau gewogen) in 30 ml wasserfreiem Eisessig und titrierten unter Verwendung von 3 Tropfen Kristallviolett RS mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum ersten Grünstich.

1 ml 0,1 N-Perchlorsäure entspricht 0,01742 g  $C_{10}H_{15}ON \cdot \frac{1}{2} H_2O$

Die Titrationsen wurden so rasch als möglich ausgeführt, um die Azetylierung, welche unter Umständen sogar schon in anhydridfreiem Eisessig stattfinden kann, zu verunmöglichen. Wir erhielten jedoch auch bei den etwas mehr Zeit beanspruchenden potentiometrischen Titrationsen stets Resultate, die eine Azetylierung der Substanz ausschliessen. Der Kristallwassergehalt der Base wurde ebenfalls nicht als störend empfunden.

4. Gravimetrische Bestimmung als Tetraphenylborat: Im Prinzip verfahren wir nach der von Keller und Weiss (49) vorgeschlagenen Methode.

Wir lösten ca. 50 mg l-Ephedrinbase (genau gewogen) in der Mischung von 50 ml Wasser und 10 Tropfen verdünnter Essigsäure RS (pH-Wert ca. 4,5) und versetzten die auf 40° erwärmte essigsäure Lösung tropfenweise unter häufigem Umrühren mit 6 ml klar filtriertem Kalignost RS. Nach dem Abkühlen auf 18° filtrierten wir durch einen Glasfiltertiegel G<sub>4</sub>. Dann wurde der Niederschlag

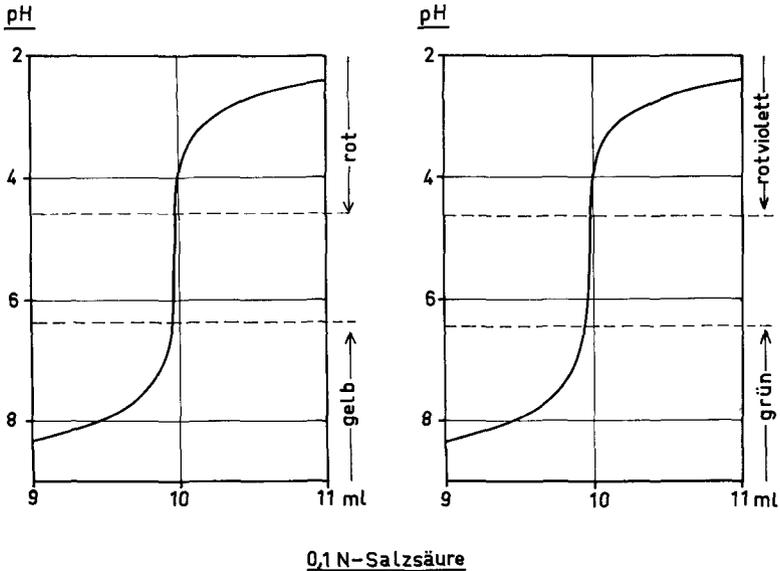


Abb. 4 Titrationskurve von l-Ephedrinbase

Einwaage: 1 Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 11 ml 0,1 N-Salzsäure; Indikator: Methylrot RS oder Taschiro-Indikator RS

zuerst mit 50 ml einer Waschflüssigkeit (bestehend aus 3 ml Kalignost RS und 0,5 ml konzentrierter Essigsäure RS auf 100 ml Wasser) und nachher noch mit 5 ml Eiswasser gewaschen, scharf abgesaugt und bei 60° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Genannte Autoren geben eine Trocknungstemperatur von 120° an, wir stellten jedoch schon bei 20° Verfärbungen der Niederschläge fest.

1 g Ephedrin-tetraphenylborat entspricht 0,3597 g  $C_{10}H_{15}ON \cdot \frac{1}{2} H_2O$

Es ergaben sich folgende Resultate:

Muster III	92,86 %	96,55 %
	93,96 %	94,20 %

Die mit dieser Methode erhaltenen Werte liegen viel zu tief. Die grossen Schwankungen treten wahrscheinlich wegen ungenügender Ausfällung der Tetraphenylborate auf.

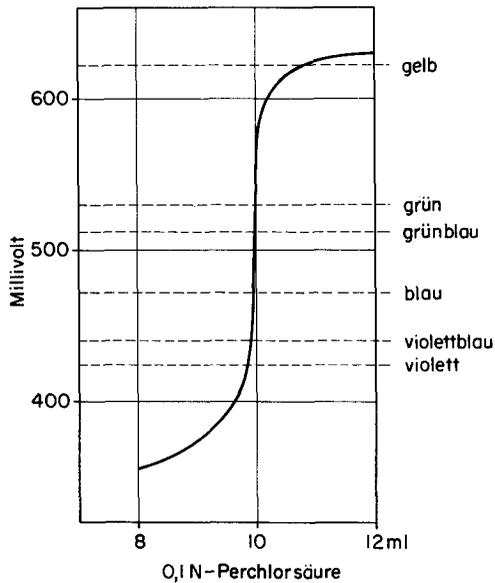


Abb. 5 Titrationskurve von 1-Ephedrinbase

Einwaage: 1 Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 12 ml 0,1 N-Perchlorsäure; Indikator: Kristallviolett RS

5. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Diese Bestimmungsmethode wurde nach der im Allgemeinen Teil angegebenen Vorschrift mit ca. 0,2 g ungetrockneter 1-Ephedrinbase (genau gewogen) vorgenommen. Die geprüften Muster zeigten folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	99,45 %	99,52 %
II	99,38 %	99,25 %
III	99,32 %	99,18 %
IV	99,41 %	99,34 %

V	99,14 %	99,30 %
VI	99,20 %	99,42 %
VII	99,51 %	99,26 %

Zusammenstellung der Resultate (Methode 1 - 3)

<u>Muster</u>	<u>alkalimetrisch</u>	<u>alkalimetrisch</u>	<u>Perchlorsäure</u>
	<u>direkt</u>	<u>indirekt</u>	
I	99,98 %	99,76 %	99,70 % visuell
	99,89 %	99,72 %	99,53 % visuell
	99,90 %	99,88 %	99,59 % potentiometrisch
	99,92 %	99,79 %	99,61 % Mittelwert
II	99,97 %	99,68 %	99,80 % visuell
	99,82 %	99,76 %	99,62 % visuell
	99,98 %	99,88 %	99,67 % potentiometrisch
	99,92 %	99,77 %	99,70 % Mittelwert
III	99,91 %	99,77 %	99,48 % visuell
	99,89 %	99,82 %	99,69 % visuell
	99,85 %	99,78 %	99,61 % potentiometrisch
	99,88 %	99,79 %	99,59 % Mittelwert
IV	99,94 %	99,71 %	99,79 % visuell
	99,89 %	99,89 %	99,70 % visuell
	99,87 %	99,84 %	99,64 % potentiometrisch
	99,90 %	99,81 %	99,71 % Mittelwert
V	99,93 %	99,72 %	99,80 % visuell
	99,88 %	99,84 %	99,59 % visuell
	99,95 %	99,89 %	99,65 % potentiometrisch
	99,92 %	99,82 %	99,68 % Mittelwert
VI	99,82 %	99,57 %	99,55 % visuell
	99,90 %	99,64 %	99,72 % visuell
	99,76 %	99,77 %	99,63 % potentiometrisch
	99,83 %	99,66 %	99,63 % Mittelwert
VII	99,92 %	99,84 %	99,56 % visuell
	99,86 %	99,70 %	99,65 % visuell
	99,78 %	99,73 %	99,68 % potentiometrisch
	99,85 %	99,76 %	99,63 % Mittelwert

In Anlehnung an die erhaltenen Werte ist die strenge Forderung, dass kristallwasserhaltige l-Ephedrinbase mindestens 99,2 % und höchstens 100,2 %  $C_{10}H_{15}ON \cdot 1/2 H_2O$  enthalten muss, wohl berechtigt.

Da eine relativ starke Base vorliegt, welche alkalimetrisch gut bestimmbar ist, geben wir dieser einfachen Methode den Vorzug. Für Pharmakopöezwecke schlagen wir die direkte Titration mit 0,1 N-Salzsäure unter Verwendung von Taschiro-Indikator RS vor.

#### Bemerkung zur arzneilichen Vorschrift

Die Base wird hauptsächlich für ölige Zubereitungen, meist in einer 1 %igen Lösung in Paraffinöl, verwendet, da sie in Oelen besser löslich ist als ihre Salze. Rosin, Eger und Mack (67) haben die Löslichkeit der wasserfreien, sowie der kristallwasserhaltigen Base in Paraffinöl untersucht. Sie stellten fest, dass sich in 100 ml Paraffinöl bei 20<sup>o</sup> ca. 2,2 g wasserfreie, jedoch nur ca. 0,9 g kristallwasserhaltige Base lösen. In Anbetracht dieser Eigenschaft wäre es angezeigt, die wasserfreie Base als offizinell zu erklären. Dagegen spricht die Tatsache, dass letztere ausserordentlich hygroskopisch ist. Sämtliche Pharmakopöen, mit Ausnahme von Codex Gall. 7, führen wohl aus genanntem Grunde das Hemihydrat auf. USP XV 1960 hat die Base - in USP XIV waren noch wasserfreie und kristallwasserhaltige Substanz zugelassen - aus dem Arzneischatz gestrichen. Auf Grund der ausgeprägten hygroskopischen Eigenschaft der wasserfreien Base ist wohl trotz der weniger guten Löslichkeit in Paraffinöl der kristallwasserhaltigen Substanz der Vorzug zu geben. Letztere weist einen konstanten Gehalt auf und benötigt keine besonderen Vorschriften bezüglich der Aufbewahrung.

In Uebereinstimmung mit den anderen Arzneibüchern schlagen wir die kristallwasserhaltige Base zur Aufnahme in die Pharmakopöe vor.

#### Vorschläge zur Dosierung

Maximaldosen und Gebrauchsdosen bringen wir analog l-Ephedrinhydrochlorid (s. Seite 137) in Vorschlag.

Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV	V	VI	VII
<u>Sinnenprüfung</u>							
Farbe	Kristalle farblos	Kristalle farblos	Granulat weiss	Kristalle farblos	Kristallmasse weiss	Granulat weiss	Kristallmasse weiss
Geruch	schwach aminartig						
Geschmack	bitter						
<u>Identitätsprüfungen</u>							
Bjoretreaktion	+	+	+	+	+	+	+
Abspaltung von Benzaldehyd	+	+	+	+	+	+	+
Fällung mit Dragendorff-Reagens	nur Nadeln						
Pikrat-Schmelzpunkt	93,5-94,5 <sup>o</sup>	93,2-94,5 <sup>o</sup>	93,8-94,6 <sup>o</sup>	93,5-94,6 <sup>o</sup>	93,5-94,5 <sup>o</sup>	93,7-94,6 <sup>o</sup>	93,2-94,2 <sup>o</sup>
<u>Reinheitsprüfungen</u>							
Smp. des Hydrochlorides	218,4-219,4 <sup>o</sup>	218,4-219,9 <sup>o</sup>	217,9-218,9 <sup>o</sup>	218,2-219,8 <sup>o</sup>	218,4-219,9 <sup>o</sup>	218,9-219,9 <sup>o</sup>	218,4-219,8 <sup>o</sup>
Löslichkeit	klar und farblos						
Reaktion der Stamm-lösung potentiometrisch	11,19	11,12	11,23	11,16	11,20	11,25	11,21
pH-Vergleichslösungen	11,00	10,90	11,10	11,00	11,10	11,20	11,10
Spezifische Drehung	-34,69 <sup>o</sup>	-34,70 <sup>o</sup>	-34,63 <sup>o</sup>	-34,91 <sup>o</sup>	-34,57 <sup>o</sup>	-34,80 <sup>o</sup>	-34,75 <sup>o</sup>
Schwermetalle	-	-	-	-	-	-	-
Chlorid	-	-	-	-	-	-	-
Sulfat	-	-	-	-	-	-	-
Oxalat	-	-	-	-	-	-	-
konz. Schwefelsäure färbende Stoffe							
<i>sofort</i>	= G <sub>6</sub>						
5' Zimmertemperatur	= G <sub>6</sub>						
30' Zimmertemperatur	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>6</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>5</sub>	= BG <sub>6</sub>	= BG <sub>5</sub>
5' Wasserbad	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>4</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>3</sub>	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>
10' Wasserbad	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>4</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>3</sub>	= G <sub>3</sub>	= GG <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>
konz. Salpetersäure färbende Stoffe	farblos						
<u>Quantitative Bestimmungen</u>							
Wassergehalt bzw. Feuchtigkeitgehalt	5,09%	5,08%	5,12%	5,07%	5,14%	5,09%	0,14%
Verbrennungsrückstand	unwägbar						
Gehalt							
direkte alkalimetr. Titration	99,79%	99,77%	99,79%	99,81%	99,82%	99,66%	99,76%
Perchlorsäure-Titr. visuell	99,62%	99,71%	99,59%	99,75%	99,70%	99,64%	99,61%
potentiometrisch	99,59%	99,87%	99,61%	99,64%	99,65%	99,63%	99,68%
Stickstoff nach Kjeldahl	99,49%	99,32%	99,25%	99,38%	99,22%	99,31%	99,39%

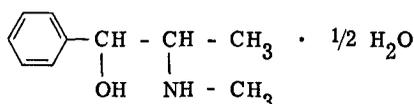
Ephedrinum basicum

Syn.: 1-Phenylmethylaminopropanolum

1-Ephedrinbase

Ephédrine lévogyre

Efedrina levogyra



$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{ON} \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$

Mol.-Gew. 174,2

ℓ-1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1) · 1/2 H<sub>2</sub>O mit einem Gehalt von mindestens 99,2(99,2 - 100,2)% C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>ON · 1/2 H<sub>2</sub>O.

Prüfung

**Stammlösung S:** 0,8 g, fein pulverisiert, werden in 20 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser gelöst. Die Lösung dient als S für die Prüfungen 2b, c, d, 4, 5, 7, 8, 9, 10 und 11.

1. **Sinnenprüfung:** Farblose Kristalle, wachsartige Kristallmasse, weisses kristallines Pulver oder Granulat von schwach aminartigem Geruch und bitterem Geschmack.

2. **Nachweis der Ephedrinbase:**

a) Die Lösung von 0,2 g in 30 ml Chloroform wird etwa 12 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die nach dem Verdunsten des Chloroforms ausgeschiedenen Kristalle werden zuerst mit 10 ml Chloroform, dann noch zweimal mit je 5 ml Chloroform gewaschen. Die Kristalle geben die Identitätsreaktion auf Chlorid und zeigen nach dem Trocknen bei 103 - 105° einen Schmelzbereich von 217,0 - 220,0° (korr.).

b) Die Mischung von 0,5 ml S und 0,5 ml Wasser ergibt mit 1 Tropfen Kupfersulfat RS eine intensiv violette Färbung. Wird die Flüssigkeit nach Zusatz von 1 ml verdünnter Natronlauge RS mit 1 ml Aether geschüttelt, so nimmt die Aetherphase eine pupurne Färbung an, während die Farbe der wässrigen Phase nach Hellblau umschlägt (Amphaetamin).

c) Wird die Mischung von 1 ml S und 5 ml Wasser mit einem kleinen Kristall Ferrizyankalium und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge RS erwärmt, so entwickelt sich der Geruch nach Benzaldehyd (Amphaetamin, Methylamphaetamin).

d) Wird die Mischung von 1 ml S und 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS mit 3 ml Pikrinsäure RS versetzt, so entsteht eine gelbe Trübung, die sich un-

ter schwachem Erwärmen wieder löst. Man lässt erkalten, bis die Trübung wieder erscheint, und beschleunigt durch Reiben der Reagensglaswände mit einem Glasstab die Ausfällung. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit 5 ml Wasser gewaschen und in 4 ml heissem Benzol gelöst. Nach dem Erkalten scheidet sich das Pikrat in Form von feinen Nadeln ab. Diese werden abgenutscht, mit 5 ml Benzol gewaschen und während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Der Schmelzbereich muss zwischen  $93^{\circ}$  und  $95^{\circ}$  (korr.) liegen.

3. Spezifische Drehung: -  $34^{\circ}$  bis -  $35^{\circ}$ , bestimmt mit einer Lösung von 0,8637 g ungetrockneter Substanz, entsprechend 1,0000g l-Ephedrinhydrochlorid, in 6 ml 1 N-Salzsäure + Wasser zu 20 ml.

4. Reaktion: pH von S = 10,80 - 11,40, bestimmt mit pH-Vergleichslösungen.

5. Eigenschaften der Lösung: S muss klar und farblos sein.

6. Schwefelsäureprobe: 60 mg in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS gelöst, dürfen sofort betrachtet nicht stärker als Farbvergleichslösung G<sub>6</sub>, nach 30 Minuten nicht stärker als Farbvergleichslösung BG<sub>5</sub> und nach Erwärmen im siedenden Wasserbad während 10 Minuten nicht stärker als Farbvergleichslösung G<sub>3</sub> oder GG<sub>4</sub> gefärbt sein.

7. dl-Ephedrin: Wird die Mischung von 0,5 ml S, 0,5 ml Wasser und 3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure RS mit 2 ml Dragendorff-Reagens versetzt und einmal rasch durchgeschüttelt, so entsteht binnen einiger Minuten eine voluminöse, ziegelrote Fällung. Nach dem Stehen über Nacht dürfen bei der Betrachtung des Niederschlages unter dem Mikroskop nur nadelförmige Kristalle erkennbar sein (dl-Ephedrin).

8. Schwermetalle: 2 ml S müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

9. Chlorid: 1 ml S muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

10. Oxalat: 5 ml S werden mit verdünnter Salzsäure RS neutralisiert. Auf Zusatz von 1 ml Kalziumchlorid RS darf innerhalb 10 Minuten weder eine Fällung noch eine Trübung entstehen.

11. Sulfat: 1 ml S muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

12. Wassergehalt: 4,8 - 5,4 %, bestimmt mit 1 g nach Karl Fischer.

13. Verbrennungsrückstand: Unwägbare, bestimmt mit 0,5 g.

14. Gehalt: Ca. 0,2 g ungetrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 10 ml Äthanol 70 % gelöst und unter Verwendung von 3 Tropfen Taschiro-Indikator RS mit 0,1 N-Salzsäure bis zum Farbumschlag von Grün nach Rotviolett titriert.

1 ml 0,1 N-Salzsäure entspricht 17,42 mg  $C_{10}H_{15}ON \cdot \frac{1}{2} H_2O$

Der so gefundene Gehalt muss 99,2 - 100,2 % betragen.

Aufbewahrung: In gut verschlossenem Behälter, vor Licht geschützt.

Sterilisation von öligen Lösungen: 2 Stunden bei 120° (Trockenschrank). Erhitzen im gesättigten Wasserdampf unter Druck während 15 - 20 Minuten bei 110 - 120° (Autoklav).

Maximaldosen:

Dosis maxima simplex	0,1 g
Dosis maxima pro die	0,3 g

Separandum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

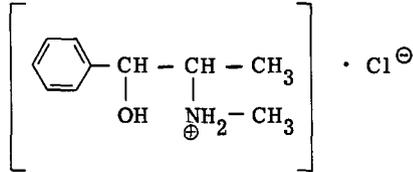
Einzel-dosis	0,025 - 0,05 g
Tagesdosis	0,1 - 0,2 g

Löslichkeit: 1 T. löst sich in 20 T. Wasser, 20 T. Glycerin, 25 T. Olivenöl, 110 T. Paraffinöl (die Löslichkeit in Paraffinöl kann erhöht werden, wenn die zu lösende Base mit der gleichen Menge Oelsäure angerieben wird; Kampfer, Menthol und Thymol bewirken ebenfalls eine Erhöhung der Löslichkeit in Paraffinöl). Leicht löslich in Aethanol, Aether und Chloroform.

Inkompatibilitäten: Jod, Gerbsäure (Fällung); Silbersalze werden in wässriger Lösung zu metallischem Silber reduziert; aus Trichlorisobutylalkohol wird Salzsäure in Freiheit gesetzt.

### 3.3.4. Ephedrinium chloratum

Syn.: Ephedrini hydrochloridum, Phenylmethylaminopropanolum hydrochloricum



$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{ON} \cdot \text{HCl}$

Mol.-Gew.: 201,7

Ephedrinum hydrochloricum	Ph. Helv. V, Ausg. 1953, p. 354
Ephedrine Hydrochloride	Brit. Ph. 1958, p. 247
Ephedrini Hydrochloridum	Ph. Int., Vol. I, p. 104
Ephedrini hydrochloridum	Ph. Dan. IX, Vol. II, p. 306, Svenska F. XI, p. 210
Ephédrine (Chlorhydrate D')	Codex Gall. 7, p. 257
Ephedrini Hydrochloridum Laevogyrum	Ph. Belg. IV, p. 275
Ephedrinum hydrochloricum	DAB 6, 3. Nachtrag, 1959, p. 233

Für die Darstellung, die möglichen Verunreinigungen, die Identitäts- und Reinheitsprüfungen gelten im allgemeinen die für Ephedrinum basicum gemachten Angaben sinngemäss. Wir beschränken uns daher auf die Beschreibung der davon abweichenden Untersuchungen.

#### Darstellung

Eine konzentrierte wässrige Lösung von 1-Ephedrinbase wird mit Salzsäure neutralisiert. Das nach dem Abdampfen auf dem Wasserbad abgeschiedene Alkaloïdsalz kann je nach dem Reinheitsgrad der verwendeten Base aus absolutem Alkohol unter Eiskühlung und Aetherzusatz wiederholt umkristallisiert werden (44). Die Darstellung der Base erfolgt zwecks Abtrennung von Nebenalkaloiden oft über das Hydrochlorid (vgl. Darstellung von Ephedrinum basicum, Seite 91).

#### Sinnenprüfung

Alle fünf Handelsmuster lagen als längliche Prismen von gröberer und feinerer Struktur vor. Die von Ph. Helv. V angewandte Bezeichnung "nadelförmige

Kristalle" ist u. E. nicht ganz zutreffend. Die Monographien fordern farblose Kristalle oder weisses kristallines Pulver. Die Substanzen waren geruchlos und von bitterem Geschmack. Wir kommen zur folgenden Formulierung:

"Farblose Kristalle oder weisses kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch und von bitterem Geschmack."

#### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Die Identitäts- und Reinheitsprüfungen werden in der 5%igen (= ca. 0,25 m) Stammlösung (Herstellung vgl. unter Reinheitsprüfungen, S. 128) vorgenommen.

Nachweis der Ephedrinbase: Die Mehrzahl der Monographien führt sowohl die Biuret-Reaktion als auch die Reaktion mit Kaliumferrizyanid bzw. Kaliumpermanganat (Abspaltung von Benzaldehyd) aus. Codex Gall. 7 isoliert ausserdem noch die Base und bestimmt deren Schmelzbereich. Brit. Ph. 1958 und Ph. Int. Vol. I lassen u. a. die aus dem Hydrochlorid mit Natronlauge freigesetzte Base in Chloroform lösen und identifizieren diese auf Grund der Eigenschaft, bei Gegenwart von Chloroform in das Hydrochlorid überzugehen.

Als Identitätsprüfungen für die Ph. Helv. VI möchten wir die Biuret-Reaktion in der für l-Ephedrinum basicum empfohlenen Modifikation, die Reaktion mit Kaliumferrizyanid, sowie die Herstellung des Pikrates vorschlagen. Anhand des Pikrat-Schmelzbereiches kann l-Ephedrin von dl-Ephedrin und d-Pseudoephedrin eindeutig unterschieden werden.

Die Ausführung genannter Reaktionen ist im Artikel-Vorschlag beschrieben. Alle geprüften Muster entsprachen den Forderungen der Identitätsprüfungen.

Nachweis des Säureanteiles: Die Stammlösung ergibt die Identitätsprüfung auf Chlorid.

Reinheitsprüfungen

a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelzbereich: Die in den Literaturangaben geforderten Werte für den Schmelzbereich von l-Ephedrinhydrochlorid betragen:

Ph. Helv. V	212 - 215 <sup>0</sup> (unkorr.)
Brit. Ph. 1958 Ph. Int. Vol. I DAB 6, 3. Nachtrag	217 - 220 <sup>0</sup> (korr.)
Ph. Dan. IX	218 - 221 <sup>0</sup> (korr.)
Svenska F. XI	215 - 220 <sup>0</sup>
Codex Gall. 7	213 - 216 <sup>0</sup>
Merck Index 7th. Ed. (153)	216 - 220 <sup>0</sup> (korr.)
Manske und Holmes (60)	220 - 221 <sup>0</sup>
Lebeau und Janot (61)	215 <sup>0</sup>
Merck (62)	218 - 219 <sup>0</sup>

Die mit unseren Mustern ermittelten Werte betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Schmelzbereich</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	211,0 - 212,5 <sup>0</sup>	216,8 - 218,4 <sup>0</sup>
II	212,0 - 213,0 <sup>0</sup>	217,9 - 218,9 <sup>0</sup>
III	211,5 - 212,5 <sup>0</sup>	217,3 - 218,4 <sup>0</sup>
IV	212,5 - 213,7 <sup>0</sup>	218,4 - 219,7 <sup>0</sup>
V	211,5 - 213,0 <sup>0</sup>	217,3 - 218,9 <sup>0</sup>

Der. von Ph. Helv. V geforderte Schmelzbereich von 212 - 215<sup>0</sup> entspricht einem korr. Intervall von 217,9 - 221,1<sup>0</sup>. Wie es sich gezeigt hat, wird die untere Grenze von manchen Handelsmustern unterschritten und die obere von keinem Muster erreicht. In Anlehnung an andere Monographien möchten wir deshalb ein korr. Intervall von 217,0 - 220,0<sup>0</sup> vorschlagen.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Die Monographien, welche diese Prüfung durchführen, verwenden dazu eine 2 %ige bzw.

5 %ige Lösung und fordern, dass diese klar und farblos sein soll. Wie Ph. Helv. V, nahmen wir die Prüfungen in der 5 %igen (= ca. 0,25 m) Stammlösung vor. Zu deren Zubereitung lösten wir ca. 1 g getrocknete Substanz (genau gewogen) in 5 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser. Die Substanzmuster lösten sich alle völlig klar. Ein Vergleich mit den Farbvergleichslösungen der Ph. Helv. V, Suppl. III erübrigt sich, da sämtliche Muster farblose Lösungen ergaben. Die in einem Messkölbchen von 20 ml Inhalt mit frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser bis zur Marke ergänzte Lösung dient als Stammlösung (= S) für eine Anzahl Identitäts- und Reinheitsprüfungen.

Reaktion der Stammlösung: Die Forderungen der Monographien lauten:

Brit. Ph. 1958	0,2 g Substanz gelöst in 10 ml Wasser darf bei Titration mit 0,02 N-Natronlauge oder 0,02 N-Salzsäure gegen Methylrot maximal 0,1 ml verbrauchen.
Ph. Int. Vol. I	5 %ige Lösung neutral gegen Lakmus.
DAB 6, 3. Nachtrag	5 %ige Lösung darf durch 1 Tropfen Methylrot weder gelb noch rot gefärbt werden.
Ph. Dan. IX	Wässrige Lösung neutral oder schwach sauer, pH nicht unter 5,4.
Svenska F. XI	5 %ige Lösung soll neutral sein.
Codex Gall. 7	Wässrige Lösung neutral gegen Lakmus.
Ph. Belg. IV	5 %ige Lösung neutral gegen Lakmus.

Ph. Helv. V limitiert den pH-Wert der Stammlösung mit folgender Vorschrift:

"Je 1 ml der Stammlösung muss durch 1 Tropfen Bromthymolblau gelb oder grünlichgelb, aber nicht grün, durch 1 Tropfen Methylrot gelb, orange oder rot, aber nicht stärker rot gefärbt werden als 1 ml einer Mischung von 3 ml Natriumazetat + 3 ml verdünnte Essigsäure R + Wasser zu 20 ml."

Die Stammlösungen unserer Muster wiesen folgende pH-Werte auf:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u>	
	<u>potentiometrisch</u>	<u>Farbtabelle Ph. Helv. V Suppl. III</u>
I	5,85	5,80
II	5,93	5,80
III	6,25	6,20

IV	5,75	5,60
V	6,00	6,00

Auf Grund unserer Resultate schlagen wir vor, dass der pH-Wert der Stammlösung zwischen 5,4 und 6,4 liegen soll.

Spezifische Drehung: Die Bestimmung der spezifischen Drehung wird mit der Stammlösung ausgeführt, weshalb diese mit einer genau gewogenen Menge Substanz in einem Messkölbchen hergestellt wird.

In der Literatur finden sich für die spezifische Drehung von l-Ephedrinhydrochlorid folgende Angaben, die sich meist auf eine 5 %ige wässrige Lösung beziehen.

Ph. Helv. V	
Ph. Belg. IV	-34 bis -35 <sup>0</sup>
DAB 6, 3. Nachtrag	
Brit. Ph. 1958	-33 bis -35,5 <sup>0</sup>
Ph. Int. Vol. I	-33 bis -36 <sup>0</sup>
Ph. Dan. IX	-33 bis -35 <sup>0</sup>
Svenska F. XI	ca. -34,5 <sup>0</sup>
Codex Gall. 7	-34 <sup>0</sup> ± 1,5 <sup>0</sup>
Merck Index 7th Ed. (153)	-33 bis -35,5 <sup>0</sup>
Manske und Holmes (60)	-34 <sup>0</sup>
Lebeau und Janot (61)	-36,6 <sup>0</sup>

Die mit unseren Mustern erhaltenen Werte sind die folgenden:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Spezifische Drehung</u>
I	-34,56 <sup>0</sup>
II	-34,50 <sup>0</sup>
III	-34,40 <sup>0</sup>
IV	-34,38 <sup>0</sup>
V	-34,52 <sup>0</sup>

Das von der Ph. Helv. V vorgeschriebene Intervall von -34 bis -35<sup>0</sup> kann beibehalten werden, da sämtliche Handelsmuster dieser Forderung sehr gut entsprachen.

b) Chemische Reinheitsprüfungen

In den verschiedenen Monographien finden sich Reinheitsprüfungen auf Sulfat, fremde Alkaloide, sowie auf Schwefelsäure färbende Verunreinigungen. Ph.Dan. IX lässt ausserdem noch auf Schwermetalle, Ph.Belg.IV auf Eiweiss, Ph.Helv.V auf Morphin und Bruzin sowie auf Eiweiss prüfen.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen: Ph.Dan.  
IX lässt eine Grenzprüfung ausführen, die übrigen Monographien verlangen Farblosigkeit der Lösung.

Die Lösungen von je 60 mg unserer Substanzmuster in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS zeigten beim Vergleich mit den Farbvergleichslösungen der Ph.Helv.V, Suppl. III, folgende Färbungen:

Handelsmuster

Sofort betrachtet	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
5 Minuten Zimmer- temperatur	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
15 Minuten Zimmer- temperatur	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
30 Minuten Zimmer- temperatur	= BG <sub>6</sub>				
60 Minuten Zimmer- temperatur	= BG <sub>6</sub>				
nach 5 Minuten Wasser- bad	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>
nach 10 Minuten Was- serbad	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>

Als Forderung für den Pharmakopöetext sehen wir vor:

"60 mg Substanz in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS gelöst, müssen klar und farblos sein, nach 30 Minuten darf die Lösung höchstens die Färbung von Farbvergleichslösung BG<sub>6</sub> und nach Erwärmen im siedenden Wasserbad während 10 Minuten höchstens die Färbung von Farbvergleichslösung GG<sub>5</sub> aufweisen."

Absenheit von dl-Ephedrin: Die Fällung mit Dragendorff-Reagens wird in der im Artikel l-Ephedrinum basicum beschriebenen Weise (vgl. S. 94) in der

Stammlösung vorgenommen. Bei sämtlichen Mustern waren nur nadelförmige Kristalle wahrnehmbar.

Abwesenheit von Morphin, Bruzin: Ph. Helv. V lässt in Kombination mit der Prüfung auf Schwefelsäure färbende Verunreinigungen auf Morphin und Bruzin prüfen. Sie fordert, dass die Lösung von 30 mg Substanz in 1 ml konzentrierter Schwefelsäure sich auf Zusatz von 1 ml konzentrierter Salpetersäure nicht rot färben darf.

Wir lösten 60 mg Substanz in 2 ml konzentrierter Salpetersäure RS und stellten bei den Lösungen sämtlicher Muster Gelbfärbung fest. Die Lösungen von Muster I und III waren gefärbt wie Farbvergleichslösung G<sub>5</sub>, diejenigen der übrigen Muster wie Farbvergleichslösung G<sub>4</sub>.

Es besteht ja wohl kaum die Möglichkeit, dass 1-Ephedrinhydrochlorid mit Morphin oder Bruzin verwechselt werden könnte, weshalb eine Prüfung auf diese Alkaloide u.E. überflüssig erscheint. Da mit dieser Prüfung, wie es sich gezeigt hat, jedoch andere konzentrierte Salpetersäure färbende Verunreinigungen erfasst werden können, empfehlen wir sie in nachstehender Formulierung in die Ph. Helv. VI aufzunehmen:

"60 mg Substanz gelöst in 2 ml konzentrierter Salpetersäure RS dürfen sofort betrachtet nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>4</sub>."

Abwesenheit von fremden Alkaloiden:

"Je 1 ml Stammlösung dürfen weder durch 2 Tropfen verdünntes Ammoniak RS, noch durch 2 Tropfen verdünnte Natronlauge RS getrübt werden."

Diese Prüfung, nach Ph. Helv. V vorgenommen, ergab mit sämtlichen Mustern negative Resultate.

Abwesenheit von Schwermetallen: Die Prüfung wurde nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI mit 3 ml Stammlösung ausgeführt. Da sämtliche Muster der Grenzreaktion a II entsprachen, wird die Forderung entsprechend formuliert.

Abwesenheit von Eiweiss:

"Die Mischung von 1 ml Stammlösung + 1 Tropfen verdünnte Essigsäure RS darf durch 1 Tropfen Ferrozyankalium RS nicht getrübt werden."

Auf diese Prüfung der Ph. Helv. V, welche mit sämtlichen Mustern negativ ausfiel, kann auf Empfehlung des Kommentars zur Ph. Helv. V verzichtet werden.

Abwesenheit von Sulfat: Diese Prüfung wird von den meisten Monographien vorgeschrieben, weil auch das Sulfat im Handel ist. Wir prüften in der Stamm-lösung nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI und fanden bei keinem Muster stärkere Opaleszenz als es der Grenzreaktion a II entspricht. Die Forderung wird deshalb entsprechend aufgestellt.

Abwesenheit von Oxalsäure: Da bei der Herstellung der Base die Trennung von l-Ephedrin und d-Pseudoephedrin über das Oxalat erfolgen kann (43), prüften wir unsere Muster auf Oxalsäure, obwohl eine solche Prüfung von den Monographien für das Hydrochlorid nicht verlangt wird. Einzig Brit. Ph. 1958 lässt die Base auf Oxalsäure prüfen.

Wir versetzten eine Lösung von 0,2 g Substanz in 5 ml Wasser mit 1 ml Kalziumchlorid RS. Es trat keinerlei Fällung oder Trübung auf. Auch nach 60 Minuten waren die Lösungen sämtlicher Muster noch klar. Für Pharmakopöezwecke kann von dieser Prüfung abgesehen werden.

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Feuchtigkeitsgehalt

Die Monographien nehmen die Bestimmung durch Trocknen bei 100<sup>0</sup> bzw. 105<sup>0</sup> vor und tolerieren einen maximalen Feuchtigkeitsgehalt von 0,5 %. Ausnahmen machen Ph. Helv. V, welche 0,1 %, und Ph. Belg. IV, welche 1 % Feuchtigkeit als höchst zulässige Grenze festlegen.

Wir ermittelten mit unseren Mustern bei einer Einwaage von 1,5 g Substanz Feuchtigkeitsgehalte von weniger als 0,01 %. Die strenge Forderung der Ph. Helv. V ist somit ohne weiteres erfüllbar und kann beibehalten werden.

#### b) Verbrennungsrückstand

In den Monographien finden sich die Forderungen, dass der Verbrennungsrückstand unwägbare sein bzw. 0,1 % betragen soll. Eine Angabe, mit wieviel

Substanz die Bestimmung auszuführen ist, fehlt vielfach. Ph. Helv. V, Ph. Belg. IV und Svenska F. XI, welche maximal 1 % gestattet, nehmen die Bestimmung mit 0,1 g, Ph. Dan. IX mit 0,5 g vor.

Wir führten die Bestimmung mit 0,5 g aus und stellten bei unseren Mustern Rückstände von 0,02 bis 0,04 % fest. Daher können wir fordern, dass der mit 0,5 g ermittelte Verbrennungsrückstand unwägbar sein soll, was einer Forderung von 0,1 % entspricht.

### c) Gehaltsbestimmungen

In der Literatur finden sich folgende Gehaltsbestimmungsmethoden und Forderungen:

Ph. Helv. V Ph. Belg. IV	Chlorid-Titration nach Mohr	mindestens 99,6 % 99,2 - 100,0 %
DAB 6, 3. Nachtrag	Chlorid-Titration nach Volhard	99,0 - 101,0 %
Ph. Dan. IX	Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl	98,8 - 100,9 %
Ph. Int. Vol. I	Extrahieren der Base mit Aether, dann azidimetrische Titration	97,7 - 100,7 %
Svenska F. XI	Extrahieren der Base mit Aether, dann azidimetrische Titration	97,8 - 100,9 %
Codex Gall. 7	1. Chlorid-Titration nach Mohr 2. Extrahieren der Base mit Aether, Verdampfen und Wägen des Rückstandes	mindestens 95,7 % mindestens 97,7 %

Wir haben folgende Bestimmungsmethoden untersucht:

1. Titration des Chlorid-Gehaltes nach Mohr und Volhard: Für die Titration nach Mohr hielten wir uns im Prinzip an die Vorschrift der Ph. Helv. V. Wir lösten ca. 0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) in 10 ml Wasser und titrieren nach Zugabe von 2 Tropfen Kaliumchromat RS als Indikator mit 0,1 N-Silbernitrat bis zum Farbumschlag nach Bräunlichgelb.

Die Titration nach Volhard führten wir nach der vom Kommentar zur Ph. Helv. V empfohlenen Vorschrift unter Zusatz von Nitrobenzol aus. Wir lösten ca. 0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) in 20 ml Wasser in einem Erlen-

meyerkolben mit Glasstopfen, fügten 2 ml verdünnte Salpetersäure RS und unter Umschütteln 20 ml 0,1 N-Silbernitrat hinzu. Nach Zusatz von 2 ml Nitrobenzol wurde kräftig geschüttelt und der Ueberschuss an Silbernitrat unter Verwendung von 2 ml Eisenammoniumalaun RS als Indikator mit 0,1 N-Ammoniumrhodanid bis zum Farbumschlag nach Rotbraun zurücktitriert.

1 ml 0,1 N-Silbernitrat = 20,17 mg  $C_{10}H_{15}ON \cdot HCl$

Es ergaben sich folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Chlorid-Gehalt</u>	
	Mohr	Volhard
I	100,18 %	100,12 %
II	100,06 %	99,71 %
III	100,05 %	99,86 %
IV	100,23 %	100,08 %
V	99,96 %	99,87 %

Obwohl beide Bestimmungsmethoden nur den Säureanteil erfassen, wird die direkte Chlorid-Titration auch in neueren Publikationen (4,68) noch in Vorschlag gebracht.

2. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Der Stickstoffgehalt wurde mit ca. 0,2 g Substanz (genau gewogen) nach der im allgemeinen Teil beschriebenen Methode ermittelt.

Die geprüften Muster zeigten folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	99,67 %	99,53 %
II	99,32 %	99,48 %
III	99,71 %	99,65 %
IV	99,58 %	99,64 %
V	99,27 %	99,50 %

Die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl liefert befriedigende Resultate und lässt sich daher zur Gehaltsbestimmung von l-Ephedrinhydrochlorid heranziehen.

Einem Gehalt von 98,8 - 100,5 % l-Ephedrinhydrochlorid entspricht 6,86 - 6,98% Stickstoff.

3. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig: Die Titration von l-Ephedrinhydrochlorid in wasserfreiem Milieu wurde von den Autoren Keller und Weiss (69), Pohloudek-Fabini und Koenig (70) mit Perchlorsäure in Eisessig bzw. in Dioxan nach der von Pifer und Wollish (71) zur Bindung der Chloridionen angegebenen Methode vorgenommen. Nach Pifer und Wollish reagieren bei Zusatz einer Lösung von Quecksilberazetat die Chloridionen mit den Quecksilberionen unter Bildung von in Eisessig nicht dissoziiertem Sublimat. Mit dieser Massnahme lassen sich die Hydrochloride von Alkaloiden oder im allgemeinen von schwachen Basen ohne weiteres bestimmen.

Für die potentiometrischen Kontrollbestimmungen lösten wir 1 Millimol getrocknete Substanz (genau gewogen) in 60 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 5 ml gesättigtes Quecksilberazetat RS und 10 ml Dioxan zu und titrierten unter Mitführen von 3 Tropfen Kristallviolett RS als Indikator mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum grössten Potentialsprung. Im Gegensatz zur Titration der Base stellten wir fest, dass der Äquivalenzpunkt beim Umschlag von Violettstichigblau nach Reinblau erreicht war, welche Beobachtung auch schon von Keller und Weiss (69) gemacht wurde. Aus Abb. 6 ist die Titrationskurve sowie die Farbänderung des Indikators im Bereiche des Umschlagspunktes nach Zusatz jeweils gleicher Volumenteile 0,1 N-Perchlorsäure ersichtlich.

Für die visuelle Titration lösten wir ca. 0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) in 60 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 5 ml gesättigtes Quecksilberazetat RS und 10 ml Dioxan zu und titrierten nach Zusatz von 3 Tropfen Kristallviolett RS mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum Farbumschlag von Violettstichigblau nach Reinblau.

1 ml 0,1 N-Perchlorsäure entspricht 20,17 mg  $C_{10}H_{15}ON \cdot HCl$

Es empfiehlt sich, mit der verwendeten Menge Quecksilberazetat RS einen Blindwert zu bestimmen, da Quecksilberazetat des Handels Perchlorsäure verbrauchen kann.

Die Bestimmungen wurden in einem Titrationsgefäss mit seitlichem Ein- führungsstutzen für die Elektrode vorgenommen. Das Gefäss war mit einem

Gummistopfen, welcher eine Oeffnung für die Bürettenspitze, sowie einen Spalt als Luftventil aufwies, verschlossen. Die Titrierflüssigkeit wurde in einer automatischen Bürette aufbewahrt, wobei die zum Ausfließen benötigte Druckluft durch ein Kalziumchlorid-Rohr geleitet wurde.

Um ca. 0,2 g Substanz zu lösen sind mindestens 60 ml wasserfreier Eisessig erforderlich. Beschleunigung des Lösungsprozesses durch Erwärmen ist zu vermeiden, da 1-Ephedrinhydrochlorid in der Wärme durch konzentrierte Essigsäure acetyliert werden könnte. Wird die Substanz fein pulverisiert, so kann sie unter kräftigem Schütteln mit der wasserfreien Essigsäure bei Zimmertemperatur in Lösung gebracht werden. Acetylierung der Substanz, welche sich durch zu tiefe Werte bemerkbar gemacht hätte, konnten wir während der zu den Titrationen notwendigen Zeit nicht feststellen. Ein Zusatz von Dioxan erwies sich zur besseren Sichtbarmachung des Umschlagspunktes als vorteilhaft. Obwohl die Bestimmung nicht in einer Karl Fischer-Apparatur - wie dies im Falle der Base erfolgt ist - ausgeführt wurde, lieferte sie einwandfreie Werte .

Die mit unseren Mustern erhaltenen Resultate sind die folgenden:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,1 N-Perchlorsäure</u>			
	<u>visuell</u>		<u>potentiometrisch</u>	
I	100,12 %	99,85 %	99,88 %	99,94 %
II	99,68 %	99,79 %	99,70 %	99,62 %
III	100,08 %	99,90 %	100,02 %	99,95 %
IV	99,81 %	99,96 %	99,92 %	100,01 %
V	99,66 %	99,82 %	99,78 %	99,72 %

Die Titration mit Perchlorsäure in Eisessig ergab die zuverlässigsten Resultate, weshalb wir diese Bestimmungsmethode vorschlagen möchten. In Anlehnung an die erhaltenen Werte erscheint eine Gehaltsforderung von 99,0 - 100,5% angemessen.

#### Sterilisation von Lösungen

Bei der Angabe einer Sterilisationsvorschrift halten wir uns an Ph.Dan. IX, welche für Lösungen Erhitzen im Autoklav vorschreibt.

