

!!! NEUE ÖAB-MONOGRAPHIE !!!

Die folgende revidierte Monographie ist für die Aufnahme in das ÖAB (Österreichisches Arzneibuch) vorgesehen. Stellungnahmen sind bis zum 15. September 2008 an folgende Adresse zu schicken (bevorzugt als e-mail):

Dr. Mag. Pharm Martin Punzengruber
Laboratorium der österr. Apothekerkammer
Spitalgasse 31
1090 Wien

Email: martin.punzengruber@aptheker.or.at

Vorwort: _____

Nachstehende Monographie des ÖAB wurde dem Stand der Wissenschaft wie folgt angeglichen:

- Die Prüfung auf Identität wird in zwei Identifikationsreihen geteilt:
Die „industriegerechte“ Methode basiert auf der Identifikation mittels Flüssigkeitschromatographie im Rahmen der Prüfung auf „verwandte Substanzen“.
Als „apothekengerechte“ Methode wird eine dünnschichtchromatographische Identifikation vorgeschlagen.
- Die Prüfung auf „verwandte Substanzen“ mittels Flüssigkeitschromatographie ermöglicht die selektive Bestimmung der potentiellen Verunreinigungen. Die Spezifikation der Grenzwerte wird gemäß Ph.Eur.5.5 / „Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung“ festgelegt.
- Die weiteren Reinheitsprüfungen werden vom DAC übernommen, da sie methodisch mit Ph.Eur. harmonisiert sind.

Die nicht mehr zeitgemäße gravimetrische Gehaltsbestimmung des ÖAB von Coffein wird durch eine präzisere maßanalytische Methode gemäß DAC ersetzt.

ÖAB 2008/014

Coffeincitrat **Coffeini citras** **Synonym: Coffeinum citricum**

Definition

Coffeincitrat besteht aus einem Gemisch von Coffein ($C_8H_{10}N_4O_2$; M_r : 194,2) und wasserfreier Citronensäure ($C_6H_8O_7$; M_r : 192,1). Die Substanz enthält mindestens 49,0 und höchstens 52,0 Prozent Coffein sowie mindestens 48,0 und höchstens 51,0 Prozent wasserfreie Citronensäure, berechnet auf die wasserfreie Substanz.

Eigenschaften

Aussehen: weißes Pulver.

Löslichkeit: Coffeincitrat löst sich in etwa 32 Teilen Wasser, in etwa 20 Teilen Ethanol oder in etwa 4 Teilen heißem Wasser. Beim Erkalten scheidet sich aus dieser Lösung Coffein aus.

Prüfung auf Identität

1. A, C, D
2. B, C, D

A. Die unter „verwandte Substanzen“ erhaltenen Chromatogramme werden ausgewertet.
Ergebnis: Der Hauptpeak im Chromatogramm der Untersuchungslösung entspricht in Bezug auf seine Retentionszeit und Größe dem Hauptpeak im Chromatogramm der Referenzlösung I.

B. Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

Untersuchungslösung: 10mg Substanz werden in 2ml Methanol R gelöst.

Referenzlösung: 5mg Coffein R werden in 2ml Methanol R gelöst.

Platte: DC-Platte mit Kieselgel F₂₅₄ R (5-40µm)

Moblie Phase: Ethylacetat R, Methanol R, Ammoniak-Lösung R konzentriert
[80 : 19 : 1 V/V/V]

Auftragen: je 10µl; bandförmig (10mm)

Laufstrecke: 15 cm

Trocknen: an der Luft

Detektion: UV₂₅₄

Ergebnis: Der Hauptfleck im Chromatogramm der Untersuchungslösung entspricht in Bezug auf Lage und Größe dem Hauptfleck im Chromatogramm der Referenzlösung.

C. 5mg Substanz werden mit 1ml Acetanhydrid R erhitzt. Es entwickelt sich eine rotviolette Färbung.

D. Eine mit Ammoniak-Lösung R bis zur alkalischen Reaktion versetzte Lösung von etwa 10mg Coffeincitrat in 1ml Wasser R bleibt auf Zusatz von Calciumchlorid-Lösung R klar. Erhitzt man die Lösung zum Sieden, so entsteht allmählich ein feiner, weißer, kristalliner Niederschlag.

Prüfung auf Reinheit

Prüflösung: 2,0g Substanz werden in Wasser R zu 100ml gelöst.

Aussehen der Lösung: Die Prüflösung muss klar (2.2.1) und farblos (2.2.2, Methode II) sein.

pH-Wert (2.2.3): Der pH-Wert der Prüflösung muss zwischen 2,0 und 4,0 liegen

Verwandte Substanzen: Flüssigchromatographie (2.2.29):

Untersuchungslösung: 25,0mg Substanz werden in der mobilen Phase zu 100,0ml gelöst.

Referenzlösung I: 12,5mg Coffein R werden in der mobilen Phase zu 100,0ml gelöst.

Referenzlösung II: 5,0mg Theophyllin R und 5,0mg Theobromin R werden in der mobilen Phase zu 200,0ml gelöst.

