

Wiederholungsklausur „Arzneistoffanalytik unter besonderer Berücksichtigung der  
Arzneibücher (Qualitätskontrolle und -sicherung bei Arzneistoffen)“

6. Fachsemester

SoSe 2015

12.10.2015

**Name** (in Druckbuchstaben): \_\_\_\_\_

Zeit zum Bearbeiten: 90 min

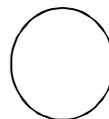
Maximalpunktzahl: 43

Zum Bestehen erforderliche  
Punktzahl: 21,5

► Hinweis: Bitte schreiben Sie leserlich und beschränken Sie sich auf das Wesentliche.  
Unerlaubte Informationsbeschaffung („Abschreiben“ von fremden Klausuren, Hinweiszettel o.ä.)  
während der Klausur hat sofortigen Ausschluss und Nichtbestehen zur Folge.

Ich habe den Hinweis gelesen und bin  
prüfungsfähig.

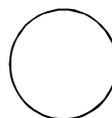
\_\_\_\_\_  
Unterschrift



bestanden

**erreichte Punktzahl:**

\_\_\_\_\_



nicht bestanden

1. Arzneibuch

a. Aus welchen drei Teilen besteht das Arzneibuch?

2 P

b. Wer bestimmt, welche Monographien erstellt werden sollen und verabschiedet die endgültigen Texte?

2. Reinheitsprüfungen

3 P

a. Definieren Sie Esterzahl (EZ), Säurezahl (SZ) und Verseifungszahl (VZ).

b. Wie berechnet man die Esterzahl (EZ)?

c. Welcher Arzneistoff aus dem Praktikum wird mit einer vergleichbaren Methode (EZ) quantifiziert? Skizzieren Sie die Reaktionen.

3. Zur Gehaltsbestimmung von Glycerol wird eine Methode analog zum Sorbitol durchgeführt:  
4 P

*„75 mg Substanz werden gründlich mit 45 ml Wasser R gemischt. Die Mischung wird mit 25,0 ml einer Mischung von 1 Volumenteil Schwefelsäure ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) und 20 Volumenteilen Natriumperiodat-Lösung ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) versetzt und 15 Minuten lang unter Lichtschutz stehen gelassen. Nach Zusatz von 5,0 ml einer Lösung von Ethylenglycol R ( $500 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) wird diese Mischung 20 Minuten lang unter Lichtschutz stehen gelassen und mit Natriumhydroxid-Lösung ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) unter Zusatz von 0,5 ml Phenolphthalein-Lösung R titriert.“*

- a. Wie heißt die Reaktion? Skizzieren Sie die Reaktionsgleichung und benennen Sie die Produkte. Wie viele Äquivalente der Produkte entstehen jeweils?

- b. Warum wird Ethylenglycol zugesetzt?

- c. Wieviel mg Glycerol ( $\text{MW}: 92,09 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) entsprechen 1 ml Natriumhydroxid-Lösung ( $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ )?

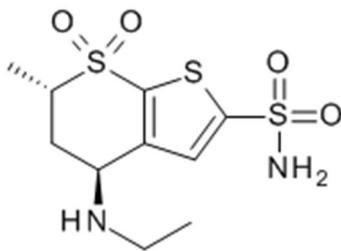
4. Validierung

4 P

a. Definieren Sie kurz die Validierungsparameter Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze.

b. Müssen die beiden Validierungsparameter Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze bei einer Grenzprüfung auf Verunreinigungen bestimmt werden? Begründen Sie kurz Ihre Antwort.

5. Nachfolgend sehen Sie die Struktur des Carboanhydratase-Inhibitors Dorzolamid, der offiziell als Hydrochlorid Verwendung findet: 5 P

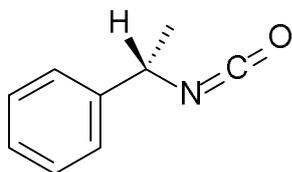


Die Gehaltsbestimmung für Dorzolamid-Hydrochlorid nach Ph.Eur. 7 läuft dabei folgendermaßen ab:

*„0,150 g Substanz, in einer Mischung von 5,0 ml Salzsäure (0,01 mol/l) und 50 ml Ethanol 96% R, falls erforderlich im Ultraschallbad gelöst, werden mit Natriumhydroxid-Lösung (0,1 mol/l) titriert.“*

- a. Nach welchem allgemeinen Verfahren erfolgt hierbei die quantitative Bestimmung des Arzneistoffs und wozu dient die Zugabe von 5 ml der verdünnten Salzsäure zu Beginn der Titration?
- b. Wie viele Wendepunkte ergeben sich bei dieser potentiometrischen Gehaltsbestimmungsmethode bezogen auf den vorliegenden Arzneistoff und wie viel mg Arzneistoff (MW Dorzolamid\*HCl = 360,9 g/mol) entsprechen einem Verbrauch von 1 mL Maßlösung?
- c. Bei den Reinheitsprüfungen wird unter anderem auf die Anwesenheit des *R,R*-Enantiomers von Dorzolamid geprüft, da pharmazeutisch ausschließlich das *S,S*-Enantiomer eingesetzt wird. Hierzu wird eine HPLC-Methode an einer achiralen Kieselgelsäule verwendet, bei der dennoch beide Enantiomere durch den folgenden Ablauf getrennt werden können:

*„Untersuchungslösung: In einem Zentrifugenröhrchen werden 20,0 mg Substanz in 4 ml verdünnter Ammoniak-Lösung R 4 gelöst. Die Lösung wird mit 4 ml Ethylacetat R versetzt und gemischt. Die organische Phase wird abgetrennt und in ein weiteres Zentrifugenröhrchen überführt. Die wässrige Phase wird mit 4 ml Ethylacetat R versetzt und gemischt. Die organische Phase wird abgetrennt und mit dem ersten Auszug vereinigt. Die vereinigten organischen Phasen werden im Wasserbad von 50 °C in einem Strom von Stickstoff R zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 3 ml Acetonitril R gelöst. Die Lösung wird mit 0,06 ml (*S*)-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylisocyanat R versetzt, 5 min lang im Wasserbad von 50 °C erhitzt und anschließend im Wasserbad von 50 °C in einem Strom von Stickstoff R zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 10 ml Lösungsmittelmischung gelöst.“*



(*S*)-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylisocyanat

Was passiert mit den beiden Enantiomeren auf Zusatz von Ammoniak-Lösung? Offensichtlich reagiert Dorzolamid bzw. sein Enantiomer mit dem zugesetzten Isocyanat. Formulieren Sie die zugehörige Reaktionsgleichung dafür. Wieso können nun beide Substanzen auf der achiralen Säule getrennt werden?

6. Zur Aminosäure Alanin:

4 P

a. Für Alanin ist u.a die folgende Identitätsprüfung möglich:

*„0,5 g Substanz werden in einer Mischung von 1 ml Wasser R, 0,5 ml einer Lösung von Natriumnitrit R (100 g · l<sup>-1</sup>) und 0,25 ml Salzsäure R 1 gelöst. Die Lösung wird geschüttelt, wobei ein Gas entweicht. Nach Zusatz von 2 ml verdünnter Natriumhydroxid-Lösung R und anschließend 0,25 ml Iod-Lösung R bildet sich nach etwa 30 min ein gelber Niederschlag mit charakteristischem Geruch.“*

Formulieren Sie anhand von Reaktionsgleichungen den Reaktionsverlauf? Welche Substanz ergibt den gelben Niederschlag?

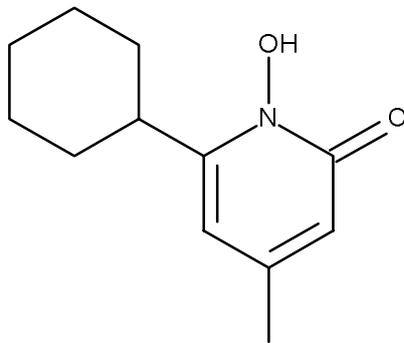
- b. Im Praktikum sind bei dem Arzneistoff  $\epsilon$ -Aminocapronsäure verschiedene Reinheitsprüfungen vorgesehen. Mit der DC-Prüfung sollten Sie z.B. testen, ob zusätzlich Lysin in der Analyse enthalten ist.