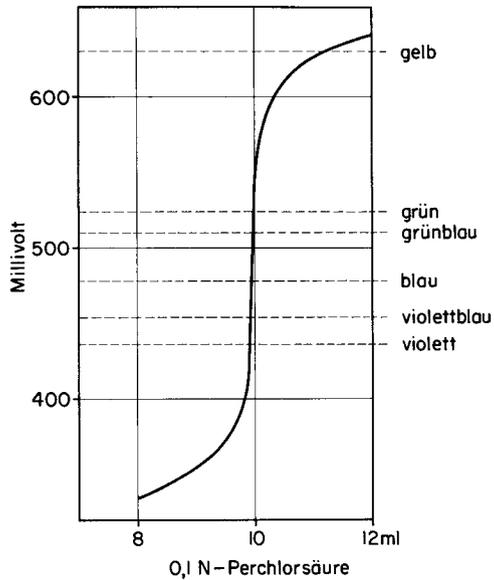


Abb. 6 Titrationskurve von 1-Ephedrinhydrochlorid

Einwaage: 1 Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 12 ml 0,1 N-Perchlorsäure.

Vorschläge zur Dosierung

Die Maximaldosen werden von Ph. Helv. V, Suppl. I, übernommen, der Vorschlag für Gebrauchsdosen basiert auf der Dosis der Compressi 1-Ephedrini hydrochlorici des Handels.

Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV	V
<u>Sinnenprüfung</u>					
Farbe	Kristalle, farblos				
Geruch	-	-	-	-	-
Geschmack	bitter	bitter	bitter	bitter	bitter
<u>Identitätsprüfungen</u>					
Biuretreaktion	+	+	+	+	+
Abspaltung von Benzaldehyd	+	+	+	+	+
Pikrat-Schmelzbereich	93,2 - 94,3 <sup>o</sup>	93,5 - 94,5 <sup>o</sup>	93,7 - 94,8 <sup>o</sup>	93,5 - 94,5 <sup>o</sup>	93,3 - 94,5 <sup>o</sup>
Chlorid	+	+	+	+	+
<u>Reinheitsprüfungen</u>					
Schmelzbereich (korr.)	216,8 - 218,4 <sup>o</sup>	217,9 - 218,9 <sup>o</sup>	217,3 - 218,4 <sup>o</sup>	218,4 - 219,7 <sup>o</sup>	217,3 - 218,9 <sup>o</sup>
1,0 g gelöst in 5 ml Wasser	klar und farblos				
pH der Stammlösung					
potentiometrisch	5,85	5,83	6,25	5,75	6,00
Farbtabelle	5,80	5,80	6,20	5,60	6,00
Spezifische Drehung	-34,58 <sup>o</sup>	-34,50 <sup>o</sup>	-34,40 <sup>o</sup>	-34,38 <sup>o</sup>	-34,52 <sup>o</sup>
konz. Schwefelsäure färbende Stoffe					
sofort	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
5' Zimmertemperatur	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
15' Zimmertemperatur	farblos	farblos	farblos	farblos	farblos
30' Zimmertemperatur	= BG <sub>6</sub>				
60' Zimmertemperatur	= BG <sub>6</sub>				
5' Wasserbad	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>
10' Wasserbad	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>6</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>	= GG <sub>5</sub>
konz. Salpetersäure färbende Stoffe					
sofort	= G <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>	= G <sub>5</sub>	= G <sub>4</sub>	= G <sub>4</sub>
d,1-Ephedrin	-	-	-	-	-
fremde Alkaloide	-	-	-	-	-
Schwermetalle	-	-	-	-	-
Eiweiss	-	-	-	-	-
Sulfat	-	-	-	-	-
Oxalat	-	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>					
Feuchtigkeitsgehalt	0,008 %	0,00 %	0,00 %	0,006 %	0,006 %
Verbrennungsrückstand	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar
Gehalt					
Chlorid-Gehalt n. Mohr nach Volhard	100,18 %	100,06 %	100,05 %	100,23 %	99,96 %
Stickstoff nach Kjeldahl	99,60 %	99,40 %	99,68 %	99,52 %	99,38 %
Perchlorsäure-Titration					
visuell	99,88 %	99,73 %	99,99 %	99,88 %	99,74 %
potentiometrisch	99,91 %	99,86 %	99,98 %	99,96 %	99,75 %

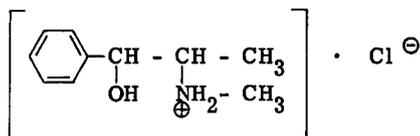
## Ephedrinium chloratum

Syn.: Ephedrini hydrochloridum, Phenylmethylaminopropanolum hydrochloricum

1-Ephedrinhydrochlorid

Chlorhydrate d'éphedrine lévogyre

Cloridrato di efedrina levogyra



$\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{ON} \cdot \text{HCl}$

Mol.-Gew. 201,7

l-1-Phenyl-2-methylamino-propanol-(1)-hydrochlorid mit einem Gehalt von mindestens 99,0(99,0 - 100,5)%  $\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{ON} \cdot \text{HCl}$ .

### Prüfung

Stammlösung S: Ca. 1 g getrocknete Substanz (genau gewogen) muss sich in 5 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser lösen. Die Lösung muss klar und farblos sein und dient nach dem Verdünnen mit frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser in einem Messkölbchen auf 20 ml als S für die Prüfungen 2, 3, 5, 6, 8, 10, 11 und 12.

1. Sinnenprüfung: Farblose Kristalle oder weisses kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch und von bitterem Geschmack.

#### 2. Nachweis der Ephedrinbase:

a) Die Mischung von 0,5 ml S, 0,5 ml Wasser und 1 ml verdünnter Natronlauge RS gibt mit 1 Tropfen Kupfersulfat RS eine violette Färbung. Wird die Flüssigkeit nach Zusatz von 1 ml Aether geschüttelt, so nimmt die Aetherphase eine purpurne Färbung an, während die Farbe der wässrigen Phase nach Hellblau umschlägt.

b) Wird die Mischung von 1 ml S und 5 ml Wasser mit einem kleinen Kristall Ferrizyankalium und 5 Tropfen verdünnter Natronlauge RS zum Sieden erhitzt, so entwickelt sich der Geruch nach Benzaldehyd.

c) Wird die Mischung von 1 ml S und 3 Tropfen verdünnter Essigsäure RS mit 2 ml Pikrinsäure RS versetzt, so entsteht eine gelbe Trübung, die sich unter schwachem Erwärmen wieder löst. Man lässt erkalten, bis die Trübung wieder erscheint und beschleunigt die Ausfällung durch Reiben der Reagensglaswände mit einem Glasstab. Der Niederschlag wird abgesaugt, mit 5 ml Wasser gewaschen und in 4 ml heissem Benzol gelöst. Nach dem Erkalten hat sich das Pikrat

in Form von feinen Nadeln abgeschieden. Die Kristalle werden abgesaugt, mit 5 ml Benzol gewaschen und während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Ihr Schmelzbereich muss zwischen  $93^{\circ}$  und  $95^{\circ}$  (korr.) liegen.

3. Nachweis des Hydrochlorides: S gibt die Identitätsreaktion auf Chlorid.

4. Schmelzbereich:  $217 - 220^{\circ}$  (korr.)

5. Spezifische Drehung:  $-34$  bis  $-35^{\circ}$ , bestimmt mit S im 2 dm-Rohr.

6. Reaktion: pH von S = 5,4 - 6,4.

7. Schwefelsäureprobe: 60 mg Substanz in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS gelöst, müssen klar und farblos sein; nach 30 Minuten darf die Lösung höchstens die Färbung von Farbvergleichslösung BG<sub>6</sub>, nach Erwärmen im siedenden Wasserbad während 10 Minuten höchstens die Färbung von Farbvergleichslösung GG<sub>5</sub> aufweisen.

8. dl-Ephedrin: Wird die Mischung von 0,5 ml S, 0,5 ml Wasser und 3 Tropfen verdünnter Schwefelsäure RS mit 2 ml Dragendorff-Reagens versetzt und einmal rasch aufgeschüttelt, so entsteht binnen einiger Minuten eine voluminöse, ziegelrote Fällung. Nach dem Stehen über Nacht dürfen bei der Betrachtung des Niederschlages unter dem Mikroskop nur nadelförmige Kristalle erkennbar sein.

9. Morphin, Bruzin: 60 mg Substanz gelöst in 2 ml konzentrierter Salpetersäure RS dürfen sofort betrachtet nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>4</sub>.

10. Fremde Alkaloide: Je 1 ml S dürfen weder durch 2 Tropfen verdünnten Ammoniak RS noch durch 2 Tropfen verdünnte Natronlauge RS getrübt werden.

11. Schwermetalle: 3 ml S müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

12. Sulfat: 3 ml S müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

13. Feuchtigkeitsgehalt: Höchstens 0,1 %, bestimmt mit 1,5 g durch Trocknen während 2 Stunden bei  $103 - 105^{\circ}$ .

14. Verbrennungsrückstand: Unwägbare, bestimmt mit 0,5 gr.

15. Gehalt: Ca. 0,2g fein pulverisierte, getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in einem Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen von 200 ml Inhalt in 60 ml wasserfreier Essigsäure unter kräftigem Schütteln gelöst. Nach Zusatz von 5 ml gesättigtem Quecksilberazetat RS, 10 ml Dioxan und 3 Tropfen Kristallviolett RS wird der Erlenmeyerkolben mit einem Gummistopfen, welcher eine Öffnung für die Bürettenspitze, sowie einen Spalt als Luftventil besitzt, verschlossen und mit 0,1 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum Farbumschlag von Violettstichigblau nach Reinblau titriert. Mit der gleichen Menge Quecksilberazetat RS wird ein Blindwert bestimmt, der von der verbrauchten Menge Perchlorsäure in Abzug gebracht wird.

1 ml 0,1 N-Perchlorsäure entspricht 20,17 mg  $C_{10}H_{15}ON \cdot HCl$

Der so gefundene Gehalt muss 99,0 - 100,5 % betragen.

Aufbewahrung: In gut verschlossenem Behälter, vor Licht geschützt.

Antimikrobielle Behandlung von Lösungen: Autoklav, 110 - 120°.

Maximaldosen:

Dosis maxima simplex	0,1 g
Dosis maxima pro die	0,3 g

### Separandum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

Einzelosis	0,025 - 0,05 g
Tagesdosis	0,1 - 0,2 g

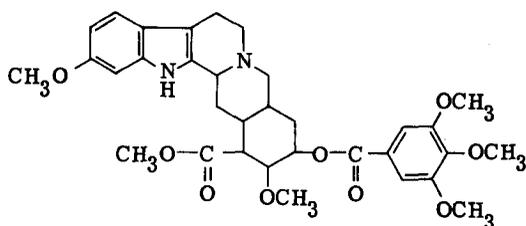
Löslichkeit: 1 T. löst sich in ca. 3,5 T. Wasser, ca. 7 T. Aethanol 94%  
Sehr schwer löslich in Chloroform, nahezu unlöslich in Aether.

Inkompatibilitäten: Silbersalze (Fällung), Alkalien in konzentrierter Lösung (Fällung).

Offizinelles Präparat: Suppositoria antihaemorrhoidalia.

### 3.3.5. Reserpinum basicum

#### 3, 4, 5-Trimethoxybenzoyl-methylreserpat



$C_{33}H_{40}O_9N_2$

Mol.-Gew. 609

Reserpine

Brit. Ph. 1958, p. 562; USP XVI, p. 619

Reserpinum

DAK Praeparater, 25. 5. 1957

#### Spezialpräparate

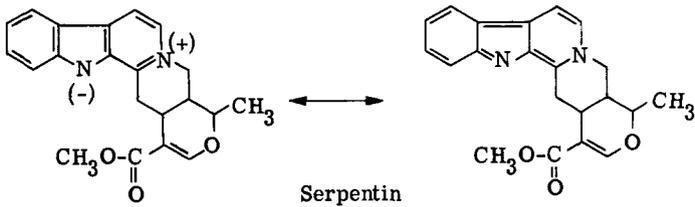
Eskaserp<sup>®</sup> (Smith, Kline & French), Raused<sup>®</sup> (Squibb), Reserpoid<sup>®</sup> (Upjohn), Rivasin<sup>®</sup> (Giulini), Sandril<sup>®</sup> (Lilly), Sedaraupin<sup>®</sup> (Boehringer), Serfin<sup>®</sup> (Parke, Davis), Serpasil<sup>®</sup> (Ciba).

#### Vorkommen

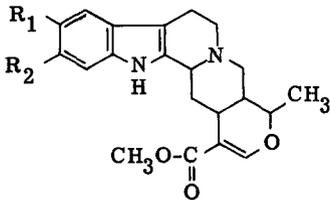
Reserpin kommt in den meisten wildwachsenden Rauwolfia-Arten vor. Zur Gewinnung dient hauptsächlich Rauwolfia serpentina Benth., eine strauchartige, in Indien beheimatete Apocyanacee, wo sie seit einigen Jahren in manchen Gegenden kultiviert wird. Ausser Reserpin enthält Rauwolfia serpentina Benth. noch weitere Alkaloide, die bis zu 90 % in der Wurzelrinde lokalisiert sind. Die Droge des Handels besteht aus der getrockneten Wurzel, enthält aber meist auch getrocknetes Rhizom. Nach Brit. Pharm. Cod. (72) soll die getrocknete Wurzel von Rauwolfia serpentina Benth. einen Gesamtalkaloid-Gehalt von nicht weniger als 0,8% aufweisen.

Für die Reserpin-Gewinnung werden auch andere Rauwolfia-Arten herangezogen, welche Reserpin in grösseren oder kleineren Mengen ebenfalls enthalten. Diese weisen weitere, für die betreffende Art oftmals charakteristische Alkaloide auf, welche in Rauwolfia serpentina Benth. nicht vorkommen. Aus Pflanzenmaterial hergestelltes Reserpin kann daher als Verunreinigung verschiedene andere, besonders strukturell verwandte Rauwolfia-Alkaloide enthalten. Aus den bisher untersuchten Rauwolfia-Arten konnten dank des Einsatzes modernster Methoden bereits über 40 Alkaloide isoliert und beschrieben werden, welche sich nach Strukturmerkmalen in folgende Haupt- und Untergruppen einteilen lassen:

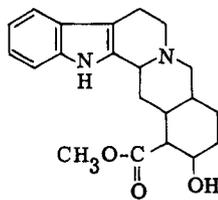
### I. Quaternäre Anhydronium-Basen



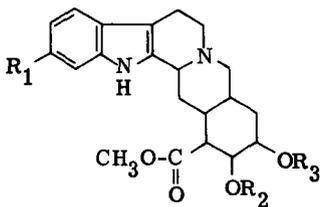
### II. Tertiäre Indol-Basen



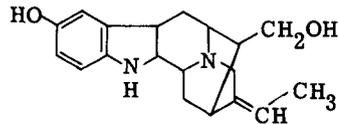
a. Tetrahydro-serpentin-Typ



b. Yohimbin und Isomere

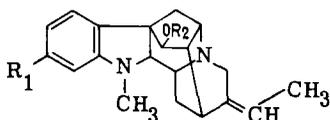


c. Reserpin-Typ

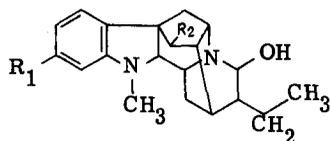


d. Sarpagin-Typ

### III. Tertiäre Indolin-Basen



a. Anhydro-ajmalin-Typ



b. Ajmalin-Typ

#### Darstellung

##### a) Durch Extraktion

Reserpin wurde 1952 von Müller, Schlittler und Bein (73) erstmals in reiner kristalliner Form isoliert.

Die fabrikmässige Herstellung ist Gegenstand verschiedener Patente.

"Das Schwz. Pat. 308689 (1955) der Ciba gibt folgendes Verfahren an: Das fein zerriebene Wurzelmaterial wird mit Methanol perkoliert, der zur Trockne eingedampfte Methanol-Extrakt dreimal mit Wasser durchgeknetet und vom Wasser getrennt. Der so erhaltene Rückstand wird mit einer schwachen Säure, insbesondere einer niederen Fettsäure, wie z. B. Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, oder einer Phosphorsäure, mehrmals extrahiert. Dieser Auszug, welcher das entsprechende Salz des Reserpins enthält, wird nun mit einem mit Wasser höchstens teilweise mischbaren organischen Lösungsmittel, vorzugsweise mit einem halogenierten Kohlenwasserstoff, oder auch mit Benzol oder Essigester mehrmals ausgeschüttelt. Die organische Lösung wird dann neutral gewaschen, wodurch die Base wieder freigesetzt wird, und zur Trockne eingedampft. Der Eindampfrückstand wird anschliessend an einem Adsorptionsmittel, wie mässig aktivem Aluminiumoxyd, Kieselsäure, "Hyflo", oder an einem anderen Silikat chromatographiert. Das Eluieren des Reserpins kann mit Petroläther-Benzol-Gemischen, Benzol und Benzol-Azeton-Gemischen erfolgen. Die das Reserpin enthaltenden Eluatfraktionen werden zur Trockne verdampft, und das Reserpin durch Umkristallisation aus heissem Azeton oder aus einem Gemisch von Chloroform und Aether gereinigt".

Nach U.S. Pat. 2,833,771 (1958) kann Reserpin auch folgendermassen extrahiert werden:

"Das Wurzelmaterial wird mit 15 %iger Essigsäure ausgezogen, und der Auszug mit "Hyflo Super Cel" und danach mit Natriumnitrat und Natriumchlorid versetzt. Unter Eiskühlung und unter Umrühren, wird der Mischung hierauf por-

tionenweise Kalziumhydroxyd zugesetzt und nach einer Stunde wird filtriert. Der im Vakuum getrocknete Rückstand wird mit einer Mischung von Methanol und Ammoniak mehrmals ausgezogen, und die vereinigten Auszüge werden nach Filtration im Vakuum zur Trockne eingedampft. Dann wird der Rückstand in einer Mischung von Methanol und Azeton gelöst, an einer Säule von neutralem Aluminiumoxyd (Aktivität III nach Brockmann) chromatographiert, anschliessend wird mit dem gleichen Lösungsmittel eluiert. Die erste Fraktion wird zur Trockne eingedampft und in wenig Methanol gelöst, aus welchem das Reserpin in reiner Form auskristallisiert."

Eine weitere Möglichkeit der Reserpin-Darstellung ist nach genanntem U.S. Pat. die folgende:

"Das Wurzelpulver wird mit Methanol am Rückfluss extrahiert, und der im Vakuum zur Trockne eingedampfte Rückstand mit 15 %iger Essigsäure ausgezogen. Nach Filtration wird der essigsäure Auszug mit Salzsäure auf ein pH von 2 gebracht und unter Eiskühlung mit einer 5 %igen Lösung von Ammoniumreineckat, in gleichen Teilen Eisessig und Wasser, versetzt. Der entstandene Niederschlag wird abgesaugt, mit 0,1 %iger Salzsäure gewaschen und bei 40° unter vermindertem Druck getrocknet. Hierauf wird der Niederschlag, welcher aus Reserpinreineckat und Begleitsubstanzen besteht, in wenig Azeton gelöst und auf eine Säule von neutralem Aluminiumoxyd (Aktivität II nach Brockmann) gebracht. Beim Eluieren mit Azeton wird das Reserpin als Base erhalten, welche durch Umkristallisation aus Methanol gereinigt wird."

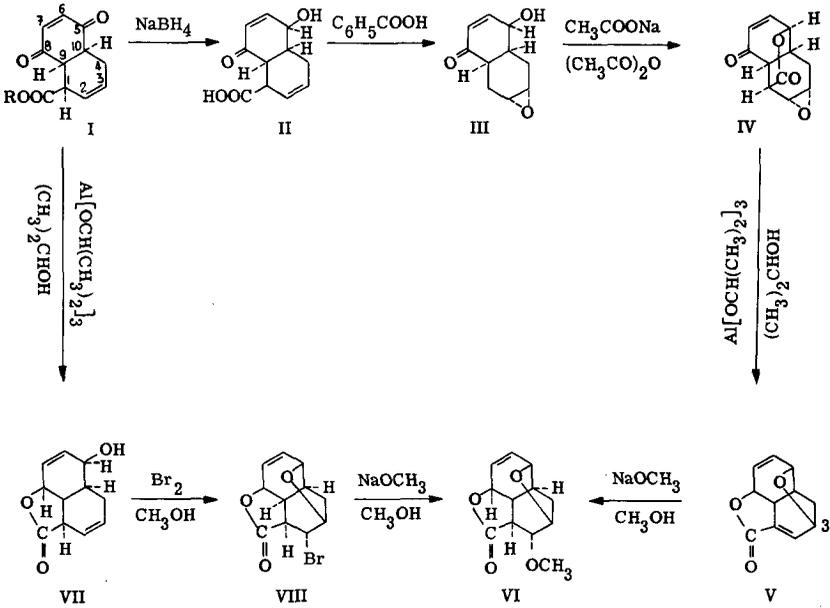
#### b) Durch Synthese

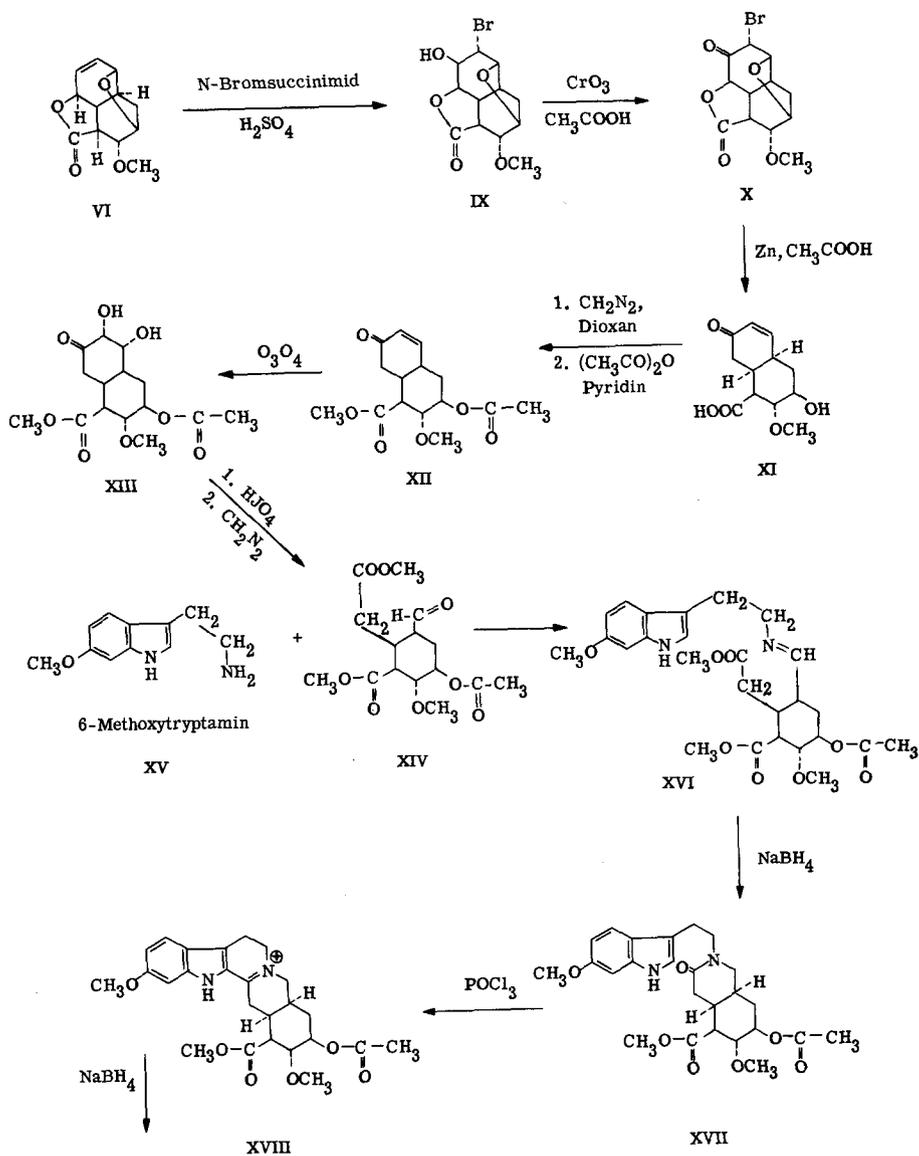
Eine Reihe ausgedehnter Forschungen bezüglich der Struktur von Reserpin führte schliesslich zur Totalsynthese des Alkaloides, welche von Woodward und Mitarbeitern (74) veröffentlicht wurde.

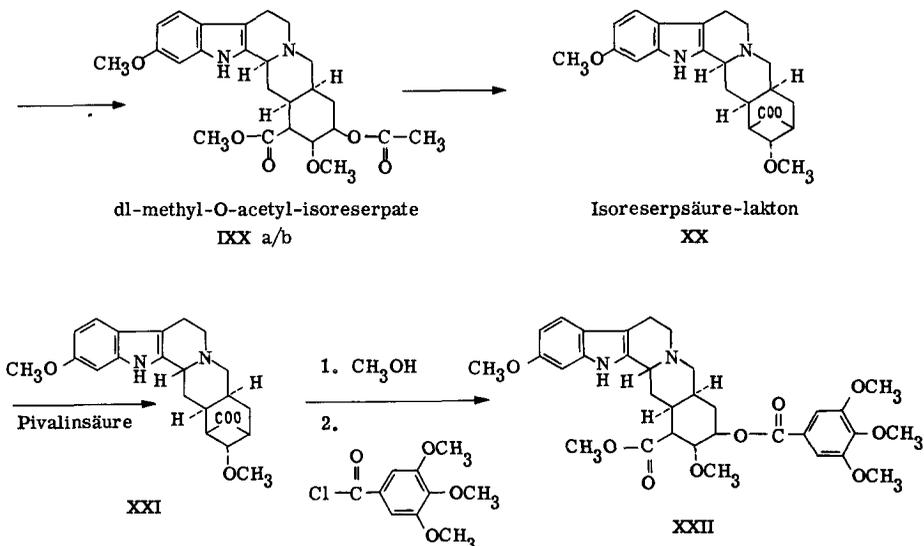
Die Synthese geht von dem aus p-Benzoquinon und Vinylacrylsäure erhaltenen Kondensationsprodukt (I) aus, welches mit Natriumborhydrid zum entsprechenden Ketoalkohol (II) reduziert wird. Die Oxydation zum Oxyd (III) erfolgt mit Perbenzoesäure in Benzol/Dioxan. Das entsprechende Lakton (IV), welches bei Einwirkung von Azetanhydrid und Natriumazetat in Benzol entsteht, wird mittels Reduktion nach Meerwein-Ponndorf mit Aluminiumisopropylat in heissem Isopropylalkohol in den Aether (V) übergeführt. Behandeln des Aethers mit Natriummethylat in Methanol ergibt den Methoxyäther (VI). Dieser kann nach einer neueren Synthese auch erhalten werden, in dem das Ausgangsprodukt der Reduktion nach Meerwein-Ponndorf unterzogen, und der entstandene Aether (VII) mittels Br<sub>2</sub> in Methanol in das Bromolakton (VIII) übergeführt wird. Behandeln des Bromolaktone mit Natriummethylat in Methanol führt zur Dehydrobromierung und Anlagerung von Methanol an die intermediär entstandene Doppelbindung am C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> - Atom.

Das durch Einwirken von N-Bromsuccinimid in warmer wässriger Lösung bei Gegenwart von Schwefelsäure auf den Methoxyäther (VI) erhaltene Bromhydrin (IX) wird mit Chromtrioxyd in Essigsäure zum entsprechenden Keton (X) oxydiert, welches durch kurzes Behandeln mit Zink in kaltem Eisessig in die Hydroxysäure (XI) übergeführt wird. Die Methylierung dieser Verbindung erfolgt mit Diazomethan in Dioxan, die Azetylierung mit Azetanhydrid in heissem Pyridin. Behandeln des Reaktionsproduktes (XII) mit wässrigem Osmiumtetroxyd und danach mit Kaliumchlorid ergibt das Diol (XIII), welches mit Perjodsäure in eine Aldehyd-Säure umgewandelt, und hierauf mit Diazomethan verestert wird (XIV). Kondensation mit 6-Methoxytryptamin (XV) und sofortiger Reduktion des Imins (XVI) mit Natriumborhydrid ergibt das Laktam (XVII), welches mit Phosphoroxchlorid cyclisiert

wird (XVIII). Durch Reduktion mit Natriumborhydrid wird d,1-Methyl-O-acetyl-isoreserpat (IXX a/b) erhalten. Der racemische Ester wird mittels di-p-toluyl-1-Weinsäure in die optischen Antipoden zerlegt. Durch Verseifen von 1-Methyl-O-acetyl-isoreserpat (IXX b) mit einer Lösung von Kaliumkarbonat in Methanol und nachfolgendem Behandeln mit Salzsäure erhält man das Isoresersäure-Hydrochlorid. Letzteres wird durch kurzes Erwärmen mit N,N'-dicyclohexyl-carbodiimid in Pyridin in das Isoresersäurelaktone (XX) übergeführt. Die Isomerisierung zum stabileren Resersäurelaktone (XXI) erfolgt beim Behandeln mit Pivalinsäure in siedendem Xylen. Das Resersäurelaktone wird mit Methanol behandelt und durch Veresterung des dabei entstandenen Methylreserpat mit 3,4,5-Trimethoxybenzoylchlorid in Pyridin erhält man Reserpin (XXII).







Wie aus der Literatur ersichtlich ist (75), findet die Synthese bereits kommerzielle Auswertung.

### Mögliche Verunreinigungen

Andere, besonders nahverwandte Rauwolfia-Alkaloide, wie Rescinnamin, Deserpidin, Raujemidin, Pseudoreserpin, Raunescin, Isoraunescin, Reserpsäuremethylester; Natrium, Kalium, Kalzium, Aluminium, Schwermetalle; Chlorid, Bromid, Sulfat, Kerbonat; Organische Lösungsmittel.

### Sinnenprüfung

Alle untersuchten Handelsmuster lagen als feine kristalline Pulver vor. Vier Muster waren rein weiss, während drei Muster ganz schwach gelblich gefärbt waren. Ein Muster wies ziemlich starke Gelbfärbung auf. Sämtliche Muster waren geruchlos. Von einer Geschmacksprobe haben wir in Anbetracht der starken Wirksamkeit der Substanz abgesehen. Wir kommen zu folgender Formulierung:

"Weisses oder höchstens schwach gelbliches kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch."

### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Eine wässrige Stammlösung konnte wegen der Schwerlöslichkeit der Substanz in Wasser nicht hergestellt werden. Wir verwendeten für einige Reinheitsprüfungen einen wässrigen Auszug (Stammlösung S I, Herstellung siehe unter chemische Reinheitsprüfungen S.171), sowie zur Bestimmung der spezifischen Drehung und des Verbrennungsrückstandes eine Lösung der Substanz in Chloroform (Stammlösung S II).

Farbreaktionen: Als Identitätsnachweis für Reserpinbase werden verschiedene Farbreaktionen angewandt. Diese sind jedoch nicht spezifisch, sondern sprechen auch auf andere Rauwolfia-Alkaloide, im besonderen auf solche des Reserpin-Typs an.

Brit. Ph. 1958 und DAK Praeparater (154) führen eine Farbreaktion mit Natriummolybdat bzw. Ammoniummolybdat in konzentrierter Schwefelsäure aus. Es entsteht eine blaue Färbung, welche nach Grünlich-braun umschlägt. Bei Verwendung von Reagenzien in ganz bestimmten Konzentrationen und Beobachtung der Reaktionszeiten lassen sich nach der Prüfungsvorschrift der Firma BOEHRINGER (76) Reserpin und Rescinnamin mit dieser Reaktion unterscheiden. In Vanillin-Salzsäure (USP XVI, Brit. Ph. 1958) löst sich Reserpin mit rosaroter Färbung, welche rasch in Violetrot übergeht.

Brit. Ph. 1958 lässt ausserdem noch eine Reaktion mit Dimethylaminobenzaldehyd, Eisessig und Schwefelsäure ausführen. Die entstandene grüne Farbe schlägt nach weiterem Zusatz von Eisessig nach Rot um. Die Prüfungsvorschrift der Firma INVERNI & DELLA BEFFA (77) lässt eine Spur Reserpin in verdünnter Essigsäure, welche Ferrichlorid enthält, lösen. Beim Unterschichten mit konzentrierter Schwefelsäure, welcher ebenfalls eine Spur Ferrichlorid zugesetzt wird, entsteht an der Berührungszone ein brauner Ring.

Wir überprüften die genannten Farbreaktionen und schlagen folgende zwei Reaktionen in nachstehender Formulierung für den Pharmakopöetext vor:

"Eine Spur Reserpinbase wird in einem Reagensglas mit Glasstopfen in 5 ml einer Lösung von 10 mg Ammoniummolybdat in 10 ml konzentrierter

Schwefelsäures RS gelöst. Nach etwa 2 Minuten entsteht eine blaue Färbung, welche erst nach weiteren 3 Minuten über Graublau nach Olivgrün übergegangen sein darf."

Alle acht Handelsmuster ergaben die für Reserpin charakteristische Färbung. Mit dieser Reaktion kann bei Beobachtung der Reaktionszeiten Reserpin von Rescinnamin sicher unterschieden werden. Mit Rescinnamin entsteht bereits nach 2 Minuten eine olivgrüne Farbe, nach weiteren 3 Minuten hat der Reagensglasinhalt eine dunkel-rotbraune Färbung angenommen.

"Eine Spur Reserpinbase löst sich in 3 ml Vanillin-Salzsäure RS mit rosaroter Farbe, welche rasch nach Violett-Rot umschlägt."

Diese Reaktion, welche zur weiteren Identifizierung in den meisten Prüfungsvorschriften angeführt ist, wurde von allen acht Handelsmustern im positiven Sinn erhalten. Wir empfehlen sie deshalb zur Aufnahme in die Ph. Helv. VI.

#### Alkaloid-Fällungsreagenzien:

Herstellung des Tetraphenylborates: Ueber Herstellung und Schmelzbereich dieses Derivates konnten wir der Literatur keinerlei Angaben entnehmen. Nach folgender Vorschrift gelang es uns, ein kristallines Derivat herzustellen:

"50 mg Reserpinbase werden in 5 ml verdünnter Essigsäure RS gelöst und unter Eiskühlung mit 2 ml Kalignost RS versetzt. Das Fällungsgemisch wird ca. 30 Minuten im Eisschrank belassen. Dann wird der weisse, kristalline Niederschlag sofort abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Die Kristalle schmelzen unter Zersetzung zwischen 140,3<sup>o</sup> und 145,0<sup>o</sup> (unkorr.) bzw. 142,5<sup>o</sup> und 147,5<sup>o</sup> (korr.)."

Die anfänglich rein weissen Kristalle nehmen schon während des Waschens und Absaugens eine gelbliche Färbung an, woraus zu schliessen ist, dass diese schon bei Zimmertemperatur zur Zersetzung neigen. Da auch das Schmelzintervall sehr breit und unscharf ist, ist dieses Derivat zur Identifizierung nicht geeignet.

Herstellung des Reineckates: Folgendes Vorgehen lieferte uns einen gut filtrierbaren kristallinen Niederschlag:

"50 mg Reserpinbase werden in der Mischung von 4 ml Azeton und 2 ml Wasser gelöst. Dann werden 5 Tropfen verd. Salzsäure RS und 4 ml Ammoniumreineckat RS zugesetzt. Das Fällungsgemisch wird stehen gelassen, bis sich die entstandene Trübung in Form eines kristallinen Niederschlages abgesetzt hat. Dieser wird abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet."

Die rötlichen Kristalle zersetzen sich bei ca.  $210^{\circ}$  ohne zu schmelzen, weshalb das Reineckat zur Identifizierung nicht in Betracht gezogen werden kann.

Herstellung des Perchlorates: DAK Praeparater (154) zieht die Herstellung des Perchlorates und Bestimmung des Schmelzbereiches als Identitätsnachweis für Reserpin heran. Wir hielten uns an die dort angegebene Vorschrift:

"50 mg Reserpinbase werden in 5 ml verd. Essigsäure RS gelöst und 5 Tropfen konz. Perchlorsäure RS zugefügt. Der weisse kristalline Niederschlag wird abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet."

Der von uns ermittelte Schmelzbereich (unter Zersetzung) beträgt  $243 - 246^{\circ}$  (unkorr.) bzw.  $250,5 - 253,7^{\circ}$  (korr.). Der Literatur konnten wir für den Schmelzbereich des Reserpin-Perchlorates folgende Angaben entnehmen.

DAK Praeparater (154)	$250 - 255^{\circ}$ (unter Zersetzung)
Merck Index 7 <sup>th</sup> Ed. (153)	$238 - 239^{\circ}$
Dorfman und Mitarbeiter (78)	$238 - 239^{\circ}$ (unter Zersetzung)

Für Pharmakopözwecke verzichten wir auf die Herstellung des Perchlorates, da dieses unter Zersetzung schmilzt.

Herstellung des Pikrates: Nach einer Literaturstelle (78) können schwerlösliche Salze von Reserpin am besten aus einer Lösung des Alkaloides in 2 n Essigsäure durch Versetzen mit der entsprechenden Säure im Ueberschuss und unter Eiskühlung erhalten werden. Bei diesem Vorgehen erhielten wir jedoch ein sehr schlecht filtrierbares Pikrat. Nach Verwendung verschiedener Lösungsmittel-Gemische konnte aus der Mischung von 1 ml Wasser, 1 ml 15%iger Essigsäure und 3 ml Azeton ein gut filtrierbarer kristalliner Niederschlag erhalten werden. Die Umkristallisation gelingt sehr gut aus heissem Aethanol.

Die Schmelzbereiche für Reserpinpikrat betragen nach der Literatur:

Merck Index 7 <sup>th</sup> Ed. (153)	183 - 186 <sup>o</sup>
Schw. Pat. Nr. 308689 (1955)	183 - 186 <sup>o</sup>
Dorfman und Mitarbeiter (78)	183 - 186 <sup>o</sup> (unter Zersetzung)

Die Pikrate unserer Handelsmuster wiesen folgende Schmelzbereiche auf:

<u>Handelsmuster</u>	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	178,5 - 180,5 <sup>o</sup>	182,6 - 184,7 <sup>o</sup>
II	178,3 - 180,2 <sup>o</sup>	182,4 - 184,4 <sup>o</sup>
III	178,5 - 180,5 <sup>o</sup>	182,6 - 184,7 <sup>o</sup>
IV	178,7 - 180,2 <sup>o</sup>	182,8 - 184,4 <sup>o</sup>
V	178,0 - 180,0 <sup>o</sup>	182,1 - 184,2 <sup>o</sup>
VI	178,0 - 180,5 <sup>o</sup>	182,1 - 184,7 <sup>o</sup>
VII	178,2 - 180,3 <sup>o</sup>	182,3 - 184,5 <sup>o</sup>
VIII	178,5 - 180,5 <sup>o</sup>	182,6 - 184,7 <sup>o</sup>

Da der Schmelzbereich des Pikrates eingermassen scharf ist (die Substanz weist vor dem Schmelzen keine Verfärbung auf, sondern zerfließt bei der Schmelztemperatur unter Zurücklassen einer braunen Schmelze), möchten wir die Herstellung des Pikrates vorschlagen und einen korr. Schmelzbereich von 182 - 185<sup>o</sup> fordern. Für den Pharmakopöetext sehen wir folgende Formulierung vor:

"50 mg Reserpinbase werden in der Mischung von 1 ml Wasser + 1 ml 15 % iger Essigsäure + 3 ml Azeton gelöst und diese Lösung tropfenweise mit 3 ml Pikrinsäure RS versetzt. Aus der trüben Lösung scheidet sich unter Reiben der Reagensglas-Wandung mit einem Glasstab sofort ein gelber, kristalliner Niederschlag ab. Dieser wird abgenutscht, mit 10 ml Wasser gewaschen und in 6 ml heissem Aethanol 94 % gelöst. Die nach dem Erkalten abgeschiedenen Kristalle weisen nach dem Trocknen bei 80<sup>o</sup> einen korr. Schmelzbereich von 182 - 185<sup>o</sup> auf."