Referenzlösung III: 5,0mg Coffein R werden in der mobilen Phase zu 200,0ml gelöst. 1,0ml dieser Lösung sowie 1,0ml Referenzlösung II werden ad 100,0ml mobiler Phase verdünnt.

Säule:

- Größe: $l = 0,125\text{m}$; $\varnothing = 3,9\text{mm}$
- Stationäre Phase: nachsilanisierendes octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R ($5\mu\text{m}$).¹
- Temperatur: 25°C

Mobile Phase:

In einem 2000mL Messkolben werden 40,0mL Tetrahydrofuran R und 50,0mL Acetonitril R pipettiert. Die Mischung wird mit Acetat- Pufferlösung (8,2g Natriumacetat wasserfrei R werden in ca. 800mL Wasser R gelöst, anschließend wird mit Essigsäure konz. R auf einen pH-Wert von 4,5 eingestellt und mit Wasser R auf 2000,0mL verdünnt) zur Marke aufgefüllt.

Durchflussrate: $1,0\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$.

Detektion: Spektrometer bei 272nm.

Einspritzen: je 20 μl .

Eignungsprüfung:

- *Retentionszeiten / Referenzlösung III*

Theobromin (Verunreinigung A):	etwa 2,4 min
Theophyllin (Verunreinigung B):	etwa 4,1 min
Coffein:	etwa 6,2 min

- *Auflösung / Referenzlösung II:*

mindestens 5,0 zwischen den Peaks des Theobromin und des Theophyllin

¹ Waters Symmetry C18 ist geeignet

- *Grenzwerte:*
- Theobromin; Theophyllin: nicht größer als die Fläche der entsprechenden Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung III (0,1 Prozent).
- unspezifizierte Verunreinigungen: jede weitere individuelle Verunreinigung nicht größer als die Fläche des Coffein-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung III (0,1 Prozent).
- Summe aller Verunreinigungen: nicht größer als das 5fache der Fläche des Coffein-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung III (0,5 Prozent).
- Ohne Berücksichtigung bleiben: Peaks deren Fläche kleiner sind als das 0,5fache der Fläche des Coffein-Peaks im Chromatogramm der Referenzlösung III (0,05 Prozent).

Schwermetalle (2.4.8) – höchstens 20ppm:

1,0g Substanz muss der Grenzprüfung auf Schwermetalle (Methode D) entsprechen. Zur Herstellung der Referenzlösung werden 2 ml Blei-Lösung (10ppm Pb) R verwendet.

Oxalat: 7 ml Prüflösung werden mit 1,5 ml verdünnter Ammoniak-Lösung R1 und 1,5 ml Calciumchlorid-Lösung R versetzt. Die Lösung muss 5 min lang klar (2.2.1) bleiben.

Sulfat (2.4.13) – höchstens 500ppm:

15 ml Prüflösung müssen der Grenzprüfung auf Sulfat entsprechen.

Wasser (2.5.12) – höchstens 2,0 Prozent, nach der Karl Fischer Methode:

0,320g Substanz werden in Formamid R zu 10,0 ml gelöst. 30 ml wasserfreies Methanol R werden ausgetitriert und anschließend mit 2,5 ml Formamid-Lösung versetzt. Mit 2,5 ml Formamid R wird ein Blindversuch durchgeführt.

Sulfatasche (2.4.14) – höchstens 0,1 Prozent, mit 1,0 g Substanz bestimmt.

Gehaltsbestimmung:

1. Coffein

0,300 g Substanz werden unter schwachem Erwärmen in 10 ml wasserfreier Essigsäure R gelöst. Die abgekühlte Lösung wird nach Zusatz von 50 ml Acetanhydrid R und 0,1 ml Kristallviolett-Lösung R mit Perchlorsäure ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) bis zur Gelbfärbung titriert (Feinburette).

1 ml Perchlorsäure ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) entspricht 19,42 mg $\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$.

$$\text{Gehalt} = \frac{V \cdot 194,2}{e \cdot (100 - w)} \quad \text{Prozent } \text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2.$$

V = Verbrauch an Perchlorsäure ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) in Millilitern.
 e = Einwaage in Gramm.
 w = Wassergehalt in Prozent

2. Citronensäure

0,250 g Substanz werden in 50 ml Wasser R gelöst und nach Zusatz von 1 ml Phenolphthalein-Lösung R mit Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) bis zur Rosafärbung titriert.

1 ml Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) entspricht 6,403 mg $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$.

$$\text{Gehalt} = \frac{V \cdot 64,03}{e \cdot (100 - w)} \quad \text{Prozent } \text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$$

V = Verbrauch an Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) in Millilitern.
e = Einwaage in Gramm.
w = Wassergehalt in Prozent

Lagerung
Vorsichtig zu lagern!

Hinweis zur Prüfung auf Reinheit

Verwandte Substanzen, deren Anteile durch diese Monographie begrenzt werden, sind insbesondere

- A. Theobromin und
- B. Theophyllin