Stellen Sie sich nun vor, dass Ihre Analyse von  $\epsilon$ -Aminocapronsäure mit Alanin verunreinigt ist. Sie wiegen für eine Gehaltsbestimmung in wasserfreiem Medium mit 0,1 M Perchlorsäure exakt 0,100 g Analyse ein. Neben anderen Verunreinigungen sind darin 92 mg  $\epsilon$ -Aminocapronsäure und 4 mg Alanin enthalten.

Wie viel mL 0,1 M Perchlorsäure verbrauchen Sie ( $M_r$   $\epsilon$ -Aminocapronsäure = 131,2 g/mol und  $M_r$  Alanin = 89,1 g/mol)?

7. Ciclopirox ist ein Antimykotikum mit folgender Struktur:

4 P



- a. Laut Ph.Eur. 7 ist eine Schwermetall-Grenzprüfung nach Methode C gefordert. Was geschieht prinzipiell (keine Versuchsvorschrift nötig!) bei der Grenzprüfung C mit dem Arzneistoff? Warum ist dieses Vorgehen bei Ciclopirox notwendig? Skizzieren Sie dafür anhand der Struktur, was z.B. bei der Anwesenheit von Eisen als Verunreinigung entsteht.

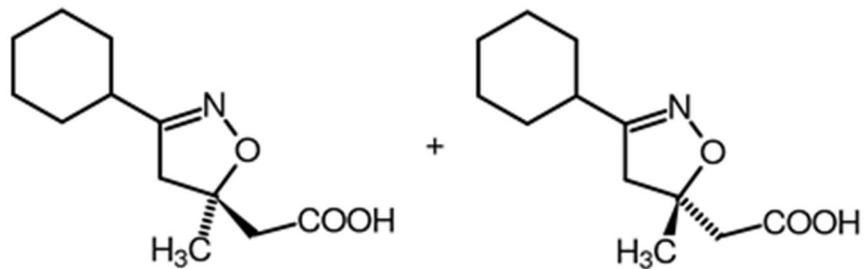
- b. Per HPLC wird in derselben Monographie auf bestimmte spezifizierte Verunreinigungen geprüft.

Lösungsmittel: Acetonitril

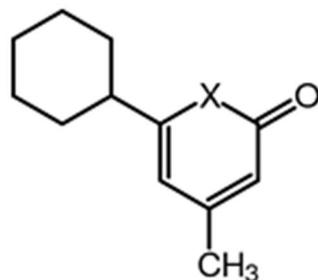
Stationäre Phase: cyanopropylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R2 (5 µm)

Mobile Phase: 0,1 mL Essigsäure 99% R, 230 mL Acetonitril, 770 mL Natriumedetat-Lösung (0,96 g/L)

Mögliche Verunreinigungen:



A. (RS)-2-(3-Cyclohexyl-5-methyl-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)essigsäure



B. X = O:  
6-Cyclohexyl-4-methyl-2H-pyran-2-on

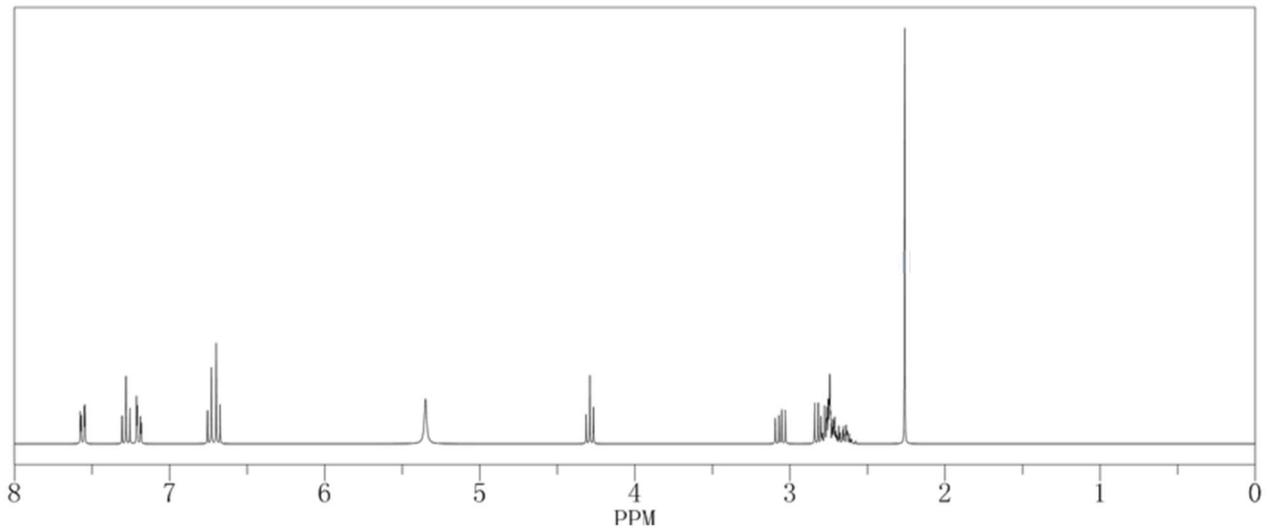
C. X = NH:  
6-Cyclohexyl-4-methylpyridin-2(1H)-on