#### Papierchromatographische Prüfung

##### a) Bisherige Untersuchungen

Die Rauwolfia-Alkaloide waren mehrmals Gegenstand papierchromatographischer Untersuchungen. Die Papierchromatographie wurde aber vorwiegend zur Unterscheidung der verschiedenen Rauwolfia-Arten und zur Identifizierung der darin vorkommenden Alkaloide und nicht im Sinne von eigentlichen Reinheitsprüfungen eingesetzt. Eine der ersten Arbeiten in dieser Richtung wurde von Hörhammer und Mitarbeitern (79) publiziert. Die Autoren arbeiteten aufstei-

gend und versuchten, die aus *Rauwolfia serpentina* isolierten Alkaloide mit wassergesättigtem n-Butanol zu trennen. Das Chromatogramm zeigte bei Betrachtung unter der Analysen-Quarzlampe zwei intensiv hellblau fluoreszierende Zonen vom Rf-Wert 0,83 und 0,96, welche dem Serpentin und Serpentinin zugeordnet wurden. Rao und Rao (80) bedienten sich zur Identifizierung der Alkaloide von *Rauwolfia micrantha* der Rundfilterchromatographie und verwendeten n-Butanol - konz. Salzsäure - Wasser (50:7,5:17,5) als Fließmittel. Es ergaben sich drei Zonen vom Rf-Wert 0,80, 0,86 und 0,92. Der Nachweis von Reserpin in *Rauwolfia inebrians* und *Rauwolfia obscura* gelang Paris und Dillemann (81) unter Verwendung des Laufmittelgemisches Isoamylalkohol-Eisessig-Wasser-Petroläther (3:3:3:1). Es wurde aufsteigend chromatographiert. Kaneko (82) chromatographierte einen 10 % Essigsäure enthaltenden methanolischen Extrakt aus *Rauwolfia serpentina* auf multigepuffertem Papier - pH 2,1 bis 6,4 - mit Chloroform-Benzol (1:2) oder Essigsäureäthylester als mobile Phase und konnte Reserpin, Ajmalicin, Rescinnamin, Reserpin, Yohimbin, Ajmalin, Serpentinin und Methylreserpat identifizieren. McMullen und Mitarbeiter (83) arbeiteten nach der absteigenden Methode unter Verwendung von Whatmann Nr. 4 - Papier. Zur Bereitung der stationären Phase wurden 50 ml Propylenglykol mit Methanol auf 100 ml verdünnt und 1 ml Eisessig zugesetzt. Als mobile Phase diente eine mit Propylenglykol gesättigte Mischung von Benzol-Cyclohexan (1:1). Mit diesem System konnte Reserpin (Rf-Wert 0,40) von Serpentinin, Ajmalin, Ajmalicin, Yohimbin und Reserpinsäurehydrochlorid getrennt werden. Nach dem letztgenannten Verfahren trennt Ljungberg (84) Reserpin von den Gesamtalkaloiden aus *Rauwolfia serpentina* ab und bestimmt den Reserpin-Gehalt nach dem Ausscheiden und Eluieren der betreffenden Zone spektrophotometrisch. Boscott und Karr (85) benutzten zum Entwickeln eine 5 %ige Natriumazetatlösung mit 10 % Essigsäure und setzten n-Butyläther bis zur Sättigung zu. Es werden folgende Rf-Werte angegeben: Reserpin 0,34, Rescinnamin 0,26, Yohimbin 0,58, Rauwolscin 0,63, Serpentin 0,50, Ajmalin 0,76, Deserpidin 0,41, Methylreserpat 0,52. Nachstehend genannte Autoren arbeiteten mit Formamid als stationärer Phase. Machovičová (86) verwendete zur Trennung von Reserpin, Reserpinsäure und Yohimbin Papiere, die mit Methanol-Formamid (60:40) imprägniert waren, und bediente sich folgender mit Formamid gesättigter Fließmittel: Benzol, Chloroform, Benzol-Chloroform (1:1) und Benzol-Chloroform (2:8). Für nicht imprägniertes Papier benutzte der Autor n-Butanol-Pyridin-Wasser (2:1:2). Reserpinsäure und Yohimbin bleiben in allen Fällen am Start, während Reserpin zufriedenstellende Rf-Werte lieferte. Am besten bewährte sich dabei das System Benzol-Chloroform (1:1), welches für Reserpin den Rf-Wert 0,40 ergab. Machovičová und Mitarbeiter (87) trennen Reserpin, Ajmalin und Serpentin auf mit Formamid imprägniertem Whatmann Nr. 1 - Papier unter Verwendung von Chloroform, Chloroform-Benzol (1:1) bzw. (1:4) als mobile Phase. Die Autoren geben keine Rf-Werte an. André und Mitarbeiter (88) untersuchten den Methanol-Extrakt der Wurzeln von *Tonduzia longifolia* (Costa Rica) papierchromatographisch und konnten die Anwesenheit von mindestens 12 Alkaloiden, darunter Reserpin, Rescinnamin, Deserpidin und Ajmalin, nachweisen. Für die Untersuchungen, die an mit Formamid imprägniertem Whatman Nr. 1 - Papier erfolgten, dienten den Autoren Benzol-Cyclohexan (1:1) und Benzol-Chloroform (1:1), wobei das erstgenannte System eine einwandfreie Trennung ermöglichte. Die Rf-Werte betragen für Ajmalin 0,00, Deserpidin 0,50, Rescinnamin 0,26, Reserpin 0,35. Auch Korzum und Mitarbeiter (89) verwendeten mit Formamid imprägniertes Whatman Nr. 1 - Papier und chromatographierten absteigend unter Verwendung von Benzol-Cyclohexan (1:1), gesättigt mit Formamid. Sie erreichten mit diesem Verfahren die Trennung von Reserpin, Rescinnamin, Reserpin, Ajmalicin, Reserpinin und Deserpidin. Hochstein

und Mitarbeiter (90) arbeiteten mit den Lösungsmittelgemischen Benzol-Cyclohexan (1:1) und Benzol-Chloroform (1:1) an mit Formamid imprägniertem Whatman Nr. 1 - Papier und geben für diese Systeme Rf-Werte für Reserpin, Rescinnamin, Yohimbin, Rauwolscin, Ajmalicin, Heterophyllin, Serpentin, Ajmalin und Sarpagin an. Diese liegen sehr nahe beieinander oder sind sogar identisch. Der Rf-Wert für Reserpin beträgt 0,41 bzw. 0,9, für Rescinnamin 0,38 bzw. 0,9. Bessere Verteilung erreichten genannte Autoren durch Entwicklung mit Wasser in einer mit Essigsäure und Wasserdämpfen gesättigten Atmosphäre. Die Rf-Werte sind die folgenden: Reserpin 0,20, Rescinnamin 0,0 - 0,18, Yohimbin 0,45, Rauwolscin 0,55, Ajmalicin 0,18, Heterophyllin 0,27, Serpentin 0,13, Sarpagin 0,40, Ajmalin 0,60. Es wurden bekannte Alkaloide als Kontrollsubstanzen verwendet. Banes, Carol und Wolff (91) gelang die vollständige Trennung von Serpentin, Ajmalin, Ajmalicin, Reserpin, Rescinnamin und Deserpidin. Sie verwendeten mit Formamid imprägniertes Whatmann Nr. 1 - Papier und chromatographierten aufsteigend in einer mit Ammoniak gesättigten Atmosphäre. Als mobile Phase diente die Mischung aus 100 ml Isooktan, 5 ml Benzol und 5 ml Formamid, welcher nach dem Verwerfen der unteren Phase 2 ml Cyclohexan zugesetzt wurde. Das Sichtbarmachen der Alkaloide erfolgte nach Trocknen der Chromatogramme bei 90° und nachfolgendem Einwirken von Salzsäuredämpfen durch ihre Fluoreszenz im UV-Licht. Die Rf-Werte betragen in diesem System für Reserpin 0,56, Rescinnamin 0,45, Deserpidin 0,72, Serpentin 0,02, Ajmalin 0,10, Ajmalicin 0,87. Carol und Mitarbeiter (92) verwendeten zur Unterscheidung verschiedener Rauwolfia-Arten zwei mobile Phasen. Phase A besteht aus einem Gemisch von 60 ml n-Heptan, 40 ml Tetrachlorkohlenstoff und 2 ml Formamid. Nach Abtrennung der unteren Schicht werden 2,5 ml tertiärer Butylalkohol zugesetzt. Phase B wird gebildet aus der oberen Schicht eines Gemisches von 40 ml Benzol, 60 ml Isooktan und 2 ml Formamid. Chromatographiert wurde aufsteigend an mit Formamid imprägniertem Whatman Nr. 1 - Papier, mit Phase A in einer Ammoniakatmosphäre. Das Verfahren B gestattete die Trennung von Alkaloiden mit relativ hohen Rf-Werten. Kaiser und Popelak (93) trennten mit den Lösungsmittelgemischen Heptan-Methyläthylketon verschiedener Zusammensetzung an mit Formamid imprägniertem Papier Schleicher und Schüll 2043 b mgl. Als mobile Phase verwendeten die Autoren folgende, mit Formamid gesättigte Lösungsmittelgemische: Gemisch A: Heptan-Methyläthylketon (1:1), Gemisch B: Heptan-Methyläthylketon (4:1), Gemisch C: Heptan-Methyläthylketon (2:1) mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, Gemisch D: Heptan-Methyläthylketon (1:1) mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, Gemisch E: Xylol-Methyläthylketon (1:1) mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre. Als stationäre Phase dient eine Mischung von Formamid-Azeton (1:4). Das Papier wird genau 2 Minuten imprägniert und dann zwischen Filtrierpapier abgepresst. Es wird aufsteigend chromatographiert. Die Sichtbarmachung erfolgt mit UV-Licht oder für einzelne Alkaloide mit Farbreegenzien. Die Autoren geben ein Verfahren zur vollständigen Auftrennung eines Rauwolfia-Alkaloidgemisches an, wozu neben den bereits aufgeführten Gemischen noch das System F (Methyläthylketon-Methylglykol-Wasser 30:2:7) und das System G (Isopropylalkohol-0,5 n NH<sub>4</sub>OH 4:1) Verwendung finden. Die Firma BOEHRINGER (76) verwendet zur Reinheitsprüfung von Reserpin die Lösungsmittelgemische A und B nach Kaiser und Popelak.

#### b) Eigene Untersuchungen

Bei der Ausarbeitung einer papierchromatographischen Reinheitsprüfung für Reserpin, die als Arzneibuchmethode Verwendung finden soll, konnte es nicht

darum gehen, die Vielzahl der Rauwolfia-Alkaloide aufzutrennen, sondern es stellte sich das Problem, ein Verfahren zu finden, welches die einwandfreie Abtrennung des Reserpins von seinen Nebenalkaloiden gestattet. Die von Kaiser und Popelak (93) u. a. verwendeten Lösungsmittelgemische.

n-Heptan/Methyläthylketon	1:1
n-Heptan/Methyläthylketon	2:1, mit NH <sub>3</sub> -Atmosphäre

schiene sich für die zu lösende Aufgabe am besten zu eignen, weshalb wir uns zu einer Ueberprüfung dieser Systeme entschlossen. Wir arbeiteten an mit Formamid imprägnierten Papieren unter den nachstehenden Versuchsbedingungen.

Apparatur: Wir verwendeten die in der Ph. Helv. V, Suppl. III, beschriebenen Chromatographiergefäße zur aufsteigenden bzw. absteigenden Papierchromatographie. Die Gefäße wurden durch Umkleiden mit schwarzem Papier für Licht vollständig undurchlässig gemacht und vor Gebrauch mit der mobilen Phase bzw. bei Ammoniak sättigung mit konzentriertem Ammoniak RS während mindestens 14 Stunden klimatisiert.

Vorbereiten der Papiere: Das in Streifen zu 8, 12 bzw. 18 cm geschnittene Chromatographierpapier Whatman Nr. 1 wurde während genau 2 Minuten in einem dicht verschlossenen Gefäß in eine Mischung von 20 ml Formamid und 80 ml Azeton vollständig eingetaucht, zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht ausgepresst und während 15 Minuten bei Zimmertemperatur zum Trocknen aufgehängt. Diese Arbeitsweise musste genau eingehalten werden, weil die Reproduzierbarkeit der Rf-Werte u. a. auch von der Formamidsättigung abhängig ist. Bei längeren Imprägnierungszeiten resultierten kleinere Rf-Werte. Die vorbereiteten Chromatographierpapiere wurden nach der Trocknung ohne grosse Verzögerung mit den Substanzen beschickt.

Auftragen der Substanzen: Im Abstand von jeweils 3 cm wurden frisch bereitete Lösungen der Reinalkaloide (entsprechend 20-100 µg) bzw. eines Totalalkaloidgemisches (entsprechend ca. 300 µg) in Narkose-Chloroform auf die Startlinie aufgetragen. Das Herstellen der Lösungen sowie das Auftragen der Substanzen erfolgte vor Licht geschützt.

Vorbereiten der mobilen Phase: Die Lösungsmittelsysteme wurden durch Mischen der Komponenten im jeweils erforderlichen Verhältnis hergestellt, und die gerade zur Sättigung notwendige Menge Formamid zugesetzt. Die Gemische wurden erst verwendet, nachdem sie völlig klar waren und wurden nach einmaligem Gebrauch verworfen. Bei mehrmaligem Gebrauch konnten kleinere Rf-Werte festgestellt werden.

Entwickeln der Papiere: Die mit den Substanzen beschickten Papiere wurden sofort in die Chromatographiergefäße gehängt und ohne Vorhängezeit entwickelt. Wir arbeiteten zuerst aufsteigend, stellten aber in der Folge auf das absteigende Verfahren um, weil damit konstantere Rf-Werte erreicht wurden. Die Laufzeit betrug aufsteigend 4-5 Stunden, absteigend ca. 3 Stunden. Während dieser Zeit wandert die Lösungsmittelfront 25-30 cm.

Sichtbarmachen der Alkaloide: Die meisten Rauwolfia-Alkaloide fluoreszieren beim Bestrahlen mit UV-Licht mit blauen, grünen, grünlich-grauen und gelben bis gelbbraunen Farben. Die Chromatogramme wurden im Trokenschrank bei ca. 120° vom Lösungsmittel und vom grössten Teil des Formamids befreit und anschliessend unter der UV-Lampe betrachtet. Einige Nebenalkaloide wurden durch Besprühen mit Zimtaldehyd RS und Einhängen in ein mit Chlorwasserstoff gefülltes Gefäss sichtbar gemacht.

Bei den Untersuchungen gingen wir so vor, dass wir zuerst die verfügbaren Reinsubstanzen bzw. Mischungen derselben im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1, mit Ammoniak sättigten, chromatographierten und die erreichte Verteilung feststellten. Da nicht alle Alkaloide als Reinsubstanzen erhältlich waren, verwendeten wir ausserdem noch ein Totalalkaloidgemisch aus *Rauwolfia serpentina* Benth., welches ca. 5,4 % Reserpin enthielt. Das Totalalkaloidgemisch wurde uns von der Firma dott. INVERNI & DELLA BEFFA S.p.A., Milano, in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt. Wie das aus Abb. 7 ersichtliche, aufsteigend entwickelte Chromatogramm zeigt, lässt sich mit genanntem System eine sehr gute Verteilung erreichen, in dem es gelingt, Reserpin von den übrigen Alkaloiden abzutrennen. In der Folge wird basierend auf mit Reinsubstanzen hergestellten Chromatogrammen versucht, die Lage der wichtigsten Alkaloide im Totalalkaloidgemisch festzulegen.

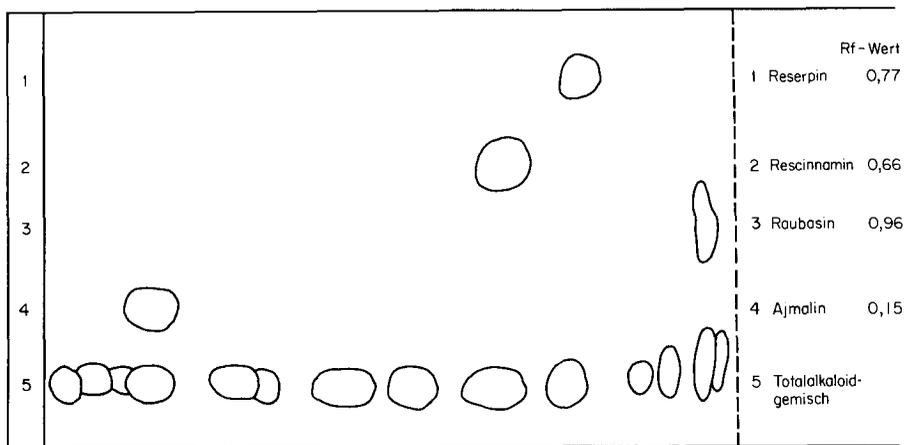


Abb. 7 Verteilung einiger Alkaloide im Totalalkaloidgemisch aus *Rauwolfia serpentina* Benth., System: n-Heptan/Methyläthylketon 2:1, NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, aufsteigend entwickelt.

Die unmittelbar an die Startlinie anschliessenden 4 Zonen enthalten in der angegebenen Reihenfolge die Alkaloide Sarpagin, Serpentin, Reserpsäuremethylester, Serpentinin, Isorauhimbil, Isoajmalin und Ajmalin; letzteres weist auf dem abgebildeten Chromatogramm den Rf-Wert 0,15 auf. In die nächsten zwei Zonen entfallen Yohimbil sowie event. auftretende Zersetzungsprodukte von Rescinnamin und Reserpin. Hierauf folgt ein intensiv gelbbrauner Fleck, welcher wahrscheinlich mit Reserpilin identisch ist. Die unmittelbar vor dem Rescinnamin-Fleck sichtbare grünblaue Zone und die auf den Reserpin-Fleck folgende grünbraune und darauf anschliessende blaue Zone konnten wir nicht identifizieren. Der nächste Bereich enthält Raubasin, sowie Zersetzungsprodukte von Rescinnamin und Reserpin, auf die später noch näher eingetreten wird. Der Bereich vor der Frontlinie enthält Reserpinin. Die Tatsache, dass für die Reserpin-Gewinnung auch andere Rauwolfia-Arten herangezogen werden können, bringt die Möglichkeit einer Verunreinigung von Reserpin mit weiteren Alkaloiden mit sich, welche in Rauwolfia serpentina Benth. nicht vorkommen. Bis heute sind aus etwa 20 Rauwolfia-Arten, welche Reserpin in grösseren oder kleineren Mengen enthalten, über 40 Alkaloide isoliert worden. Die vom Reserpin-Typ abweichende Struktur der meisten dieser Alkaloide lässt jedoch auf eine andere Wanderungsgeschwindigkeit in den verwendeten Lösungsmittelgemischen schliessen.

Mit dem aufsteigenden Verfahren ergaben sich bei unseren Versuchen wesentlich grössere Rf-Werte als sie Kaiser und Popelak (93) erhielten, welche an Papier Schleicher und Schüll 2043 b mgl arbeiteten. Die Autoren geben für Reserpin im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit Ammoniakatmosphäre einen Rf-Wert von 0,60 mit Abweichung von  $\pm 5\%$  an. Die von uns ermittelten Rf-Werte liegen zwischen 0,77 und 0,88. In der Folge entschlossen wir uns für das absteigende Verfahren, womit sich kleinere und konstantere Rf-Werte ergaben. In Tab. 5 sind die Rf-Werte der von uns absteigend chromatographierten Reinalkaloide im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit  $\text{NH}_3$ -Sättigung zusammengestellt. Bei Reserpin, Rescinnamin und Deserpidin handelt es sich um Mittelwerte aus 15, bei den übrigen Alkaloiden aus 3-5 Chromatogrammen. Die Werte zeigen eine maximale Streuung von  $\pm 0,04$  Rf-Einheiten.

Tabelle 5

Alkaloid	Rf-Werte (Mittelwerte)	Farbe im UV
Ajmalin	0,08	blaugrün
Deserpidin	0,72	graubraun
Raubasin	0,82	grügrau
Rauwolscin	0,36	grünblau
Rescinnamin	0,49	grün
Reserpilin	0,28	gelbbraun
Reserpin	0,56	grün
Reserpinin	0,88	grün
Reserpsäure-methylester	0,03	grün
Serpentin	0,00	blau
Serpentinin	0,00	graublau
Yohimbin	0,23	grügrau

Rf-Werte einiger Rauwolfia-Alkaloide im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1, NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, absteigend entwickelt.

Beim Erhitzen auf 140° während 10 Minuten geht die schwach graubraune Fluoreszenz von Deserpidin in ein helles Graublau über. Rauvomitin (Rf-Wert = 0,90) und Sarpagin (Rf-Wert = 0,00) sowie Ajmalin, dessen Fluoreszenz im UV sehr schwach ist, wurden mit Zimtaldehyd RS sichtbar gemacht, mit welchem Reagens Ajmalin und Rauvomitin eine violette, Sarpagin eine braune Färbung zeigt. In Abb. 8 ist die Trennung von Reserpin und Rescinnamin neben Deserpidin und Reserpsäure-methylester veranschaulicht.

Zersetzungsprodukte: Beim Chromatographieren sämtlicher Reserpin-Muster bemerkten wir ausser Reserpin-Fleck noch eine schwache grüne Fluoreszenz, welche im System n-Heptan/Methyläthylketon 1:1 den Rf-Wert von 0,14, im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre den Rf-Wert von 0,83 aufwies. Zudem trat auf den im letztgenannten System entwickelten Chromatogrammen noch eine weitere sehr schwache grüne Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,24 auf, welche erst auf den trockenen Chromatogrammen sichtbar wurde. Sogar die

USP Reference Standard-Substanz zeigte ein solches Verhalten. Eine Analogie war beim Chromatographieren von Rescinnamin festzustellen. Die Beobachtung, dass auf Reserpin-Chromatogrammen noch ein bzw. mehrere Nebenflecke entstehen, wurde schon von verschiedenen Autoren gemacht.

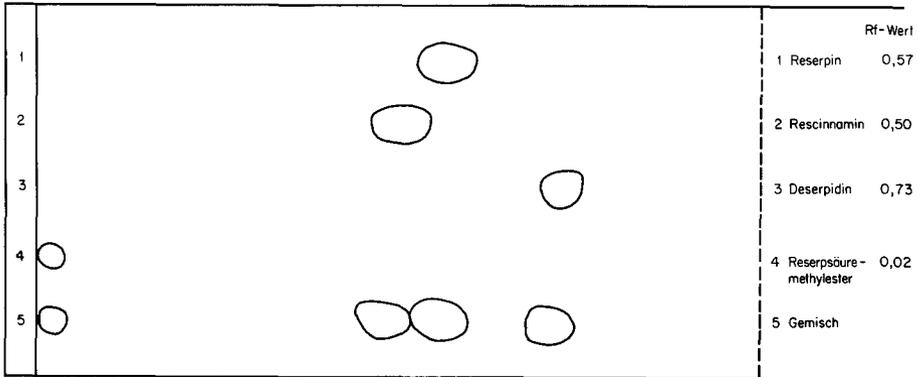


Abb. 8 Trennung von Reserpin und Rescinnamin im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1,  $\text{NH}_3$ -Atmosphäre, absteigend entwickelt

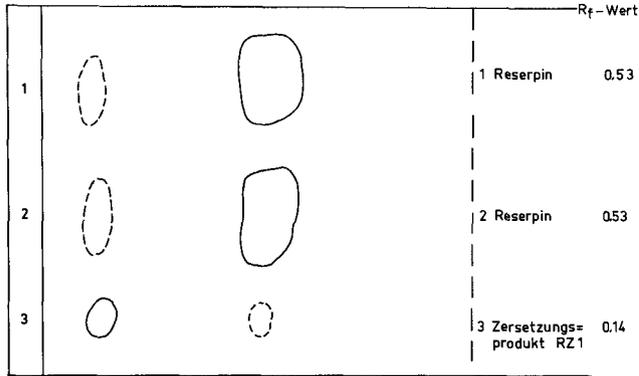
Banes, Carol und Wolff (91) chromatographierten verschiedene Reserpin-Muster und stellten in einigen Mustern einen blau fluoreszierenden Fleck vom Rf-Wert ca. 0,72 und in den meisten Mustern einen gelb fluoreszierenden Fleck nahe der Startlinie fest. Paris und Dillemann (81) erhielten einen zweiten Fleck und glaubten, es handle sich um mit Nebenalkaloiden verunreinigtes Reserpin. McMullen und Mitarbeiter (83) beobachteten auf Chromatogrammen, welche milden oxydativen Bedingungen ausgesetzt wurden, nahe der Startlinie eine Zone von gelber Fluoreszenz und niedriger UV-Absorption. Bayer (94) bemerkte bei der papierchromatographischen Untersuchung einzelner Reserpin-Muster ausser dem Reserpin-Fleck (Rf-Wert = 0,5) noch das Auftreten von 2 anderen Flecken (Rf-Werte = 0,03 und 0,9). Der Autor arbeitete aufsteigend und verwendete mit Formamid gesättigtes Benzol als mobile Phase. Wurde das Reserpin der Einwirkung von Licht oder Wärme ausgesetzt oder die Lösung in Eisessig bzw. Chloroform längere Zeit stehen gelassen, so verstärkte sich die Intensität dieser beiden Flecke. Bayer nahm an, dass es sich um Zersetzungs- oder Umwandlungsprodukte von Reserpin handle und unternahm den Versuch diese zu identifizieren. Er glaubte, die Identität des einen Umwandlungsproduktes (Rf-Wert = ca. 0,9) mit 3-Isoreserpin nachweisen zu können und vermutete, dass das andere Produkt (Rf-Wert = 0,03) 3-Dehydro-reserpin darstelle. Letztere Vermutung wurde auch von Banes und Mitarbeitern (95) sowie von Weissenborn und Mitarbeitern (96) aufgestellt. Umfangreiche Untersuchungen über Reserpin-Zersetzungsprodukte wurden von Krebs und Futscher (97) ausgeführt. Die Autoren chro-

matographierten einige Reserpin-Präparate des Handels nach Extraktion des Reserpins mit Chloroform. Im System n-Heptan/Methyläthylketon 1:1 war ein mäßig grün fluoreszierender Fleck mit Rf-Wert 0,6 (Reserpin), ein intensiv grün fluoreszierender Fleck mit Rf-Wert 0,3 - 0,4 (Reserpin-Zersetzungsprodukt 1 = RZ<sub>1</sub>) und ein gelb fluoreszierender Fleck auf der Startlinie (Reserpin-Zersetzungsprodukt 2 = RZ<sub>2</sub>) sichtbar. Bei Sättigung der Kammer mit Ammoniak lagen die Rf-Werte höher und Reserpin und RZ<sub>1</sub> tauschten die Plätze. Unterhalb Reserpin trat ein weiterer grün fluoreszierender Fleck (Reserpin-Zersetzungsprodukt 3 = RZ<sub>3</sub>) auf. Die Autoren vermuteten, dass RZ<sub>1</sub> mit 3-Dehydroreserpin identisch sei, welcher Beweis ihnen in einer späteren Arbeit (98) gelang. Mit der papierchromatographischen Untersuchung von Reserpin-Zersetzungsprodukten beschäftigten sich noch weitere Autoren (99, 100). Ueber die Haltbarkeit von Reserpin-Lösungen bestehen ebenfalls zahlreiche Publikationen (101, 102, 103). Auch mit Hilfe der Plattenchromatographie konnten Schlemmer und Link (104) ausser dem Reserpin-Streifen noch zwei Nebestreifen nachweisen. Nach Meinung der Autoren sind diese beiden Nebestreifen für die Praxis jedoch ohne Bedeutung, weil die damit verbundene Gehaltsverminderung weniger als 1 % ausmache. Erst das Auftreten von weiteren fluoreszierenden Nebestreifen zeige Veränderung und Zersetzung an.

Die Vermutung, dass der auf sämtlichen Reserpin-Chromatogrammen erhaltene Nebenfleck vom Rf-Wert 0,14 bzw. 0,83 mit 3-Dehydroreserpin identisch sein könne, veranlasste uns, dieses nach den Angaben von Krebs und Futscher (97) herzustellen. Wir legten dabei folgende Vorschrift zugrunde:

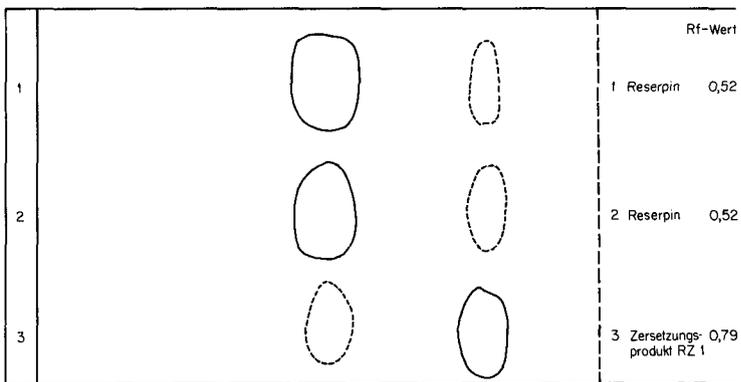
"Ca. 30 mg Reserpinbase wurden in 90 ml 5 n Essigsäure gelöst und diese Lösung in einen Messkolben von 100 ml Inhalt gebracht, dann wurden 3,4 ml einer Lösung von 100 mg Natriumnitrit in 100 ml Wasser zugefügt, mit 5 n Essigsäure bis zur Marke ergänzt und gut durchgeschüttelt. Die Mischung wurde eine Stunde lang stehengelassen und sodann in einem Scheidetrichter von 500 ml Inhalt mit 200 ml Narkose-Chloroform ausgeschüttelt. Der Narkose-Chloroform-Auszug wurde zur Papierchromatographie verwendet."

Zur papierchromatographischen Untersuchung wurden 0,05 - 0,1 ml des nach obiger Vorschrift erhaltenen Auszuges (entsprechend ca. 7,5 - 15 µg 3-Dehydroreserpin) auf die Startlinie eines vorbereiteten Papierstreifens gebracht. Daneben wurden 0,05 ml einer 0,1 %igen Lösung von Reserpin USP Reference Standard (entsprechend 50 µg) aufgetragen. Die in den üblichen Systemen entwickelten Chromatogramme sind in Abb. 9 und 10 veranschaulicht. Das nach obiger Vorschrift hergestellte, auf den Chromatogrammen als Zersetzungsprodukt RZ<sub>1</sub> bezeichnete 3-Dehydroreserpin befindet sich an der gleichen Stelle wie das aus Reserpin erhaltene Zersetzungsprodukt und ist von intensiver grüner Fluoreszenz. Auf der Höhe des Reserpin-Fleckes ist noch eine schwache grüne Fluoreszenz sichtbar, was auf eine nicht ganz quantitative Umwandlung in 3-Dehydroreserpin schliessen lässt.



**Abb. 9** Chromatogramm des aus Reserpinbase hergestellten Zersetzungsproduktes RZ<sub>1</sub> (= 3-Dehydro-reserpin) neben Reserpin USP Reference Standard. System: n-Heptan/Methyläthylketon 1:1, absteigend entwickelt.

Nach einer privaten Mitteilung der Firma PENICK (105) weist die von der USP verwendete Reference Standard - Substanz beim Chromatographieren nach Kaiser und Popelak (93) ausser dem Reserpin-Fleck (R<sub>f</sub>-Wert = 0,60) eine weitere schwache Fluoreszenz (R<sub>f</sub>-Wert = 0,26) auf. Wenn sich diese Angaben auf das System n-Heptan/Methyläthylketon 1:1 beziehen, dürfte die Fluoreszenz von 3-Dehydro-reserpin herkommen.



**Abb. 10** Chromatogramm des aus Reserpinbase hergestellten Zersetzungsproduktes RZ<sub>1</sub> (= 3-Dehydro-reserpin) neben Reserpin USP Reference Standard. System: n-Heptan/Methyläthylketon 2:1, NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, absteigend entwickelt.

Die weitere sehr schwache Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,24, welche auf im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre entwickelten Chromatogrammen auftrat, verstärkte sich bei Verwendung von alten Lösungen oder nicht strikter Einhaltung des Lichtschutzes. Wurden die Lösungen längere Zeit dem Tageslicht ausgesetzt, so trat in beiden Systemen am Startpunkt eine weitere intensiv gelbe Fluoreszenz in Erscheinung. Eine Verstärkung der Fluoreszenz von 3-Dehydro-reserpin war unter diesen Bedingungen hingegen nicht zu verzeichnen. Einwirkung von Tageslicht scheint eine fortlaufende Zersetzung in höhere Oxydationsprodukte nach sich zu ziehen, weshalb es unbedingt notwendig ist, alle Manipulationen unter Lichtschutz vorzunehmen. Auch sollen nur frisch bereitete Lösungen zur Anwendung gelangen. Die gelbe Fluoreszenz am Startpunkt und die nur bei Sättigung der Kammer mit Ammoniak auftretende sehr schwache grüne Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,24 dürften auf die von Krebs und Futscher (97) als RZ<sub>3</sub> bzw. RZ<sub>2</sub> bezeichneten Zersetzungsprodukte zurückzuführen sein.

Die Tatsache, dass Reserpin Oxydationen leicht zugänglich ist, sowie die Vermutung, dass die Zersetzungsprodukte erst während des Chromatographiervorgangs gebildet werden, veranlasste uns, die Verwendung eines Reduktionsmittels zu untersuchen. Auf Grund der guten Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln schien Thioharnstoff für diesbezügliche Untersuchungen geeignet zu sein. Wir setzten der Imprägnierlösung 1 %, der aufzutragenden Reserpin-Lösung 0,1 % Thioharnstoff zu. Die Rf-Werte waren in beiden Systemen etwas niedriger (ca. 0,05 Rf-Einheiten); die Fluoreszenzen der Rauwolfia-Alkaloide waren im allgemeinen intensiver, insbesondere zeigte Reserpilin eine verstärkte braun-orange Färbung. Die beim Chromatographieren von Reserpin und Rescinnamin unter gewöhnlichen Bedingungen beobachteten Nebenfluoreszenzen traten jedoch auch auf diesen Chromatogrammen in Erscheinung. Höher konzentrierte Imprägnierlösungen konnten nicht verwendet werden, da die Substanzen auf so vorbehandelten Papieren nicht mehr genügend wanderten und zu Schwanzbildung neigten. Da es auch bei Verwendung eines Reduktionsmittels nicht gelang, die auf Reserpin-Chromatogrammen auftretenden Nebenfluoreszenzen auszuschalten, sind diese in der Forderung entsprechend zu berücksichtigen. Die Prüfungsvorschrift der Firma BOEHRINGER (76) limitiert die ausser dem Reserpinfleck auftretenden Fluoreszenzen, indem das chromatographische Verhalten des Untersuchungsmusters und der USP Standard-Substanz miteinander verglichen wird.

Um das beschriebene Verfahren auf seine Leistungsfähigkeit als Reinheits-

prüfung zu untersuchen, stellten wir uns die Aufgabe, abzuklären, welche Alkaloidmengen ohne Nachteil gerade noch chromatographiert werden können, und ob sich sehr kleine Mengen Nebenalkaloide von einer relativ grossen Menge Reserpin überhaupt abtrennen lassen. Nach unseren Feststellungen können bei streifenförmigem Auftragem im System n-Heptan/Methyläthylketon 1:1 100 µg, im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre 50 µg Reserpin chromatographiert werden, wobei allerdings relativ grosse, bandförmig angeordnete Flecke entstehen. Die Nachweisbarkeitsgrenzen beim Bestrahlen mit UV-Licht sind für die Rauwolfia-Alkaloide sehr günstig. Sie liegen zwischen 0,05 und 0,5 µg (93), so dass der Leistungsfähigkeit der Prüfung bezüglich des Nachweises praktisch keine Grenzen gesetzt sind. Nach unseren Befunden können im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre Verunreinigungen von 1 % Deserpidin und 2 % Rescinnamin in Reserpin noch sicher nachgewiesen werden.

Untersuchungen, die wir mit dem Lösungsmittelgemisch Isobutanol/Toluol 1:1, mit Wasser gesättigt, an gepufferten Papieren (pH = 3,2 - 6,6) vornahmen, führten nicht zur Lösung der gestellten Aufgabe. Reserpin, sowie alle Alkaloide, welche in den oben beschriebenen Systemen Rf-Werte > 0,60 aufweisen, wandern hier mit der Lösungsmittelfront. Das Gemisch eignet sich daher ausschliesslich zur Trennung der Rauwolfia-Alkaloide, die sich auf in den anderen Systemen entwickelten Chromatogrammen unterhalb Reserpin befinden.

Zusammenfassend ist zu bemerken, dass sich die Systeme n-Heptan/Methyläthylketon 1:1 bzw. 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre, die wir hinsichtlich ihres Trenneffektes und im besonderen bezüglich ihrer Leistungsfähigkeit als Reinheitsprüfung untersuchten, für das gestellte Problem als sehr geeignet erwiesen. Im System n-Heptan/Methyläthylketon 2:1 mit NH<sub>3</sub>-Atmosphäre wird Reserpin von den Alkaloiden aus Rauwolfia serpentina Benth., sowie von einer Anzahl weiterer Rauwolfia-Alkaloide abgetrennt, und es gelingt hier auch die einwandfreie Trennung von Reserpin und Rescinnamin. Die Tatsache, dass wahrscheinlich während des Chromatographiervorgangs immer Spuren von 3-Dehydro-reserpin entstehen, welches im System 2:1 den Rf-Wert von 0,83 aufweist und daher zur Verwechslung mit Verunreinigungen anderer Rauwolfia-Alkaloide führen könnte, erfordert für exakte Reinheitsprüfungen die Herstellung eines zweiten Chromatogrammes. Die Verwendung des Systems 1:1, worin der Rf-Wert von 3-Dehydro-reserpin 0,14 beträgt, die anderen auszuschliessenden Alkaloide praktisch aber keine Aenderungen bezüglich der Rf-Werte aufweisen, ist daher im Sinne einer Ergänzung zu betrachten.

Wegen der äusserst günstigen Erfassungsgrenze für 3-Dehydro-reserpin (0,02 µg) sind in den für die papierchromatographische Reinheitsprüfung vorgeschlagenen 50 µg bzw. 100 µg Reserpin bereits 0,04 % bzw. 0,02 % 3-Dehydro-reserpin nachweisbar. Die nur beim Chromatographieren in Ammoniak-Atmosphäre auftretende, sehr schwache grüne Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,24 war ebenfalls nicht auszuschalten und wird in der Reinheitsforderung berücksichtigt.

Wir empfehlen, für Reserpin das von uns überprüfte, sehr leistungsfähige papierchromatographische Verfahren als Identitäts- sowie als Reinheitsprüfung auf andere Rauwolfia-Alkaloide in die Pharmakopöe aufzunehmen. Die Ausführung der Untersuchungen ist im Artikelvorschlag (s.S.181) auf das genaueste beschrieben.

### Reinheitsprüfungen

#### a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelzbereich: In der Literatur sind für Reserpinbase folgende Schmelzintervalle (unter Zersetzung) angegeben:

Brit. Ph. 1958	ca. 270 <sup>0</sup> (korr.)
Merck Index 7 <sup>th</sup> Ed. (153)	264 - 265 <sup>0</sup>
DAK Praeparater (154)	270 - 275 <sup>0</sup> (korr.)
Schw. Pat. 308689 (1955)	262 - 263 <sup>0</sup>
Prüfungsvorschrift Boehringer (76)	262 - 270 <sup>0</sup>
Prüfungsvorschrift Penick (105)	283 - 285 <sup>0</sup> (in ev. Röhrchen)

USP XVI verzichtet auf diese Bestimmung. Da es sich um einen Zersetzungspunkt handelt, sind die Bedingungen bei der Bestimmung von Bedeutung. In den meisten Vorschriften wird das Heizbad vorgewärmt und die Temperatur vorgeschrieben, bei welcher die Substanz eingebracht werden soll. Diese Temperatur liegt 10 - 20<sup>0</sup> unterhalb der Schmelztemperatur. Wir brachten die Substanzmuster in das auf ca. 240<sup>0</sup> vorgewärmte Bad und steigerten die Temperatur um 4<sup>0</sup> pro Minute. Bei Einhalten dieser Bedingungen konnten reproduzierbare Werte erhalten werden.

Die von uns bestimmten Schmelztemperaturen betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	254 - 255 <sup>0</sup>	262,1 - 263,1 <sup>0</sup>
II	255 - 256 <sup>0</sup>	263,1 - 264,2 <sup>0</sup>
III	255 - 256 <sup>0</sup>	263,1 - 264,2 <sup>0</sup>
IV	252 - 253 <sup>0</sup>	260 - 261 <sup>0</sup>
V	252,5 - 253,5 <sup>0</sup>	260,5 - 261,5 <sup>0</sup>
VI	252 - 253 <sup>0</sup>	260 - 261 <sup>0</sup>
VII	252,5 - 253,5 <sup>0</sup>	260,5 - 261,5 <sup>0</sup>
VIII	253 - 254 <sup>0</sup>	261 - 262,1 <sup>0</sup>

In Anbetracht dieser Werte scheint uns ein Schmelzintervall von 252 - 257<sup>0</sup> (unkorr.) bzw. 260 - 265<sup>0</sup> (korr.) angemessen, welches wir als Forderung für unser Arzneibuch vorschlagen möchten. Wir glauben, dass auf die Bestimmung der Schmelztemperatur nicht verzichtet werden sollte, da diese auch als Identitätsprüfung zur raschen Unterscheidung von anderen Rauwolfia-Alkaloiden von Bedeutung ist.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Eine solche Prüfung wird nur von DAK Praeparater (154) vorgeschrieben, indem eine Lösung von Reserpin in Chloroform auf klare Löslichkeit und mittels einer Grenzreaktion auf färbende Verunreinigungen geprüft wird. Wir führten die Prüfung mit der Stammlösung S II durch, welche in der Folge zu quantitativen Bestimmungen (Spez. Drehung, Verbrennungsrückstand) herangezogen wird und deshalb mit genau gewogener, getrockneter Substanz hergestellt werden muss. Zu deren Zubereitung lösten wir ca. 0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) in 2,0 ml Chloroform. Sämtliche Muster lösten sich völlig auf. Beim Vergleich mit den Farbvergleichslösungen Ph. Helv. V, Suppl. III, stellten wir folgende Färbungen fest:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Farbvergleichslösung</u>	<u>Handelsmuster</u>	<u>Farbvergleichslösung</u>
I	= G <sub>2</sub>	V	= G <sub>3</sub>
II	= G <sub>4</sub>	VI	= G <sub>2</sub>
III	= G <sub>4</sub>	VII	= G <sub>2</sub>
IV	= G <sub>5</sub>	VIII	= G <sub>4</sub>

Die Forderung für den Pharmakopöetext soll lauten:

"0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 2 ml Chloroform gelöst. Diese Lösung muss klar sein und darf bei sofortiger Betrachtung nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>2</sub>. Die Lösung, welche in einem Messkolben von 20 ml Inhalt mit Chloroform bis zur Marke verdünnt wird, dient als Stammlösung S II für die Prüfungen 4 und 12. Prüfung 4 ist sofort durchzuführen."

Reaktion des wässrigen Auszuges: DAK Praeparater (154) fordert, dass der wässrige Auszug neutrale bis schwach saure Reaktion aufweisen soll. Die übrigen Prüfungsvorschriften verzichten auf diese Prüfung.

Wir stellen einen wässrigen Auszug her durch Schütteln von 50 mg Reserpinbase mit 10,0 ml frisch ausgekochtem heissen Wasser. Das Filtrat dient in der Folge als Stammlösung S II zu weiteren Reinheitsprüfungen.

Die von uns ermittelten pH-Werte betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u> <u>potentiometrisch</u>	<u>pH-Wert</u> <u>Farbtabelle</u>
I	6,80	6,60
II	6,55	6,60
III	7,10	7,00
IV	7,00	6,80
V	6,83	6,60
VI	6,70	6,80
VII	6,95	7,00
VIII	6,85	6,80

Wir glauben, unsere Forderung auf einen pH-Wert von 6,4 - 7,2 festlegen zu können.

Spezifische Drehung: Ueber die spezifische Drehung von Reserpinbase konnten wir der Literatur folgende Angaben entnehmen:

Merck Index 7 <sup>th</sup> Ed. (153)	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -118^{\circ}$	(1%ige Lösung in Chloroform)
Brit. Ph. 1958	$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -113 \text{ bis } -123^{\circ}$	(1%ige Lösung in Chloroform)

DAK Praeparater (154)	$[\alpha]_D^{20} = -107,5 \text{ bis } -125^{\circ}$	(1 %ige Lösung in Chloroform)
Prüfungsvorschrift Inverni (77)	$[\alpha]_D^{20} = -125,5^{\circ}$	(1 %ige Lösung in Chloroform)
Prüfungsvorschrift Penick (105)	$[\alpha]_D^{20} = -119,5^{\circ}$	(1 %ige Lösung in Chloroform)
Prüfungsvorschrift Penick (105)	$[\alpha]_D^{20} = -109^{\circ}$	(1 %ige Lösung in 36%iger Essigsäure)
Prüfungsvorschrift Boehringer (76)	$[\alpha]_D^{20} = -109,4^{\circ} \pm 2^{\circ}$	(1 %ige Lösung in 2 n Essigsäure)

Die Bestimmung wird entweder in Chloroform oder in Essigsäure verschiedener Konzentration ausgeführt.

Wir bestimmten die spezifische Drehung unserer Muster in Chloroform und in 36 %iger Essigsäure.

Für eine 1 %ige Lösung ergaben sich die folgenden Werte (Mittel aus 2-3 Bestimmungen).

<u>Handelsmuster</u>	<u>Spezifische Drehung</u>	
	<u>in Chloroform</u>	<u>in 36 %iger Essigsäure</u>
I	-122,02 <sup>0</sup>	-110,69 <sup>0</sup>
II	-123,28 <sup>0</sup>	-110,10 <sup>0</sup>
III	-123,48 <sup>0</sup>	-110,95 <sup>0</sup>
IV	-129,48 <sup>0</sup>	-110,40 <sup>0</sup>
V	-122,57 <sup>0</sup>	-110,78 <sup>0</sup>
VI	-124,43 <sup>0</sup>	-112,62 <sup>0</sup>
VII	-120,75 <sup>0</sup>	-110,68 <sup>0</sup>
VIII	-122,72 <sup>0</sup>	-110,89 <sup>0</sup>

Da bei Verwendung von Chloroform als Lösungsmittel vor der Bestimmung noch auf Löslichkeit und auf färbende Verunreinigungen geprüft werden kann, möchten wir diesem Lösungsmittel den Vorzug geben. Die spezifische Drehung unserer Muster lag zwischen -120,75<sup>0</sup> und -124,43<sup>0</sup>. Dabei ist allerdings Muster IV nicht berücksichtigt, welches mit -129,48<sup>0</sup> einen extrem hohen Wert ergab. Da Muster IV jedoch allen anderen Forderungen entsprach, erachten wir es als berechtigt, die Grenzwerte der spezifischen Drehung mit -119<sup>0</sup> und -130<sup>0</sup> festzulegen.

Spektrophotometrie: Sämtliche der uns bekannten Prüfungsvorschriften ziehen die spektrophotometrische Messung zur Identitäts- und Reinheitsprüfung von Reserpin heran. Dieses besitzt ein flaches Maximum bei 217 - 219  $m\mu$ , ein ausgeprägtes Maximum bei 267 - 268  $m\mu$  und eine daran angrenzende Schulter bei 293 - 296  $m\mu$ . Ein Minimum befindet sich bei 246 - 247  $m\mu$ . Das UV-Spektrum im Bereich von 240 - 305  $m\mu$  ist in Abbildung 11 veranschaulicht.

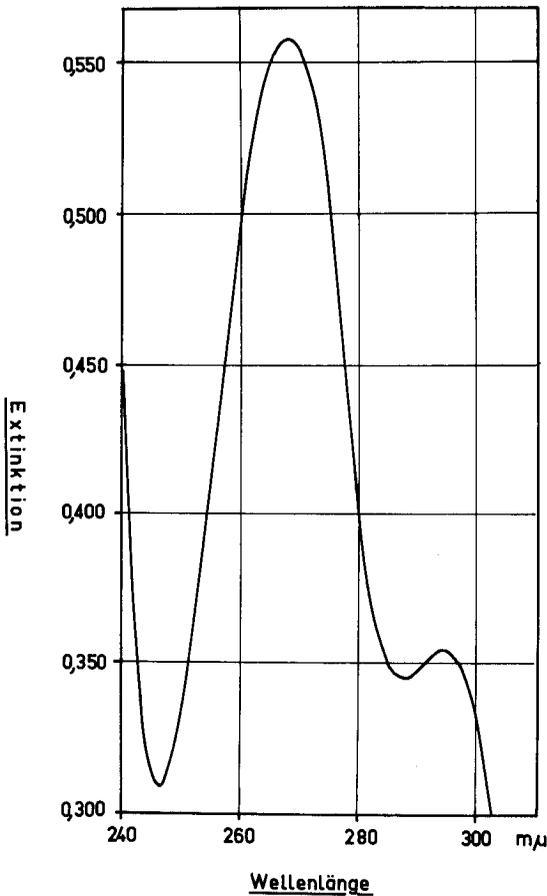


Abb. 11 UV-Spektrum von Reserpin (USP-Reference Standard) in Aethanol 94 %.

