



*Vizsgálati oldat.* 1 mg vizsgálandó anyagot 100 µl A-oldatban oldunk.

*Összehasonlító oldat (a).* 10 µl vizsgálati oldathoz 990 µl A-oldatot elegyítünk.

*Összehasonlító oldat (b).* 250 µl *a)* összehasonlító oldathoz 750 µl A-oldatot elegyítünk.

*Összehasonlító oldat (c).* 100 µl *a)* összehasonlító oldathoz 900 µl A-oldatot elegyítünk.

*Összehasonlító oldat (d).* Mintatartó üvegbe mért 2 mg vizsgálandó anyagot 200 µl A-oldatban oldunk. Az üveget lezárjuk, majd 2 órán át 60 °C-os vízfürdőben tartjuk.

*Lemez:* R VRK szilikagél F<sub>254</sub> lemez.

*Kifejlesztőszer:* R izobutil-alkohol – R diklórmétán (20+80 V/V).

*Felvitel:* a vizsgálati oldatból, valamint a *b)*, *a c)* és a *d)* összehasonlító oldatból 10–10 µl.

*Kifejlesztés:* a lemezmagasság kétharmadáig.

*Szárítás:* levegőn, majd 10 percen át 140 °C-on.

*Előhívás:* a még forró lemezt R alkoholos kénsav-oldattal bepermetezzük, majd legfeljebb 1 percen át 140 °C-on szárítjuk; 366 nm-es ultraibolya fényben értékeljük.

*Relatív retenciók* a kalcipotriolra (R<sub>f</sub>-értéke kb. 0,4) vonatkoztatva: G-szennyező kb. 0,4; H-szennyező kb. 0,4; pre-kalcipotriol kb.0,9; A-szennyező kb. 1,2.

*Rendszeralkalmasság:* *d)* összehasonlító oldat:

a kromatogramon megjelenik a pre-kalcipotriolnak megfelelő szekunder folt.

*Követelmények:*

- *A-szennyező:* az A-szennyezőnek megfelelő folt nem lehet intenzívebb a *b)* összehasonlító oldat kromatogramján látható foltnál (0,25%),
- *G- és H-szennyező:* a G-, illetve a H-szennyezőnek megfelelő folt nem lehet intenzívebb a *b)* összehasonlító oldat kromatogramján látható foltnál (összesen 0,25%),
- *egyéb szennyezők egyenként:* egyetlen folt sem lehet intenzívebb a *c)* összehasonlító oldat kromatogramján látható foltnál (0,1%).

## B. Folyadékkromatográfia (2.2.29).

*A-oldat.* 1,32 g R diammonium-hidrogén-foszfátot R vízzel 10,0 ml-re oldunk.

*Oldószerkeleg:* A-oldat – R víz – R metanol (3+297+700 V/V).

*Vizsgálati oldat (a).* 2,00 mg vizsgálandó anyagot az oldószerkeleggyel 5,0 ml-re oldunk.

*Vizsgálati oldat (b).* 2,00 mg vizsgálandó anyagot az oldószerkeleggyel 20,0 ml-re oldunk.

*Összehasonlító oldat (a).* 1,0 ml *a)* vizsgálati oldatot az oldószerkeleggyel 100,0 ml-re hígítunk.

*Összehasonlító oldat (b).* 1,0 ml *a)* összehasonlító oldatot az oldószerkeleggyel 10,0 ml-re hígítunk.

*Összehasonlító oldat (c).* 1,0 mg CRS kalcipotriol-monohidrátot (amely B-, C- és D-szennyezőt tartalmaz) az oldószerkeleggyel 2,5 ml-re oldunk.

*Összehasonlító oldat (d).* 2,00 mg CRS kalcipotriol-monohidrátot az oldószerkeleggyel 20,0 ml-re oldunk.

*Oszlop:*

– *méretei:*  $l = 0,10 \text{ m}$ ,  $\varnothing = 4,0 \text{ mm}$ ,

– *állófázis:* R kromatográfias célra szánt octadecilszililezett szilikagél (3 µm).

*Mozgófázis:* R víz – R metanol (30+70 V/V).

*Áramlási sebesség:* 1,0 ml/perc.

*Detektálás:* spektrofotométerrel, 264 nm-en.

*Injektálás:* az *a*) vizsgálati oldatból, valamint az *a*), *b*), és a *c*) összehasonlító oldatból 20–20 µl.

*Kromatografálási idő:* a kalcipotriol retenciós idejének kétszerese.

*Relatív retenciók* a kalcipotriolra (retenciós ideje kb. 13,5 perc) vonatkoztatva: B-szennyező kb. 0,86; C-szennyező kb. 0,92; D-szennyező kb. 1,3.

*Rendszeralkalmasság:* *c*) összehasonlító oldat:

- *hegy-völgy arány:* legalább 1,5, ahol  $H_p$  a C-szenyvező alapvonalától mért csúcsmagassága, és  $H_v$  ugyanezen csúcstól és a kalcipotriol csúcsát elválasztó görbeszakasz minimumának alapvonalától mért távolsága,
- a kapott kromatogram egyezzen meg a *CRS kalcipotriol-monohidráthoz* mellékelt kromatogrammal.

