

Beschriftung

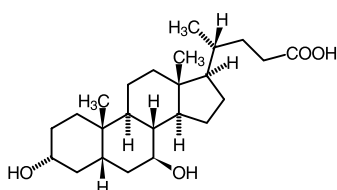
Die Beschriftung gibt die Aktivität in Internationalen Einheiten Urokinase je Milligramm Protein an.



12.1/1275

Ursodesoxycholsäure

Acidum ursodeoxycholicum

C₂₄H₄₀O₄M_r 392,6

CAS Nr. 128-13-2

Definition

3α,7β-Dihydroxy-5β-cholan-24-säure

Gehalt: 99,0 bis 101,0 Prozent (getrocknete Substanz)

Eigenschaften

Aussehen: weißes bis fast weißes Pulver

Löslichkeit: praktisch unlöslich in Wasser, leicht löslich in Ethanol 96 %, schwer löslich in Aceton, praktisch unlöslich in Dichlormethan

Schmelztemperatur: etwa 202 °C

Prüfung auf Identität

- 1: A
2: B, C

A. IR-Spektroskopie (2.2.24)

Vergleich: Ursodesoxycholsäure CRS

B. Dünnschichtchromatographie (2.2.27)

Lösungsmittelmischung: Wasser R, Aceton R (10:90 V/V)

Untersuchungslösung: 40 mg Substanz werden in der Lösungsmittelmischung zu 10 ml gelöst.

Referenzlösung: 40 mg Ursodesoxycholsäure CRS werden in der Lösungsmittelmischung zu 10 ml gelöst.

Platte: DC-Platte mit Kieselgel R

Fließmittel: Essigsäure 99 % R, Aceton R, Dichlormethan R (1:30:60 V/V/V)

Auftragen: 5 µl

Laufstrecke: 2/3 der Platte

Trocknen: 10 min lang bei 120 °C

Detektion: Die Platte wird sofort mit einer Lösung von Molybdätophosphorsäure R (47,6 g · l⁻¹) in einer Mischung von 1 Volumteil Schwefelsäure R und 20 Volumteilen Essigsäure 99 % R besprüht und bei 120 °C erhitzt, bis blaue Flecke vor einem helleren Hintergrund erscheinen.

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

- C. Etwa 10 mg Substanz werden in 1 ml Schwefelsäure R gelöst. Die Lösung wird mit 0,1 ml Formaldehyd-Lösung R versetzt und 5 min lang stehen gelassen. Nach Zusatz von 5 ml Wasser R färbt sich die entstandene Suspension grünlich blau.

Prüfung auf Reinheit

Spezifische Drehung (2.2.7): +58,0 bis +62,0 (getrocknete Substanz)

0,500 g Substanz werden in wasserfreiem Ethanol R zu 25,0 ml gelöst.

Verunreinigungen C und J: Flüssigchromatographie (2.2.29)

Lösungsmittelmischung: Methanol R, mobile Phase (10:90 V/V)

Untersuchungslösung: 100 mg Substanz werden in der Lösungsmittelmischung zu 10,0 ml gelöst.

Referenzlösung a: 1,0 ml Untersuchungslösung wird mit der Lösungsmittelmischung zu 100,0 ml verdünnt. 1,5 ml dieser Lösung werden mit der Lösungsmittelmischung zu 10,0 ml verdünnt.

Referenzlösung b: 10 mg Lithocholsäure CRS (Verunreinigung C) werden in der Lösungsmittelmischung zu 100 ml gelöst. 1,5 ml Lösung werden mit der Lösungsmittelmischung zu 10 ml verdünnt. In 1 ml dieser Lösung wird der Inhalt einer Durchstechflasche mit Ursodesoxycholsäure-Verunreinigung J CRS gelöst.

Säule

- Größe: l = 0,10 m, Ø = 4,6 mm
- Stationäre Phase: desaktiviertes, nachsilanisierendes, octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie R (3 µm)
- Temperatur: 40 ± 2 °C

Mobile Phase 30 Volumteile Acetonitril *R*, 37 Volumteile einer Lösung von Natriumdihydrogenphosphat *R* ($0,78 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), die zuvor mit Phosphorsäure 85 % *R* auf einen pH-Wert von 3,0 eingestellt wurde, und 40 Volumteile Methanol *R* werden gemischt.