Nachstehende Angaben, die wir der besseren Vergleichsmöglichkeit wegen alle als spezifische Extinktion  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  angeben, konnten wir der Literatur entnehmen.

	<u>Maxima</u> in m $\mu$	<u>Minima</u> in m $\mu$	<u><math>E_{1\text{cm}}^{1\%}</math></u>	<u>Lösungsmittel</u>
Merck Index 7th Ed. (153)	216		1013	Chloroform
	267		279	
	295		151	
Brit. Ph. 1958	268		ca. 270	Weingeist 95%
	295		ca. 170	
DAK Praeparater (154)	269 $\pm$ 2		ca. 284	Chloroform
	295 $\pm$ 2		ca. 156	
		250 $\pm$ 3	ca. 198	
Prüfungsvorschrift Inverni (77)	268		274	Weingeist 95%
	295		171	
Prüfungsvorschrift Boehringer (76)	217-219		920-975	Weingeist 95% mit 0,25% Chloroform
	267-268	246-247	273-285	
		286-288		
	293-296		170-180	
Prüfungsvorschrift Penick (105)	267		286	0,05 n Essig- säure
		243	135,5	

USP XVI verwendet zum Vergleich eine Standardsubstanz (= unsere Versuchssubstanz VIII) und fordert, dass die Abweichung gegenüber dieser bei 268 m $\mu$  und 295 m $\mu$  nicht mehr als 3 % betragen dürfe.

Die Prüfungsvorschrift der Firma BOEHRINGER (76) lässt im weiteren noch folgende Extinktionsverhältnisse überprüfen:

Die Extinktion bei 300 m $\mu$  dividiert durch die Extinktion bei 288 m $\mu$  soll zwischen 0,963 und 0,985, die Extinktion bei 268 m $\mu$  dividiert durch die Extinktion bei 295 m $\mu$  zwischen 1,560 und 1,622 liegen.

Genannte Extinktionsverhältnisse wurden von uns ebenfalls ermittelt.

Wir bestimmten die Extinktion bei den drei Maxima. Als Lösungsmittel diente uns Aethanol 94 %. Um die Lösungen bei Zimmertemperatur herstellen zu können, lösten wir die Substanz in wenig Chloroform und ergänzten mit Aethanol 94% bis zum vorgeschriebenen Volumen. Für die Messung bei 217 - 218 m $\mu$  verwen-

deten wir eine 0,0005 %ige, für die übrigen Messungen eine 0,002 %ige Lösung.

Die ermittelten Werte betragen:

Handels- muster	E <sup>1%</sup> 1 cm			E bei 300m $\mu$ E bei 268m $\mu$	
	217-218 m $\mu$	267-268 m $\mu$	293-295 m $\mu$	E bei 288m $\mu$	E bei 295m $\mu$
I	986	273,5	173,5	0,963	1,576
II	958	274	173,5	0,963	1,584
III	954	279	178	0,963	1,563
IV	1010	273,5	173,5	0,965	1,576
V	974	272,5	173	0,965	1,575
VI	966	276	172,5	0,913	1,622
VII	930	284	174,5	0,985	1,567
VIII	978	279	175,5	0,964	1,570

Für die Pharmakopöe erscheint es uns hinreichend, die spezifische Extinktion bei den Maxima 267-268 m $\mu$  und 293-295 m $\mu$  bestimmen zu lassen. Andere Arzneibücher sehen ebenfalls von einer Bestimmung bei 217-218 m $\mu$  ab. Wir schlagen für den Pharmakopöetext folgende Formulierung vor und glauben in Anlehnung an unsere Resultate die Grenzwerte wie folgt festlegen zu können:

"0,1 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 10 ml Chloroform gelöst und die Lösung in einem Messkolben von 200 ml Inhalt mit Aethanol 94 % bis zur Marke verdünnt. 4,00 ml dieser Lösung werden in einem Messkolben von 100 ml Inhalt mit Aethanol 94 % bis zur Marke verdünnt, und es wird sofort bei einer Schichtdicke von 1 cm mit einem geeigneten Spektrophotometer die Extinktion des bei 267-268 m $\mu$  und des bei 293-295 m $\mu$  liegenden Absorptionsmaximums gemessen. Der Extinktionskoeffizient E<sub>1%</sub><sup>1cm</sup> muss bei 267-268 m $\mu$  mindestens 270 und darf höchstens 285, bei 293-295 m $\mu$  mindestens 170 und darf höchstens 180 betragen."

#### b) Chemische Reinheitsprüfungen

Der Literatur konnten wir keine Angaben über aufgefundenene Verunreinigungen, Verfälschungen oder Verwechslungen entnehmen. Sämtliche Monographien beschränken sich auf Reinheitsprüfungen physikalisch-chemischer Natur. Wir hielten uns in der Auswahl der auszuführenden Prüfungen an die Ph. Helv. V,

welche bei den meisten Substanzen auf Schwermetalle, Chlorid und Sulfat, ferner auf konzentrierte Schwefelsäure und konzentrierte Salpetersäure färbende Verunreinigungen prüfen lässt. Ausserdem prüften wir unsere Muster noch auf Abwesenheit von Alkalimetallen.

Für die Mehrzahl der Prüfungen verwendeten wir einen wässrigen Auszug (Stammlösung S I), welcher wie folgt erhalten wird:

"50 mg Reserpinbase werden mit 10 ml frisch ausgekochtem heissen Wasser in einem Reagensglas mit Glasstopfen während 2 Minuten kräftig geschüttelt. Das Filtrat dient nach dem Erkalten als Stammlösung S I für die Prüfungen 7, 8, 9 und 10."

Abwesenheit von Alkalimetallen: In sämtlichen Mustern waren höchstens zulässige Spuren von Natrium nachweisbar. Durch das Kobaltglas betrachtet, war keinerlei Flammenfärbung wahrzunehmen.

Für die Pharmakopöe sehen wir von dieser Prüfung ab.

Abwesenheit von Schwermetallen: Wir führten die Prüfung mit 3 ml S I nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI aus. Da sämtliche Muster der Grenzreaktion a II entsprachen, wird diese als Grenze der höchst zulässigen Opaleszenz festgelegt.

Abwesenheit von Chlorid und Sulfat: Die Prüfungen wurden nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI mit je 2 ml S I vorgenommen. Da bei keinem Muster stärkere Opaleszenz auftrat als bei Grenzreaktion a II, werden die Forderungen entsprechend formuliert.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen: Die Lösung von 20 mg Reserpinbase in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS war bereits in der Kälte sehr stark gelb gefärbt, weshalb diese Prüfung nicht durchgeführt werden kann. Interessehalber verfolgten wir die Färbungen der Lösung nach Erwärmen im siedenden Wasserbad. Diese zeigten folgendes Aussehen:

in der Kälte sofort	sehr stark gelb
nach 5' Erwärmen im Wasserbad	olivgrün
nach 10' Erwärmen im Wasserbad	olivgrün verstärkt
nach 15' Erwärmen im Wasserbad	braunstichig olivgrün
nach 20' Erwärmen im Wasserbad	grünstichig braun

Abwesenheit von konzentrierte Salpetersäure färbenden Stoffen: 20 mg Reserpinbase lösten sich in 2 ml konzentrierter Salpetersäure RS mit dunkelrotbrauner Farbe, welche innerhalb 3 Minuten blasser wird. Auch diese Prüfung ist nicht durchführbar.

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Feuchtigkeitsgehalt

Auf Feuchtigkeit prüfen USP XVI, Brit. Ph. 1958 und die Prüfungsvorschriften der Firma INVERNI (77). Nach diesen Vorschriften wird Reserpin während 3 bzw. 2 Stunden bei 60<sup>0</sup> getrocknet. Nach Brit. Ph. 1958 darf dabei der Druck 5 Torr nicht überschreiten. Der Feuchtigkeitsgehalt soll nicht mehr als 0,5 bzw. 1 % betragen. Die Prüfungsvorschriften der Firma BOEHRINGER (76) ermitteln den Feuchtigkeitsgehalt durch Trocknen während 6 Stunden bei 60<sup>0</sup> unterhalb 20 Torr über Diphosphorpentoxyd und tolerieren 0,5 % Feuchtigkeit. Wir trockneten je 0,5 g unserer Muster im Trockenschrank bei 60<sup>0</sup> während 3 Stunden und machten die Feststellung dass der Gewichtsverlust bei allen Proben unwägbar war, d. h. weniger als 0,5 mg betrug. Mit dieser Methode ermittelten wir daher bei sämtlichen Mustern Feuchtigkeitsgehalte von weniger als 0,1 %. Auch nach nochmals dreistündigem Trocknen war kein Gewichtsverlust mehr zu verzeichnen.

Durch Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd bei 60<sup>0</sup> während 6 Stunden stellten wir mit einer Einwaage von 0,3 g die folgenden Feuchtigkeitsgehalte fest:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Feuchtigkeitsgehalt</u>	<u>Handelsmuster</u>	<u>Feuchtigkeitsgehalt</u>
I	0,42 %	V	0,40 %
II	0,26 %	VI	0,43 %
III	0,19 %	VII	0,33 %
IV	0,06 %	VIII	0,24 %

Aus den Resultaten ist ersichtlich, dass mit der Trockenschrank-Methode bei einer Temperatur von 60<sup>0</sup> die Feuchtigkeit nicht erfasst werden kann. Es

kommt daher nur die Trocknung im Vakuum über Phosphorpentoxid in Frage, und wir glauben fordern zu können, dass so geprüft, Reserpinbase maximal 0,5 % Feuchtigkeit aufweisen darf.

#### b) Verbrennungsrückstand

Sämtliche der uns bekannten Prüfungsvorschriften nehmen diese Bestimmung vor und tolerieren einen Verbrennungsrückstand von 0,1 bzw. 0,2 %.

Im Sinne der Substanzerparnis verwendeten wir 15 ml Stammlösung S II, entsprechend 0,15 g Reserpinbase, und führten die Bestimmung nach Verdampfen des Lösungsmittels aus. Von den verschiedenen Mustern erhielten wir Rückstände von 0,0000 bis 0,0002 g.

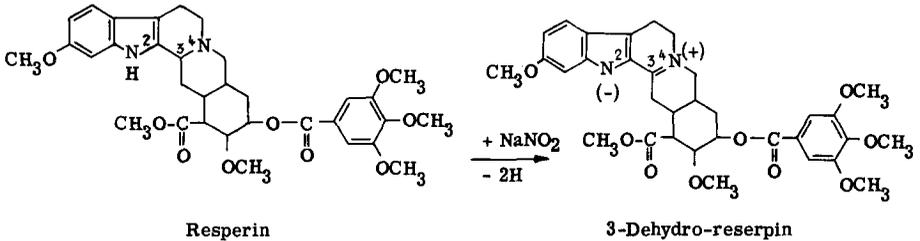
Wir gelangen deshalb zur Forderung, dass der Verbrennungsrückstand von 0,15 g Reserpinbase unwägbare sein soll.

#### c) Gehaltsbestimmungen

Zur quantitativen Reserpin-Bestimmung finden wir in der Literatur vor allem UV-spektrophotometrische, kolorimetrische und fluorimetrische Methoden, welche im besonderen zur Untersuchung von Reserpin-Präparaten herangezogen werden. Von den UV-spektrophotometrischen Verfahren sei dasjenige von Sakai und Merrill (106) erwähnt. Genannte Autoren arbeiten in 5 N-Essigsäure, wobei das Beer'sche Gesetz bei Konzentrationen zwischen 5 bis 30 mg/l erfüllt ist. Die Messung erfolgt beim Absorptionsmaximum von 267 m $\mu$ . Eine weitere UV-spektrophotometrische Methode wird von Banes, Carol und Wolff (91) angegeben. Die Bestimmung erfolgt nach säulenchromatographischer Abtrennung des Reserpins von den Begleitstoffen und event. Zersetzungsprodukten. Im britischen Arzneibuch wird das UV-Spektrum zur Reserpin-Bestimmung in Tabletten verwendet.

Von den ebenfalls zahlreichen kolorimetrischen Methoden möchten wir diejenige von Booth (107) anführen. Das Reserpin wird hier in einen Bromphenolblau-Komplex übergeführt, der bei 402 m $\mu$  ein Absorptionsmaximum besitzt. Eine andere kolorimetrische Methode zur Bestimmung von Rauwolfia Alkaloiden oder Reserpin in Präparaten wird von Wunderlich (108) beschrieben. Die Alkaloide werden als Reineckate gefällt, der Niederschlag abgetrennt, in Methanol gelöst und der Alkaloid-Reineckat-Komplex bei 427 m $\mu$  photometriert.

Das im amerikanischen Arzneibuch aufgeführte kolorimetrische Verfahren zur quantitativen Reserpin-Bestimmung (Reinsubstanz, Injektionslösung, Tabletten) beruht auf der von Szalkowski und Mader (109) angewandten und von Banes und Mitarbeitern (110) weiter entwickelten Nitrit-Methode. Reserpin wird durch Behandeln mit Natriumnitrit unter Zusatz von Salzsäure oder Schwefelsäure in 3-Dehydro-reserpin übergeführt, welches sich durch die grünlichgelbe Farbe seiner Lösungen auszeichnet und bei 388-390 m $\mu$  ein Absorptionsmaximum besitzt. Die Absorption der Versuchslösung wird mit derjenigen einer



gleich behandelten Standardlösung verglichen und daraus der Reserpingehalt berechnet. Um event. vorhandene Zersetzungsprodukte, welche schon vor der Nitrit-Behandlung bei 388-390 m $\mu$  Licht absorbieren, auszuschalten, wird mit der Versuchs- und mit der Standardlösung je eine Blindbestimmung ausgeführt. Der mit dieser Methode bestimmte Reserpingehalt soll nach USP XVI 96 - 101,0 % (bezogen auf die getrocknete Substanz) betragen.

Eine fluorimetrische Bestimmungsmethode wurde von Dechene (111) ausgearbeitet, welche sich nach Mannell und Allmark (112) sehr gut als Routine-Methode zur Bestimmung von Reserpin in Tabletten, Elixieren und Injektionslösungen eignen soll.

Brit. Ph. 1958, DAK Praeparater (154) sowie andere Prüfungsvorschriften (76, 77) lassen zur Bestimmung der Reinsubstanz die Titration mit Perchlorsäure in wasserfreiem Milieu ausführen. Als Indikator wird Kristallviolett oder Quinaldinrot (Brit. Ph. 1958) vorgeschrieben. Zur Verwendung gelangt 0,1 N-Perchlorsäure oder 0,05 N-Perchlorsäure (Brit. Ph. 1958). DAK Praeparater (154) lässt mit 0,01 N-Perchlorsäure titrieren und fügt der Lösung der Substanz in Eisessig etwas Dioxan zu, um das Erkennen des Farbumschlages zu erleichtern.

Die Gehaltsforderung lauten:

Brit. Ph. 1958	98,5 - 101,5 %	(bezogen auf getrocknete Substanz)
DAK Praeparater (154)	98,0 - 102,0 %	
Prüfungsvorschrift		
Boehringer (76)	98,5 - 101,5 %	(bezogen auf getrocknete Substanz)

Wir führten folgende Gehaltsbestimmungen aus:

1. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig: Für die potentiometrischen Kontrollbestimmungen lösten wir 0,3045 g (= 1/2 Milliäquivalent) getrocknete

Reserpinbase in 40 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS zu und titrierten mit 0,05 N-Perchlorsäure in Eisessig. Zuerst ermittelten wir den Umschlagspunkt, indem wir die Farbe des Indikators beim grössten Potentialsprung beobachteten. Aus Abb. 12 ist die Titrationskurve sowie die Farbänderung des Indikators im Bereiche des Umschlagspunktes nach Zusatz jeweils gleicher Volumenteile der Titrierflüssigkeit ersichtlich.

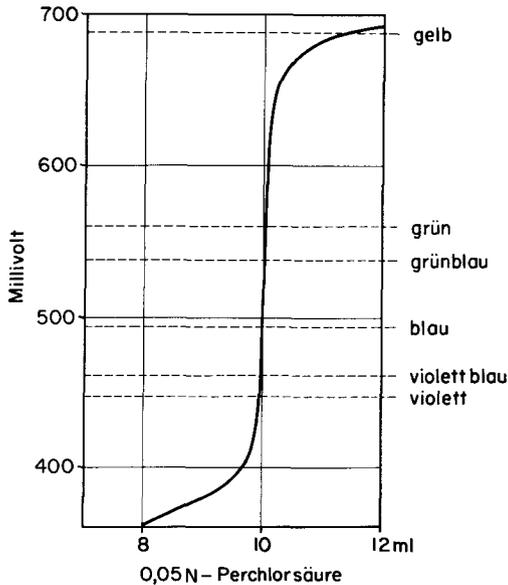


Abb. 12 Titrationskurve von Reserpinbase

Einwaage:  $\frac{1}{2}$  Milliäquivalent, Potentialanstieg zwischen 8 ml und 12 ml 0,05 N-Perchlorsäure

Der Umschlag erfolgt von Reinblau nach Grünstichigblau.

Für die visuelle Titration lösten wir ca. 0,3 g getrocknete Substanz (genau

gewogen) in 20 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS zu und titrierten bis zum ersten Farbumschlag nach Grünstichigblau.

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 30,45 mg  $C_{33}H_{40}O_9N_2$

Wir ermittelten folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,05 N- Perchlorsäure</u>				<u>Mittelwert aller</u>
	<u>visuell</u>		<u>potentiometrisch</u>		<u>Bestimmungen</u>
I	99,93 %	99,75 %	99,84 %	99,78 %	99,83 %
II	99,96 %	99,74 %	99,99 %	99,60 %	99,82 %
III	99,84 %	99,76 %	99,94 %		99,84 %
IV	100,04 %	99,82 %	99,95 %		99,94 %
V	99,50 %	99,38 %	99,53 %		99,47 %
VI	99,74 %	99,55 %	99,60 %		99,63 %
VII	98,97 %	99,18 %	99,30 %	99,23 %	99,17 %
VIII	99,99 %	99,84 %	99,95 %	99,87 %	99,91 %

2. Kolorimetrische Bestimmung ("Nitrit-Methode"): Wir hielten uns an die für die Reinsubstanz angegebene Vorschrift des amerikanischen Arzneibuches. Für die Bestimmung stand uns die USP Reference Standard-Substanz (= Muster VIII) zur Verfügung.

"Einer Lösung von 25 mg getrockneter Standard-Substanz (genau gewogen) in 0,25 ml Chloroform werden ca. 30 ml Methylalkohol von 50° zugefügt, und die Mischung wird mit Hilfe von warmem Methylalkohol quantitativ in einen Messkolben von 250 ml Inhalt gebracht. Nach Abkühlen auf Zimmertemperatur wird mit Methylalkohol bis zur Marke aufgefüllt und gut durchgemischt.

In gleicher Weise wird die Lösung der zu prüfenden Reserpin Reinsubstanz hergestellt. Beide Lösungen sind vor Licht zu schützen.

Kurz vor der Gehaltsbestimmung werden 10 ml jeder Lösung in je einen Messkolben von 50 ml Inhalt gebracht, 36 ml Chloroform zugefügt und mit Methylalkohol bis zur Marke aufgefüllt (Standard- und Versuchslösung). Nun werden von vorstehender Standardlösung und Versuchslösung je 2 mal 5 ml in einen Messkolben von 10 ml Inhalt gebracht und jedem der insgesamt 4 Messkolben 2 ml Methylalkohol zugesetzt. Je einem Messkolben der Standardlösung und der Versuchslösung fügt man 1 ml einer 0,3 %igen Natriumnitritlösung in 50 %igem Methylalkohol und 5 Tropfen konzentrierte Salzsäure RS zu. In die beiden übrigen Messkolben, welche die Blindproben

der Standard- und der Versuchslösung darstellen, bringt man 1 ml 50%igen Methylalkohol und 5 Tropfen konzentrierte Salzsäure RS. Man mischt alle Messkolben gut durch und lässt 30 Minuten lang stehen. Dann bringt man in jeden der 4 Messkolben 0,5 ml Ammoniumsulfamat RS, füllt mit Methylalkohol bis zur Marke auf und mischt gut durch. Nach 10 Minuten wird die Extinktion aller 4 Lösungen in einem geeigneten Spektrophotometer bei einer Schichtdicke von 1 cm und einer Wellenlänge von 390 m $\mu$  gemessen. Als Vergleichslösung dient die Mischung von 3,6 ml Chloroform, 5,4 ml Methylalkohol und 1 ml Wasser."

Die Reserpin-Menge in mg berechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{mg Reserpin} = \frac{25 \cdot (E_V - E_V^0)}{(E_S - E_S^0)}$$

wobei bedeuten:

- $E_S$  = Extinktion der mit Natriumnitrit versetzten Standardlösung  
 $E_{V^0}$  = Extinktion der mit Natriumnitrit versetzten Versuchslösung  
 $E_{S^0}$  = Extinktion der Standard-Blindlösung (ohne Natriumnitrit)  
 $E_{V^0}$  = Extinktion der Versuchs-Blindlösung (ohne Natriumnitrit)

Diese kolorimetrische Methode lieferte überraschend gute Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Reserpin-Gehalt</u>	
I	100,00 %	99,20 %
II	99,48 %	99,72 %
III	99,72 %	100,00 %
IV	100,26 %	99,48 %
V	99,20 %	98,96 %
VI	99,20 %	99,48 %
VII	98,96 %	99,20 %

3. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Mit ca. 0,2 g getrockneter Substanz wurde der Stickstoffgehalt nach der im allgemeinen Teil beschriebenen Methode bestimmt. Die Aufschlusszeit beträgt ca. 1 1/2 Stunden. Nach dem Klar- und Farblos-Werden des Reaktionsgemisches erhitzen wir noch eine weitere Stunde zum Sieden.

Es ergaben sich folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>		<u>Mittelwert</u>
I	99,26 %	98,94 %	99,10 %
II	99,10 %	98,98 %	99,04 %
III	99,15 %	99,02 %	99,08 %
IV	99,30 %	99,55 %	99,42 %
V	98,64 %	98,92 %	98,78 %
VI	98,62 %	98,88 %	98,75 %
VII	98,58 %	98,49 %	98,53 %
VIII	99,42 %	99,27 %	99,34 %

Diese Methode lieferte bei allen Mustern etwas niedrigere Werte als die Titration mit Perchlorsäure und die Nitrit-Methode. Die Mittelwerte der Muster liegen zwischen 98,53 % und 99,42 %.

Wir schlagen vor, die Titration mit Perchlorsäure in Eisessig als Gehaltsbestimmungsmethode in die Ph. Helv. VI aufzunehmen. Genannte Methode ergibt zuverlässige Resultate, ist rascher durchführbar als die kolorimetrische "Nitritmethode" und erfordert ferner keine neuen Reagenzien. Gestützt auf die mit der Perchlorsäure-Titration erhaltenen Werte gelangen wir zu der Forderung, dass Reserpinbase mindestens 99 % und höchstens 100,5 %  $C_{33}H_{40}O_9N_2$  enthalten muss.

#### Sterilisation von Lösungen

Bei der Angabe einer Sterilisationsvorschrift hielten wir uns an Brit. Pharm. Cod. 1959, welcher Injektionslösungen durch Keimfiltration sterilisieren lässt.

#### Vorschlag für Gebrauchsdosen

Die Angaben entnahmen wir DAK Praeparater (154).

Untersuchung von Handelsmustern

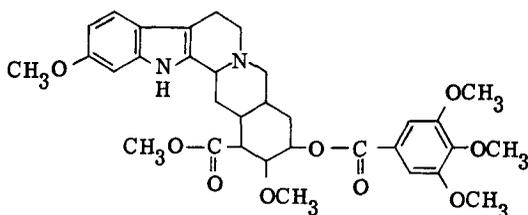
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
<u>Sinnenprüfung</u>								
Farbe	leicht gelblich	rein weiss	rein weiss	rein weiss	rein weiss	leicht gelblich	stark gelblich	leicht gelblich
Geruch	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Identitätprüfungen</u>								
Ammoniummolybdat-Reaktion	+	+	+	+	+	+	+	+
Vanillin-Salzsäure-Reaktion	+	+	+	+	+	+	+	+
Pikrat-Schmelzpunkt (korr.)	182,6-184,7 <sup>o</sup>	182,4-184,4 <sup>o</sup>	182,6-184,7 <sup>o</sup>	182,6-184,4 <sup>o</sup>	182,1-184,2 <sup>o</sup>	182,1-184,7 <sup>o</sup>	182,3-184,5 <sup>o</sup>	182,6-184,7 <sup>o</sup>
Papierchromatographische Prüfung	=	=	=	=	=	=	=	=
<u>Reinheitprüfungen</u>								
Schmelztemperatur (korr.)	262,1-263,1 <sup>o</sup>	263,1-264,2 <sup>o</sup>	263,1-264,2 <sup>o</sup>	260,0-261,0 <sup>o</sup>	260,5-261,5 <sup>o</sup>	260,0-261,0 <sup>o</sup>	260,5-261,5 <sup>o</sup>	261,0-262,1 <sup>o</sup>
Farbe der Lösung von 0,2 g in 2 ml Chloroform	= G <sub>2</sub>	= G <sub>4</sub>	= G <sub>4</sub>	= G <sub>5</sub>	= G <sub>3</sub>	= G <sub>2</sub>	= G <sub>2</sub>	= G <sub>4</sub>
Reaktion des wässrigen Auszuges								
potentiometrisch	6,60	6,55	7,10	7,00	6,83	6,70	6,95	6,95
Farbtabelle	6,60	6,60	7,00	6,80	6,80	6,80	7,00	6,60
Spezifische Drehung	-122,02 <sup>o</sup>	-123,28 <sup>o</sup>	-123,46 <sup>o</sup>	-129,46 <sup>o</sup>	-122,57 <sup>o</sup>	-124,45 <sup>o</sup>	-120,75 <sup>o</sup>	-122,72 <sup>o</sup>
UV-Absorption								
E <sub>1</sub> <sup>1%</sup> <sub>1cm</sub> bei 287-268 mμ	273,5	274	279	273,5	272,5	276	284	279
E <sub>1</sub> <sup>1%</sup> <sub>1cm</sub> bei 293-295 mμ	173,5	173,5	178	173,5	173	172,5	174,5	175,5
Papierchromatographische Prüfung								
Schwermetalle	-	-	-	-	-	-	-	-
Chlorid	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfat	-	-	-	-	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>								
Feuchtigkeitsgehalt	0,42%	0,26%	0,16%	0,06%	0,40%	0,43%	0,33%	0,24%
Verbrennungsrückstand	unwägbar							
Gehalt								
Perchlorsäure-Titration								
visuell	99,84%	99,85%	99,80%	99,93%	99,44%	99,65%	99,08%	99,92%
potentiometrisch	99,81%	99,80%	99,94%	99,95%	99,53%	99,60%	99,27%	99,91%
"Nitrit-Methode"	99,60%	99,60%	99,86%	99,87%	99,08%	99,34%	99,06%	
Stickstoff nach Kjeldahl	99,10%	99,04%	99,08%	99,42%	98,78%	98,75%	98,53%	99,34%

Reserpinum basicum

Reserpin

Reserpine

Reserpina



$C_{33}H_{40}O_9N_2$

Mol.-Gew. 609

3,4,5-Trimethoxybenzoyl-methylreserpat mit einem Gehalt von mindestens 99,0(99,0-100,5)%  $C_{33}H_{40}O_9N_2$ .

Prüfung

Stammlösung S I: 50 mg Substanz werden mit 10 ml frisch ausgekochtem heissen Wasser in einem Reagensglas mit Glasstopfen während 2 Minuten kräftig geschüttelt. Das Filtrat dient nach dem Erkalten als S I für die Prüfung 7, 8, 9 und 10.

Stammlösung S II: 0,2 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 2 ml Chloroform gelöst. Diese Lösung muss klar sein und darf bei sofortiger Betrachtung nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>2</sub>. Die Lösung, welche in einem Messkolben von 20 ml Inhalt mit Chloroform bis zur Marke verdünnt wird, dient als S II für die Prüfungen 4 und 12. Prüfung 4 ist sofort durchzuführen.

1. Sinnenprüfung: Weisses oder schwach gelbliches, kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch.

2. Nachweis der Reserpinbase:

a) Eine Spur Reserpinbase wird in einem Reagensglas mit Glasstopfen in 5 ml einer Lösung von 10 mg Ammoniummolybdat in 10 ml konzentrierter Schwe-

felsäure RS gelöst. Nach etwa 2 Minuten entsteht eine blaue Färbung, welche erst nach weiteren 3 Minuten über Graublau nach Olivgrün übergegangen sein darf.

b) Eine Spur Reserpinbase löst sich in 3 ml Vanillin-Salzsäure RS mit rosaroter Farbe, welche rasch nach Violett-Rot umschlägt.

c) 50 mg Substanz werden in der Mischung von 1 ml Wasser + 1 ml 15%-iger Essigsäure + 3 ml Azeton gelöst, und diese Lösung wird tropfenweise mit 3 ml Pikrinsäure RS versetzt. Aus der trüben Lösung scheidet sich unter Reiben der Reagensglaswandung mit einem Glasstab sofort ein gelber, kristalliner Niederschlag ab. Dieser wird abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und in 6 ml heissem Aethanol 94 % gelöst. Die nach dem Erkalten abgeschiedenen Kristalle weisen nach dem Trocknen bei 80° einen Schmelzbereich von 182-185° (korr.) auf.

3. Schmelztemperatur: 260 - 265° (korr.), unter Zersetzung, in auf ca. 240° vorgeheiztem Bad, unter raschem Aufheizen um 4° pro Minute.

4. Spezifische Drehung: -119 bis -130°, bestimmt mit S II im 2 dm-Rohr.

5. Extinktionskoeffizient: 0,1 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in 10 ml Chloroform gelöst, und die Lösung wird in einem Messkolben von 200 ml Inhalt mit Aethanol 94 % bis zur Marke verdünnt. 4,00 ml dieser Lösung werden in einem Messkolben von 100 ml Inhalt mit Aethanol 94 % bis zur Marke verdünnt, und es wird sofort bei einer Schichtdicke von 1 cm mit einem geeigneten Spektrophotometer die Extinktion des bei 267 - 268 m $\mu$  und des bei 293 - 295 m $\mu$  liegenden Absorptionsmaximums gemessen. Der Extinktionskoeffizient E $\frac{1\%}{1\text{cm}}$  muss bei 267 - 268 m $\mu$  mindestens 270 und darf höchstens 285, bei 293 - 295 m $\mu$  mindestens 170 und höchstens 180 betragen.

6. Papierchromatographische Prüfung: 35 ml Methyläthylketon und 70 ml n-Heptan werden in einem Scheidetrichter von 250 ml Inhalt mit 3 ml Formamid kräftig geschüttelt. Nach Trennung der Phasen wird die untere Formamidschicht abgelassen und die mit Formamid gesättigte obere Methyläthylketon/n-Heptan-Schicht in die Küvette eines zur absteigenden Papierchromatographie bestimmten, mit der mobilen Phase und mit konzentriertem Ammoniak RS während mindestens 14 Stunden klimatisierten Glasgefäßes, eingefüllt. Das mit 10 ml konzentriertem Ammoniak RS gefüllte Gefäß von ca. 2 cm Oeffnungsdurchmesser muss von demjenigen der mobilen Phase getrennt und am Boden so aufgestellt sein, dass das Chromatogramm dieses nicht berührt (System A).

In genau gleicher Weise wird die Mischung von 50 ml Methyläthylketon und 50 ml n-Heptan mit Formamid gesättigt und in die Küvette eines zweiten zur absteigenden Papierchromatographie bestimmten, mit der mobilen Phase während mindestens 14 Stunden klimatisierten Glasgefäßes eingefüllt, welches jedoch nicht mit Ammoniak RS beschickt wurde (System B).

Beide Chromatographiergefäße müssen vollständig lichtundurchlässig sein, was durch Umkleiden mit schwarzem Papier erreicht wird. Die Lösungsmittelgemische in den Küvetten müssen vor Einbringen der Papierstreifen völlig klar sein; sie sollen sofort und nur einmal verwendet werden.

Chromatographierpapier Whatman 1 wird in zwei Streifen (A und B) von 12 cm Breite und 46 cm Länge geschnitten, so dass die Längsseite quer zur Faserrichtung verläuft. Auf der Startlinie jedes Streifens, welche sich 10 cm vom oberen Rand befindet, markiert man zwei Punkte, deren Abstand von den

seitlichen Rändern, sowie voneinander je 4 cm betragen soll. Die Papierstreifen werden sodann genau 2 Minuten in einem dicht verschlossenen Gefässe in eine Mischung von 20 ml Formamid und 80 ml Azeton vollständig eingetaucht, zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht ausgepresst und während 15 Minuten bei Zimmertemperatur zum Trocknen aufgehängt.

Auf die so vorbehandelten Streifen trägt man eine 0,1 %ige, frisch bereitete Lösung der Substanz in Narkose-Chloroform streifenförmig, möglichst gleichmässig zwischen den markierten Punkten auf, und zwar 0,05 ml auf Streifen A und 0,1 ml auf Streifen B. Das Herstellen und Auftragen der Lösungen hat vor Licht geschützt zu erfolgen. Die Papierstreifen werden sofort in die entsprechenden Küvetten eingesetzt und ohne Vorhängezeit entwickelt. Die Laufzeit beträgt ca. 3 Stunden.

Wenn die Lösungsmittelfront ca. 30 cm von der Startlinie entfernt ist, werden die Papierstreifen herausgenommen, und es wird sogleich mit Bleistift die Frontlinie eingezeichnet. Nach Trocknen bei 120° während 5 Minuten werden die Chromatogramme im ultravioletten Licht betrachtet. Der für Reserpin charakteristische grüne Fleck hat auf beiden Chromatogrammen einen Rf-Wert von 0,52 - 0,60. Ausser diesem Fleck darf das Chromatogramm A nur noch einen schwach grün fluoreszierenden Fleck vom Rf-Wert 0,80 - 0,86 (3-Dehydro-reserpin) und ev. einen weiteren sehr schwach grün fluoreszierenden Fleck vom Rf-Wert 0,22 - 0,26 (Zersetzungsprodukt) aufweisen. Das Chromatogramm B darf neben dem für Reserpin charakteristischen grün fluoreszierenden Fleck vom Rf-Wert 0,52 - 0,60 nur noch einen einzigen schwach grün fluoreszierenden Fleck vom Rf-Wert 0,12 - 0,16 (3-Dehydro-reserpin) aufweisen. Hierauf wird das Chromatogramm A während 10 Minuten im Trockenschrank bei 140° erhitzt. Beim nachfolgenden Betrachten im ultravioletten Licht darf auf der Höhe des Rf-Wertes von 0,70 - 0,74 kein graublauer Fleck sichtbar sein (Deserpidin). Chromatogramm B wird nach dem Besprühen mit Zimtaldehyd RS während 10 Minuten in ein Gefäss gehängt, worin sich ein Becherglas mit ca. 50 ml konzentrierter Salzsäure RS befindet. Beim anschliessenden Betrachten im Tageslicht dürfen keine weiteren violetten, blau-violetten oder hellbraunen Flecke sichtbar werden.

7. Reaktion: pH von S I = 6,2 - 7,2

8. Schwermetalle: 3 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

9. Chlorid: 2 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion A II entsprechen.

10. Sulfat: 2 ml S I müssen den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

11. Feuchtigkeitsgehalt: Höchstens 0,5 %, bestimmt mit 0,3 g durch Trocknen während 6 Stunden bei 60° im Vakuum über Phosphorpentoxyd.

12. Verbrennungsrückstand: Unwägbar, bestimmt mit 15 ml S II nach Verdampfen des Lösungsmittels.

13. Gehalt: Ca. 0,3 g getrocknete Substanz (genau gewogen) werden in einem Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen von 100 ml Inhalt in 20 ml wasserfreiem

Eisessig gelöst. Nach Zusatz von 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS wird mit 0,05 N-Perchlorsäure in Eisessig bis zum Farbumschlag von Reinblau nach Grünstichigblau titriert (Mikrobürette).

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 30,45 mg  $C_{33}H_{40}O_9N_2$

Aufbewahrung: Vor Licht besonders geschützt in gut verschlossenem Behälter.

Antimikrobielle Behandlung von Lösungen: Keimfiltration.

Maximaldosen (Vorschlag):

Dosis maxima simplex	1 mg
Dosis maxima pro die	2 mg

### Venenum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

0,1 - 1 mg 1 - 4 mal täglich

Löslichkeit: In Wasser praktisch unlöslich; sehr schwer löslich in Aether und Petrolaether; 1 T. löst sich in 2000 T. Aethanol 94 %, 400 T. Methanol, 40 T. Azeton, 6 T. Chloroform.

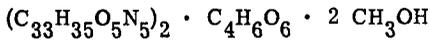
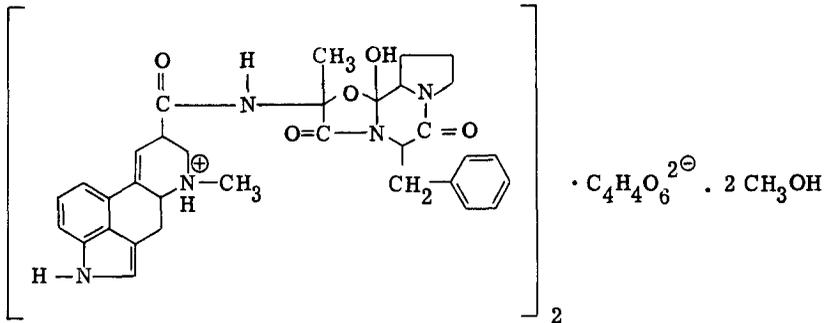
Veränderlichkeit: Dunkelt am Licht nach, besonders rasch in Lösungen.

Inkompatibilitäten: Alkalisch reagierende Stoffe (Zersetzung); Säuren (Verfärbung).

Phantasienamen: Eskaserp<sup>®</sup>, Raused<sup>®</sup>, Reserpoid<sup>®</sup>, Rivasin<sup>®</sup>, Sandril<sup>®</sup>, Sedaraupin<sup>®</sup>, Serfin<sup>®</sup>, Serpasil<sup>®</sup>

### 3.3.6. Ergotaminium tartaricum

Syn.: Ergotamini Tartras



Mol.-Gew. 1378

Ergotamine Tartrate

USP XVI, p. 268; Brit. Ph. 1958, p. 251  
NNR 1941, p. 267

Ergotamini Tartras

Ph. Int. Vol. I, p. 107; Ph. Belg. IV, p. 278

Ergotaminium tartaricum

Ph. Austr. 1960, BD. I, p. 653

#### Spezialpräparat

Gynergen<sup>®</sup> (Sandoz).

#### Vorkommen

Ergotamin ist ein Alkaloid des Mutterkorns, der überwinterten Dauerform des auf Gramineen, besonders auf Roggen vorkommenden Pilzes *Claviceps purpurea* Tulasne. Der Pilz bildet gegen die Erntezeit hin, an Stelle der Getreidekörner, hornförmige, dunkelviolette Gebilde, die Sklerotien, die gesammelt werden und die Droge des Handels (= *Secale cornutum*) darstellen.

Von den bis heute bekannten 12 Mutterkornalkaloiden bilden immer 2 ein

stereomeres Paar. Als Grundkörper enthalten sie Lysergsäure oder die stereomere Isolysergsäure, die, wahrscheinlich über eine enolische Zwischenstufe, ineinander übergehen können. Der Lysergsäure- bzw. Isolysergsäurerest ist säureamidartig entweder an einen Aminoalkohol (wasserlösliche Alkaloide) oder an einen Polypeptidrest (wasserunlösliche Alkaloide) gebunden. Letztere Alkaloide werden in zwei Gruppen eingeteilt, in die Ergotamin- und in die Ergotoxingruppe. Die Einteilung ergibt sich aus der Verschiedenheit der unmittelbar mit der Lysergsäure verbundenen Aminosäure. Der Polypeptidrest des Ergotamins setzt sich aus  $\alpha$ -Aminobrenztraubensäure, l-Phenylalanin und l-Prolin zusammen.

Mutterkorn aus Zentraleuropa enthält als Hauptalkaloid Ergotamin, während im Mutterkorn anderer Provenienzen (Spanien, Russland) die Alkaloide der Ergotoxingruppe enthalten sind. In ungarischer oder bulgarischer Droge können beide Typen nebeneinander vorkommen. Der Gesamt-Alkaloidgehalt des Mutterkorns schwankt je nach Provenienz, nach Beke sy (113) soll er durchschnittlich zwischen 0,025 und 0,4 % liegen.

Tabelle 6 Einteilung der Secale-Alkaloide

Alkaloid	Formel
<u>Wasserunlösliche Alkaloide</u>	
1. Ergotamingruppe	
Ergotamin $\rightleftharpoons$ Ergotaminin	$C_{33}H_{35}O_5N_5$
Ergosin $\rightleftharpoons$ Ergosinin	$C_{30}H_{37}O_5N_5$
2. Ergotoxingruppe	
Ergokristin $\rightleftharpoons$ Ergokristinin	$C_{35}H_{39}O_5N_5$
Ergokryptin $\rightleftharpoons$ Ergokryptinin	$C_{32}H_{41}O_5N_5$
Ergocornin $\rightleftharpoons$ Ergocorninin	$C_{31}H_{39}O_5N_5$
<u>Wasserlösliche Alkaloide</u>	
3. Ergometringruppe	
Ergometrin $\rightleftharpoons$ Ergometrinin	$C_{19}H_{23}O_2N_3$

## Darstellung

### a) Durch Extraktion

Ergotamin wurde von Stoll im Jahre 1918 als erstes Reinalkaloid des Mutterkorns aus der Droge isoliert. Die Reindarstellung und Charakterisierung des Alkaloides wurde in Patentschriften (114) veröffentlicht. Bei der von Stoll (114, 115) angegebenen Darstellungsweise handelt es sich um eine "schonende Extraktion", d. h. das Alkaloid wird bis zur fast vollständigen Abtrennung von löslichen Begleitstoffen unter dem Schutze der amphoteren Zellsubstanz belassen und dann mit einem indifferenten Lösungsmittel extrahiert. Es wird dabei wie folgt vorgegangen:

Das grob gemahlene Mutterkorn wird mit einer wässrigen Lösung von Aluminiumsulfat sorgfältig gemischt und darauf fein gemahlen. Dann wird mit Benzol befeuchtet und im Perkulator mit Benzol extrahiert, bis eine Probe beim Abdampfen nur noch kleinste Spuren eines Rückstandes hinterlässt. Letzterer soll beim Aufnehmen in Eisessig, welcher Spuren von Ferrichlorid enthält, beim Unterschichten bzw. Mischen mit konzentrierter Schwefelsäure keine oder nur eine schwache kornblumenblaue Farbreaktion zeigen, was beweist, dass das Ergotamin bei der Vorextraktion in der angesäuerten Droge zurückgehalten wird. Hierauf rührt man das Extraktionsgut mit Benzol an, leitet in die bewegte Suspension Ammoniakgas ein bis zur schwach alkalischen Reaktion der Zellsubstanz, saugt auf der Nutsche ab und wäscht mit Benzol in kleinen Anteilen nach, bis eine abgedampfte Probe des Filtrates die Keller'sche Farbreaktion mit eisenchloridhaltigem Eisessig und Schwefelsäure nicht mehr zeigt. Der so gewonnene Extrakt wird nun bei niedriger Temperatur eingeengt, wobei sich die Hauptmenge des Alkaloides grösstenteils in kristalliner, fast farbloser Form abscheidet. Aus der Benzol-Mutterlauge kann mit Petroläther eine weniger reine Fraktion ausgefällt werden. Die im Vakuum getrocknete Rohbase wird in Azeton gelöst, und die Lösung von kleinen Mengen unlöslicher Flocken, die bei der Extraktion gebildetes Ergotaminin enthalten können, abfiltriert. Nach Zusatz von 10 % Wasser scheidet sich die Ergotaminbase in stark lichtbrechenden Prismen, enthaltend 2 Mol Azeton und 2 Mol Wasser als Kristalllösungsmittel, ab. Zur weiteren Reinigung wird die Alkaloidbase nochmals aus 90 %igem Azeton umkristallisiert.

Nach D. R. P. 627 027 (1936) kann Ergotamin auch auf chromatographischem Wege aus Mutterkornauszügen erhalten werden:

Ein aus Mutterkorn hergestellter Ergotamin-haltiger Benzolextrakt wird durch eine mit Benzol getränkte Adsorptionssäule, welche aus feinst gepulvertem, trockenem Milchzucker besteht, geschickt. Beim Eluieren mit Benzol erhält man zuerst eine alkaloidfreie, ölhaltige Lösung, dann folgt eine Lösung mit Spuren von Ergotaminin. Die dann folgende Hauptalkaloidfraktion enthält Ergotamin von hoher Reinheit, welches nach dem Eindampfen im Vakuum bei tiefer Temperatur und Aufnehmen in wasserhaltigem Azeton in stark lichtbrechenden, rhombischen Prismen und Tafeln auskristallisiert.