Warum wird der mobilen Phase eine relativ große Menge Natriumedetat zugegeben? Um was für ein Säulenmaterial (Polarität) handelt es sich prinzipiell? Ordnen Sie Ciclopirox und seine spezifizierten Verunreinigungen ihren relativen Retentionszeiten zu. Setzen Sie dabei die zuerst eluierte Substanz auf Position 1.

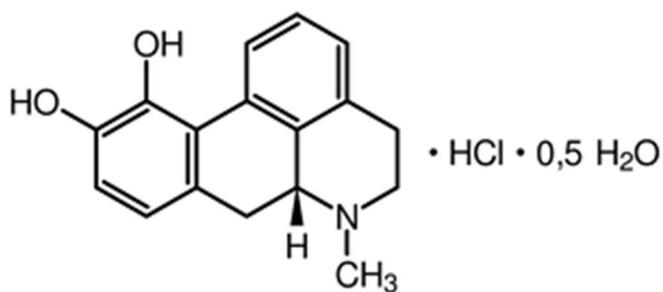


8. Nachfolgend ist das  $^1\text{H-NMR}$  Spektrum von Apomorphin-HCl abgebildet.

6,5P



a. Ordnen Sie die Signale zu (eindeutige Markierungen im Molekül).



7,2-7,6 ppm, m, 3H

6,7 ppm, m, 2H

5,35 ppm, s, 2H

4,29 ppm, t, 1H

3,1 ppm, t, 2H

2,6-2,8 ppm, m, 4H

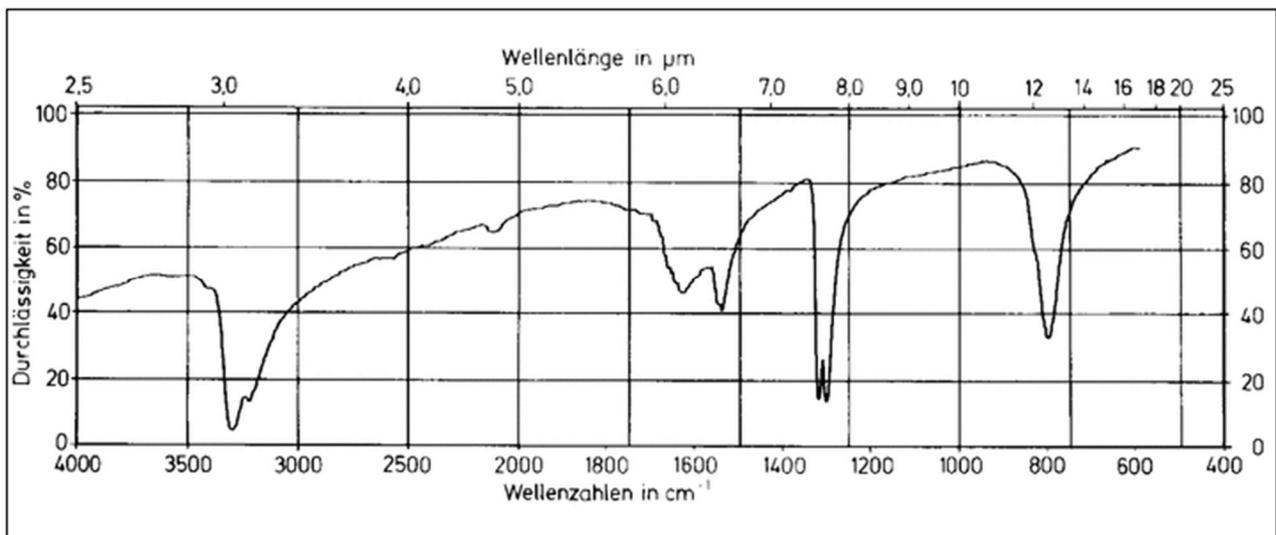
2,26 ppm, s, 3H

b. Skizzieren Sie die Identitätsreaktion von Apomorphin-HCl nach Pellagri (s.u.). Begründen Sie unter Nennung des relevanten Strukturelements die Zugabe von Mannit, Thioharnstoff oder Sulfid zu wässrigen Apomorphin-Lösungen.