Durchflussrate: $1,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

Detektion: Refraktometer bei $35 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Einspritzen: 100 μl

Chromatographiedauer: 12fache Retentionszeit von Ursodesoxycholsäure

Identifizierung von Verunreinigungen: Zur Identifizierung der Peaks der Verunreinigungen C und J wird das mit der Referenzlösung b erhaltene Chromatogramm verwendet.

Relative Retention (bezogen auf Ursodesoxycholsäure, t_R etwa 3 min)

- Verunreinigung C: etwa 6,0
- Verunreinigung J: etwa 10,1

Eignungsprüfung:

- Auflösung: mindestens 4,0 zwischen den Peaks der Verunreinigungen C und J im Chromatogramm der Referenzlösung b
- Signal-Rausch-Verhältnis: mindestens 30 für den Hauptpeak der Referenzlösung a

Berechnung der Prozentgehalte

- Für die Verunreinigungen C und J wird der Gehalt an Ursodesoxycholsäure in der Referenzlösung a verwendet.

Grenzwerte

- Verunreinigung C: höchstens 0,10 Prozent
- Verunreinigung J: höchstens 0,15 Prozent

Verwandte Substanzen: Flüssigchromatographie (2.2.29)

Lösungsmittelmischung: Methanol *R*, mobile Phase (10:90 V/V)

Untersuchungslösung: 60,0 mg Substanz werden in der Lösungsmittelmischung zu 20,0 ml gelöst.

Referenzlösung a: Der Inhalt einer Durchstechflasche mit Ursodesoxycholsäure zur Eignungsprüfung *CRS* (mit den Verunreinigungen A und H) wird in 1 ml Lösungsmittelmischung gelöst.

Referenzlösung b: 1,0 ml Untersuchungslösung wird mit der Lösungsmittelmischung zu 100,0 ml verdünnt. 1,0 ml dieser Lösung wird mit der Lösungsmittelmischung zu 10,0 ml verdünnt.

Säule

- Größe: $l = 0,25 \text{ m}$, $\varnothing = 4,6 \text{ mm}$
- Stationäre Phase: desaktiviertes, nachsilanisierendes, octadecylsilyliertes Kieselgel zur Chromatographie *R* (5 μm)
- Temperatur: $40 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Mobile Phase: 30 Volumteile Acetonitril *R*, 37 Volumteile einer Lösung von Natriumdihydrogenphosphat *R* ($0,78 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$), die mit Phosphorsäure 85 % *R* auf einen

pH-Wert von 3 eingestellt wurde, und 40 Volumteile Methanol *R* werden gemischt.

Durchflussrate: $0,8 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

Detektion: Refraktometer bei $35 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Einspritzen: 150 μl

Chromatographiedauer: 4fache Retentionszeit von Ursodesoxycholsäure

Identifizierung von Verunreinigungen: Zur Identifizierung der Peaks der Verunreinigungen A und H werden das mitgelieferte Chromatogramm von Ursodesoxycholsäure zur Eignungsprüfung *CRS* und das mit der Referenzlösung a erhaltene Chromatogramm verwendet.

Relative Retention (bezogen auf Ursodesoxycholsäure, t_R etwa 14 min)

- Verunreinigung H: etwa 0,9
- Verunreinigung A: etwa 2,8

Eignungsprüfung: Referenzlösung a

- Auflösung: mindestens 1,5 zwischen den Peaks von Verunreinigung H und Ursodesoxycholsäure

Berechnung der Prozentgehalte

- Für jede Verunreinigung wird der Gehalt an Ursodesoxycholsäure in der Referenzlösung b verwendet.

Grenzwerte

- Verunreinigung A: höchstens 1,0 Prozent
- nicht spezifizierte Verunreinigungen: jeweils höchstens 0,10 Prozent
- Summe aller Verunreinigungen: höchstens 1,5 Prozent
- Berichtsgrenzwert: 0,05 Prozent

Trocknungsverlust (2.2.32): höchstens 1,0 Prozent, mit 1,000 g Substanz durch Trocknen im Trockenschrank bei $105 \text{ }^{\circ}\text{C}$ bestimmt

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

Gehaltsbestimmung

0,350 g Substanz werden in 50 ml Ethanol 96 % *R*, das zuvor gegen 0,2 ml Phenolphthalein-Lösung *R* neutralisiert wurde, gelöst. Die Lösung wird mit 50 ml Wasser *R* versetzt und mit Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) bis zum Umschlag nach Rosa titriert.