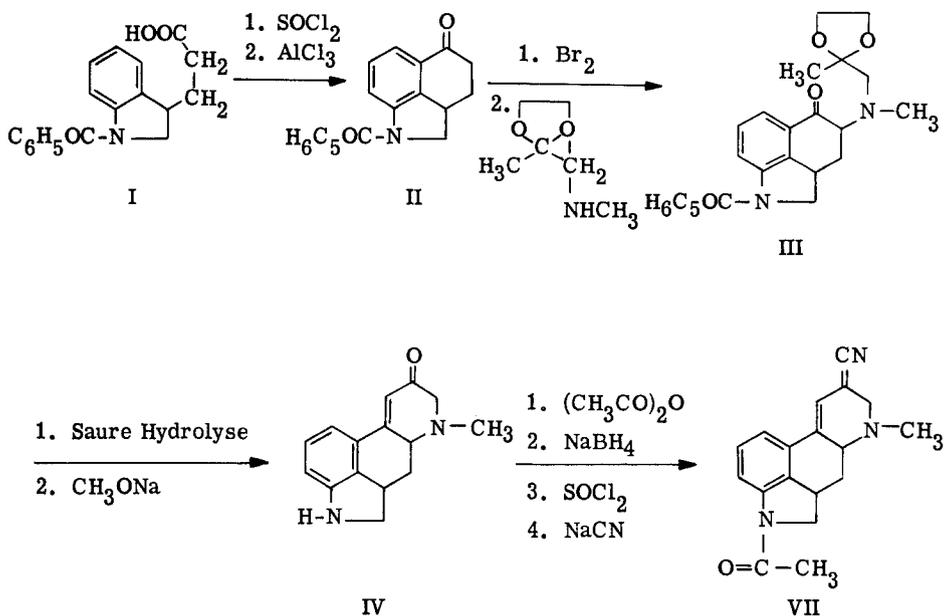
Zur Darstellung des Tartrates (115) werden die Ergotamin-Azeton-Wasser-Kristalle mit d-Weinsäure fein verrieben und unter kurzem Aufkochen in 80 %igem Methanol gelöst. Beim Erkalten kristallisiert das Ergotamintartrat, welches 2 Mol Methanol als Kristalllösungsmittel enthält, in dicken, rhombischen Tafeln aus.

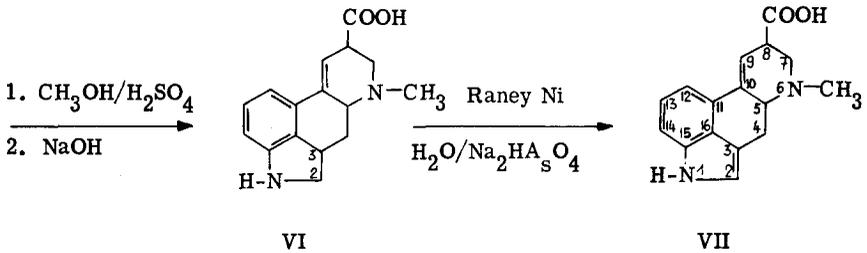
b) Durch Synthese

Nachdem Lysergsäure bereits 1954 synthetisch hergestellt werden konnte (116), gelangen Hofmann und Mitarbeitern (117) 1961 die Synthese des Peptidteiles, weshalb Ergotamin künftig auch durch Totalsynthese zugänglich sein wird.

Für die Darstellung von Lysergsäure wird folgender Syntheseweg eingeschlagen:

N-Benzoyl-3-( $\beta$ -carboxyaethyl)-dihydroindol (I) wird durch Umsetzen mit Thionylchlorid in das Säurechlorid übergeführt, und letzteres mittels Aluminiumchlorid cyclisiert. Bromierung des entstandenen tricyclischen Ketons (II) ergibt das Monobromketon, welches durch Reaktion mit Methylaminoazeton-äthylenketal in Benzol in ein Ketal-Keton (III) umgewandelt wird. Durch saure Hydrolyse wird das Diketon erhalten, dieses liefert durch Behandeln mit Natriummethylat 9-keto-7-methyl-4, 5, 6a, 7, 8, 9-octahydroindolo-[4, 3-fg]-quinolin, ein tetracyclisches ungesättigtes Keton (IV). Die sekundäre Aminogruppe wird durch eine Acetylgruppe maskiert, und das Keton durch nachfolgendes Behandeln mit Natriumborhydrid, Thionylchlorid in Schwefeldioxyd und Natriumcyanid in wasserfreiem HCN in das Nitril (V) übergeführt. Durch Behandeln des Nitrils mit Methylalkohol in Schwefelsäure wird der entsprechende Ester erhalten, welcher mittels alkalischer Hydrolyse in 2,3-Dihydrolysergsäure umgewandelt wird (VI). Dehydrierung dieser Dihydrolysergsäure unter Verwendung von inaktiviertem Raney-Nickel in wässriger Lösung bei Gegenwart von Natriumarsenat führt zu dl-Lysergsäure (VII).

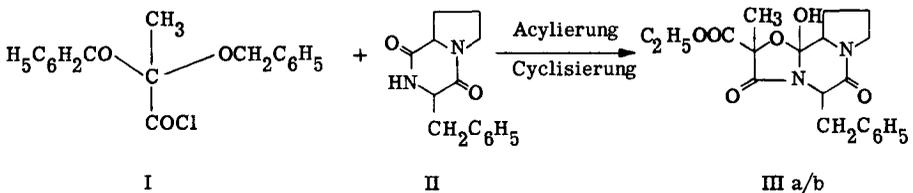


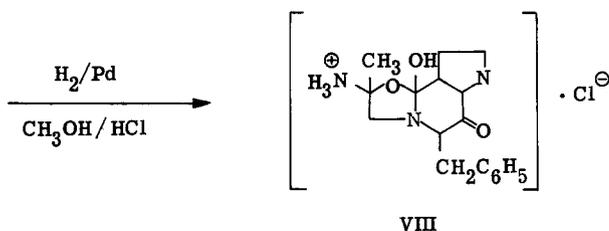
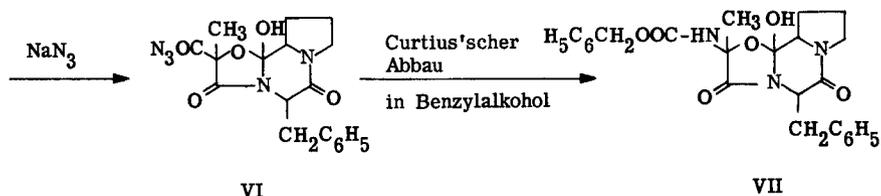
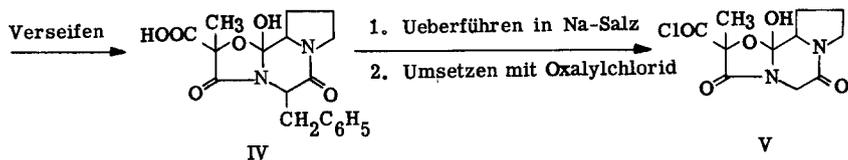


Die von Hofmann und Mitarbeitern (117) veröffentlichte Synthese des Peptidteils ist die folgende:

Durch Acylierung von L-Phenylalanyl-L-prolin-lactam (II) mit d,1-Methylbenzyloxy-malonsäurehalbester-chlorid (I) werden zwei diastereo-isomere Acylierungsprodukte erhalten, die nach hydrogenolytischer Spaltung der Benzyloxy-Gruppe spontan cyclisieren (III a/b) und sich durch fraktionierte Kristallisation trennen lassen. Durch Verseifen der Aethylester-Gruppierung der Verbindung IIIa (Smp. 135 - 136°) wird die entsprechende Säure (IV) erhalten und deren Natriumsalz hergestellt. Umsetzen des Natriumsalzes mit Oxalylchlorid führt zum entsprechenden Säurechlorid (V), welches mit Natriumazid in das Säureazid (VI) umgewandelt wird. Curtius'scher Abbau in Benzylalkohol liefert die Carbobenzoxyamino-Verbindung (VII), aus welcher der Peptidteil des Ergotamins durch katalytische Hydrierung in salzsaurer, methanolischer Lösung, mit Palladium als Katalysator, als Hydrochlorid (VIII) erhalten wird.

Verknüpfung des Peptidteils mit Lysergsäurechlorid-hydrochlorid, durchgeführt in Chloroform mit Tributylamin, liefert synthetisches Ergotamin.





### M\u00f6gliche Verunreinigungen

Andere, vornehmlich wasserunl\u00f6sliche Mutterkornalkaloide, besonders Ergotaminin; Lysergs\u00e4ure, Isolysergs\u00e4ure; Natrium, Aluminium, Palladium, Arsen, Chlorid, Bromid, Cyanid, Sulfat; Organische L\u00f6sungsmittel.

### Sinnenprüfung

Vier der fünf untersuchten Muster lagen als feine kristalline Pulver vor, wovon drei Muster leicht graustichig gefärbt waren, und ein Muster ziemliche Gelbfärbung aufwies. Ein weiteres Muster war etwas gröber kristallin und von ganz schwach gelblicher Färbung. Sämtliche Muster waren geruchlos. Eine Geschmacksprobe haben wir in Anbetracht der starken Wirksamkeit der Substanz nicht vorgenommen.

Die Monographien fordern farblose Kristalle oder weisses kristallines Pulver, nur Brit. Ph. 1958 und Ph. Austr. 1960 tolerieren auch eine nahezu weisse Farbe. Da keines unserer Muster rein weiss gefärbt war, ist u. E. eine schwache Färbung zuzulassen. Die Forderung für den Pharmakopöetext soll lauten:

"Farblose Kristalle oder weisses bis gelblich- oder graustichig weisses kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch."

### Identitätsprüfungen

Stammlösung : Wässrige Lösungen von Ergotamintartrat zersetzen sich sehr rasch, da sich die Base infolge Hydrolyse aus der Lösung abscheidet. Klare und haltbare Lösungen können nur durch Zusatz von Weinsäure erhalten werden. Wir führten einige Identitätsprüfungen sowie eine Reinheitsprüfung mit der mittels Weinsäure stabilisierten wässrigen Lösung von Ergotamintartrat aus, die wir als Stammlösung S I bezeichnen und wie folgt erhalten:

"Eine möglichst feine Verreibung von 10 mg Substanz und 5 mg Weinsäure muss sich in 2 ml Wasser unter Schütteln binnen weniger Minuten völlig lösen."

Zur Bestimmung der spezifischen Drehung diente uns eine Lösung der Ergotaminbase in Chloroform. Da diese Lösung noch zu einer Identitätsprüfung verwendet wird, bezeichnen wir sie als Stammlösung S II (Herstellung unter Reinheitsprüfungen, S. 206).

### Nachweis der Ergotaminbase:

Farbreaktionen: Die für Ergotamintartrat angewandten Farbreaktionen sind nicht spezifisch, sondern als Reaktionen der Lysergsäure bzw. Dihydrolyserg-

säure allen Mutterkornalkaloiden gemeinsam.

Sämtliche Monographien lassen die Reaktion nach Keller (Farbreaktion mit Ferrichlorid-haltigem Eisessig und konzentrierter Schwefelsäure) in verschiedenen Modifikationen ausführen. USP XVI, Brit. Ph. 1958, Ph. Int. 1955 und NNR 1941 lösen 1 mg Ergotamintartrat in der Mischung von 5 ml Eisessig und 5 ml Essigester und versetzen 1 ml dieser Mischung unter Schütteln und Kühlen mit 1 ml konzentrierter Schwefelsäure, die dabei entstandene rotstichig blaue Färbung wird nach Zusatz einer verdünnten Ferrichloridlösung nach Blau verstärkt. Der Prüfungsvorschlag SANDOZ führt diese Prüfung als Ringreaktion durch. Hierzu wird eine Spur Ergotamintartrat in Ferrichlorid-haltigem Eisessig gelöst und die Lösung mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. In der Grenzzone beider Schichten entsteht ein blauer Ring und beim Mischen der Schichten eine intensive Blaufärbung der Lösung. Ph. Belg. IV lässt ebenfalls mit einer Ringreaktion prüfen, verwendet aber zur Lösung der Substanz eine Mischung von Eisessig und Essigester.

Wir führten die Reaktion nach genannten Vorschriften aus, geben aber der von Ph. Helv. V zur Prüfung der Secale-Präparate angewandten modifizierten Keller-Reaktion, wie sie auch schon von Butz (118) empfohlen wurde, den Vorzug. Anstelle von konzentrierter Schwefelsäure wird von der Ph. Helv. V konzentrierte Phosphorsäure verwendet, um zu verhindern, dass sich die Mischung anfänglich erwärmt. Erst dann wird im Wasserbad erhitzt, damit sich die Bildung des Farbstoffes vollziehen kann. In Anlehnung an die Ph. Helv. V sehen wir folgende Formulierung vor:

"Werden 2 Tropfen der Stammlösung S I mit 1 ml konzentrierter Essigsäure RS, 1 Tropfen Ferrichlorid RS und 1 ml konzentrierter Phosphorsäure RS vermischt, und die Mischung in ein Wasserbad von 80° gebracht, so entsteht binnen einiger Minuten eine beständige blauviolette Färbung."

Die blauviolette Färbung wurde von allen geprüften Mustern erhalten.

Als weitere Identitätsprüfung führen die Monographien die Farbreaktion nach Van Urk (119) an, welche darauf beruht, dass Mutterkornalkaloide mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in Schwefelsäure eine intensive kornblumenblaue Färbung ergeben. Nach Allport und Cocking (120) wird dem Reagens mit Vorteil eine geringe Menge Ferrichlorid zugesetzt, welches bewirkt, dass die Färbung sofort entsteht. Wir empfehlen, auch diese Farbreaktion, die von allen Mustern im positiven Sinne erhalten wurde, in die Pharmakopöe aufzunehmen und formulieren

sie wie folgt:

"Werden 3 Tropfen der Stammlösung S I mit 1 ml Wasser und 1 ml Dimethylaminobenzaldehyd RS vermischt, so tritt eine dunkelkornblumenblaue Färbung auf."

Azetonkristallisation: Ergotaminbase kristallisiert aus wasserhaltigem Azeton in charakteristischen, stark lichtbrechenden Prismen. Brit.Ph.1958, Ph.Int. 1955 und NNR 1941 isolieren die aus Ergotamintartrat mit Ammoniak freigesetzte Base mit Chloroform. Nach Verdunsten des Chloroforms wird der Rückstand in Azeton gelöst, aus welchem nach Zusatz von wenig Wasser und einigem Stehen bei 0° C die Ergotamin-Azeton-Wasser-Verbindung auskristallisiert. Genannte Monographien werten diese Eigenschaft des Ergotamins als Reinheitsprüfung auf fremde Substanzen aus, indem sie nach dem Trocknen der Azeton-Wasser-Kristalle im Vakuum-Exsikkator den Schmelzpunkt der Ergotaminbase bestimmen lassen. Da es sich aber um einen Zersetzungspunkt handelt ( Schwärzung bei 174° und Zersetzung unter Gasentwicklung bei 186° (korr.) ) sehen wir von dessen Bestimmung ab. Wir lassen die viel empfindlichere papierchromatographische Reinheitsprüfung vornehmen, weshalb die Azetonkristallisation in unserem Vorschlag nur als Identitätsreaktion betrachtet werden soll.

Nach Butz (118) ist es oft schwierig mit beschriebenem Vorgehen Kristalle zu erhalten, insbesondere, wenn die Chloroform-Lösung längere Zeit mit der Luft in Berührung gekommen ist. Er schlägt deshalb vor, auf dem Objektträger zu kristallisieren und aus Oekonomiegründen die zur Bestimmung der spezifischen Drehung hergestellte Lösung der Base in Chloroform zu verwenden. Wir überprüften den Vorschlag und fanden ihn für Pharmakopöezwecke ebenfalls geeignet.

Da Ergotamin durch die Form seiner Azeton-Wasser-Kristalle von den anderen Mutterkornalkaloiden unterschieden werden kann, empfehlen wir, die Azeton-Kristallisation zur Präzisierung der weiter oben angeführten unspezifischen Farbreaktionen in die Pharmakopöe aufzunehmen. Die Formulierung soll lauten:

"5 Tropfen der Stammlösung S II werden auf einem Objektträger verdunstet und der Rückstand während 24 Stunden im Vakuum-Exsikkator getrocknet. Hierauf wird mit 4 Tropfen einer Mischung von 16 Volumenteilen Azeton + 1 Volumenteil Wasser gelöst und wieder verdunstet. Unter dem Mikroskop betrachtet sind die für Ergotamin charakteristischen, stark lichtbrechenden rhombischen Prismen sichtbar."

Alkaloidfällungs-Reagenzien: In der Literatur fanden wir keine Beschreibung der nachstehend von uns hergestellten Salze des Ergotamins. Es gelang, in jedem Falle gut kristallisierende Verbindungen zu erhalten, die jedoch - wie alle Salze dieses Alkaloides - unter Zersetzung schmelzen.

Herstellung des Reineckates:

"25 mg Ergotamintartrat werden in der Mischung von 2 ml Azeton + 1 ml Wasser gelöst und tropfenweise mit 5 ml Ammoniumreineckat RS versetzt. Es entsteht eine ölige Trübung, die sich nach ca. 1 Stunde als kristalliner Niederschlag abscheidet. Die rötlichen Kristalle werden abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet."

Die Kristalle färben sich bei ca. 160<sup>0</sup> grau, bei ca. 190<sup>0</sup> schwarz ohne zu schmelzen. Bei Steigerung der Temperatur bis auf 250<sup>0</sup> konnten wir kein Schmelzintervall beobachten. Die Herstellung dieses Derivates kann daher nicht in Betracht gezogen werden.

Herstellung des Pikrates:

"25 mg Ergotamintartrat werden in der Mischung von 2 ml Azeton + 1 ml Wasser gelöst und tropfenweise mit 2 ml Pikrinsäure RS versetzt. Die entstandene Trübung setzt sich nach einigem Stehen in Form eines kristallinen Niederschlages ab, welcher abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet wird."

Die gelben Kristalle zeigen bereits bei 160<sup>0</sup> leichte Graufärbung, bei ca. 175<sup>0</sup> tritt Schwarzfärbung auf. Das Schmelzintervall, welches zwischen 193 und 196<sup>0</sup> (unkorr.) bzw. 197,8 und 201,0<sup>0</sup> (korr.) liegt, ist sehr schwer erkennbar, weshalb auch das Pikrat zur Identifizierung der Substanz nicht geeignet ist.

Herstellung des Tetraphenylborates:

"25 mg Ergotamintartrat werden in der Mischung von 2 ml Azeton + 1 ml Wasser gelöst. Dann werden 2 ml Wasser und tropfenweise 1 ml Kalignost RS zugefügt. Es entsteht sofort eine Trübung, die sich nach ca. 1 Stunde in Form von kristallinen Nadeln abscheidet. Diese werden sofort abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und in 3 ml Azeton gelöst. Die durch tropfenweises Zusetzen von ca. 5 ml Wasser erhaltenen Kristallnadeln werden nach dem Absaugen und Waschen mit wenig Wasser im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Bei der Bestimmung der Schmelztemperatur, die zwischen 150 und 154<sup>0</sup> (unkorr.) bzw. 152,7 und 156,9<sup>0</sup> (korr.) liegt, ist rasch auf ca. 140<sup>0</sup> aufzuheizen und die Temperatur dann um 4<sup>0</sup> pro Minute zu steigern."

Die Kristalle färben sich bei etwa  $140^{\circ}$  grau und schmelzen unter Schwarzfärbung. Wir stellten fest, dass die Schmelztemperatur von der Art des Erhitzens abhängig ist. Bei raschem Aufheizen und Steigerung der Temperatur um  $4^{\circ}$  pro Minute ab ca.  $12^{\circ}$  unterhalb der Schmelztemperatur konnten reproduzierbare Werte erhalten werden.

Die Tetraphenylborate unserer Muster wiesen folgende Schmelztemperaturen auf:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Schmelztemperatur</u>	
	unkorr. Wert	korr. Wert
I	151,5 - 153,5 <sup>0</sup>	154,3 - 156,4 <sup>0</sup>
II	151,0 - 153,2 <sup>0</sup>	153,7 - 156,0 <sup>0</sup>
III	150,8 - 153,0 <sup>0</sup>	153,5 - 155,8 <sup>0</sup>
IV	149,8 - 152,0 <sup>0</sup>	152,5 - 154,8 <sup>0</sup>
V	150,6 - 152,8 <sup>0</sup>	153,3 - 155,6 <sup>0</sup>

Von den hergestellten Derivaten erweist sich nur das Tetraphenylborat als geeignet zum weiteren Identitätsnachweis in die Pharmakopöe aufgenommen zu werden, obschon auch dieses Derivat unter Zersetzung schmilzt. Wir schlagen ein Schmelzintervall von 153 - 157<sup>0</sup> (korr.) vor.

#### Papierchromatographische Prüfung:

##### a) Bisherige Untersuchungen

Zur Trennung und Identifizierung komplizierter Stoffgemische, wie sie aus *Secale cornutum* erhalten werden, erweist sich die Papierchromatographie als besonders geeignet und wurde von verschiedenen Autoren mit Erfolg eingesetzt. Die beschriebenen Verfahren gestatten in der Regel die Abtrennung bestimmter Mutterkorn-Alkaloide aus einem Gemisch, jedoch vermag keine dieser Methoden eine vollkommene Auftrennung aller Komponenten in einem einzigen Chromatogramm herbeizuführen. Auch wurde die Papierchromatographie häufiger zur Trennung von mengenmässig gleichen Substanzgemischen, sowie zum Nachweis von einzelnen Alkaloiden in Drogen verschiedener Provenienz und seltener im Sinne von eigentlichen Reinheitsprüfungen angewendet. Die Trennung der wasserlöslichen Alkaloide bereitete keine Schwierigkeiten. Foster und Mitarbeiter (121) trennten mit dem Gemisch n-Butanol-Eisessig-Wasser (4:1:5) Ergobasin (Rf-Wert = 0,59) und Ergobasinin (Rf-Wert = 0,68) von den wasserunlöslichen Alkaloiden, die an der Lösungsmittelfront erschienen. Im gleichen System erreichten Soffel und Rochelmeyer (122) die Trennung von Ergometrin, Ergometrinin sowie

der Abbauprodukte Lysergsäure, Ergin und ihrer Isomeren, wobei auch die Technik des Rundfilterchromatogramms angewendet werden konnte. Nach Macek und Mitarbeitern (123) können mit Formamid als stationärer und Chloroform als mobiler Phase alle natürlichen wasserlöslichen Alkaloide aufgetrennt werden. Wesentlich schwieriger gestaltete sich die Trennung der wasserunlöslichen Alkaloide, besonders der sich strukturell nahestehenden Alkaloide der Ergotoxingruppe. An mit sauren Pufferlösungen vorbehandelten Papieren gelang Carless und Woodhead (124) die Trennung von Ergotamin und Ergotaminin, sowie die Abtrennung des Ergokristinins aus dem Ergotoxinkomplex. Brindle und Mitarbeiter (125) untersuchten die Abhängigkeit des Rf-Wertes vom pH-Wert unter Verwendung von mit Zitrat-Phosphat gepufferten Papieren und Chloroform oder Aether mit Wasser gesättigt als mobile Phasen. Die Auftrennung von Ergotoxin in seine Komponenten erreichte Berg (126) mittels Rundfilterchromatographie an gepufferten Papieren (pH = 3,0) mit einem Benzol-Aethanol-Gemisch (9:1), mit Wasser gesättigt. Thielman, Lang und Kaiser (127) trennten Ergotamin und die Ergotoxingruppe, welche sich bezüglich des Rf-Wertes (0,71) nicht unterscheiden, von Ergometrin (Rf-Wert = 0,58). Die Autoren verwendeten o-Ameisensäureäthylester-Spiritus dilutus-Isobutanol (5:9:2) als mobile Phase. Von der Möglichkeit, die wasserunlöslichen Alkaloide nach ihrer Hydrolyse auf Grund der frei gewordenen Aminosäuren zu identifizieren, machten Fuchs und Pöhm (128) Gebrauch. Die Autoren untersuchten nach dieser Methode Ergotoxin unter Verwendung von n-Butanol-Benzylalkohol-Wasser (1:1:2) als mobile Phase. Tyler und Schwarting (129) bedienten sich der Phasenumkehr; sie imprägnierten das Papier mit Silikon und chromatographierten mit der gesättigten wässrigen Phase mehrerer Elutionsflüssigkeiten, wobei die wässrige Phase des Butanol-Eisessig-Wasser-Systems (4:1:5) und die der Butanol-Pufferlösung vom pH = 3 (Phosphat-Zitronensäure-Puffer Mac Ivaine (130)) die besten Trennungen ergaben. Die angeführten Rf-Werte liegen teilweise sehr nahe beieinander, und es gelang den Autoren auch nicht, die Alkaloide der Ergotoxin-Gruppe zu trennen. Eine gute Trennung innerhalb der konstitutionellen Hauptgruppen einschliesslich der dazugehörigen Isomeren ist nach der Methode von Stoll und Rüeegger (131) möglich. Die Autoren arbeiteten mit Formamid-Wasser-Gemischen verschiedener Zusammensetzung an mit Dimethylphthalat imprägnierten Papieren. Der günstigste pH-Bereich und die Zusammensetzung der mobilen Phase ist für die drei Gruppen (Ergobasin-, Ergotamin-, Ergotoxingruppe) verschieden, weshalb dieses Arbeitsverfahren eine vorhergehende Trennung in die genannten Gruppen voraussetzt. Das Gemisch der hydrierten Ergotoxingruppe wurde ebenfalls in die Untersuchung einbezogen und mit Erfolg getrennt. Nach der Prüfungsvorschrift der Firma SANDOZ (132) erfolgt die papierchromatographische Prüfung von Ergotamintartrat auf Alkaloide der Ergotamingruppe im Prinzip nach Stoll und Rüeegger (131). Zur Prüfung auf Alkaloide der Ergotoxingruppe, bzw. der rechtsdrehenden Isomeren, sowie auf Ergometrin und Ergometrinin wird 25%iges Formamid mit Zusatz von 1% Benzoesäure als stationäre und peroxydfreier Aether, gesättigt mit Formamid, als mobile Phase verwendet. Schindler und Bürgin (133) beschreiben die Trennung der wasserunlöslichen Mutterkornalkaloide durch zweidimensionale Papierchromatographie. Die Autoren verwenden für die erste Dimension Ameisensäure als stabile und Chloroform als mobile Phase, in der 2. Dimension dienen entsprechend der Methode nach Stoll und Rüeegger (131) Dimethylphthalat als stabile, und ein Formamid-Wasser-Gemisch von bestimmtem pH-Wert und bestimmter Pufferkapazität als mobile Phase. Schumacher (29) trennte die Ergotamingruppe unter Verwendung der mobilen Phase Wasser-Toluol mit Isobutanol gesättigt bei einem pH-Wert von 4,4. Zur Erhaltung runder Flecken wurden der mobilen Phase

noch 3 % Glycerin zugefügt. Die Rf-Werte betragen für Ergotamin 0,22, Ergotaminin 0,36, Ergosin 0,31, Ergosinin 0,49, wobei eine Isomerisierung der Alkaloide festzustellen war. Der Autor erreichte die Trennung von Ergotamin (Rf = 0,54), Ergotaminin (Rf = 0,43) und Dihydroergotamin (Rf = 0,63) einerseits sowie Ergonovin (Rf = 0,74) und Ergonovinin (Rf = 0,52) andererseits mit folgender mobiler Phase: Formamid 60 Teile, Puffer nach Kolthoff pH 4,6 80 Teile, Toluol-Isobutanol gesättigtes Wasser 20 Teile und destilliertes Wasser 40 Teile. Eine Umlagerung war nur bei Ergotamin und Ergotaminin festzustellen. Grosse Verbreitung fanden Systeme mit Formamid als stationäre Phase. Pöhm und Fuchs (134) imprägnierten das Papier mit Formamid, welches 4% Benzoesäure enthielt, und benutzten als mobile Phase eine Mischung aus Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform und Benzol (7:2:1). Aus einem Gemisch sämtlicher Mutterkornalkaloide wurden in der Reihenfolge steigender Wanderungsgeschwindigkeit folgende Alkaloidfraktionen erhalten: Ergometrin und Ergometrinin (nicht gewandert), Ergotamin, Ergosin, Ergotaminin, Ergosinin, Ergokristin + Ergocornin, Ergokryptin, Ergokristinin + Ergocorninin, Ergokryptinin. Zur Trennung der Ergotamin- und Ergotoxingruppe verwendeten Macek und Mitarbeiter (135) Formamid als stationäre und Benzol-Chloroform (8:2) als mobile Phase. Die Trennung von Ergocornin und Ergokristin, welche den Autoren nicht gelang, erreichten später Macek und Vanecek (136) mit der mobilen Phase Benzol-Benzin (6:4). Mit Formamid als stationärer und Benzol als mobiler Phase arbeiteten Soffel und Rochelmeyer (122) in ihren Wertbestimmungen von *Secale cornutum* Stada, sowie Kolsek (137) und Büchi und Mitarbeiter (138). Durch Kombination der aufsteigenden und absteigenden Arbeitstechnik und verschiedener Lösungsmittelsysteme erreichte Kolsek (139) nach der Methode von Macek die Auftrennung der rechtsdrehenden Alkaloide der Ergotoxingruppe. Ueber papierchromatographische Untersuchungen an Mutterkornalkaloiden bestehen noch weitere Publikationen (140 - 146).

#### b) Eigene Untersuchungen

Es war nicht unser Bestreben, sämtliche Mutterkornalkaloide einwandfrei aufzutrennen, vielmehr schien uns ein Verfahren, welches die Trennung des zu untersuchenden Ergotamintartrats von seinen Nebenalkaloiden gestattet, dem Zwecke einer Identitäts- und Reinheitsprüfung für das genannte Alkaloidsalz zu entsprechen. Wir überprüften das von Macek (135) vorgeschlagene Verfahren, welches mit Formamid als stationärer und Benzol als mobiler Phase arbeitet und von anderen Autoren zur Trennung einiger wasserunlöslicher Mutterkornalkaloide mit Erfolg verwendet wurde (122, 138). Im weiteren arbeiteten wir mit den Lösungsmittelgemischen Benzol-Chloroform 1:1 und Benzol-Benzin 6:4 und legten dabei nachstehende Versuchsbedingungen zu Grunde:

**Apparatur:** Das von der Ph. Helv. V, Suppl. III, beschriebene Chromatographiergefäss zur absteigenden Papierchromatographie wurde durch Umkleiden mit schwarzem Papier für Licht vollständig undurchlässig gemacht und vor Gebrauch mit der mobilen Phase während mindestens 14 Stunden klimatisiert.

Vorbereiten der Papiere: Das in Streifen zu 12 bzw. 18 cm quer zur Faserrichtung geschnittene Chromatographierpapier Whatman 1 wurde während 10 Minuten in einem dicht verschlossenen Gefäss in eine Mischung von 40 Vol.T. Formamid und 60 Vol.T. Aethanol 94 % eingetaucht, zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht ausgepresst und während 15 Minuten bei Zimmertemperatur zum Trocknen aufgehängt. Die Chromatographierpapiere wurden sodann sofort mit den Substanzen beschickt.

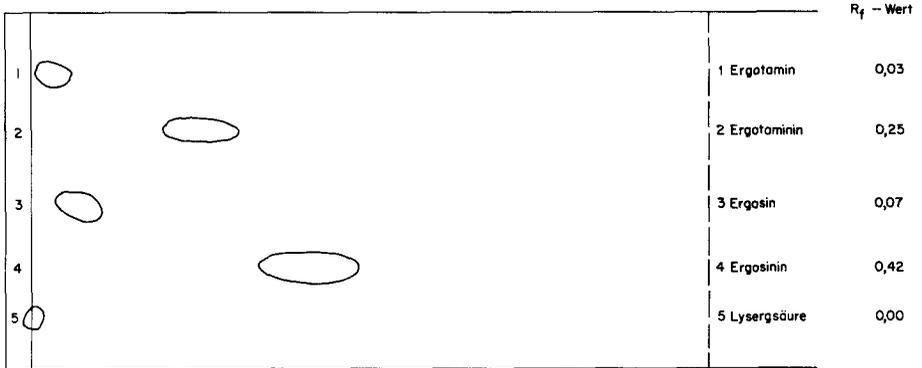
Auftragen der Substanzen: Im Abstand von jeweils 3 cm wurden frisch bereitete Lösungen der Alkaloide bzw. der Alkaloidsalze in einem Gemisch gleicher Vol.T. Methylalkohol und Methylenchlorid punkt- bzw. streifenförmig auf die Startlinie aufgetragen. Das Herstellen sowie das Auftragen der Lösungen erfolgte vor Licht geschützt.

Entwickeln der Papiere: Die mit den Substanzen beschickten Papiere wurden ohne Vorhängezeit mit der mobilen Phase (Benzol, Benzol-Chloroform 1:1, Benzol-Benzin 6:4) nach dem absteigenden Verfahren entwickelt. In  $3\frac{1}{2}$  - 4 Stunden wandert die Lösungsmittelfront ca. 30 cm.

Sichtbarmachung der Alkaloide: Die Mutterkornalkaloide fluoreszieren beim Bestrahlen mit UV-Licht mit blauen Fluoreszenzen. Die Chromatogramme wurden nach Einzeichnen der Frontlinie einige Minuten bei Zimmertemperatur getrocknet und sogleich unter der UV-Lampe ausgewertet. Bei Sichtbarmachung mit Ehrlichs-Reagens, womit die Mutterkornalkaloide violette Färbungen zeigen, wurden die Chromatogramme vorher im Trockenschrank bei 100<sup>o</sup> getrocknet.

Mit Ausnahme der rechtsdrehenden Alkaloide der Ergotoxingruppe wurden sämtliche nativen Mutterkornalkaloide in die Untersuchungen einbezogen. Wir gingen dabei so vor, dass wir die Reinalkaloide bzw. Mischungen derselben in den erwähnten Systemen chromatographierten und die erreichte Verteilung feststellten (Abb. 13 - 16). Wie aus Abb. 13 ersichtlich ist, wandert Ergotamin im System Benzol-Benzin 6:4 nur wenig über die Startlinie hinaus. Verunreinigungen mit wasserlöslichen Alkaloiden sowie mit Lysergsäure, welche am Startpunkt zurückbleiben, lassen sich daher nur schwer erkennen. Zudem unterscheiden sich die Rf-Werte von Ergotamin und Ergosin nur um 0,03 Rf-Einheiten. Es treten z.T. längliche Flecken auf, die zur Berechnung der Rf-Werte ungünstig sind.

Im System Benzol-Chloroform 1:1 ist die Wanderungsgeschwindigkeit der Alkaloide grösser und die Alkaloide der Ergotamin- und der Ergotoxingruppe befinden sich hier in der unteren Hälfte des Chromatogramms. Das Verfahren, welches eine bessere Trennung von Ergotamin und Ergosin gestattet, eignet sich zum Nachweis von Verunreinigungen in Ergotamintartrat, mit der Einschränkung, dass diese nicht genügend identifiziert werden können. Ergosinin, Ergotaminin, sowie die Alkaloide der Ergotoxingruppe weisen bezüglich der Rf-Werte praktisch

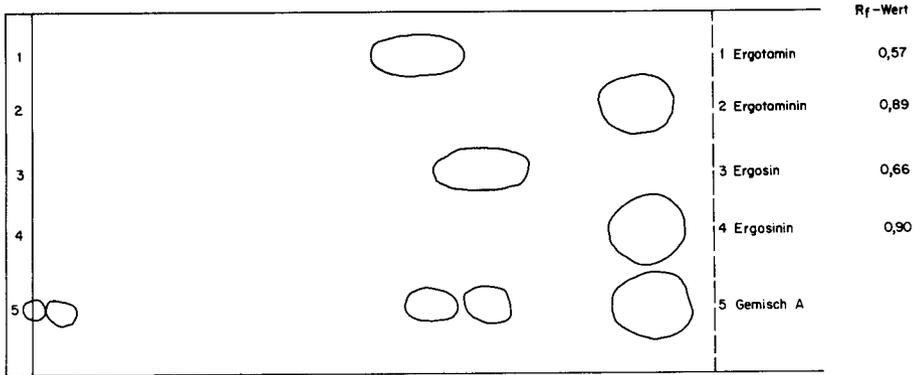


**Abb. 13** Chromatogramm der Ergotamingruppe im System Formamid/Benzol-Benzin 6 : 4

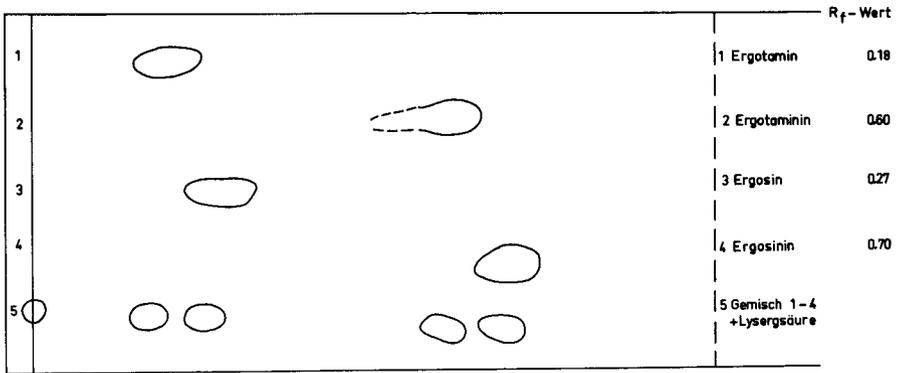
keine Unterschiede auf, die rechtsdrehenden Alkaloide der Ergotoxingruppe wandern mit der Lösungsmittelfront.

Die günstigsten Verteilungsergebnisse ergaben sich bei Verwendung von Benzol als mobiler Phase. Neben der Auftrennung von Ergotamin und Ergosin ist hier eine Aussage über die Identität der anwesenden Alkaloide besser möglich. Allfällige Verunreinigungen mit Alkaloiden der Ergotamingruppe können nicht nur erkannt, sondern auch identifiziert werden, was für die Reinheitsprüfung von Ergotamintartrat wichtig ist. Die wasserlöslichen Alkaloide bleiben am Start, die rechtsdrehenden Alkaloide der Ergotoxingruppe befinden sich unmittelbar vor der Lösungsmittelfront. In Tabelle 7 (s. Seite 200) sind sämtliche R<sub>f</sub>-Werte zusammengestellt, wie sie bei der Untersuchung der Reinalkaloide mit den verschiedenen Verfahren erhalten wurden. Bei Ergotamin, Ergotaminin und Ergosin handelt es sich um Mittelwerte aus 10 - 20, bei den übrigen Alkaloiden aus 3 - 5 Chromatogrammen. Die maximale Streuung beträgt  $\pm 0,03$  R<sub>f</sub>-Einheiten.

Nachdem sich das Trennvermögen von Benzol bei mengenmässig gleichen Substanzgemischen als hinreichend erwiesen hatte, überprüften wir die Eignung des Verfahrens als Reinheitsprüfung im speziellen. Wir ermittelten zunächst, welche maximale Alkaloidmenge sich ohne Nachteile (Änderung der R<sub>f</sub>-Werte, Deformation der Alkaloidflecke durch unscharfe Umrandungen und Schwanzbildung) gerade noch chromatographieren lässt. Unsere Untersuchungen ergaben, dass



**Abb. 14** Chromatogramm der Ergotamingruppe sowie eines Substanzgemisches im System Formamid/Benzol-Chloroform 1:1  
Gemisch A enthält alle in Tabelle 6 aufgeführten Alkaloide.



**Abb. 15** Trennung der Ergotamingruppe im System Formamid/Benzol

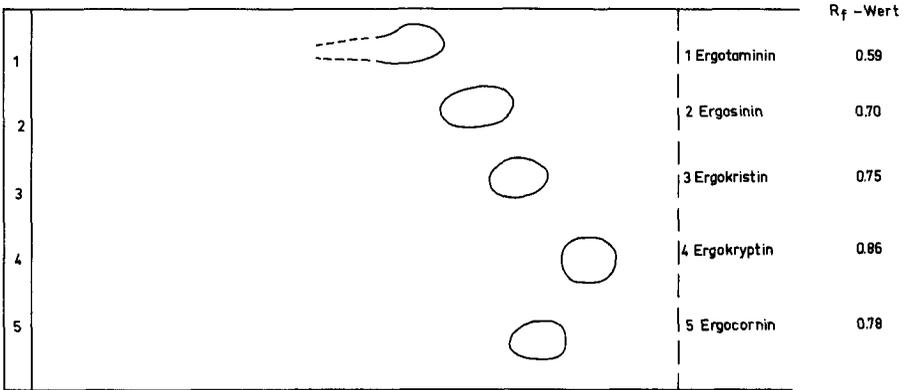


Abb. 16 Chromatogramm einiger Mutterkornalkaloide im System Formamid/Benzol

Tabelle 7 R<sub>f</sub>-Werte einiger Mutterkornalkaloide

Alkaloid	R <sub>f</sub> -Werte		
	Benzol	Benzol-Benzin 6 : 4	Benzol-Chloroform 1 : 1
Ergotamin	0,19	0,04	0,58
Ergosin	0,27	0,07	0,66
Ergosinin	0,69	0,40	0,90
Ergotaminin	0,60	0,25	0,87
Ergokristin	0,75	0,43	0,92
Ergokryptin	0,86	0,60	0,94
Ergocornin	0,78	0,48	0,93
Ergobasin	0,00	0,00	0,00
Ergobasinin	0,00	0,02	0,04
Lysergsäure	0,00	0,00	0,00
Isolysergsäure	0,00	0,00	0,00

sich beim Auftragen von 100 µg Ergotamintartrat, streifenförmig zwischen zwei Punkten im Abstand von 3 cm keinerlei Mängel bemerkbar machen, während bei

punktförmigem Auftragen von 50 µg bereits Schwanzbildung festzustellen war. Grössere Mengen als 100 µg ergeben sehr grosse und leicht deformierte Flecke, so dass die Angabe eines Rf-Wertes keinen Sinn mehr hat.

In weiteren Versuchen stellten wir fest, ob sich sehr kleine Mengen Nebenalkaloide von der grossen Hauptmenge des zu prüfenden Alkaloides überhaupt abtrennen lassen. Wir chromatographierten mit Nebenalkaloiden in wechselnden Mengen verunreinigtes Ergotamintartrat und beobachteten, bis zu welcher Konzentration diese gerade noch nachweisbar waren. Nach unseren Befunden kann in 100 µg Ergotamintartrat noch 1 µg eines Fremddalkaloides (= 1 %) erkannt werden, was ungefähr der Nachweisbarkeitsgrenze entspricht, welche nach den Literaturangaben (29, 138) für die einzelnen Alkaloide zwischen 0,25 und 1 µg liegt. Eine Ausnahme ist allerdings bei Ergosin zu verzeichnen. Der geringe Unterschied der Rf-Werte von Ergotamin und Ergosin (0,08 Rf-Einheiten) verunmöglicht eine vollständige Trennung mengenmässig sehr ungleicher Substanzgemische. Bei Anwesenheit von Ergosin in 2,5 % übersteigenden Mengen wird eine unmittelbar an den Ergotamin-Fleck anschliessende blau leuchtende Zone sichtbar, Verunreinigungen von weniger als 2,5 % können bereits nicht mehr abgetrennt werden.

Die Beobachtung von Büchi und Mitarbeitern (138), dass beim Auftragen von 50 µg und mehr Ergotamin stets Ergotaminin-Flecke auftraten, konnten wir bestätigen. Die Isomerisierung geht in den Alkaloidlösungen, welche auf die Startlinie aufgetragen werden, sowie unter dem Einfluss der mobilen Phase während des Chromatographierens vor sich. Wie wir feststellten, entspricht die bei 100 µg Ergotamintartrat auftretende Nebenfluoreszenz in der Intensität etwa 1 µg Ergotaminin. Als Mass für unzulässiges Ergotaminin schreiben wir vor, dass in 20 µg Ergotamintartrat kein Ergotaminin-Fleck sichtbar sein darf. Bei dieser Konzentration liegt sekundär gebildetes Ergotaminin, wenn es 1 % nicht übersteigt, jenseits der Nachweisbarkeitsgrenze.