*„5 ml Prüflösung (siehe „Prüfung auf Reinheit“) werden mit einigen Millilitern Natriumhydrogen-carbonat-Lösung R versetzt, bis ein bleibender, weißer Niederschlag entsteht. Der Niederschlag färbt sich allmählich grünlich. Wird die Mischung mit 0,25 ml Iod-Lösung (0,05 mol · l<sup>-1</sup>) versetzt und geschüttelt, färbt sich der Niederschlag graugrün. Der abfiltrierte Niederschlag löst sich in Dichlormethan R mit violettblauer Farbe und in Ethanol 96 % R mit blauer Farbe.“*

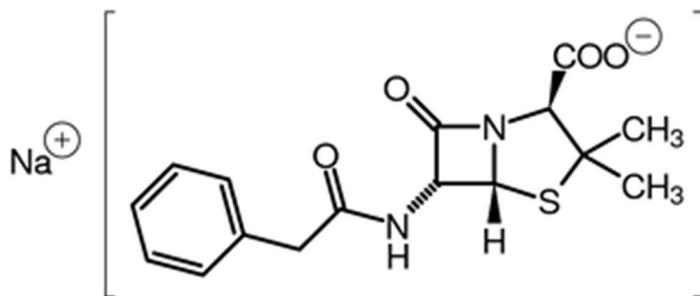
9. IR

1,5P



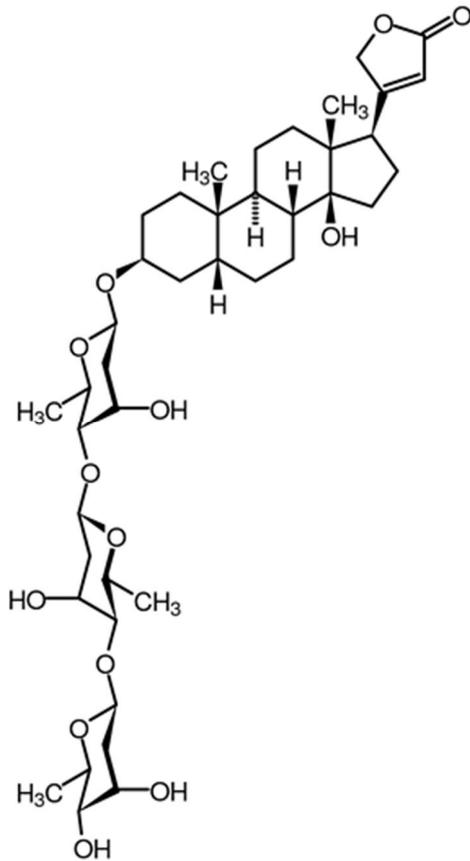
a. Wasser, Acetylsalicylsäure, Benzylpenicillin, Natriumchlorid oder Cisplatin - Welche der Substanzen ergibt das dargestellte IR-Spektrum?

b. Skizzieren Sie die Identitätsreaktion von Benzylpenicillin nach USP mit Hydroxylamin und  $\text{FeCl}_3$ .