1 ml Natriumhydroxid-Lösung ($0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$) entspricht $39,26 \text{ mg C}_{24}\text{H}_{40}\text{O}_4$.

Verunreinigungen

Spezifizierte Verunreinigungen:

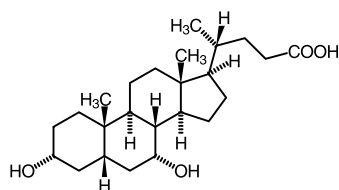
A, C, J

Andere bestimmbare Verunreinigungen

(Die folgenden Substanzen werden, falls in einer bestimmten Menge vorhanden, durch eine oder mehrere Prüfmethode in der Monographie erfasst. Sie werden begrenzt durch das allgemeine Akzeptanzkriterium für weitere Verunreinigungen/nicht spezifizierte Verunreinigungen und/oder durch die Anforderungen der Allgemeinen Monographie **Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung (Corpora ad usum pharmaceuticum)**). Diese Verunreinigungen müssen daher nicht identifiziert werden, um die Konformität der Substanz zu zeigen. Siehe auch „5.10 Kontrolle von Verunreinigungen in Substanzen zur pharmazeutischen Verwendung“):

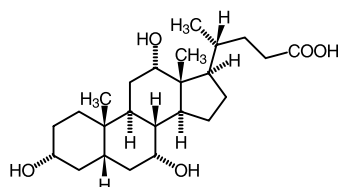
B, D, E, F, G, H, I

A.



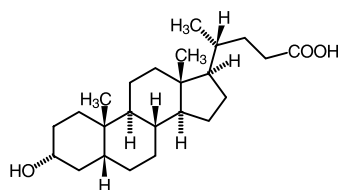
3 α ,7 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure
(Chenodesoxycholsäure)

B.



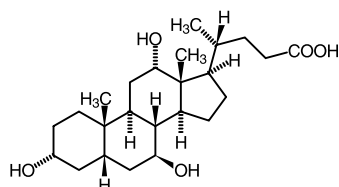
3 α ,7 α ,12 α -Trihydroxy-5 β -cholan-24-säure
(Cholsäure)

C.



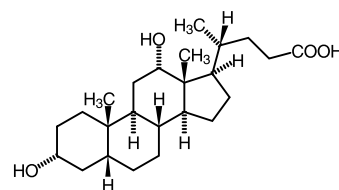
3 α -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure
(Lithocholsäure)

D.



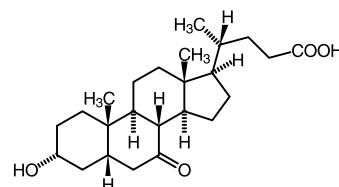
3 α ,7 β ,12 α -Trihydroxy-5 β -cholan-24-säure
(Ursocholsäure)

E.



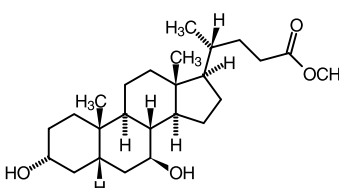
3 α ,12 α -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure
(Desoxycholsäure)

F.



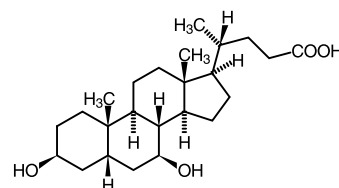
3 α -Hydroxy-7-oxo-5 β -cholan-24-säure

G.



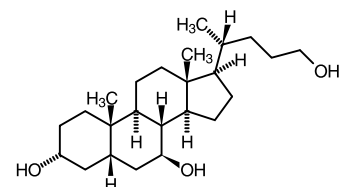
Methyl(3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-oat)

H.



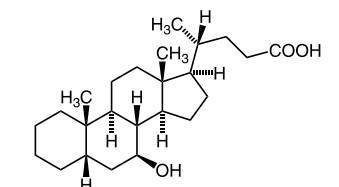
3 β ,7 β -Dihydroxy-5 β -cholan-24-säure

I.



5 β -Cholan-3 α ,7 β ,24-triol

J.



7 β -Hydroxy-5 β -cholan-24-säure