Zusammenfassend ist zu bemerken, dass sich die Verwendung von Benzol als mobile Phase bei unseren papierchromatographischen Versuchen als brauchbar erwiesen hat. Wir haben unsere Handelsmuster nach dem im Artikelvorschlag im Detail beschriebenen Arbeitsverfahren geprüft und konnten nur bei Muster IV, welches auch in anderer Hinsicht nicht befriedigte, unzulässiges Ergotaminin nachweisen. Das rasch durchführbare und dabei doch verhältnismässig leistungsfähige Verfahren erscheint uns für Pharmakopöezwecke als besonders geeignet und wird für Ergotamintartrat als weitere Identitäts- sowie als Reinheitsprüfung auf Nebenalkaloide vorgeschlagen (s. Seite 223).

Nachweis des Säureanteiles: Die Monographien, mit Ausnahme von Ph. Austr. 1960, verzichten auf diese Prüfung. Genanntes Arzneibuch lässt eine wässrige Lösung von Ergotamin tartrat mit 1 Tropfen Ferrichlorid versetzen, wobei die Anwesenheit von Weinsäure an einer zitronengelben Färbung erkannt wird. Als weitere Identitätsprüfung auf Weinsäure lässt Ph. Austr. 1960 noch die Silberspiegel-Reaktion ausführen.

Wir überprüften die uns bekannten Identitätsreaktionen auf ihre Anwendbarkeit für die vorliegende Substanz, da unser Arzneibuch bei jedem Salz auch die Identität des Säureanteiles feststellen lässt.

Die für die Ph. Helv. VI vorgesehene Makro-Identitätsreaktion auf Tartrate ist nicht anwendbar, da bereits die Ergotaminbase mit konzentrierter Schwefelsäure eine Färbung zeigt, wodurch die Ringreaktion mit Beta-Naphtol gestört wird.

Auch die Mikro-Identitätsreaktion (lösen der Substanz in 1 Mikrotropfen 2 n Essigsäure RS und Versetzen mit 1 Mikrotropfen 2 n Kaliumazetat RS) ist nicht durchführbar, weil sich sofort ein voluminöser, zusammenballender Niederschlag bildet, wodurch die allmählich entstehende kristalline Kaliumtartrat-Fällung verdeckt wird. Wir modifizierten die speziell für den Artikel Ergonovinum tartaricum ausgearbeitete Mikro-Identitätsreaktion des Vorschlags zur Ph. Helv. VI für Ergotamin tartrat wie folgt:

"Wird eine Spur der Substanz in 1 Mikrotropfen konz. Essigsäure RS gelöst und mit einem Mikrotropfen einer Mischung gleicher Volumenteile 30 %igen Wasserstoffsüberoxyds, 2 n Kaliumazetats RS und konz. Essigsäure RS versetzt, so wird die Mikro-Identitätsreaktion auf Weinsäure erhalten."

Im Gegensatz zu Ergonovintartrat löst sich Ergotamin tartrat in der Mischung von 1 Mikrotropfen 30 %igem Wasserstoffsüberoxyd, 1 Mikrotropfen 2 n-Kaliumazetat RS und 1 Mikrotropfen 100 %iger Essigsäure nicht völlig und muss daher zuerst in 1 Mikrotropfen 100 %iger Essigsäure gelöst werden.

Die geprüften Muster ergaben alle positive Reaktion auf Weinsäure.

Reinheitsprüfungen

a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelztemperatur: In allen Arzneibüchern, ausser Ph.Int.1955, wird der Schmelzpunkt von Ergotamintartrat bestimmt, obwohl ein eigentliches Schmelzintervall nicht zu erkennen ist. Die Forderungen der Literatur lauten:

USP XVI	ca. 180 <sup>o</sup> unter Zersetzung (korr.)
Brit. Ph. 1958	Sintern: ca. 187 <sup>o</sup> , Zersetzung ca. 192 <sup>o</sup> (korr.)
Ph. Belg. IV	Zersetzung ohne zu schmelzen: ca. 184 <sup>o</sup>
Ph. Austr. 1960	nicht unter 185 <sup>o</sup> (Zersetzung)
NNR 1941	Schwärzung: 177 <sup>o</sup> , Zersetzung unter Gasentwicklung: 184 <sup>o</sup> (korr.)
Vorschlag zum DAB 6* (146)	170 - 175 <sup>o</sup> unter Zersetzung (unkorr.)
Vorschlag SANDOZ (147)	180 - 187 <sup>o</sup> unspezifisch, unter Zersetzung (korr.)

\* = Ergotaminhydrogentartrat.

Wir beobachteten bei ca. 165<sup>o</sup> Graufärbung, bei ca. 175<sup>o</sup> (unkorr.) Schwarzfärbung der Substanz, die sich dann unter Zusammenschrumpfen zersetzt, ohne dass eine Schmelze erreicht wird. Eine sichtbare Gasentwicklung konnten wir nicht feststellen. Interessehalber nahmen wir die Bestimmung mit Muster I auch auf dem elektrisch heizbaren Blockapparat vor, konnten aber ebenfalls nur Schwarzfärbung und Schrumpfen der Kristalle bei 185<sup>o</sup> (korr.), jedoch kein Zusammenfliessen zu einer Schmelze wahrnehmen.

Da es sich um einen Zersetzungspunkt handelt, können nur reproduzierbare Werte erhalten werden, wenn beim Aufheizen immer die gleichen Bedingungen vorliegen. Wir erhitzen nach Einbringen der Substanz in das Heizbad rasch auf 170<sup>o</sup> (korr.) und steigerten die Temperatur dann um 4<sup>o</sup> pro Minute.

Im folgenden geben wir die Temperatur an, bei welcher die Substanzmuster sinterten (Zersetzungspunkt):

<u>Handelsmuster</u>	<u>Zersetzungspunkt</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	181,5 <sup>0</sup>	185,8 <sup>0</sup>
II	182,2 <sup>0</sup>	186,5 <sup>0</sup>
III	179,8 <sup>0</sup>	184,0 <sup>0</sup>
IV	174,0 <sup>0</sup>	177,9 <sup>0</sup>
V	176,7 <sup>0</sup>	180,7 <sup>0</sup>

In Anbetracht dieser Werte erscheint uns die Forderung, dass der Zersetzungspunkt zwischen 176,0 und 182,5<sup>0</sup> (unkorr.) bzw. 180,0 und 187,0<sup>0</sup> (korr.) liegen soll, berechtigt. Wir empfehlen, die Bestimmung in die Pharmakopöe aufzunehmen, da sie zur raschen Unterscheidung von anderen Mutterkornalkaloiden verwendet werden kann. Für den Pharmakopöetext sehen wir folgenden Wortlaut vor:

"Die Substanz färbt sich schwarz bei ca. 178<sup>0</sup> (korr.) und sintert zwischen 180 und 187<sup>0</sup> (korr.) ohne zu schmelzen. Bei der Bestimmung ist möglichst rasch auf ca. 170<sup>0</sup> aufzuheizen und die Temperatur dann um 4<sup>0</sup> pro Minute zu steigern."

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Eine solche Prüfung führen nur Ph.Austr.1960 und der Vorschlag SANDOZ durch, welche die mit Zusatz von Weinsäure hergestellte wässrige Lösung auf klare Löslichkeit prüfen lassen. Die Lösung soll farblos, bzw. farblos oder höchstens schwach gelblich gefärbt sein.

Wir nahmen die Prüfung bei Herstellung der Stammlösung S I vor. Unsere Muster lösten sich alle völlig klar auf, die Lösungen von Muster I und III waren farblos. Beim Vergleich mit den Farbvergleichslösungen Ph.Helv.V (Suppl. III) stellten wir mit den übrigen Lösungen folgende Färbungen fest:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Farbvergleichslösung</u> <u>Ph. Helv. V (Suppl. III)</u>
II	= G <sub>6</sub>
IV	= G <sub>5</sub>
V	= G <sub>6</sub>

Wir können fordern, dass die Stammlösung S I klar und farblos sein muss, oder nicht stärker gelb gefärbt sein darf als Farbvergleichslösung G<sub>6</sub>. Bei Muster IV wies schon die Substanz eine unzulässige Gelbfärbung auf, dieses Muster entspricht daher bereits den Anforderungen der Sinnenprüfung nicht.

Reaktion: Diese Prüfung wird von keiner der Monographien vorgenommen, einzig der Vorschlag SANDOZ fordert, dass die Substanz gegen Lakmus neutral bis schwach sauer reagieren soll. Die wässrige Stammlösung S I kann für die Prüfung nicht verwendet werden, da sie Weinsäure enthält. Lösungen ohne Zusatz von Weinsäure trüben sich sofort und verunmöglichen den Gebrauch der Farbtabelle zum Suppl. III der Ph. Helv. V. Deshalb lassen wir ebenfalls mit Lakmuspapier prüfen und verlangen, dass eine Aufschüttelung von einigen mg Substanz in einigen Tropfen Wasser blaues Lakmuspapier nur ganz schwach rötlich färben darf. Vier der geprüften Muster entsprachen dieser Forderung.

Spezifische Drehung: Die mit Zusatz von Weinsäure hergestellte wässrige Lösung kann für die Bestimmung der spezifischen Drehung nicht verwendet werden, es ist daher notwendig, die Base zu isolieren.

Die Monographien - mit Ausnahme von Ph. Belg. IV, welche auf diese wichtige Prüfung verzichtet - schütteln eine mit Natriumkarbonat bzw. Natriumbikarbonat versetzte Suspension von Ergotaminatrat in Wasser mit Chloroform aus. Die Konzentration der Ergotaminbase in der Chloroform-Lösung wird auf verschiedene Weise ermittelt. USP XVI, Brit. Ph. 1958 und Ph. Int. 1955 verdampfen einen aliquoten Teil der Lösung und wägen den Rückstand nach dem Trocknen im Vakuum bei 100°. Ph. Austr. 1960 sowie der Vorschlag zum DAB 6 titrieren die Chloroform-Lösung mit 0,01 bzw. 0,05 N-Perchlorsäure in wasserfreiem Eisessig. Der Vorschlag SANDOZ (147) nimmt keine Bestimmung der Ergotamin-Konzentration vor, sondern berücksichtigt bei der Berechnung nur den Kristalllösungsmittelgehalt des Ergotaminatrates.

Die spezifische Drehung einer ca. 0,6 %igen Lösung der Ergotaminbase in Chloroform beträgt nach den Literaturangaben:

USP XVI, Brit. Ph. 1958, Ph. Int. 1955  
Vorschlag zum DAB 6 (146)  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -150 \text{ bis } -160^{\circ}$

Ph. Austr. 1960  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -140 \text{ bis } -160^{\circ}$

NNR 1941	$[\alpha]_D^{20} = -125 \text{ bis } -155^{\circ}$
Vorschlag SANDOZ (147)	$[\alpha]_D^{20} = -155^{\circ} (\pm 5^{\circ})$

Wir isolierten die Base in Anlehnung an den Vorschlag SANDOZ, verwendeten jedoch Narkose-Chloroform an Stelle von absolutem Chloroform. Die Mehrzahl der Monographien macht keine Angabe über die Beschaffenheit des zu verwendenden Chloroforms. Wie wir feststellten, muss dieses unbedingt frei von Phosgen sein, da sonst für die Bestimmung unbrauchbare, dunkel gefärbte Lösungen resultieren. Nach unseren Erfahrungen ist es auch unerlässlich, die Konzentration der Ergotaminbase in der Chloroform-Lösung zu bestimmen, da die Ausschüttelung nicht ganz quantitativ verläuft. Als einfachste Methode hierzu wählten wir die Titration mit Perchlorsäure, welche wir in der Folge auch als Gehaltsbestimmungs-Methode in Vorschlag bringen. Die für den Pharmakopöetext vorgesehene Formulierung der Ausschüttelung und Bestimmung des Ergotaminbase-Gehaltes lautet:

"Ca. 0,3 ungetrocknetes Ergotamintartrat werden an einem vor Licht geschützten Orte in einem Scheidetrichter von 100 ml Inhalt nacheinander mit 25 ml Wasser und 0,5 g Natriumkarbonat versetzt und jeweils vorsichtig gemischt. Dann schüttelt man mit 10 ml Narkose-Chloroform 5 Minuten lang kräftig und filtriert den Chloroform-Auszug durch ein mit Narkose-Chloroform benetztes Faltenfilter in einen Messkolben von 50 ml Inhalt. Die Ausschüttelung wird noch 8 mal mit je 5 ml Narkose-Chloroform unter jeweiligem Schütteln während 1 Minute wiederholt. Die durch das gleiche Faltenfilter filtrierten Auszüge werden im gleichen Messkolben gesammelt. Die mit Narkose-Chloroform auf 50 ml ergänzte Lösung dient als Stammlösung S II für die Prüfungen 2 c und 5, welche sofort und unter Lichtschutz durchzuführen sind.  
Zur Bestimmung der Ergotamin-Konzentration werden 10,00 ml Stammlösung S II mit 20 ml wasserfreier Essigsäure und 3 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Unter Verwendung von 2 Tropfen Kristallviolett RS als Indikator wird mit 0,05 N-Perchlorsäure bis zum Farbumschlag von Reinblau nach Grünstichig-Blau titriert."

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 29,08 mg  $C_{33}H_{35}O_5N_5$

Die von uns ermittelten Werte für die spezifische Drehung der Ergotaminbase betragen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Spezifische Drehung</u>
I	-150,04°
II	-145,84°
III	-147,20°
IV	-135,70°
V	-144,55°

Die Bestimmung der spezifischen Drehung gilt als wertvolles Kriterium für die Abwesenheit von Ergotaminin, da die beiden Isomeren ausgeprägte Drehungsunterschiede aufweisen. Nach Stoll (134) beträgt die spezifische Drehung des Ergotaminins  $[\alpha]_D^{20} = +369^{\circ}(\pm 1^{\circ})$

Unsere Muster ergaben etwas niedrigere Werte als die Mehrzahl der Monographien vorschreibt, was auf die Anwesenheit von geringen Mengen Ergotaminin schliessen liesse. Mit der papierchromatographischen Reinheitsprüfung konnten wir - ausser bei Muster V - jedoch kein unzulässiges Ergotaminin nachweisen.

Wie es sich gezeigt hat, wird das Intervall von  $-150^{\circ}$  bis  $-160^{\circ}$  nicht von allen sich im Handel befindlichen Mustern erfüllt, weshalb uns eine weniger strenge Forderung berechtigt erscheint. Wie Ph. Austr. 1960 möchten auch wir das Intervall für die spezifische Drehung der Ergotaminbase mit  $-140^{\circ}$  bis  $-160^{\circ}$  festlegen.

Spektrophotometrie: Diese Prüfung hat bisher noch in keine Monographie Eingang gefunden und wird auch vom Vorschlag SANDOZ nicht durchgeführt. Stoll und Schlientz (148) stellten für Ergotamin in Alkohol ein Absorptionsmaximum bei 318 m $\mu$  fest. Büchi, Schumacher und Kapoor (138) bestimmten die Absorption von Ergotamin und Ergokristin in Methylenchlorid, sowie von Ergometrin in Methylenchlorid + 5 % Methanol und fanden für alle drei Alkaloide maximale Absorption bei 308 - 310 m $\mu$ . Bayer (149) nahm die Bestimmung in 1 %iger Weinsäure vor und fand für die verschiedenen Mutterkornalkaloide ein Absorptionsmaximum bei 317 m $\mu$ . Er hat die für die einzelnen Alkaloide erhaltenen Extinktionswerte auf Lysergsäure bezogen, wobei sich für sämtliche Alkaloide ein konstanter Wert ( $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  von Lysergsäure bei 317 m $\mu$  = 273,5) ergab. Für die Absorption im UV-Licht ist demnach der Lysergsäure-Teil des Moleküls massgebend.

Es ist wohl anzunehmen, dass die bei der Isomerisierung entstehende Iso-lysergsäure abweichende Absorption zeigt, weshalb die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten auch als Reinheitsprüfung für die therapeutisch verwendeten Lysergsäurederivate herangezogen werden kann.

Im folgenden geben wir die uns aus der Literatur bekannten Extinktionswerte für Ergotamin bzw. Ergometrin des besseren Vergleichs wegen als spezifische Extinktion der Lysergsäure an:

<u>Literatur- angabe</u>	<u><math>E_{1\text{cm}}^{1\%}</math> von Lysergsäure</u>	<u>Maximum</u>	<u>Lösungsmittel</u>
(148)	270,0	318 m $\mu$	Alkohol
(138)	280,7	308-310 m $\mu$	Methylenchlorid + 5 % Methanol
(150)	298,6-303,3	312 m $\mu$	Wasser
(*)	300,9	316-318 m $\mu$	Weinsäure 1 %

Wir haben die Messungen in 1 %iger Weinsäure vorgenommen. Die mit Muster V aufgenommene Absorptionskurve (Abb. 17) zeigt ein Maximum bei 316 - 318 m $\mu$  und ein Minimum bei 270 - 271 m $\mu$ .

Für den Extinktionskoeffizienten  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  von Ergotamintartrat (bezogen auf die Kristalllösungsmittel-haltige Substanz) ergaben unsere Muster folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u><math>E_{1\text{cm}}^{1\%}</math> bei 316 - 318 m<math>\mu</math></u>
I	117,2
II	116,0
III	114,0
IV	112,2
V	116,6

Die Werte von Muster I, II und V stimmen gut überein. Muster III enthält einen zu hohen Kristalllösungsmittel-Gehalt und Muster IV entspricht den meisten Forderungen nicht.

Wir schlagen vor, die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten als Identitäts- und Reinheitsprüfung in die Pharmakopöe aufzunehmen, und in Anlehnung an die erhaltenen Werte zu fordern, dass  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ , bestimmt bei 316 - 318 m $\mu$  mit einer

(\*) Eigene Untersuchungen, bestimmt mit Muster I

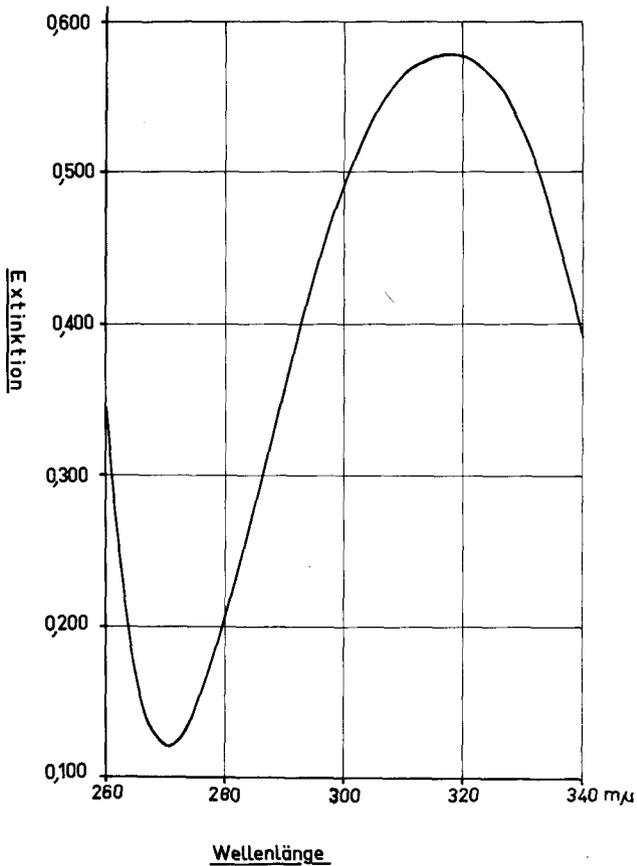


Abb. 17 UV-Spektrum von Ergotamintartrat in 1 %iger Weinsäure

0,005 %igen Lösung der Substanz in 1 %iger Weinsäure, zwischen 114,9 und 118,4 liegen muss.

#### b) Chemische Reinheitsprüfungen

Ausser der von einigen Monographien zur Prüfung auf fremde Substanzen durchgeführten Azetonkristallisation, die wir schon weiter oben beschrieben haben, sind uns keine Reinheitsprüfungen bekannt geworden.

Wir haben unsere Muster auf Natrium und Chlorid geprüft und die Prüfun-

gen auf konzentrierte Schwefelsäure und konzentrierte Salpetersäure färbende Verunreinigungen vorgenommen, obwohl Ergotamintartrat mit genannten Säuren bereits in der Kälte Färbungen zeigt.

Abwesenheit von Natrium: Diese Prüfung, nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI vorgenommen, fiel mit allen Mustern negativ aus. Für Pharmakopöezwecke kann darauf verzichtet werden.

Abwesenheit von Chlorid: Die Prüfung wurde nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI mit 1 ml Stammlösung S I ausgeführt. Da alle Muster der Grenzreaktion a II entsprachen, wird die Forderung in diesem Sinne formuliert.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen:

"10 mg Ergotamintartrat lösen sich in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS mit gelbbrauner Farbe. Beim Erwärmen im siedenden Wasserbad färbt sich die Lösung über Dunkelrot nach Rotbraun; nach 10 Minuten hat sie eine beständige dunkelbraune Färbung angenommen."

Es konnte ein deutlicher Unterschied zu Dihydroergotamin-methansulfonat festgestellt werden, welches in gleicher Konzentration beim Erwärmen im Wasserbad eine rotviolette Farbe aufweist.

Sämtliche Muster zeigten die beschriebenen Färbungen. Diese Prüfung kann zur Erfassung von Verunreinigungen selbstverständlich nicht in Betracht gezogen werden, sondern wurde nur zur Unterscheidung von Dihydroergotamin-methansulfonat ausgeführt.

Abwesenheit von konzentrierte Salpetersäure färbenden Stoffen:

"10 mg Ergotamintartrat lösen sich in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS mit orange-gelber Farbe."

Auch diese Prüfung ist nicht durchführbar.

### Quantitative Bestimmungen

#### a) Kristalllösungsmittel-Gehalt

Ergotaminatartrat kristallisiert je nach der Darstellungsweise mit wechselnden Mengen Kristalllösungsmittel. Das davon vollständig befreite Salz weist geringere Stabilität auf und erfordert daher verschärfte Aufbewahrungsvorschriften.

Die meisten Monographien machen keine Angabe über die Art des anwesenden Kristalllösungsmittels, sondern limitieren lediglich dessen Maximalgehalt. Nur Ph. Belg. IV und Ph. Int. 1955 erklären das 2 Mol Methanol enthaltende Salz als offizinell. Da auch die Firma SANDOZ das Salz mit 2 Mol Methanol herstellt, möchten wir diese Formel für unser Arzneibuch vorschlagen.

Zur Ermittlung des Kristalllösungsmittel-Gehaltes werden von der Literatur verschiedene Methoden angewandt:

<u>Literaturangabe</u>	<u>Methode</u>	<u>Gehalt</u>
USP XVI	Trocknen im Vakuum bei 60 <sup>o</sup> während 4 h	maximal 5 %
Brit. Ph. 1958	Trocknen bei 60 <sup>o</sup> und 5 Torr während 4 h	maximal 5 %
Ph. Int. 1955	Trocknen bei 100 <sup>o</sup>	
Ph. Austr. 1960	Trocknen bei Zimmertemperatur im Vakuum-Exsikkator	maximal 5 %
NNR 1941	Trocknen im Hochvakuum bei 105 <sup>o</sup>	manchmal bis 8 %
Vorschlag zum DAB 6 (146)	Trocknen bei 100 <sup>o</sup>	maximal 5 %
Vorschlag SANDOZ (147)	Trocknen bei 100 <sup>o</sup> und maximal 1 Torr während 5 h	maximal 5 %

Wir bestimmten den Kristalllösungsmittel-Gehalt der vorliegenden Muster nach 3 verschiedenen Methoden:

1. Trocknen im Hochvakuum bei 100<sup>o</sup> während 5 Stunden
2. Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd während 6 Stunden, Druck ca. 10 Torr, Temperatur ca. 95<sup>o</sup>
3. Trocknen im Trockenschrank bei 103 - 105<sup>o</sup> während 6 Stunden.

Mit einer Einwaage von 0,1 g ergaben sich die folgenden Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Kristalllösungsmittel-Gehalt</u>		
	1. Methode	2. Methode	3. Methode
I	4,66 %	4,38 %	4,43 %
II	5,53 %		5,25 %
III	8,20 %		
IV	4,34 %	4,29 %	4,23 %
V	2,86 %	2,81 %	2,76 %
VI	3,84 %	3,69 %	3,78 %

Die 1. Methode liefert die den wahren Verhältnissen entsprechenden Werte, da sich letzte Spuren Kristalllösungsmittel nur im Hochvakuum entfernen lassen. Der theoretische Gehalt für 2 Mol Methanol beträgt 4,65 %. Muster I entspricht diesem Wert, während Muster II und im besonderen Muster III zu hohe Gehalte aufweisen. Muster I, II, III und VI, welches uns noch nachträglich für diese Bestimmung zur Verfügung gestellt wurde, waren als 2 Mol Methanol enthaltende Verbindungen deklariert. Bei Muster IV und V war uns das Kristalllösungsmittel nicht bekannt. Die Perchlorsäure-Titration der beiden letztgenannten Muster ergab zu hohe Resultate, und wir vermuten, dass der Mehrverbrauch an Perchlorsäure durch das Kristalllösungsmittel bedingt war.

Mit der 2. und 3. Methode werden etwas tiefere, jedoch durchwegs brauchbare Werte erhalten. Da für Pharmakopöezwecke der Gebrauch der Hochvakuum-pumpe nicht in Betracht kommt, schlagen wir vor, die Bestimmung mit der 2. Methode (Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd während 6 Stunden bei ca. 95° und ca. 10 Torr) vorzunehmen.

Weil bei den quantitativen Bestimmungen das Molekulargewicht der Kristall-lösungsmittel-haltigen Substanz berücksichtigt wird, muss auch ein minimaler Gehalt festgesetzt werden. Die Forderung, dass Ergotamintartrat 3,5 - 5,0 % Methanol enthalten soll, scheint uns angemessen, obwohl diese nur von zwei Mustern erfüllt wurde.

### b) Verbrennungsrückstand

Der Verbrennungsrückstand wird nur von Ph. Belg. IV und vom Vorschlag zum DAB 6 bestimmt, welche fordern, dass dieser unwägbare sein, bzw. 0,1 % betragen soll. Eine Angabe, wieviel Substanz für die Bestimmung zu verwenden ist, fehlt. In Anbetracht auf den hohen Preis von Ergotamintartrat liegt es nahe, auf die Bestimmung des Verbrennungsrückstandes zu verzichten. Wir machen jedoch den Vorschlag, diesen nach Ermittlung des Kristalllösungsmittel-Gehaltes mit der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Substanz auszuführen, da letztere infolge geringer Verfärbung für andere Prüfungen nicht mehr herangezogen werden sollte. Bei sämtlichen Mustern konnten wir keinen wägbaren Rückstand feststellen, weshalb die Forderung entsprechend formuliert wird.

### c) Gehaltsbestimmungen

In der Literatur finden wir für die Gehaltsbestimmung von Ergotamintartrat die kolorimetrische Methode nach Van Urk, die Titration mit Perchlorsäure in wasserfreiem Eisessig, sowie die Titration des Säureanteiles mit Natronlauge. In neueren Publikationen wird auch die UV-Spektrophotometrie empfohlen (138, 149). Nachstehend sind die Bestimmungsmethoden und Gehalts-Forderungen der Monographien aufgeführt:

<u>Literaturangabe</u>	<u>Bestimmungsmethode</u>	<u>Gehalts-Forderung</u>
USP XVI Brit. Ph. 1958 Ph. Austr. 1960	Kolorimetrische Methode 1. Perchlorsäure-Titration 2. Kolorimetrische Methode	mind. 97%, bezogen auf getr. Substanz mind. 97 % $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ bei 630 m $\mu$ = 79-88 bezogen auf getr. Substanz
Vorschlag zum DAB 6 (146)	Perchlorsäure-Titration	mind. 97%, bezogen auf getr. Substanz
Vorschlag SANDOZ (147)	1. Kolorimetrische Methode 2. Titration des Säurean- teiles	mind. 97% max. 105%, bezogen auf getrocknete Substanz

Wir haben folgende Methoden untersucht:

1. Kolorimetrische Bestimmung: Die Methode beruht darauf, dass Lysergsäurederivate mit p-Dimethylaminobenzaldehyd in schwefelsaurer Lösung einen blauen Farbstoff bilden, welcher photometrisch bestimmt werden kann. Die Intensität der entstandenen Färbung wird unter anderem durch die Reinheit der Reagenzien, die Temperatur und die Lichteinwirkung beeinflusst. Die Genauigkeit des Verfahrens kann erhöht werden, wenn man gleichzeitig mit der zu untersuchenden Substanz eine Standard-Substanz misst, und die erhaltenen Werte auf diese bezieht. Als Standard-Substanz wird in allen Vorschriften analysenreines Ergobasin-hydrogenmaleinat verwendet. Nur Ph.Austr.1960 führt die Bestimmung ohne Standard-Substanz aus und ermittelt somit absolute Werte. Nach Soffel und Rochel-meyer (122) ist die Farbintensität nach 15 Minuten konstant, und die Messung sollte alsbald nach diesem Zeitpunkt vorgenommen werden, obwohl sich der Farbstoff über mehrere Stunden hält. Nach anderen Vorschriften soll 20 Minuten bzw. 1 Stunde lang im Tageslicht belichtet werden. Die Messungen werden bei verschiedenen Wellenlängen vorgenommen. USP XVI lässt bei ca. 550 m $\mu$  messen, Brit. Ph.1958 bei 540 - 560 m $\mu$ , Ph.Austr.1960 bei 630 m $\mu$  und der Vorschlag SANDOZ (147) bei 578 m $\mu$ . Wir haben mit Muster I eine Absorptionskurve aufgenommen, welche in Abb. 18 veranschaulicht ist. Die Kurve zeigt ein Maximum bei 545 m $\mu$ , ein Minimum bei 580 m $\mu$  und ein zweites kleineres Maximum bei 630 m $\mu$ .

Auf Grund des Kurvenverlaufs bestimmten wir die Extinktion bei 545 m $\mu$ . Als Vergleichssubstanz verwendeten wir Ergobasin-hydrogenmaleinat Referenz-Standard SANDOZ und arbeiteten nach folgender Vorschrift:

"Ca. 10 mg ungetrocknetes Ergotamintartrat (genau gewogen) werden in einem Messkolben von 200 ml Inhalt in ca. 100 ml 1 %iger Weinsäure durch leichtes Erwärmen gelöst, und die Lösung nach dem Abkühlen mit 1 %iger Weinsäure bis zur Marke aufgefüllt. In genau gleicher Weise wird eine Lösung von ca. 6,7 mg Ergobasin-hydrogenmaleinat Referenz-Standard (genau gewogen) in 200 ml 1 %iger Weinsäure hergestellt. Von beiden Lösungen werden je 2,00 ml in einem Reagensglas mit Glasstopfen mit 4,00 ml frisch bereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS versetzt, gut durchgemischt, und die Mischungen 1 Stunde lang im Tageslicht stehen gelassen. Dann wird die Extinktion der beiden blaugefärbten Lösungen in einem geeigneten Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 545 m $\mu$  und einer Schichtdicke von 1 cm gemessen, wobei man als Vergleichslösung eine auf gleiche Weise belichtete Mischung von 2,00 ml 1 %iger Weinsäure und 4,00 ml frisch bereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS verwendet."

Der Gehalt G an Ergotamintartrat in mg ergibt sich aus der folgenden Formel:

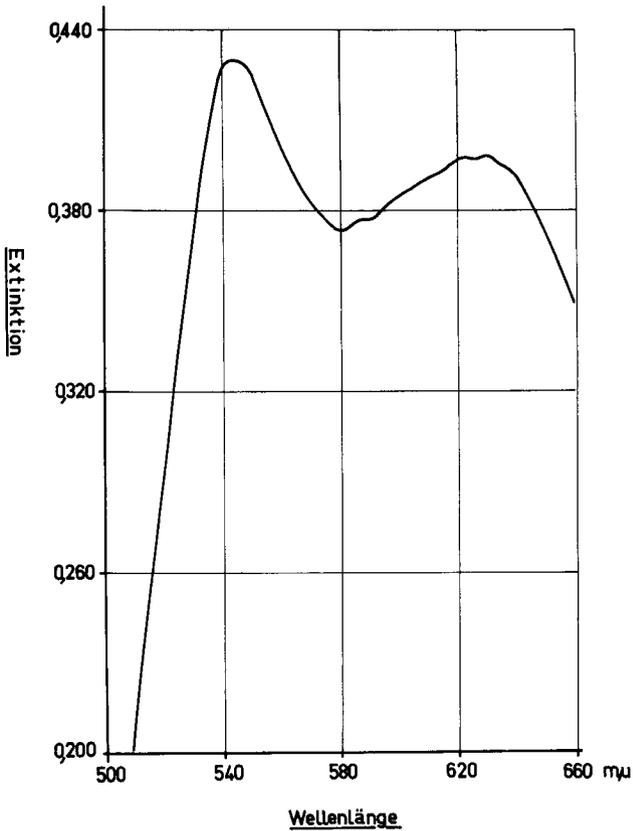


Abb. 18 Absorptionskurve des mit Ergotamin tartrat gebildeten blauen Farbstoffes

$$G = \frac{E}{E_0} \cdot G_0 \cdot 1,560$$

wobei bedeuten:

E = Extinktion der zu untersuchenden Lösung

E<sub>0</sub> = Extinktion der Standard-Lösung

G<sub>0</sub> = Einwaage der Standard-Substanz in mg

Der Faktor 1,560 ergibt sich aus dem Verhältnis der Molkulargewichte von Ergotamin tartrat zu Ergobasin-hydrogenmaleinat.

Für unsere Muster ergaben sich folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Kolorimetrische Bestimmung</u>		
I	101,0 %	101,9 %	100,3 %
II	100,8 %	100,0 %	
III	97,8 %	98,8 %	
IV	95,8 %	96,6 %	96,2 %
V	101,2 %	100,0 %	100,8 %

Die Genauigkeit der Methode wird in der Literatur mit  $\pm 5\%$  bzw.  $\pm 3\%$  angegeben. Wir nahmen die Messungen mit dem Spektralphotometer Zeiss PMQ II vor und erhielten besser übereinstimmende Werte.

Der Gehalt an Ergotamintartrat kann auch von einer Eichkurve abgelesen, oder mit dem molaren Extinktionskoeffizienten berechnet werden. Eine mit Muster I aufgenommene Eichkurve stellt Abb. 19 dar.

Den molaren Extinktionskoeffizienten der Lysergsäure bestimmten wir mit Ergobasin-hydrogenmaleinat Referenz-Standard SANDOZ und erhielten als Durchschnittswert bei  $545\text{ m}\mu = 5,9 \cdot 10^3$ , bei  $575\text{ m}\mu = 5,2 \cdot 10^3$ , bei  $630\text{ m}\mu = 5,3 \cdot 10^3$ .

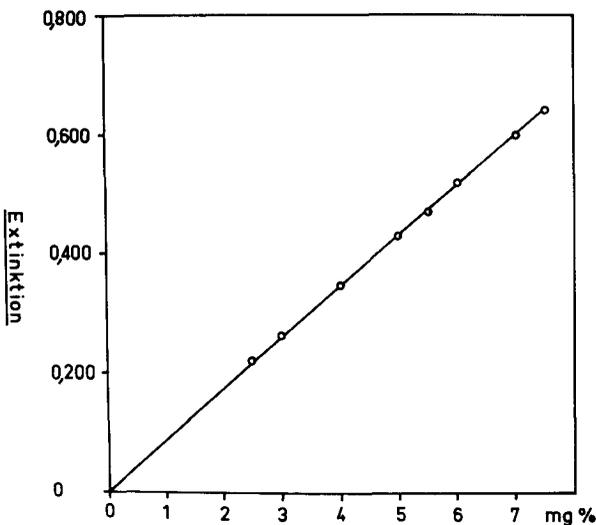


Abb. 19 Eichgerade zur kolorimetrischen Bestimmung von Ergotamintartrat.

Die kolorimetrische Methode hat den Vorteil, dass sie mit sehr wenig Substanz auskommt, was wegen des hohen Preises der Substanz in Betracht zu ziehen ist. Dennoch möchten wir der nachstehend beschriebenen Perchlorsäure-Titration, die mit einer geringeren Fehlerbreite arbeitet, den Vorzug geben.

2. Titration mit Perchlorsäure in Eisessig: Für die Aufnahme der Titrationskurve lösten wir 0,3445 g ungetrocknetes Ergotamintartrat (1/2 Milliäquivalent) in 40 ml wasserfreiem Eisessig und titrierten nach Zusatz von 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS mit 0,05 N-Perchlorsäure in Eisessig. Zuerst ermittelten wir den Umschlagspunkt, indem wir die Farbe des Indikators beim grössten Potentialsprung beobachteten. Aus Abb. 20 ist die Titrationskurve, sowie die Farbänderung des Indikators im Bereiche des Umschlagspunktes nach Zusatz jeweils gleicher Volumenteile der Titrierflüssigkeit ersichtlich. Der Umschlag erfolgt von Reinblau nach Grünstichigblau (= Grünblau auf Abb. 20). Für die übrigen potentiometrischen und visuellen Titrationen lösten wir ca. 0,1 g ungetrocknete Substanz (genau gewogen) in 20 ml wasserfreiem Eisessig, fügten 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS zu und titrierten bis zum ersten Farbumschlag nach Grünstichigblau.

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 34,45 mg  $(C_{33}H_{35}O_5N_5)_2 \cdot C_4H_6O_6 \cdot 2 CH_3OH$

Unsere Muster zeigten folgende Resultate (bezogen auf die 2 Mol Methanol enthaltende Substanz):

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,05 N-Perchlorsäure</u>		
		<u>visuell</u>	<u>potentiometrisch</u>
I	100,08 %	99,85 %	99,70 %
II	99,46 %		99,22 % 99,13 %
III	97,04 %	97,12 %	96,75 %
IV	106,64 %	107,02 %	106,50 %
V	104,54 %	104,95 %	

Die im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Substanz wurde ebenfalls in die Untersuchung einbezogen. Die visuelle Titration mit 0,05 N-Perchlorsäure (bezogen auf die im Hochvakuum getrocknete Substanz) ergab folgende Werte:

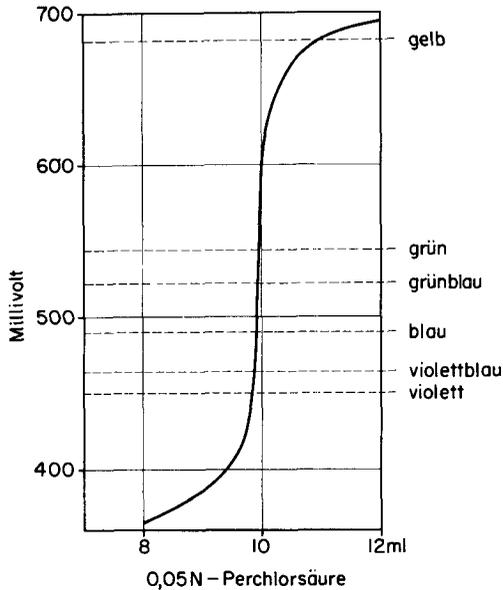


Abb. 20 Titrationskurve von Ergotamin tartrat

Einwaage: 1/2 Milliäquivalent Potentialanstieg zwischen 8 ml und 12 ml  
0,05 N-Perchlorsäure

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,05 N-Perchlorsäure</u>
I	99,95 %
II	100,20 %
III	100,19 %
IV	99,98 %
V	100,23 %

Muster III weist einen viel zu hohen Kristalllösungsmittel-Gehalt auf, weshalb die mit der ungetrockneten Substanz erhaltenen Werte zu tief sind. Auch Muster II entspricht nicht ganz dem geforderten Kristalllösungsmittel-Gehalt. Bei Muster IV und V scheint das Kristalllösungsmittel Perchlorsäure zu verbrauchen, denn wird die Bestimmung mit der getrockneten Substanz ausgeführt, so ergeben sich normale Werte. Muster IV zeigte jedoch bei der kolorimetrischen und UV-Spektro-

photometrischen Bestimmung einen zu tiefen Gehalt, was auf Isomerisierung schliessen lässt.

Die Titration mit Perchlorsäure eignet sich sehr gut zur Gehaltsbestimmung von Ergotamintartrat, vorausgesetzt, dass Kristalllösungsmittel ausgeschlossen werden, die einen Mehrverbrauch an Perchlorsäure bedingen. Da jedoch das 2 Mol Methanol enthaltende Salz zur Aufnahme in die Pharmakopöe empfohlen wird, möchten wir diese Bestimmungsmethode vorschlagen und fordern, dass der Gehalt 98,0 - 101,0 % betragen soll. Als Ergänzung dieser Bestimmung ist die unter Physikalisch-chemische Reinheitsprüfungen beschriebene UV-Spektrophotometrische Untersuchung durchzuführen.

3. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Diese Bestimmungsmethode konnte nur mit Muster I und Muster II vorgenommen werden, da von den übrigen Mustern nicht mehr genügend Substanz zur Verfügung stand. Zur Einwaage gelangten jeweils ca. 0,1 g ungetrocknete Substanz (genau gewogen). Die Bestimmung wurde nach der im Allgemeinen Teil angegebenen Vorschrift ausgeführt und ergab folgende Resultate:

<u>Muster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	99,20 %	99,04 %
II	98,86 %	99,15 %

4. Titration des Weinsäure-Gehaltes: Für diese Bestimmung lösten wir ca. 50 mg ungetrocknetes Ergotamintartrat (genau gewogen) in 10 ml Aethanol 70 % und titrierten mit 0,05 N-Natronlauge unter Verwendung von 2 Tropfen Kresolrot RS als Indikator bis zur schwachen Violettfärbung.

1 ml 0,05 N-Natronlauge entspricht 34,45 mg  $(C_{33}H_{35}O_5N_5)_2 \cdot C_4H_6O_6 \cdot 2 CH_3OH$

Die mit unseren Mustern erhaltenen Resultate lauten:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Titration mit 0,05 N-Natronlauge</u>	
I	102,40 %	102,28 %
II	101,26 %	101,52 %
III	98,39 %	98,56 %
IV	125,27 %	124,90 %
V	103,15 %	102,83 %

Nach dem Vorschlag SANDOZ (147) darf der mit dieser Methode ermittelte Gehalt bis zu 105 %, bezogen auf die getrocknete Substanz, betragen, woraus ersichtlich ist, dass Ergotamintartrat etwas mehr als die stöchiometrische Menge Weinsäure enthalten kann. Wegen des hohen Molekulargewichtes des Basenan- teils wirkt sich ein nur geringer Ueberschuss an Weinsäure auf das Resultat ge- wichtig aus. Die Methode kann zur Gehaltsbestimmung von Ergotamintartrat nicht befriedigen, da damit ohnehin nur der therapeutisch nebensächliche Säureanteil erfasst wird.

#### Bemerkungen bezüglich der Aufbewahrung

Die Monographien geben für Ergotamintartrat unterschiedliche Aufbewahrungs- vorschriften an. Nach Brit. Ph. 1958 und Ph. Int. 1955 soll die Substanz in einer Stickstoffatmosphäre im zugeschmolzenen Röhrchen, vor Licht geschützt, aufbe- wahrt werden, während USP XVI, Ph. Austr. 1960, Ph. Belg. IV und der Vorschlag zum DAB 6 nur Aufbewahrung in lichtresistenten, gut verschlossenen Behältern verlangen. Der Vorschlag SANDOZ schreibt vor, dass die Substanz vor Licht, Sauerstoff und Feuchtigkeit geschützt, in luftdichten Behältern bei 0° - 5°C auf- zubewahren sei. Nach unseren Erfahrungen kann von der Aufbewahrung unter Stickstoff abgesehen werden. Wir erachten es als hinreichend, wenn die Substanz in zugeschmolzenen Ampullen an einem kühlen Ort gelagert wird. Als besonderen Lichtschutz schreiben wir das Einhüllen der Ampullen in schwarzes Papier vor.

#### Sterilisation von Lösungen

Nach USP XVI und Brit. Ph. 1958 können wässrige Lösungen von Ergotamin- tartrat, die mit Weinsäure auf einen pH-Wert von ca. 3,5 eingestellt und unter Stickstoff abgefüllt worden sind, durch Erhitzen auf 115 - 116° im Autoklav steri- lisiert werden.

#### Vorschläge zur Dosierung

Für die Angabe von Maximaldosen hielten wir uns an Ph. Austr. 1960, Ge- brauchsdosen entnahmen wir dem Prospekt des Handelspräparates Gynergen®.

Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV	V
<u>Sinnenprüfung</u>					
Farbe	leicht grau- stichig	leicht grau- stichig	leicht grau- stichig	ziemlich gelblich	ganz schwach gelblich
Geruch	-	-	-	-	-
<u>Identitätsprüfung</u>					
Farbreaktion nach Keller, modifiziert	+	+	+	+	+
Farbreaktion nach van Urk	+	+	+	+	+
Azetonkristallisation	+	+	+	+	+
Schmelztemperatur des Tetraphenylborates	154,3-156,4 <sup>o</sup>	153,7-156,0 <sup>o</sup>	153,5-155,8 <sup>o</sup>	152,5-154,8 <sup>o</sup>	153,3-155,6 <sup>o</sup>
Papierchromatographische Prüfung	=	=	=	=	=
Nachweis der Weinsäure	+	+	+	+	+
<u>Reinheitsprüfungen</u>					
Schmelztemperatur (korr.)	185,8 <sup>o</sup>	186,5 <sup>o</sup>	184,0 <sup>o</sup>	177,9 <sup>o</sup>	180,7 <sup>o</sup>
Farbe von S I	farblos	= G <sub>6</sub>	farblos	= G <sub>5</sub>	= G <sub>6</sub>
Prüfung mit Lakmuspapier	ganz schwach rötlich	ganz schwach rötlich	ganz schwach rötlich	stärker röt- lich	ganz schwach rötlich
Spezifische Drehung	-150,04 <sup>o</sup>	-145,84 <sup>o</sup>	-147,20 <sup>o</sup>	-135,70 <sup>o</sup>	- 144,55 <sup>o</sup>
<u>UV-Absorption</u>					
E <sub>1</sub> <sup>1%</sup> 1cm bei 316-318 mμ	117,2	116,0	114,0	112,2	116,6
Papierchromatographische Prüfung	-	-	-	-	+
Chlorid	-	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>					
Kristalllösungsmittel	4,66 %	5,53 %	8,20 %	4,34 %	2,86 %
Verbrennungsrückstand	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar	unwägbar
<u>Gehalt</u>					
Perchlorsäure-Titration visuell	99,96 %	99,46 %	97,08 %	106,83 %	104,74 %
potentiometrisch	99,70 %	99,17 %	96,75 %	106,50 %	
Kolorimetrische Bestim- mung	101,1 %	100,4 %	98,3 %	96,2 %	100,7 %
Stickstoff nach Kjeldahl	99,12 %	99,01 %			
Titration der Weinsäure	102,34 %	101,39 %	98,47 %	125,08 %	102,99 %

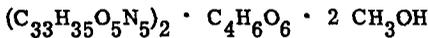
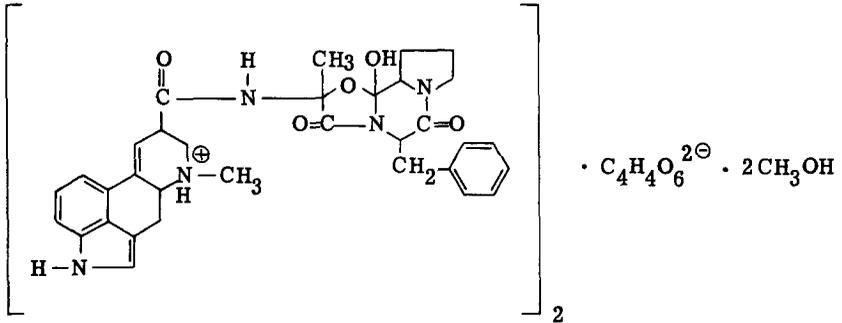
Ergotaminium tartaricum

Syn.: Ergotamini Tartras

Ergotamintartrat

Tartrate d'ergotamine

Tartrato di ergotamina



Mol.-Gew. 1378

Prüfung

Stammlösung S I: Eine möglichst feine Verreibung von 10 mg Substanz und 5 mg Weinsäure muss sich in 2 ml Wasser unter Schütteln binnen weniger Minuten völlig lösen. Diese Lösung muss klar und farblos oder darf nicht stärker gelb gefärbt sein als Farbvergleichslösung G<sub>6</sub>; sie dient als S I für die Prüfungen 2 a, b und 9.

Stammlösung S II: Ca. 0,3 g ungetrocknetes Ergotamintartrat werden an einem vor Licht geschützten Ort in einem Scheidetrichter von 100 ml Inhalt nacheinander mit 25 ml Wasser und 0,5 g Natriumkarbonat versetzt und jeweils vorsichtig gemischt. Dann schüttelt man mit 10 ml Narkose-Chloroform 5 Minuten lang kräftig und filtriert den Chloroform-Auszug durch ein mit Narkose-Chloroform benetztes Faltenfilter in einen Messkolben von 50 ml Inhalt. Die Ausschüttelung wird noch 8 mal mit je 5 ml Narkose-Chloroform unter jeweiligem Schütteln während 1 Minute wiederholt. Die durch das gleiche Faltenfilter filtrierten Auszüge werden im gleichen Messkolben gesammelt. Die mit Narkose-Chloroform auf 50 ml ergänzte Lösung dient als S II für die Prüfungen 2 c und 5, welche sofort und unter Lichtschutz durchzuführen sind.

1. Sinnesprüfung: Farblose Kristalle oder weisses bis gelblich- oder graustichig weisses kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch.

2. Nachweis der Ergotaminbase:

a) Werden 2 Tropfen S I mit 1 ml konzentrierter Essigsäure RS, 1 Tropfen Ferrichlorid RS und 1 ml konzentrierter Phosphorsäure RS vermischt, und die Mischung in ein Wasserbad von 80° gebracht, so entsteht binnen einiger Minuten eine beständige blauviolette Färbung.

b) Werden 3 Tropfen S I mit 1 ml Wasser und 1 ml Dimethylaminobenzaldehyd RS vermischt, so tritt eine dunkelkornblumenblaue Färbung auf.

c) 5 Tropfen S II werden auf einem Objektträger verdunstet und der Rückstand während 24 Stunden im Vakuum-Exsikkator getrocknet. Hierauf wird mit 4 Tropfen einer Mischung von 16 Vol.T. Azeton + 1 Vol.T. Wasser gelöst und wieder verdunstet. Unter dem Mikroskop betrachtet sind die für Ergotamin charakteristischen, stark lichtbrechenden rhombischen Prismen sichtbar.

d) 25 mg Substanz werden in der Mischung von 2 ml Azeton + 1 ml Wasser gelöst. Dann werden 2 ml Wasser und tropfenweise 1 ml Kalignost RS zugefügt. Es entsteht sofort eine Trübung, die sich nach ca. 1 Stunde in Form von kristallinen Nadeln abscheidet. Diese werden sofort abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und in 3 ml Azeton gelöst. Die durch tropfenweises Zusetzen von ca. 5 ml Wasser erhaltenen Kristallnadeln werden nach dem Absaugen und Waschen mit wenig Wasser im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Bei der Bestimmung der Schmelztemperatur, die zwischen 153 und 157° (korr.) liegen muss, ist rasch auf ca. 140° aufzuheizen und die Temperatur dann um 4° pro Minute zu steigern.

3. Nachweis der Weinsäure: Wird eine Spur der Substanz in 1 Mikrotropfen konzentrierter Essigsäure RS gelöst und mit einem Mikrotropfen einer Mischung gleicher Vol.T. 30 %igen Wasserstoffsperoxyds, 2 n Kaliumazetats-RS und konzentrierter Essigsäure RS versetzt, so wird die Mikro-Identitätsreaktion auf Weinsäure erhalten.

4. Schmelztemperatur: Die Substanz färbt sich schwarz bei ca. 178° (korr.) und sintert zwischen 180 und 187° (korr.) ohne zu schmelzen. Bei der Bestimmung ist möglichst rasch auf ca. 170° aufzuheizen und die Temperatur dann um 4° pro Minute zu steigern.

5. Spezifische Drehung der Ergotaminbase: -140° bis -160°, bestimmt mit S II im 2 dm-Rohr.

Zur Bestimmung der Ergotamin-Konzentration werden 10,00 ml S II mit 20 ml wasserfreier Essigsäure und 3 ml Essigsäureanhydrid versetzt. Unter Verwendung von 2 Tropfen Kristallviolett RS als Indikator wird mit 0,05 N-Perchlorsäure bis zum Farbumschlag von Reinblau nach Grünstichigblau titriert.

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 29,08 mg  $C_{33}H_{35}O_5N_5$

6. Extinktionskoeffizient:  $E_{1\text{cm}}^{1\%} = 114,9 - 118,4$  bestimmt bei 316-318 m $\mu$  mit einer 0,005 %igen Lösung der Substanz in 1 %iger Weinsäure.

7. Papierchromatographische Prüfung: Chromatographierpapier Whatman 1 wird in Streifen von 12 cm Breite und 50 cm Länge geschnitten, so dass die Längsseite quer zur Faserrichtung verläuft. Auf der Startlinie markiert man 3 Startpunkte, a, b und c, deren Abstand voneinander je 3 cm betragen soll. Hier-

auf wird der Papierstreifen während 10 Minuten in einem dicht verschlossenen Gefäss in eine Mischung von 40 Vol.T. Formamid und 60 Vol.T. Aethanol 94% eingetaucht, zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels zwischen Filtrierpapier leicht ausgepresst und während 15 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur zum Trocknen aufgehängt.

Das zur absteigenden Papierchromatographie bestimmte Glasgefäss, welches durch Umkleiden mit schwarzem Papier vollständig lichtundurchlässig sein muss, wird mit einer Kristallisierschale beschickt, welche ca. 100 ml Benzol enthalten soll. In die Chromatographieküvette werden ca. 70 ml Benzol gebracht, welches die mobile Phase darstellt. Die Glaswanne wird mit einer Glasplatte dicht verschlossen und während mindestens 14 Stunden klimatisiert. Auf das so vorbehandelte Papier trägt man die folgende frisch bereitete Lösung möglichst vor Licht geschützt auf:

0,1 ml einer 0,1 %igen Lösung der Substanz in einer Mischung gleicher Vol.T. Methylalkohol und Methylenchlorid streifenförmig, möglichst gleichmässig zwischen den Punkten a und b, sowie 0,02 ml im Punkt c.

Das Papier wird nun in die Küvette eingesetzt. Die Laufzeit beträgt 3-4 Stunden. Wenn die Lösungsmittelfront ca. 30 cm von der Startlinie entfernt ist, nimmt man das Chromatogramm heraus, markiert die Frontlinie und trocknet es durch Aufhängen an der Luft während einigen Minuten. Dann werden sogleich unter der Analysen-Ultraviolett-Lampe die blau fluoreszierenden Flecke umfahren. Der für Ergotamintartrat charakteristische Fleck hat einen Rf-Wert von 0,16 - 0,22. Bei der niedrigeren Konzentration darf keine blaue Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,57 - 0,63 auftreten (unzulässige Mengen Ergotaminin). Bei der höheren Konzentration darf höchstens eine ganz schwache blaue Fluoreszenz vom Rf-Wert 0,57 - 0,63 sichtbar sein (Ergotaminin in einer Menge von ca. 1 %). Unmittelbar an den Ergotamin-Fleck der höheren Konzentration anschliessend darf keine blau leuchtende Zone mit einem Rf-Wert von 0,24 - 0,30 auftreten (Ergosin in einer Menge von über 2,5 %). Weitere blau fluoreszierende Flecke bzw. Fluoreszenzen, welche sich noch auf der Startlinie befinden (wasserlösliche Alkaloide), oder Flecke mit grösseren Rf-Werten (Ergosinin, Alkaloide aus der Ergotoxin-gruppe) dürfen nicht sichtbar sein.

8. Reaktion: Eine Aufschüttelung von einigen mg Substanz in einigen Tropfen Wasser darf blaues Lakmuspapier nur ganz schwach rötlich färben.

9. Chlorid: 1 ml S I muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

10. Kristalllösungsmittel- und Feuchtigkeitsgehalt: 3,5 - 5 %, bestimmt mit 0,1 g durch Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd während 6 Stunden bei ca. 95° und ca. 10 Torr.

11. Verbrennungsrückstand: Unwägbar, bestimmt mit der im Vakuum getrockneten Substanz (0,1 g).

12. Gehalt: Ca. 0,1 g ungetrocknete Substanz (genau gewogen) werden in einem Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen von 100 ml Inhalt in 20 ml wasserfreiem Eisessig gelöst. Nach Zusatz von 3 ml Essigsäureanhydrid und 3 Tropfen Kristallviolett RS wird mit 0,05 N-Perchlorsäure in Eisessig von Reinblau nach Grün-

stichig-Blau titriert.

1 ml 0,05 N-Perchlorsäure entspricht 34,45 mg  $(C_{33}H_{35}O_5N_5)_2 \cdot C_4H_6O_6 \cdot 2CH_3OH$

Aufbewahrung: Vor Licht geschützt in zugeschmolzenen Ampullen, die in schwarzes Papier eingehüllt sein müssen, an einem kühlen Ort.

Herstellung von Injektionslösungen: Die Lösungen müssen mit frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser hergestellt, mit Weinsäure auf einen pH-Wert von ca. 3,5 eingestellt und unter Stickstoff abgefüllt werden.

Antimikrobielle Behandlung von Injektionslösungen: Autoklav, 110-120°.

Maximaldosen (Vorschlag):

Dosis maxima simplex	2 mg
Dosis maxima pro die	4 mg
Dosis maxima simplex ad iniectionem hypodermicam	0,5 mg
Dosis maxima pro die ad iniectionem hypodermicam	2 mg

Venenum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

Dosis usitata simplex	0,5 - 1 mg
Dosis usitata pro die	1 - 3 mg
Dosis usitata simplex ad iniectionem hypodermicam	0,25-0,5mg

Löslichkeit: 1 T. löst sich in ca. 500 T. Wasser. Diese Lösung wird allmählich trübe (Zersetzung infolge Hydrolyse). Soll die Lösung klar bleiben, so muss Weinsäure zugesetzt werden. 1 T. löst sich in ca. 500 T. Aethanol 94 %.

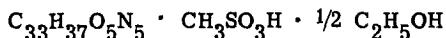
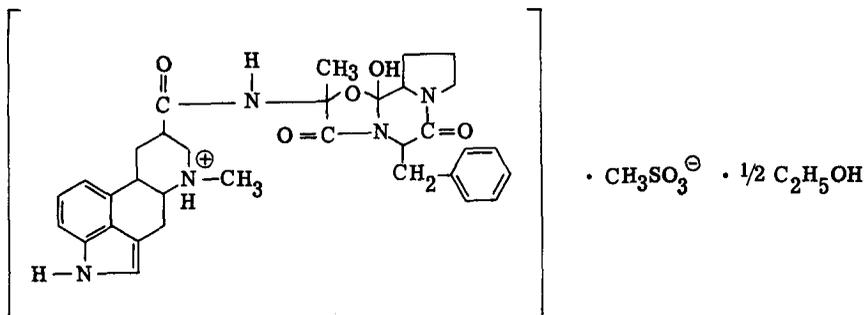
Veränderlichkeit: Unter dem Einfluss von erhöhter Temperatur, Licht und Luftsauerstoff verfärbt sich Ergotamintartrat.

Inkompatibilitäten: Alkalien und alkalisch reagierende Stoffe (Verseifung), Säuren (Umlagerung, Zersetzung).

Phantasienamen: Gynergen <sup>®</sup>.

### 3.3.7. Dihydroergotaminium methansulfonicum

#### 9,10-Dihydroergotamin-methansulfonat



Mol.-Gew. 703

Die Substanz ist noch in keiner Monographiesammlung beschrieben und auch in der Literatur finden sich keine Angaben analytischer Art.

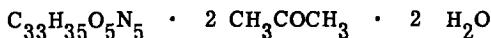
#### Spezialpräparat

Dihydroergot <sup>®</sup> (SANDOZ)

#### Darstellung

Nach Stoll und Hofmann (151) wird Dihydroergotamin-methansulfonat wie folgt hergestellt:

Eine Lösung von Ergotamin-Azeton-Wasser-Kristallen



in Dioxan wird bei 60° C und 35 Atm. Wasserstoffdruck unter Verwendung von Palladium-Mohr als Katalysator hydriert. Das Hydrierungsprodukt, welches zum grössten Teil aus dem Dioxan auskristallisiert, wird durch Zusatz von Chloroform wieder gelöst, die Lösung vom Katalysator abfiltriert und im Vakuum zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 90 %igem Azeton gelöst, woraus

die Dihydroergotaminbase in gerade abgeschnittenen, stark lichtbrechenden Prismen, welche 2 Mol Azeton und 2 Mol Wasser als Kristalllösungsmittel enthalten, kristallisiert.

Zur Herstellung des Methansulfonates werden die Dihydroergotamin-Azeton-Wasser-Kristalle in Wasser aufgeschwemmt und mit wässriger Methansulfonsäure neutralisiert, wobei Lösung eintritt. Der Rückstand der im Vakuum eingedampften Lösung kristallisiert beim Aufnehmen mit 95 %igem Alkohol in massiven Prismen.

#### Eigenschaften der Dihydroderivate

Durch die Absättigung der Doppelbindung in 9,10-Stellung wird der Lysergsäurerest stabilisiert, weshalb bei den Dihydroderivaten der natürlichen linksdrehenden Mutterkornalkaloide (bei den rechtsdrehenden Isomeren bewirken erst stärkere Reduktionskatalysatoren die Wasserstoffaufnahme) keine Isomerisierung mehr stattfinden kann. Die Dihydroderivate zeichnen sich daher im Gegensatz zu ihren natürlichen Stammsubstanzen durch eine gesteigerte Stabilität gegen Licht und oxydierende Einflüsse aus. Auch gegenüber Säuren und Alkalien sind sie wesentlich beständiger als die genuinen Alkaloide.

#### Mögliche Verunreinigungen

Nicht vollständig hydriertes Ergotamin, sowie weitere Mutterkornalkaloide bzw. deren Dihydroderivate, wenn als Ausgangsprodukt kein reines Ergotamin vorlag; Dihydrolysergsäure, Palladium, Sulfat, Methansulfonsäure.

#### Sinnenprüfung

Alle vier Muster stellten rein weisse, kristalline Pulver dar und waren geruchlos. Eine Geschmacksprobe haben wir in Anbetracht der starken Wirksamkeit der Substanz nicht durchgeführt. Wir kommen zu folgender Formulierung:

"Weisses, kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch."

#### Identitätsprüfungen

Stammlösung: Da Dihydroergotamin-methansulfonat in kaltem Wasser schwer löslich ist, kann nur eine Stammlösung von sehr geringer Konzentration hergestellt werden.

"25 mg müssen sich in 10 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltem Wasser unter kräftigem Schütteln binnen einiger Minuten völlig lösen."

Mit dieser Lösung, welche sich nach längerem Stehen zu trüben beginnt und deshalb möglichst rasch verwendet werden muss, haben wir die meisten Identitäts- und Reinheitsprüfungen vorgenommen. Wir fordern, dass die Stammlösung innerhalb von 2 Stunden zu verbrauchen ist.

Nachweis der Dihydroergotaminbase:

Farbreaktionen: Die Keller'sche sowie die Van Urk'sche Farbreaktion wird auch von den Dihydroderivaten der genuinen Mutterkornalkaloide erhalten, die Hydrierung in 9,10-Stellung beeinflusst somit den Ablauf der genannten Reaktionen nicht. Wir haben beide Farbreaktionen mit der Stammlösung in der bei Ergotamintartrat beschriebenen Weise vorgenommen und führen den genauen Wortlaut der Ausführung im Artikel-Vorschlag für Dihydroergotamin-methansulfonat an. Die charakteristischen Färbungen wurden von allen vier Handelsmustern erhalten.

Alkaloid-Fällungsreagenzien: Auch für die vorliegende Substanz konnten wir in der Literatur keine Angaben über Derivate mit Alkaloid-Fällungsreagenzien finden. Wir stellten Derivate nach folgenden Vorschriften her:

Herstellung des Tetraphenylborates:

"25 mg Dihydroergotamin-methansulfonat werden in der Mischung von 2 ml Azeton und 1 ml Wasser gelöst. Dann werden 2 ml Wasser und tropfenweise 1 ml Kalignost RS zugefügt. Aus der trüben Lösung scheiden sich nach längerem Stehen farblose Kristalle ab. Diese werden abgenutscht, mit 20 ml Wasser gewaschen und im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet. Die Kristalle färben sich bei ca. 175<sup>o</sup> schwarz und schmelzen im Intervall von 215-220<sup>o</sup> (unkorr.) bzw. 221,1-226,4<sup>o</sup> (korr.)."

Da dieses Derivat sehr schwer kristallisiert (Abscheiden von Kristallen erst nach ca. 48 Stunden), und das Schmelzintervall infolge Zersetzung schlecht erkennbar ist, kommt es zur Identifizierung der Substanz nicht in Frage.

Herstellung des Reineckates:

"25 mg Dihydroergotamin-methansulfonat werden in der Mischung von 2 ml Azeton und 1 ml Wasser gelöst und tropfenweise mit 5 ml Ammoniumreineckat RS versetzt. Die sofort entstandene Trübung setzt sich nach einigem Stehen als kristalliner Niederschlag ab, welcher nach dem

Abnutschen und Waschen mit 20 ml Wasser im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet wird. Die rötlichen Kristalle färben sich bei ca. 160<sup>o</sup> grau, bei ca. 210<sup>o</sup> schwarz, ohne dass auch bei weiterer Temperatursteigerung ein Schmelzintervall festgestellt werden kann."

Auch das Reineckat kann zur Identifizierung nicht herangezogen werden.

#### Herstellung des Pikrates:

"25 mg Dihydroergotamin-methansulfonat werden in der Mischung von 2 ml Azeton und 1 ml Wasser gelöst. Dann werden 2 ml Wasser und tropfenweise 2 ml Pikrinsäure RS zugefügt. Die entstandene Trübung wird durch leichtes Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Nach dem Abkühlen scheiden sich allmählich gelbe Kristalle ab, welche nach dem Abnutschen und Waschen mit 20 ml Wasser während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet werden. Der Schmelzbereich (unter Zersetzung) muss zwischen 184<sup>o</sup> und 187<sup>o</sup> (unkorr.) bzw. 188,4<sup>o</sup> und 191,5<sup>o</sup> (korr.) liegen."

Die gelben Kristalle verfärben sich etwa 4<sup>o</sup> vor dem Schmelzbereich und schmelzen innerhalb von 3<sup>o</sup> unter Zurücklassen einer schwarzen Schmelze. Von den hergestellten Derivaten weist einzig das Pikrat einen scharfen und trotz Zersetzung gut erkennbaren Schmelzbereich auf, weshalb die Herstellung dieses Derivates zum weiteren Identitätsnachweis von Dihydroergotamin-methansulfonat in Betracht gezogen werden kann.

#### Papierchromatographische Prüfung:

##### a) Bisherige Untersuchungen

Ueber die papierchromatographische Untersuchung der hydrierten Mutterkornalkaloide bestehen nur wenige Publikationen. Tuzson und Vastagh (141) trennten mit der mobilen Phase Toluol-Petroläther-Methanol (25:25:10) den nativen vom hydrierten Ergotoxinkomplex, wobei sich für Ergotoxin ein Rf von 0,57, für das hydrierte Produkt von 0,44 ergab. Die Auftrennung des hydrierten Ergotoxins in seine Komponenten erreichten Stoll und Rügger (131) an mit Dimethylphtalat imprägnierten Papieren unter Verwendung der mobilen Phase Formamid-Wasser (1:4) vom pH 4,0. Die Rf-Werte betragen für Dihydroergocornin 0,57, Dihydroergokryptin 0,44 und Dihydroergokristin 0,31. Schumacher (29) trennte Dihydroergotamin (Rf = 0,63) von Ergotamin (Rf = 0,54) und Ergotaminin (Rf = 0,43) mit der mobilen Phase Formamid 60 T., Puffer nach Koltzoff pH 4,6 80 T., Toluol/Isobutanol gesättigtes Wasser 20 T., dest. Wasser 40 T. Nach Macek und Mitarbeiter (135) soll sich zur Bestimmung von Dihydroergotamin am besten das Gemisch Benzol-Chloroform (6:4) eignen. Ein Verfahren zur Auftrennung der Dihydroderivate mit Benzol-Chloroform (1:1) auf mit

Formamid imprägnierten Papieren wird von Rochelmeyer und Mitarbeitern (152) beschrieben. Die Autoren geben Rf-Werte der wichtigsten Dihydroderivate an und führen vergleichsweise diejenigen von Ergokristin und Ergotamin auf, diese betragen für Dihydroergotamin 0,17, Dihydroergocornin 0,43, Dihydroergokristin 0,51, Dihydroergokryptin 0,56, Ergotamin 0,69, Ergokristin 0,96.

#### b) Eigene Untersuchungen

Wir entschlossen uns zur Ueberprüfung des Verfahrens von Rochelmeyer und Mitarbeitern (152), da sich dieses bezüglich des Trennvermögens als Identitäts- und Reinheitsprüfung für Dihydroergotamin-methansulfonat zu eignen schien, und arbeiteten unter folgenden Versuchsbedingungen:

"Apparatur: Zur Verwendung gelangte das von der Ph. Helv. V, Suppl. III, beschriebene Gefäss zur absteigenden Papierchromatographie, welches vor Gebrauch mindestens 14 Stunden mit der mobilen Phase gesättigt wurde. Obwohl die Dihydroderivate sich im Gegensatz zu ihren natürlichen Stammsubstanzen durch eine auffallend gesteigerte Stabilität gegen Licht auszeichnen, wurde das Chromatographiergefäss wie bei den letzteren mit schwarzem Papier umkleidet.

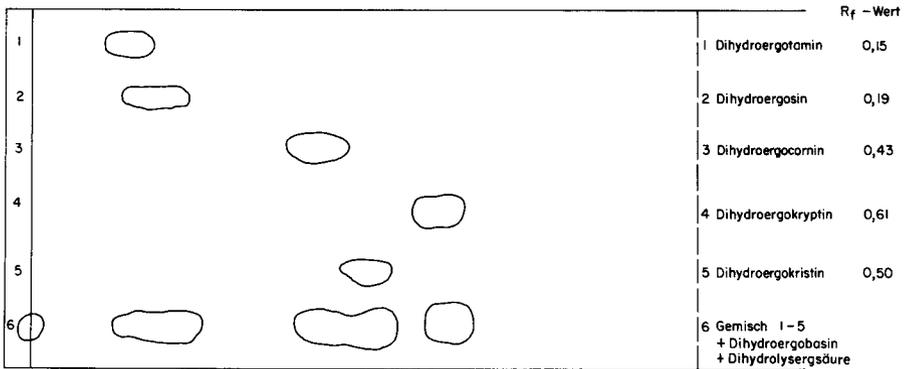
Vorbereiten der Papiere: Die Imprägnierung erfolgte mit einer Mischung von 40 Vol. T. Formamid und 60 Vol. T. Aethanol 94 % in der bei Ergotaminium tartaricum (s. S. 197) angegebenen Weise.

Auftragen der Substanzen: Die 0,1 %ig in einem Gemisch gleicher Vol. T. Methylalkohol und Methylenchlorid gelösten Alkaloide bzw. Alkaloidsalze wurden bei kleinen Mengen (bis ca. 20 µg) punktförmig, bei grossen Mengen (50 µg - 200 µg) streifenförmig aufgetragen. Die Lösungen wurden unmittelbar vor Gebrauch hergestellt.

Entwickeln der Papiere: Die mit den Substanzen beschickten Papiere wurden ohne Vorhängezeit mit der mobilen Phase nach dem absteigenden Verfahren entwickelt. In ca. 4 Stunden wandert die Lösungsmittelfront 30 - 35 cm.

Sichtbarmachen der Alkaloide: Die Sichtbarmachung erfolgte mit Ehrlichs-Reagens, weil sich die Dihydroderivate im Gegensatz zu den nativen Alkaloiden durch Fehlen der blauen Fluoreszenzen im UV-Licht auszeichnen. Die Chromatogramme wurden im Trockenschrank bei 80° getrocknet und anschliessend mit Ehrlichs-Reagens besprüht, womit die Dihydroalkaloide wie auch die nativen Alkaloide violette Färbungen aufweisen. Nach Rochelmeyer und Mitarbeitern (152) können jedoch auch die Dihydroderivate im UV-Licht erkannt werden, indem sich diese nach längerer Bestrahlung im UV-Licht in gelb-grün fluoreszierende Substanzen umwandeln, wobei die Belichtungszeiten je nach der Intensität der verwendeten Quecksilberhochdrucklampe schwanken."

Bei den Untersuchungen gingen wir so vor, dass wir sämtliche hydrierten Mutterkornalkaloide bzw. Mischungen derselben im System Benzol-Chloroform (1:1) chromatographierten und die erreichte Verteilung feststellten (Abb. 21).



**Abb. 21** Chromatogramm der hydrierten Mutterkornalkaloide im System Benzol-Chloroform ( 1:1 )

Beim Chromatographieren eines Gemisches sämtlicher Dihydroderivate werden vier Zonen sichtbar. Am Startpunkt verbleiben Dihydroergobasin und Dihydrolysergsäure, dann folgen Dihydroergotamin und Dihydroergosin, deren Auftrennung auch bei mengenmässig gleichen Substanzgemischen nicht gelingt. In die nächste Zone entfallen Dihydroergocornin und Dihydroergokristin, welche ebenfalls nicht vollständig getrennt erscheinen. Der folgende Bereich besteht aus Dihydroergokryptin. Verteilung und R<sub>f</sub>-Werte der nativen Mutterkornalkaloide im erwähnten System waren bereits vorher von uns ermittelt worden und sind aus Fig. 14 bzw. Tabelle 7 zu entnehmen. Für die Dihydroderivate ergaben sich die folgenden R<sub>f</sub>-Werte, welche Mittelwerte aus 10 Bestimmungen darstellen und eine Streuung von 0,04 R<sub>f</sub>-Einheiten aufweisen:

<u>Alkaloid</u>	<u>R<sub>f</sub>-Wert</u>
Dihydrolysergsäure	0,00
Dihydroergobasin	0,00
Dihydroergotamin	0,17
Dihydroergosin	0,21
Dihydroergocornin	0,43
Dihydroergokristin	0,52
Dihydroergokryptin	0,60

Durch die Tatsache, dass sich Dihydroergotamin und Dihydroergosin nur um 0,04 Rf-Einheiten unterscheiden, ist die papierchromatographische Prüfung als Identitätsreaktion nicht eindeutig und daher nur als Ergänzung der anderen Reaktionen zu betrachten. Im Hinblick auf die Reinheitsprüfung von Dihydroergotamin ist bezüglich des Trennvermögens zu bemerken, dass genanntes Alkaloid mit Ausnahme von Dihydroergosin von den übrigen Dihydroderivaten sowie von den nativen Mutterkornalkaloiden abgetrennt werden kann. Wie wir feststellten, lassen sich auch bei den Dihydroderivaten 100 µg, streifenförmig auf die Startlinie aufgetragen, bezüglich der Fleckengrösse und -Form ohne Nachteile chromatographieren. Bei einer Empfindlichkeit des Nachweises von 1 µg (29) kann somit 1 % eines Fremdkaloides nachgewiesen werden.

Das beschriebene Verfahren wird für Dihydroergotamin-methansulfonat als Reinheitsprüfung zur Aufnahme in die Pharmakopöe empfohlen, weil damit Verunreinigungen sämtlicher nativer Mutterkornalkaloide sowie der meisten Dihydroderivate erkannt werden können (s. Seite 247).

Nachweis des Säurenanteiles: Das durch Behandeln der Substanz mit wasserfreiem Natriumkarbonat aus der Methansulfonsäure entstandene Sulfat wird nach Ph.Helv.V nachgewiesen. Wir schlagen die Ausführung der Prüfung wie folgt vor:

"Eine Verreibung von 20 mg Substanz und 0,3 g wasserfreiem Natriumkarbonat werden in einem kleinen Porzellantiegel während ca. 20 Minuten erhitzt und nach dem Erkalten mit 10 ml Wasser gekocht. Das nach dem Abkühlen erhaltene Filtrat gibt die Identitätsreaktion auf Sulfat."

Alle auf die beschriebene Weise geprüften Muster entsprachen dieser Forderung.

### Reinheitsprüfungen

#### a) Physikalische und physikalisch-chemische Prüfungen

Schmelztemperatur: In der Literatur finden sich für Dihydroergotamin-methansulfonat folgende Schmelzintervalle:

Merck Index 7 <sup>th</sup> Ed. (153)	230 - 235 <sup>o</sup>
Stoll und Hofmann (151)	230 - 235 <sup>o</sup> (korr.) unter Zersetzung

Wie wir feststellten, beginnt sich die Substanz ca. 12<sup>o</sup> vor der Schmelztemperatur grau zu verfärben, dann erfolgt allmähliche Schwarzfärbung und Zusammenfließen unter Bildung einer schwarzen Schmelze. Das Schmelzintervall ist von der Art des Aufheizens abhängig. Bei Einbringen der Substanzmuster in das auf ca. 200<sup>o</sup> (korr.) vorgewärmte Heizbad und Steigerung der Temperatur um 4<sup>o</sup> pro Minute konnten reproduzierbare Werte erhalten werden, welche allerdings etwas tiefer liegen als diejenigen der Literatur.

Unsere Substanzmuster zeigten folgende Schmelztemperaturen:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Schmelztemperatur</u>	
	<u>unkorr. Wert</u>	<u>korr. Wert</u>
I	222,5 - 223,5 <sup>o</sup>	229,0 - 230,1 <sup>o</sup>
II	220,0 - 221,0 <sup>o</sup>	226,4 - 227,4 <sup>o</sup>
III	219,3 - 220,5 <sup>o</sup>	225,6 - 226,9 <sup>o</sup>
IV	197,0 - 198,0 <sup>o</sup>	202,0 - 203,0 <sup>o</sup>

Die Schmelztemperaturen von Muster I - III liegen im Intervall von 219,3-223,5<sup>o</sup> (unkorr.) bzw. 225,6 - 230,1<sup>o</sup> (korr.). Muster IV weist einen zu hohen Kristalllösungsmittel-Gehalt auf, worauf wohl die abnorm tiefe Schmelztemperatur zurückzuführen ist. Muster II und III entsprechen allen anderen Forderungen, obwohl sie tiefer schmelzen als Muster I. Als Forderung für die Pharmakopöe möchten wir ein Schmelzintervall von 219,0 - 224,0<sup>o</sup> (unkorr.) bzw. 225,5 - 230,5<sup>o</sup> (korr.) vorschlagen.

Löslichkeit, Prüfung auf unlösliche und färbende Verunreinigungen: Bei der Herstellung der Stammlösung wird auf wasserunlösliche und färbende Verunreinigungen geprüft. Da sich alle Muster klar und farblos völlig lösen, wird die Forderung entsprechend formuliert.

Reaktion der Stammlösung: Wir ermittelten mit den Stammlösungen unserer Muster folgende pH-Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u>	<u>pH-Wert</u>
	<u>potentiometrisch</u>	<u>Farbtabelle (Methylrot)</u>
I	4,98	5,0
II	5,10	5,2

<u>Handelsmuster</u>	<u>pH-Wert</u> <u>potentiometrisch</u>	<u>pH-Wert</u> <u>Farbtabelle (Methylrot)</u>
III	5,13	5,2
IV	5,15	5,2

In Anlehnung an die erhaltenen Werte können wir fordern, dass der pH-Wert der Stammlösung zwischen 4,8 und 5,6 liegen muss.

Spezifische Drehung: Aus der Literatur ist uns nur die spezifische Drehung der Dihydroergotaminbase bekannt. Stoll und Hofmann (151) sowie Merck Index 7<sup>th</sup> Ed. (153) geben für die Base folgenden Wert an:

$$[\alpha]_D^{20} = -64^{\circ} \quad (c = 0,5 \text{ in Pyridin})$$

Wir führten die Bestimmung mit dem Methansulfonat aus, welches wie die Base in Pyridin gut löslich ist. In einer 0,5 %igen Lösung vorgenommen, ermittelten wir mit unseren Substanzmustern folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Spezifische Drehung</u> $[\alpha]_D^{20}$
I	-43,82
II	-40,46
III	-40,60
IV	-42,25

Auf Grund unserer Resultate glauben wir die Grenzwerte der spezifischen Drehung mit  $-40^{\circ}$  und  $-45^{\circ}$  festlegen zu können.

Spektrophotometrie: Ausser der Veröffentlichung von Stoll und Schlientz (148), welche das UV-Spektrum von Dihydroergotamin in Alkohol bestimmten, konnten wir der Literatur keine Angaben entnehmen. Die Autoren stellten 3 Maxima fest, die bei 220 m $\mu$ , bei 282 m $\mu$  und bei 291 m $\mu$  liegen und geben für den molaren Extinktionskoeffizienten  $\epsilon$  folgende Werte an:

$$\begin{aligned}\epsilon & \text{ bei } 220 \text{ m}\mu = 3,47 \cdot 10^4 \\ \epsilon & \text{ bei } 282 \text{ m}\mu = 7,08 \cdot 10^3 \\ \epsilon & \text{ bei } 291 \text{ m}\mu = 6,03 \cdot 10^3\end{aligned}$$

Analog zu Ergotamin tartrat haben wir die Messungen in 1 %iger Weinsäurelösung ausgeführt und mit Muster I (im Hochvakuum getrocknet) die Absorptionskurve im Bereich von 235 - 300 m $\mu$  aufgenommen (Abb. 22). Diese zeigt ein Minimum bei 243 - 244 m $\mu$  und ein Maximum bei 279 m $\mu$ . Bei 288 m $\mu$  dürfte eine undeutlich ausgeprägte Schulter liegen. Eine andere, mit Dihydroergotamin tartrat aufgenommene Kurve ergab den gleichen Verlauf, die leichte Deformation der Kurve im Bereich von 270 - 290 m $\mu$  kann daher nicht durch die Methansulfonatkomponente bedingt sein.

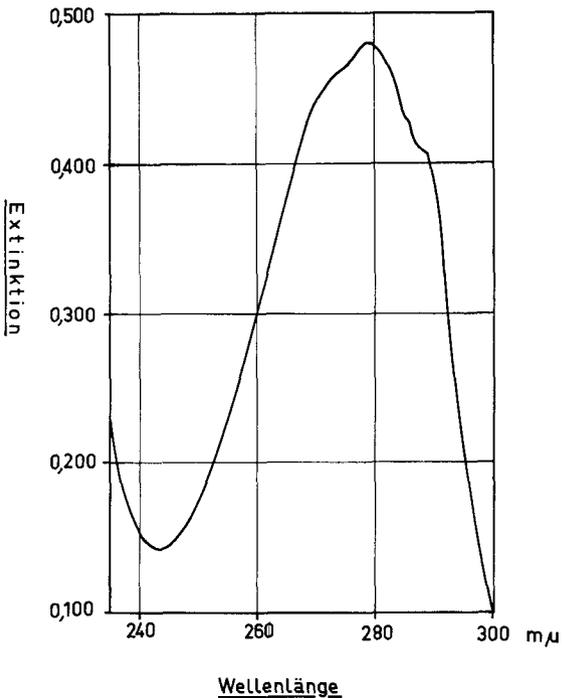


Abb. 22 UV-Spektrum von Dihydroergotamin-methansulfonat in 1 %iger Weinsäure

Für den molaren Extinktionskoeffizienten  $\xi$  ermittelten wir bei 279 m $\mu$  mit Muster I den Durchschnittswert von  $6,55 \cdot 10^3$  und haben mit dem gleichen Muster die Extinktion verschiedener Konzentrationen bestimmt und graphisch dargestellt (Abb. 23).

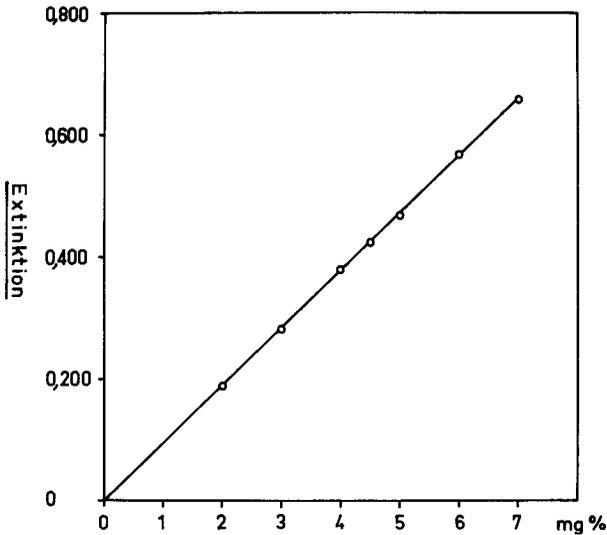


Abb. 23 Extinktionswerte verschiedener Konzentrationen beim Maximum 279 m $\mu$

Für die spezifische Extinktion  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  (bezogen auf die Kristalllösungsmittelhaltige Substanz) ergaben sich bei 279 m $\mu$  folgende Werte:

<u>Handelsmuster</u>	<u><math>E_{1\text{cm}}^{1\%}</math> bei 279 m<math>\mu</math></u>
I	93,8
II	92,6
III	93,0
IV	91,0

Ausser bei Muster IV, welches infolge des zu hohen Kristalllösungsmittelgehaltes nicht massgebend ist, stimmen die Resultate gut überein. Wir empfehlen, die Bestimmung des Extinktionskoeffizienten als weitere Identitäts- und Reinheitsprüfung in die Pharmakopöe aufzunehmen, und fordern, dass  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  bestimmt

bei 279 m $\mu$  mit einer 0,005 %igen Lösung der Substanz in 1 %iger Weinsäure, zwischen 92 und 95 liegen soll.

#### b) Chemische Reinheitsprüfungen

Als Verunreinigungen kommen in erster Linie die eingangs erwähnten Mutterkornalkaloide in Betracht, welche mit der papierchromatographischen Reinheitsprüfung erfasst werden. Ferner kann aus der Säurekomponente gebildetes Sulfat anwesend sein.

Wir prüften unsere Muster auf Chlorid und Sulfat und beobachteten die mit konzentrierter Schwefelsäure und konzentrierter Salpetersäure entstehenden Färbungen.

Abwesenheit von Chlorid und Sulfat: Die Prüfungen wurden nach den Vorschlägen zur Ph. Helv. VI mit je 1 ml Stammlösung vorgenommen. Sämtliche Muster ergaben negative Reaktion, d. h. sie zeigten keine stärkere Opaleszenz als Grenzreaktion a II.

Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen: 10 mg Dihydroergotamin-methansulfonat lösen sich in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure RS mit gelber Farbe, die jedoch zu intensiv ist, um mit den Farbvergleichslösungen verglichen zu werden. Beim Erwärmen im siedenden Wasserbad färbt sich die Lösung über Bräunlich-Olivgrün nach Rötlich und hat nach 5 Minuten eine rosarote, nach weiteren 5 Minuten eine beständige rotviolette Färbung angenommen. Es konnte ein deutlicher Unterschied zu Ergotamintartrat festgestellt werden, welches in gleicher Konzentration beim Erwärmen im Wasserbad nach 10 Minuten eine dunkelbraune Färbung zeigt.

Farbreaktion mit konzentrierter Salpetersäure: 10 mg Dihydroergotamin-methansulfonat lösen sich in 1 ml konzentrierter Salpetersäure RS mit gelber Farbe, welche ebenfalls nicht mit den Farbvergleichslösungen verglichen werden kann.

Quantitative Bestimmungen

a) Kristalllösungsmittel-Gehalt

Wie ihre natürlichen Stammsubstanzen besitzen die Dihydroderivate ebenfalls die Eigenschaft, Kristalllösungsmittel zu binden. Da Dihydroergotamin-methansulfonat bei der Herstellung aus Alkohol umkristallisiert wird, vermuteten wir, dass dieses Lösungsmittel vorliegen müsse. Wir trockneten unsere Substanzmuster im Hochvakuum bei 100<sup>o</sup> bis zur Gewichtskonstanz und stellten bei drei Mustern einen Gewichtsverlust von 2,9 - 3 % fest.

Da sich aus der Formel mit 1 Mol Aethanol aber ein theoretischer Kristalllösungsmittel-Gehalt von 6,34% ergeben würde, kamen wir zu der Annahme, dass nur 1/2 Mol vorliegen könne, was durch eine persönliche Mitteilung der Firma SANDOZ bestätigt wurde. Drei der vorliegenden Muster entsprechen dem theoretischen Wert für 1/2 Mol (3,27 %) sehr gut, nur Muster IV, dessen Gehalt 5,8 % betrug, entspricht der Formel mit 1 Mol Aethanol. Da Dihydroergotamin-methansulfonat nach der Mitteilung der Firma SANDOZ vorwiegend mit 1/2 Mol Aethanol hergestellt wird, möchten auch wir letztere Formel für die Ph. Helv. VI vorschlagen.

Nach Ermittlung der Formel unserer Muster mit der nachstehend unter 1. angegebenen und bereits erwähnten Bestimmungsart, nahmen wir noch folgende Methoden vor:

1. Trocknen im Hochvakuum bei 100<sup>o</sup> während 5 Stunden
2. Trocknen im Vakuum über Phosphorpentoxyd während 6 Stunden, Druck ca. 10 Torr, Temperatur ca. 95<sup>o</sup>
3. Trocknen im Trockenschrank bei 103 - 105<sup>o</sup> während 6 Stunden.