10. Gehaltsbestimmung Digitoxin

5 P



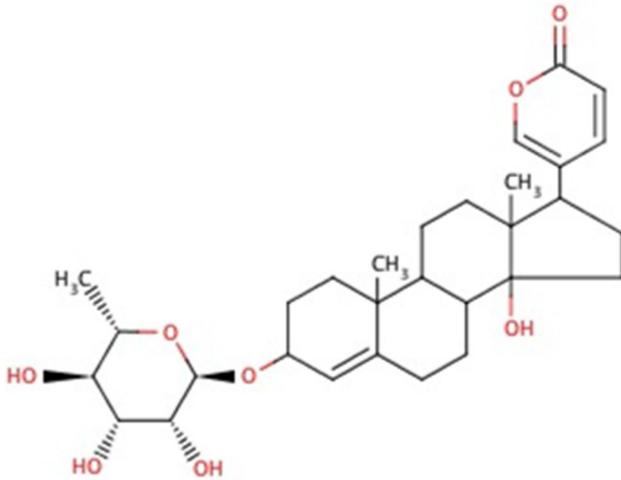
„40,0 mg Substanz werden in Ethanol 96 % R zu 50,0 ml gelöst. 5,0 ml Lösung werden mit Ethanol 96 % R zu 100,0 ml verdünnt. Unter gleichen Bedingungen wird eine Referenzlösung mit 40,0 mg Digitoxin CRS hergestellt. Je 5,0 ml beider Lösungen werden mit 3,0 ml alkalischer Natriumpikrat-Lösung R [Anm.: Pikrinsäure = 2,4,6-Trinitrophenol] versetzt und 30 min lang vor direkter Lichteinwirkung geschützt aufbewahrt. Die Absorption (2.2.25) der beiden Lösungen wird im Maximum bei 495 nm gegen eine gleichzeitig hergestellte Kompensationsflüssigkeit gemessen, die aus einer Mischung von 5,0 ml Ethanol 96 % R und 3,0 ml alkalischer Natriumpikrat-Lösung R besteht.“

Der Gehalt an  $C_{41}H_{64}O_{13}$  wird mit Hilfe der gemessenen Absorptionen und der Konzentrationen der Lösungen berechnet.

a. Skizzieren Sie die Reaktion zur Gehaltsbestimmung von Digitoxin nach obenstehender Vorschrift und benennen Sie die Produkte.

b. Warum wird Digitoxin nicht direkt photometrisch bestimmt?

c. Wäre die genannte Methode auch bei Bufadienoliden, wie z. B. Proscillaridin (s. Abb.) anwendbar? Begründen Sie Ihre Antwort.



d. Was ist bei der Handhabung von Pikrinsäure zu beachten?

11. Identitätsbestimmung von Citrat.

4 P

„Die Lösung einer Menge Substanz, die etwa 50 mg Citronensäure entspricht, in 5 ml Wasser R oder 5 ml der vorgeschriebenen Lösung werden verwendet. Die Lösung wird mit 0,5 ml Schwefelsäure R und 1 ml Kaliumpermanganat-Lösung R versetzt und so lange erwärmt, bis die Färbung des Permanganats verschwunden ist. Nach Zusatz von 0,5 ml einer Lösung von Nitroprussidnatrium R [Anm.:  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$ ] ( $100 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) in verdünnter Schwefelsäure R und 4 g Sulfaminsäure R wird tropfenweise konzentrierte Ammoniak-Lösung R zugesetzt, bis die Sulfaminsäure gelöst ist. Der Überschuss an Ammoniak-Lösung bewirkt eine Violettfärbung, die in Violettblau übergeht.“

a. Skizzieren und benennen Sie die ablaufende Reaktionen

b. Zitronensäure besitzt folgende pKs-Werte:  $pK_{s1}$  3,13,  $pK_{s2}$  4,76,  $pK_{s3}$  6,4.

Die molare Masse beträgt 192,13 g/mol (Zitronensäure), 214,11 g/mol (Mononatriumcitrat), 263,11 g/mol (Dinatriumcitrat  $\times 1,5 H_2O$ ) und 258,07 g/mol (Trinatriumcitrat).

Welchen pH-Wert hat eine Puffer-Lösung von 100 ml, welche 38,426 mg Zitronensäure und 42,822 mg Mononatriumcitrat enthält?