Die mit einer Einwaage von 0,1 g erhaltenen Werte lauten:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Kristalllösungsmittel-Gehalt</u>		
	1. Methode	2. Methode	3. Methode
I	2,90 %	2,80 %	2,83 %
II	3,30 %	3,24 %	3,18 %
III	3,06 %	2,95 %	2,91 %
IV	5,83 %	5,54 %	5,67 %

Die Trocknung im Hochvakuum, welche aber für die Pharmakopöe nicht vorgeschrieben werden kann, liefert die genauesten Resultate, sie liegen ausser bei Muster III etwas unterhalb dem theoretischen Wert. Wie ersichtlich ist, lässt sich das Kristalllösungsmittel mit den anderen beiden Methoden jedoch hinreichend entfernen, weshalb wir die 2. Methode vorschlagen möchten. Die Forderung, dass der Aethanol-Gehalt zwischen 2,6 und 3,6 % liegen soll, scheint uns ohne weiteres erfüllbar zu sein.

Wie wir feststellten, ist die getrocknete Substanz hygroskopisch. Dieses Verhalten fiel uns im Besonderen beim Abwägen auf und gab uns Anlass, zu ermitteln, wie gross die Feuchtigkeitszunahme ist und wie rasch diese vor sich geht. Die Untersuchung führten wir mit 2 Proben von Muster III durch, welche wir im Hochvakuum bis zur Gewichtskonstanz trockneten und die Gewichtszunahme nachher auf dieses Gewicht bezogen. Die Proben wurden sodann einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % ausgesetzt, d. h. in einem mit 38 %iger Schwefelsäure beschicktem Exsikkator aufbewahrt, in welchen gleichzeitig 2 Kristall-Aethanol enthaltende Proben des gleichen Substanzmusters gebracht wurden. Die Wägungen erfolgten nach 30', 60', 2 h, 3h, 18 h und 4 Tagen. Bereits nach 30' wiesen die getrockneten Proben eine mittlere Gewichtszunahme von 3,08 % auf, welcher Wert nach 18 h noch konstant war und sich erst nach 4 Tagen auf 3,61 % erhöht hatte. Die Kristall-Aethanol enthaltenden Proben zeigten nach 30' eine mittlere Zunahme von 0,34 %, nach 18 h von 0,68 % und nach 4 Tagen von 1,37 %.

Wie die Untersuchung ergeben hat, ist die vom Kristalllösungsmittel befreite Substanz sehr hygroskopisch, weshalb auch aus diesem Grunde die wesentlich stabilere Formel mit  $\frac{1}{2}$  Mol Aethanol vorzuziehen ist.

#### b) Gehaltsbestimmungen

Auch für die Gehaltsbestimmung von Dihydroergotamin-methansulfonat fanden sich keine Angaben in der Literatur. Analog zu Ergotamintartrat haben wir die mit Van Urks-Reagens erhaltene Blaufärbung kolorimetrisch ausgewertet. Ferner bestimmten wir den Stickstoff-Gehalt nach Kjeldahl und die Säurekomponente durch azidimetrische Titration. Da Dihydroergotamin als Methansulfonat vorliegt, ist die Titration in wasserfreiem Milieu mit Perchlorsäure nicht anwendbar, kann

aber nach unseren Feststellungen im Falle des Tartrates mit Vorteil erfolgen.

1. Kolorimetrische Bestimmung: Die intensive Blaufärbung mit Van Urks-Reagens wird auch von den Derivaten der Dihydrolysergsäure erhalten. Da uns nicht bekannt war, bei welcher Wellenlänge die maximale Absorption das mit den Dihydroderivaten gebildeten blauen Farbstoffes liegt, haben wir mittels einer Absorptionskurve die für die Messung günstigste Wellenlänge ermittelt. Die Kurve, mit einer im Hochvakuum getrockneten Probe von Muster I aufgenommen, zeigt im Bereich von 500 - 645 m $\mu$  ein Maximum, welches bei 585 m $\mu$  liegt. (Abb. 24). Eine Eichkurve, die wir mit dem gleichen Muster aufgenommen haben, ist aus Abb. 25 ersichtlich. Für den molaren Extinktionskoeffizienten ermittelten wir bei 585 m $\mu$  mit Muster I den Wert von  $6,552 \cdot 10^3$ .

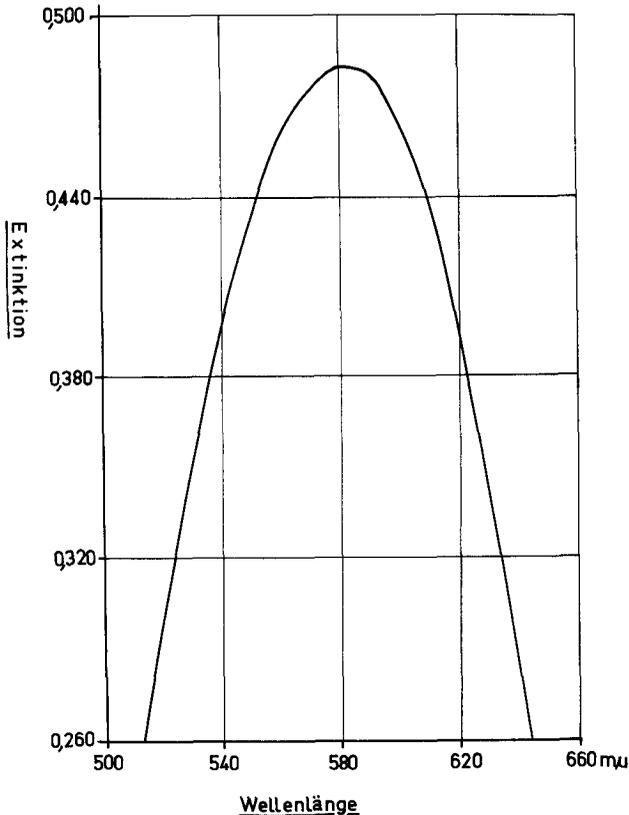
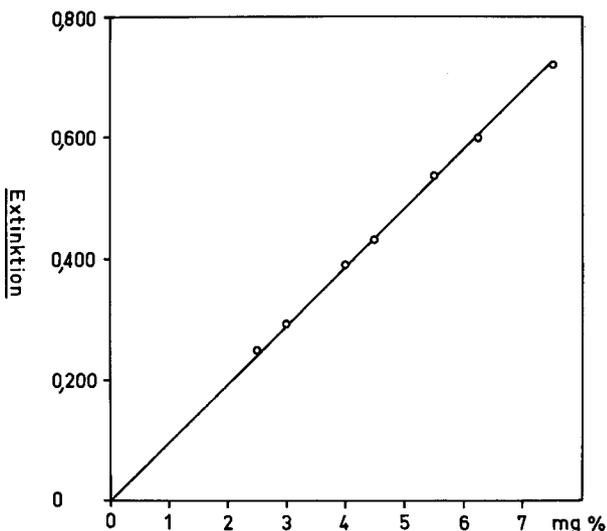


Abb. 24 Absorptionskurve des mit Dihydroergotamin-methansulfonat gebildeten blauen Farbstoffes



**Abb. 25** Eichgerade zur kolorimetrischen Bestimmung von Dihydroergotamin-methansulfonat

Im Gegensatz zur Bestimmung von Ergotamin tartrat stand uns kein Standard-Dihydrolysergsäurederivat zur Verfügung.

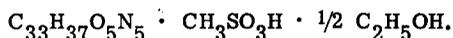
Wir legten der Untersuchung folgende Vorschrift zugrunde:

"Ca. 10 mg Dihydroergotamin-methansulfonat, ungetrocknet, (genau gewogen) werden in einem Messkolben von 200 ml Inhalt in ca. 100 ml 1 %iger Weinsäure durch leichtes Erwärmen gelöst, und die Lösung nach dem Abkühlen mit 1 %iger Weinsäure bis zur Marke aufgefüllt. 2,00 ml dieser Lösung werden in einem Reagenzglas mit Glasstopfen mit 4,00 ml frisch vorbereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS versetzt, gut durchgemischt und die Mischung 1 Stunde lang im Tageslicht stehen gelassen. Die entstandene blaue Farbe wird in einem geeigneten Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 585 m $\mu$  und einer Schichtdicke von 1 cm gemessen, wobei man als Vergleichslösung eine auf gleiche Weise belichtete Mischung von 2,00 ml 1 %iger Weinsäure und 4,00 ml frisch vorbereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS verwendet".

Die für den Extinktionskoeffizienten  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  bei 585 m $\mu$  erhaltenen Resultate sind die folgenden:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Extinktion bei 585 m<math>\mu</math></u>	<u>E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> bei 585 m<math>\mu</math></u>
I	0,468 0,464 0,466	
(Mittelwert)	0,466	93,2
II	0,460 0,464 0,465	
(Mittelwert)	0,463	92,6
III	0,460 0,462 0,456	
(Mittelwert)	0,459	91,8
IV	0,454 0,449	
(Mittelwert)	0,451	90,2

Wie aus der Zusammenstellung ersichtlich ist, lieferte die kolorimetrische Methode recht übereinstimmende Werte. Da damit der therapeutisch wichtige Basenanteil erfasst wird, schlagen wir dieses Verfahren zur Gehaltsbestimmung für die Pharmakopöe vor und fordern, dass E<sub>1cm</sub><sup>1%</sup> bei 585 m $\mu$  zwischen 90,4 und 95,0 liegen muss, entsprechend einem Gehalt von 97,0 - 102,0 %



Das Intervall wurde absichtlich etwas weiter gefasst, als es unseren Werten entspricht, da ohne Bezugssubstanz gearbeitet wird und im allgemeinen nicht immer Spektrophotometer von dieser Genauigkeit zur Verfügung stehen.

2. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl: Diese Bestimmungsmethode haben wir nach der im allgemeinen Teil aufgeführten Vorschrift mit ca. 0,1 g ungetrockneter Substanz (genau gewogen) vorgenommen. Bei der Veraschung wurde nach dem Klar- und Farblos-Werden des Reaktionsgemisches (Zeitdauer ca. 1 Stunde) noch eine weitere Stunde zum Sieden erhitzt.

Unsere Muster zeigten folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl</u>	
I	99,27 %	99,02 %
II	98,95 %	98,66 %
III	98,32 %	98,10 %
IV	96,15 %	96,45 %

Die Kjeldahl-Methode eignet sich sehr gut zur Gehaltbestimmung von Dihydroergotamin-methansulfonat. Da aber event. vorhandene Stickstoff-haltige Verfälschungen einen normalen Gehalt vortäuschen könnten - denn in Anbetracht des hohen Preises der Substanz ist es nicht ausgeschlossen, dass sich auch einmal verfälschte Produkte im Handel befinden - ziehen wir die auf Dihydrolysergsäurederivate spezifische kolorimetrische Bestimmungsart vor. Letztere ist ausserdem rascher durchführbar und erfordert weniger Substanz. Ein Nachteil besteht allerdings darin, dass den kolorimetrischen Methoden eine gewisse Fehlerbreite anhaftet.

3. Azidimetrische Bestimmung des Säureanteiles: Für diese Bestimmung lösten wir ca. 50 mg ungetrocknete Substanz in 20 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser und titrierten unter Verwendung von 1 Tropfen Phenolphthalein RS als Indikator mit 0,05 N-Natronlauge bis zur Rosafärbung.

1 ml 0,05 N-Natronlauge entspricht 35,15 mg  $C_{33}H_{37}O_5N_5 \cdot CH_3SO_3H \cdot \frac{1}{2} C_2H_5OH$

Im Verlauf der Titration kristallisiert die Base aus, wodurch das Erkennen des Umschlagspunktes etwas erschwert wird.

Es ergaben sich folgende Resultate:

<u>Handelsmuster</u>	<u>Azidimetrische Bestimmung</u>	
I	100,07 %	100,42 %
II	101,31 %	
III	101,50 %	101,34 %
IV	99,45 %	

Wie die erhaltenen Werte zeigen, enthält auch Dihydroergotamin-methansulfonat nicht die stöchiometrisch genaue Menge Methansulfonsäure

### Bemerkungen bezüglich der Aufbewahrung

Nach unseren Erfahrungen müssen bezüglich der Aufbewahrung keine besonderen Massnahmen getroffen werden. Es genügt, wenn Dihydroergotamin-methansulfonat in gut verschlossenen Behältern vor Licht geschützt aufbewahrt wird. In Anbetracht, dass die Substanz nur in sehr kleinen Mengen gelagert wird, schreiben wir analog zu Ergotamintartrat jedoch Aufbewahrung in zugeschmolzenen und in schwarzes Papier eingehüllten Ampullen vor.

### Sterilisation von Lösungen

Eine Sterilisationsvorschrift ist uns aus der Literatur nicht bekannt geworden, daher schlagen wir für Lösungen Keimfiltration vor.

### Vorschlag für Gebrauchsdosen

Wir übernehmen die Angaben aus dem Prospekt des Handelspräparates Dihydergot <sup>®</sup>.

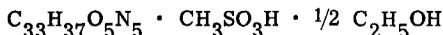
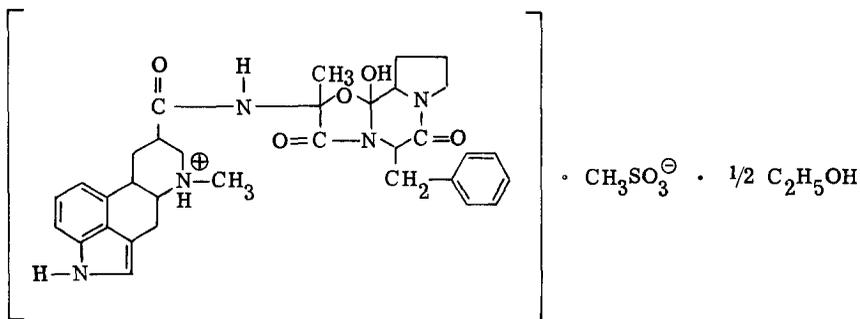
Untersuchung von Handelsmustern

	I	II	III	IV
<u>Sinnenprüfung</u>				
Farbe	rein weiss	rein weiss	rein weiss	rein weiss
Geruch	-	-	-	-
<u>Identitätsprüfung</u>				
Farbreaktion nach Keller, modifiziert	+	+	+	+
Farbreaktion nach Van Urk	+	+	+	+
Pikrat-Schmelzpunkt (korr.)	189,2-191,3 <sup>0</sup>	188,9-191,0 <sup>0</sup>	188,7-190,9 <sup>0</sup>	
Papierchromatographische Prüfung	=	=	=	=
Methansulfonsäure	+	+	+	+
<u>Reinheitsprüfungen</u>				
Schmelztemperatur (korr.)	229,0-230,0 <sup>0</sup>	226,4-227,4 <sup>0</sup>	225,6-226,9 <sup>0</sup>	202,0-203,0 <sup>0</sup>
Eigenschaften der Stammlösung	klar u. farblos	klar u. farblos	klar u. farblos	klar u. farblos
Reaktion der Stammlösung potentiometrisch	4,98	5,10	5,13	5,15
Farbtabelle	5,0	5,2	5,2	5,2
Spezifische Drehung	-43,82 <sup>0</sup>	-40,46 <sup>0</sup>	-40,60 <sup>0</sup>	-42,25 <sup>0</sup>
Papierchromatographische Prüfung	-	-	-	-
UV-Absorption				
$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ bei 279 m $\mu$	93,8	92,6	93,0	91,0
Papierchromatographische Prüfung	-	-	-	-
Chlorid	-	-	-	-
Sulfat	-	-	-	-
<u>Quantitative Bestimmungen</u>				
Kristalllösungsmittel-Gehalt	2,80 %	3,24 %	2,95 %	5,54 %
Gehalt				
Kolorimetrische Methode	100,0 %	99,36 %	98,50 %	96,78 %
Stickstoff nach Kjeldahl	99,15 %	98,81 %	98,21 %	96,30 %
Azidimetrische Titration	100,25 %	101,31 %	101,42 %	99,45 %

Dihydroergotaminium methansulfonicum

Dihydroergotamin-methansulfonat    Methansulfonate de dihydroergotamine

Methansolfonato di dihydroergotamina



Mol.-Gew. 703

Methansulfonat des im Lysergsäureteil in 9,10-Stellung hydrierten Mutterkornalkaloides Ergotamin, mit einem Gehalt von mindestens 97,0(97,0-102,0) %  $C_{33}H_{37}O_5N_5 \cdot CH_3SO_3H \cdot 1/2 C_2H_5OH$ .

Prüfung

Stammlösung S: 25 mg müssen sich in 10 ml frisch ausgekochtem und wieder erkaltetem Wasser unter kräftigem Schütteln binnen einiger Minuten völlig lösen. Diese Lösung muss klar und farblos sein und dient als S für die innerhalb von 2 Stunden durchzuführenden Prüfungen 2 a, b, 8, 9 und 10.

1. Sinnenprüfung: Weisses, kristallines Pulver ohne wahrnehmbaren Geruch.

2. Nachweis der Dihydroergotaminbase:

a) Werden 3 Tropfen S mit 1 ml konzentrierter Essigsäure RS, 1 Tropfen Ferrichlorid RS und 1 ml konzentrierter Phosphorsäure RS vermischt, und die

Mischung in ein Wasserbad von ca. 80° gebracht, so entsteht binnen einiger Minuten eine violette Färbung.

b) Werden 5 Tropfen S mit 1 ml Wasser und 1 ml Dimethylaminobenzaldehyd RS vermischt, so tritt eine dunkelkornblumenblaue Färbung auf.

c) 25 mg werden in der Mischung von 2 ml Azeton und 1 ml Wasser gelöst. Dann werden 2 ml Wasser und tropfenweise 2 ml Pikrinsäure RS zugefügt. Die entstandene Trübung wird durch leichtes Erwärmen wieder in Lösung gebracht. Nach dem Abkühlen scheiden sich allmählich gelbe Kristalle ab, welche nach dem Abnutschen und Waschen mit 20 ml Wasser während 24 Stunden im Schwefelsäure-Exsikkator getrocknet werden. Der Schmelzbereich (unter Zersetzung) muss zwischen 188,5 und 191,5° (korr.) liegen.

3. Nachweis der Methansulfonsäure: Eine Verreibung von 20 mg Substanz und 0,3 g wasserfreiem Natriumkarbonat werden in einem kleinen Porzellantiegel während ca. 20 Minuten erhitzt und nach dem Erkalten mit 10 ml Wasser gekocht. Das nach dem Abkühlen erhaltene Filtrat gibt die Identitätsreaktion auf Sulfat.

4. Schmelztemperatur: 225,5 - 230,5° (korr.) unter Zersetzung, in auf ca. 200° vorgeheiztem Bad unter raschem Aufheizen um 4° pro Minute.

5. Spezifische Drehung: -40 bis -45°, bestimmt mit einer 0,5 %igen Lösung in Pyridin im 2 dm-Rohr.

6. Extinktionskoeffizient:  $E_{1\text{cm}}^{1\%}$  bei 279 m $\mu$  = 92 bis 95, bestimmt mit einer 0,005 %igen Lösung der Substanz in 1 %iger Weinsäure.

7. Papierchromatographische Prüfung: Chromatographierpapier Whatman 1 wird in Streifen von 10 cm Breite und 50 cm Länge geschnitten, so dass die Längsseite quer zur Faserrichtung verläuft. Auf der Startlinie markiert man 2 Startpunkte, a und b, deren Abstand voneinander 3 cm betragen soll. Hierauf wird der Papierstreifen während 10 Minuten in einem dicht verschlossenen Gefäß in eine Mischung von 40 Vol.T. Formamid und 60 Vol.T. Aethanol 94 % vollständig eingetaucht und alsdann, zur Entfernung des überschüssigen Imprägnierungsmittels, zwischen Filtrierpapier leicht ausgepresst und dann während 15 Minuten bei gewöhnlicher Temperatur zum Trocknen aufgehängt.

Das zur absteigenden Papierchromatographie bestimmte, aussen mit schwarzem Papier umkleidete Glasgefäß wird mit einer Kristallisierschale beschickt, welche eine Mischung von je 50 ml Chloroform und Benzol enthalten soll. Die Glaswanne wird mit einer Glasplatte dicht verschlossen und während mindestens 14 Stunden klimatisiert. Auf das so vorbehandelte Papier trägt man folgende frisch bereitete Lösung auf:

"0,1 ml einer 0,1 %igen Lösung von Dihydroergotamin-methansulfonat in einer Mischung gleicher Vol.T. Methylalkohol und Methylenchlorid, streifenförmig, möglichst gleichmässig zwischen den Punkten a und b."

In die Chromatographierküvette werden 100 ml einer Mischung gleicher Vol.T. Chloroform und Benzol gebracht und das Papier in die Küvette eingesetzt. Die Laufzeit beträgt ca. 3 - 4 Stunden.

Wenn die Lösungsmittelfront ca. 35 cm von der Startlinie entfernt ist, nimmt man das Chromatogramm sorgfältig heraus, markiert die Frontlinie mit Bleistift

und trocknet es im Trockenschrank bei ca. 80°, bis keine Dämpfe mehr entweichen. Der getrocknete Papierstreifen wird sodann mittels eines Zerstäubers mit ca. 4 ml Ehrlichs-Reagens gleichmässig besprüht und anschliessend während ca. 5 Minuten im Trockenschrank auf 80° erhitzt. Dann wird sofort der sichtbare blauviolett gefärbte Fleck umfahren.

Das Chromatogramm darf nur den einen, für Dihydroergotamin charakteristischen Fleck vom Rf-Wert ca. 0,13 - 0,21 aufweisen. Weitere blauviolett gefärbte Flecke mit kleineren oder grösseren Rf-Werten dürfen nicht vorhanden sein.

8. Reaktion: pH von S = 4,8 - 5,6.

9. Chlorid: 1 ml S muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

10. Sulfat: 1 ml S muss den Anforderungen der Grenzreaktion a II entsprechen.

11. Kristalllösungsmittel-Gehalt: 2,6 - 3,6 %, bestimmt mit 0,1 g durch Trocknen während 6 Stunden bei 95° im Vakuum über Phosphorpentoxyd.

12. Gehalt: Ca. 10 mg ungetrocknete Substanz (genau gewogen) werden in einem Messkolben von 200 ml Inhalt in ca. 100 ml 1 %iger Weinsäure durch leichtes Erwärmen gelöst und die Lösung nach dem Abkühlen mit 1 %iger Weinsäure bis zur Marke aufgefüllt. 2,00 ml dieser Lösung werden in einem Reagensglas mit Glasstopfen mit 4,00 ml frisch bereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS versetzt, gut durchgemischt und die Mischung 1 Stunde lang im Tageslicht stehen gelassen. Die entstandene blaue Farbe wird in einem geeigneten Spektrophotometer bei einer Wellenlänge von 585 mμ und einer Schichtdicke von 1 cm gemessen, wobei man als Vergleichslösung eine auf gleiche Weise belichtete Mischung von 2,00 ml 1 %iger Weinsäure und 4,00 ml frisch bereitetem Dimethylaminobenzaldehyd RS verwendet.

Entsprechend einem Gehalt von 97,0 - 102,0 %  $\frac{1}{100}$   
 $C_{33}H_{37}O_5N_5 \cdot CH_3SO_3H \cdot \frac{1}{2} C_2H_5OH$  muss  $E_{1cm}^{1\%}$  zwischen 90,4 und 95,0 liegen.

(Bei der Berechnung ist die Konzentration der Lösung vor Zusatz des Reagens' einzusetzen).

Aufbewahrung: Vor Licht geschützt in zugeschmolzenen Ampullen, die in schwarzes Papier eingehüllt sein müssen, an einem kühlen Ort.

Antimikrobielle Behandlung von Lösungen: Keimfiltration.

Maximaldosen: (Vorschlag)

Dosis maxima simplex	4 mg
Dosis maxima pro die	8 mg

Venenum

Gebrauchsdosen (Vorschlag):

Dosis usitata simplex	1 - 2 mg
Dosis usitata pro die	3 - 6 mg
Dosis usitata simplex s. c. aut i. m.	0,5 - 1 mg

Löslichkeit: In kaltem Wasser schwer, in heissem mässig löslich.

Inkompatibilitäten: Alkalien und alkalisch reagierende Stoffe.

Phantasiename: Dihydergot<sup>®</sup>.

#### 4. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden Prüfungsvorschriften für folgende Alkaloidbasen bzw. Alkaloidsalze ausgearbeitet:

Atropinum basicum  
Dihydroergotaminium methansulfonicum  
Ephedrinum basicum  
Ergotaminium tartaricum  
Reserpinum basicum

während die Ph. Helv. V-Artikel

Atropinium sulfuricum  
Ephedrinium chloratum

neu bearbeitet wurden.

Bei unseren Untersuchungen gingen wir so vor, dass wir die in der Literatur beschriebenen qualitativen Prüfungen und quantitativen Bestimmungen einer kritischen Ueberprüfung unterzogen, teilweise modifizierten und diejenigen Verfahren vorschlagen, welche bei genügender Empfindlichkeit, Genauigkeit, Spezifität und Zuverlässigkeit in den Rahmen unseres Arzneibuches passen.

Zur Prüfung auf Identität haben wir neben den konventionellen Methoden die Herstellung von kristallinen Derivaten mit Alkaloidfällungsmitteln und die Bestimmung ihrer Schmelzbereiche, sowie die Papierchromatographie herangezogen.

Als Reinheitskriterien haben wir vor allem die UV-Spektrophotometrie und die Papierchromatographie untersucht. Die Prüfung auf klare und farblose Löslichkeit, die Bestimmung des pH-Wertes, die Grenzprüfung auf fremde Kationen und Anionen, sowie die Prüfung auf konzentrierte Schwefelsäure färbende Verunreinigungen wurden nach den für die Ph. Helv. VI vorgesehenen Bestimmungsmethoden vorgenommen. Zur Bestimmung des Kristallwassergehaltes wurde die Titration nach Karl Fischer angewendet, die wir für Ephedrinum basicum als Methode der Wahl vorschlagen.

Zur Gehaltsbestimmung haben wir für alle Substanzen die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl vorgenommen und die Erfahrungen mit der für die Ph. Helv. VI vorgeschlagenen Apparatur zusammengestellt. Genannte Methode wird zur Bestimmung von Atropinium sulfuricum in Aussicht genommen. Die

Titration in wasserfreiem Milieu, die sich für die Mehrzahl der untersuchten Substanzen als geeignet erwies, bringen wir für Ephedrinum chloratum, Ergotaminium tartaricum und Reserpinum basicum in Vorschlag. Von den überprüften kolorimetrischen Verfahren hat sich die Blauwert-Bestimmung nach van Urk als für Pharmakopöe-Zwecke geeignet erwiesen und wird daher zur Gehaltsbestimmung von Dihydroergotaminium methansulfonicum empfohlen. Die quantitativen Messungen im ultravioletten Licht, die wir für Dihydroergotaminium methansulfonicum, Ergotaminium tartaricum und Reserpinum basicum durchgeführt haben, lassen sich ebenfalls zur Gehaltsbestimmung der genannten Substanzen heranziehen.

Für alle untersuchten Substanzen wurde ein Pharmakopöe-Monographievorschlag nach den für die Ph. Helv. VI vorgesehenen neuen redaktionellen Normen redigiert.

## 5. LITERATURZUSAMMENSTELLUNG

- (1) G. Wittig et al., Liebigs Ann.Chem. 563, 114 (1949); 573, 195 (1951).
- (2) O. Aklin und J. Dürst, Pharm.Acta Helv. 31, 457 (1956).
- (3) O. Aklin, "Dosages gravimétriques et volumétriques des alcaloïdes de l'opium et dérivés par le tétraphényl-borate de sodium" (Diss. Strasbourg, 1957).
- (4) W. Poethke und M. Hädicke, Pharm.Zhalle 91, 384 (1952).
- (5) H.T. Liem, "Ueber die Reinheitsprüfung offizineller Alkaloïde" (Diss.ETH, Zürich, 1928).
- (6) L. Mittelmann und S. Mayer, Pharm.Acta Helv. 36, 153 (1961).
- (7) W. Kerstan, Pharmazie 12, 711 (1957).
- (8) W. Rüdorff und H. Zannier, Z. anal.Chem. 137, 1-5 (1952).
- (9) O.E. Schultz und H. Goerner, Dtsch.Apoth. Ztg. 93, 585 (1953).
- (10) W. Rüdorff und H. Zannier, Angew.Chem. 66, 638 (1954).
- (11) H. Vogt, Pharm. Zhalle 90, 3 (1951).
- (12) J.N. Brönsted, Ber.dtsch.chem.Ges. 61, 2049 (1928).
- (13) S.R. Rösli, Ueber die Identitäts-, Reinheitsprüfung und Gehaltsbestimmung einiger Antihistaminika und Neuroplegika (Diss. ETH, Zürich, 1957).
- (14) W. Will, Ber.dtsch.chem.Ges. 21, 1717 (1888).
- (15) J. Gadamer, Arch.Pharm. 239, 294 (1901).
- (16) F. Chemnitius, J.Prakt.Chem. 116, 276 (1927).
- (17) M. Barrowcliff and F. Tutin, J.chem.Soc. 95, 1966 (1909).
- (18) Remington's Practice of Pharmacie 11<sup>th</sup> Ed., 893 (1956).
- (19) KOMM. DAB 6, Bd. I, 286-287 (1927); F. Ullmann, Enzykl.d.techn. Chemie, Bd.I, 251 (1914).
- (20) G. Cohn, Pharm. Zhalle 51, 369 (1910).
- (21) Buchler & Co., Dtsch.Apoth. Ztg. 20, 47 (1905).
- (22) R. Robinson, J.chem.Soc. 111, 762 (1917).
- (23) W.E. Scott und H.M. Doukas, J.amer.pharm.Ass. (Sci.Ed.) 45, 568 (1956).
- (24) W.C. Evans und M.W. Partridge, Quart.J.Pharm.Pharmacol. 21, 132 (1948).
- (25) H. King, J.chem.Soc.115, 478 (1919).
- (26) F. Carr und W. Reynolds, J.chem.Soc. 101, 950 (1912).

- (27) H. Mühlemann und A. Bürgin, Qual.Arzneimittelanalyse, Verlag Reinhardt AG, Basel, 1951, 215 - 217.
- (28) J. Gadamer, Arch. Pharm. 239, 307 (1901).
- (29) H. Schumacher, "Die Reinheitsprüfung officineller Alkaloide mit Hilfe der Papierchromatographie" (Diss. ETH, Zürich, 1958).
- (30) E. Taigner, Z. anal. Chemie 58, 346 (1919).
- (31) N.L. Allport und E.S. Wilson, Quart. J. Pharm. Pharmacol. 12, 399 (1939).
- (32) A. Romeicke, Pharm. Zhalle 91, 80 (1952).
- (33) O.E. Schultz und G. Mayer, Dtsch. Apoth. Ztg. 92, 358 (1952).
- (34) J.M. Kolthoff, Die Massanalyse, Bd. II, 9 (1928).
- (35) W. Rüdorff und H. Zannier, Z. anal. Chem. 140, 241 (1953).
- (36) H. Böhme und H. Lampe, Arch. Pharm. 285, 182 (1952).
- (37) H. Böhme und H. Lampe, Arch. Pharm. 284, 233 (1951); 285, 180 (1952).
- (38) F. Chemnitius, J. für prakt. Chemie, 116, 282 (1927).
- (39) E. Merck, Bericht über das Jahr 1900, p. 22.
- (40) Brit. Pharm. Codex 1954, p. 273.
- (41) A.L. Chen, E.H. Stuart, and K.K. Chen, J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.) 20, 339 (1931).
- (42) O. Wolfes, Arch. Pharm. 268, 327 (1930).
- (43) T.Q. Chou, J. biol. Chem. 70, 109 (1926).
- (44) K.K. Chen, J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.) 14, 191 (1925).
- (45) E. Fourneau, F. Pat. 659, 882.
- (46) R.H.F. Manske und T.B. Johnson, J. amer. chem. Soc. 51, 580, 1906 (1929).
- (47) C. Neuberg et al., Biochem. Z. 115, 282 (1921); 128, 610 (1922).
- (48) F.B. Bandelin, J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.) 39, 493 (1950).
- (49) W. Keller und F. Weiss, Pharmazie 12, 19 (1957).
- (50) W.E. Scott, H.M. Doukas, P.S. Schaefer, J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.) 45, 568 (1956).
- (51) R. Fischer und M.S. Karawia, Mikrochim. Acta p. 366 (1953).
- (52) Pharm. Zhalle. Referat, p. 187 (1931).
- (53) R. Pohloudek-Fabini und K. König, Pharmazie 13, 131 (1958).
- (54) T. Kariyone und Y. Hashimoto, Nature 168, 739 (1951).
- (55) A. Wickstrøm und B. Salvesson, J. Pharm. Pharmacol. 4, 631 (1952).

- (56) G. Wagner, *Scientia pharm.* 23, 148 (1955).
- (57) A. Alessandro und C.M. Caldarera, *Boll.chim.farm.* 93, 404 (1954).
- (58) J.M. Kolthoff, *Der Gebrauch der Farbindikatoren*, Verlag Springer & Co., Berlin, p. 148 (1925).
- (59) *The Merck Index*, 6<sup>th</sup> Edition, (1952).
- (60) R.H.F. Manske und H.L. Holmes, *The Alkaloids*, Vol. III, p. 344-345 (1953).
- (61) P. Lebeau und M.-M. Janot, *Traité de Pharmacie chimique*, III, p. 1387 ff. (1955).
- (62) *Merck's Berichte über das Jahr 1916*, p. 45.
- (63) B.E. Read, *Chinese Med. J.* 51, 69 (1937).
- (64) E.E. Moore and D.L. Tabern, *J.amer.pharm.ass. (sci.Ed.)* 24, 211 (1935).
- (65) A. Wickstrøm und B. Salveson, *Medd.Norsk.farmaceut.Selsk.* 14, 97 (1952).
- (66) L.G. Chatten and L.I. Pugsley, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 41, 108 (1952).
- (67) R. Rosin, G.K. Eger and H. Mack, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 30, 275 (1941).
- (68) F. v. Bruchhausen und W. Küssner, *Dtsch.Apoth.Ztg.* 95, 181 (1955).
- (69) W. Keller und F. Weiss, *Pharmazie* 12, 462 (1957).
- (70) R. Pohlloudek-Fabini und K. König, *Pharmazie*, 13, 752 (1958).
- (71) C.W. Pifer and E.G. Wollish, *Analyt.Chem.* 24, 300 (1952).
- (72) *Brit.Pharm.Cod.* 1959, p. 648.
- (73) J.M. Müller, E. Schlittler und H.J. Bein, *Experientia* 8, 338 (1952).
- (74) R.B. Woodward, F.E. Bader, H. Bickel, A.J. Frey and R.W. Kierstead, *J.amer.chem.Soc.* 78, 2023, 2657 (1956).
- (75) *Brit.Pharm.Cod.* 1959, p. 649.
- (76) C.F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim, *Prüfungsvorschrift vom 1.4.1960*.
- (77) dott. Inverni & Della Beffa S.p.A., Milano, *Prüfungsvorschrift für Reserpina IdB*.
- (78) L. Dorfmann, A. Furlenmeier, C.F. Huebner, R. Lucas, H.B. Mac Phillamy, J.M. Müller, E. Schlittler, R. Schwyzer und A.F.ST. André, *Helv.chim.Acta* 37, 59 (1954).

- (79) L. Hörhammer, R. Hänsel und S.B. Rao, *Naturwissenschaften* 39, 553 (1952).
- (80) D.S. Rao and S.B. Rao, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 44, 253 (1955).
- (81) R. Paris und G. Dillemann, *Ann. pharm. franc.* 15, 310 (1957).
- (82) H. Kaneko, *J. pharm. Soc. Japan* 78, 512 (1958); *ref. Z. anal. Chem.* 167, 399 (1959).
- (83) W.H. McMullen, H.J. Pazdera, S.R. Missan, L.L. Ciaccio and T.C.J. Grenfell, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 44, 446 (1955).
- (84) S. Ljungberg, *Svensk Farm. T.* 61, 305 (1957).
- (85) R.J. Boscott and A.B. Karr, *Nature, London*, 176, 1077 (1955).
- (86) F. Machovičová, *Českoslav. Farmac.* 6, 310 (1957); *ref. Z. anal. Chem.* 161, 239 (1958).
- (87) F. Machovičová, V. Parrak, O. Liskova und J. Ruzickova, *Českoslav. Farmac.* 6, 584 (1957); *ref. Z. anal. Chem.* 163, 236 (1958).
- (88) A.F. St. André, B.P. Korzum and F.J. Weinfeldt, *J. org. Chem.* 21, 480 (1956).
- (89) B.P. Korzum, A.F. St. André and P.R. Ulshafer, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 46, 720 (1957).
- (90) F.A. Hochstein, K. Murai and W.H. Bögemann, *J. amer. chem. Soc.* 77, 3551 (1955).
- (91) D. Banes, J. Carol, and J. Wolff, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 44, 640 (1955).
- (92) J. Carol, D. Banes, J. Wolff and H.O. Fallscheer, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 45, 200 (1956).
- (93) F. Kaiser und A. Popelak, *Chem. Ber.* 92, 278 (1959).
- (94) J. Bayer, *Pharmazie* 13, 468 (1958).
- (95) D. Banes, J. Wolff, H.O. Fallscheer and J. Carol, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 45, 710 (1956).
- (96) F.L. Weissenborn and P.A. Diassi, *J. amer. chem. Soc.* 78, 2022 (1956).
- (97) K.G. Krebs und N. Futscher, *Dtsch. Apoth. Ztg.* 98, 1341 (1958).
- (98) K.G. Krebs und N. Futscher, *Arzneim.-Forsch.* 10, 75 (1960).
- (99) M. Langejan und H.F.L. Liefferink, *Pharm. WBL.* 91, 847 (1956).
- (100) S. Ljungberg, *Svensk Farm. T.* 62, 693 (1958).
- (101) A.F. Leyden, E. Pomerantz and E.F. Bouchard, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 45, 771 (1956).

- (102) E. Kahane und M. Kahane, *Ann.pharm.franc.* 16, 726 (1958).
- (103) O. Weis-Fogh, *Pharm.Acta Helv.* 35, 442 (1960).
- (104) F. Schlemmer und E. Link, *Pharm.Ztg.* 104, 646, 1349 (1959).
- (105) S.B. Penick & Company, New York 8, Mitteilung vom 12.1.1961.
- (106) E.H. Sakal and E.J. Merrill, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 43, 709 (1954).
- (107) R.E. Booth, *J.Amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 44, 568 (1955).
- (108) H. Wunderlich, *Pharm.Zhalle* 96, 68 (1957).
- (109) C.R. Szalkowski and W.J. Mader, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 45, 613 (1956).
- (110) D. Banes, J. Wolff, H. O. Fallscheer and J. Carol, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 45, 708 (1956).
- (111) E.B. Dechene, *J.amer.pharm.Ass. (sci.Ed.)* 44, 657 (1955).
- (112) W.A. Mannel and M.G. Allmark, *Drug.Stand.* 24, 6 (1956).
- (113) M. v. Bekesy, *Chem.Abstr.* 34, 4525 (1940).
- (114) Schw. Pat. 79 879 (1920), 86 321 (1920); D.R.P. 357 272 (1922).
- (115) A. Stoll, *Helv.chim.Acta* 28, 1283 (1945).
- (116) E.C. Kornfeld et al., *J.amer.chem.Soc.* 76, 5256 (1954).
- (117) A. Hofmann et al., *Experientia* 17, 206 (1961).
- (118) P.W. Butz, "Ueber die Prüfung und Gehaltsbestimmung einiger stickstoffhaltiger Arzneimittel" (Diss. ETH, Zürich, 1942).
- (119) H.W. Van Urk, *Pharm.Wbl.* 66, 473 (1929)
- (120) N.L. Allport und T. T. Cocking, *Quart.J.Pharm.Pharmacol.* 5, 341 (1932).
- (121) G.E. Foster, J. Macdonald und T.S. Jones, *J.Pharm.Pharmacol.* 1, 802 (1949).
- (122) W. Soffel und H. Rochelmeyer, *Pharm.Ztg.* 101, 1059 (1956).
- (123) K. Macek, M. Semonsky, S. Vanecek, V. Zikan und A. Cerny, *Pharmazie* 9, 752 (1954).
- (124) J.E. Carless und H.B. Woodhead, *Nature* 168, 203 (1951).
- (125) H. Brindle, J.E. Carless und H.B. Woodhead, *J.Pharm.Pharmacol.* 3, 793 (1951).
- (126) A.M. Berg, *Pharm.Wbl.* 87, 282 (1952).
- (127) E. Thielman, W. Lang und H. Kaiser, *Arch.Pharm.* 286, 379 (1953).

- (128) L. Fuchs und M. Pöhm, *Scientia pharm.* 19, 232 (1951).
- (129) V.E. Tyler und A.E. Schwarting, *J. amer. pharm. Ass. (sci. Ed.)* 41, 354 (1952).
- (130) T.C. Mac Ilvaine, *J. Biol. chem.* 49, 183 (1921).
- (131) A. Stoll und A. Rügger, *Helv. chim. Acta* 37, 1725 (1954).
- (132) Sandoz AG, Prüfungsvorschrift für Ergotamintartrat vom Okt. 1961.
- (133) R. Schindler und A. Bürgin, *Helv. chim. Acta* 39, 2132 (1956).
- (134) M. Pöhm und L. Fuchs, *Naturwissenschaften* 41, 63 (1954).
- (135) K. Macek, A. Cerny und M. Semonsky, *Pharmazie* 9, 388 (1954).
- (136) K. Macek und S. Vanecek, *Pharmazie* 10, 422 (1955).
- (137) J. Kolsek, *Microchim. Acta (Wien)* 1377 (1956).
- (138) J. Büchi, A. Kapoor, H. Schumacher, *Pharm. Acta Helv.* 32, 411 (1957).
- (139) J. Kolsek, *Microchim. Acta (Wien)* 1663, 1679 (1956).
- (140) K. Macek, *Pharmazie*, 9, 420 (1954).
- (141) J. Tuzson und G. Vastagh, *Pharm. Acta Helv.* 29, 118, (1954).
- (142) L. Hörhammer und K.W. Leue, *Arch. Pharm.* 288, 377 (1955).
- (143) K. Macek, J. Hacaperkova, B. Kakac, *Pharmazie* 11, 533 (1956).
- (144) R. Voigt, *Scientia pharm.* 26, 83 (1958).
- (145) R. Voigt, F. Weiss, *Pharmazie* 13, 212, 319, 364 (1958).
- (146) K.H. Renneberg, G.L. Szendey, *Arch. Pharm.* 291, 407 (1958).
- (147) Sandoz AG., Basel, Prüfungsvorschlag für Ergotamintartrat vom 18.11. 1957.
- (148) A. Stoll und W. Schlientz, *Helv. chim. Acta* 38, 585 (1955).
- (149) J. Bayer, *Pharm. Zhalle* 99, 478 (1960).
- (150) *Brit. Ph.* 1958, Reagenzienliste p. 756.
- (151) A. Stoll und A. Hofmann, *Helv. chim. Acta* 26, 2070 (1943).
- (152) H. Rochelmeyer, E. Stahl und A. Patani, *Arch. Pharm.* 291, 1 (1958).
- (153) *The Merck Index* 7<sup>th</sup> Edition (1960).
- (154) DAK Praeparater (Danmarks Apotekerforening og Codex Medicamentarius Scandinavicus, Dansk udgave) Vorschrift vom 25.5.1957.

## CURRICULUM VITAE

Am 19. August 1929 wurde ich als Tochter des Emil Reiffer und der Martha, geb. Schmidt, in Langensalza, Deutschland, geboren. Dasselbst besuchte ich die Elementarschule und hierauf die Kantonsschule in Winterthur, wo ich im Herbst 1950 mit der Maturität, Typus B, abschloss. Anschliessend absolvierte ich den naturwissenschaftlichen Teil des Pharmaziestudiums an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich. Die Praktikantenzeit sowie das Assistentenjahr, welches der praktischen Prüfung im Frühjahr 1954 folgte, verbrachte ich in drei öffentlichen Apotheken in Winterthur. Im Frühjahr 1955 nahm ich den fachwissenschaftlichen Teil des Studiums an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich auf und schloss im April 1957 mit dem Staatsexamen ab. Im November desselben Jahres begann ich unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. J. Büchi mit der vorliegenden Promotionsarbeit. Die Vorbereitungen zur Eröffnung einer Offizin in Rümlang ZH, sowie deren Leitung nahm mich seit 1961 sehr in Anspruch, so dass sich der endgültige Abschluss meiner Promotionsarbeit bis zum Sommer 1964 verzögerte.