*Követelmények:*

- *B-szennyező:* csúcsterülete nem lehet nagyobb az *a*) összehasonlító oldat kromatogramján látható főcsúcs területének felénél (0,5%),
- *C- és D-szennyező:* csúcsterületük egyenként nem lehet nagyobb az *a*) összehasonlító oldat kromatogramján látható főcsúcs területénél (1,0%),
- *egyéb szennyezők egyenként:* csúcsterületük nem lehet nagyobb a *b*) összehasonlító oldat kromatogramján látható főcsúcs területénél (0,1%),
- *szennyezők összesen:* csúcsterületük összege nem lehet nagyobb, mint az *a*) összehasonlító oldat kromatogramján látható főcsúcs területének 2,5-szerese (2,5%),
- *elhanyagolási határ:* a *b*) összehasonlító oldat kromatogramján látható főcsúcs területének fele (0,05%).

**Szárítási veszteség:** legfeljebb 1,0%. Az anyag 5 mg-ját termogravimetriásan (2.2.34) vizsgáljuk. 10 °C/perc felfűtési sebességgel 105 °C-ig hevítjük, és 60 percen át ezen a hőmérsékleten tartjuk.

## TARTALMI MEGHATÁROZÁS

Folyadékkromatográfia (2.2.29) a „Rokon vegyületek” vizsgálatra előírtak szerint, a következő módosításokkal:

*Injektálás:* *b*) vizsgálati oldat és *d*) összehasonlító oldat.

A százalékos  $C_{27}H_{40}O_3$ -tartalmat a csúcsok területe és a *CRS kalcipotriol-monohidrát* deklarált tartalma alapján számítjuk ki.

## ELTARTÁS

Légmentesen záró tartályban, fénytől védve, –20 °C-on vagy ennél alacsonyabb hőmérsékleten.

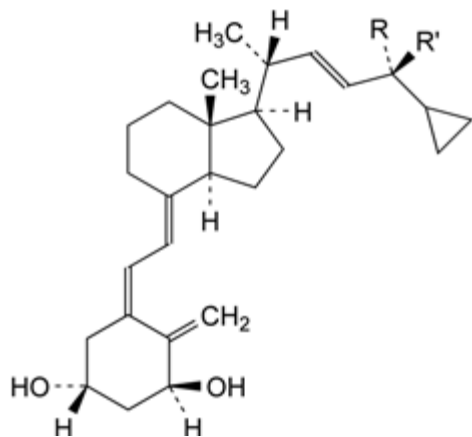
## SZENNYEZŐK

*Egyedi határértékhez kötött (specifikált) szennyezők:* A, B, C, D, G, H.

*Egyéb kimutatható szennyezők* (a következő szennyezők a cikkely valamelyik vizsgálatával kimutathatók, ha bizonyos határon felüli mennyiségben vannak jelen. Határértéküket az egyéb/egyedi határértékhez nem kötött (nem specifikált) szennyezőkre vonatkozó általános követelmény és/vagy a *Gyógyszeranyagok (2034)* általános cikkely előírásai határozzák meg. Ezért ezeket a szennyezőket nem szükséges a megfelelés bizonyítása céljából azonosítani. Lásd még a *Gyógyszeranyagok szennyezésvizsgálata (5.10)* című általános fejezetet.): E, F, I.

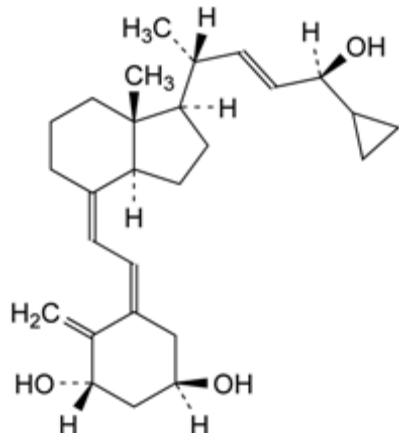
*Vékonyréteg-kromatográfiával:* A, G, H, I.

Folyadékkromatográfiával: B, C, D, E, F.

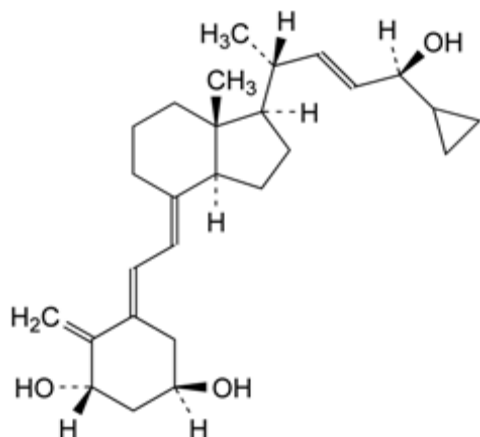


A.  $R + R' = O$ : (5*Z*,7*E*,22*E*)-24-ciklopropil-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihidroxi-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-24-on,

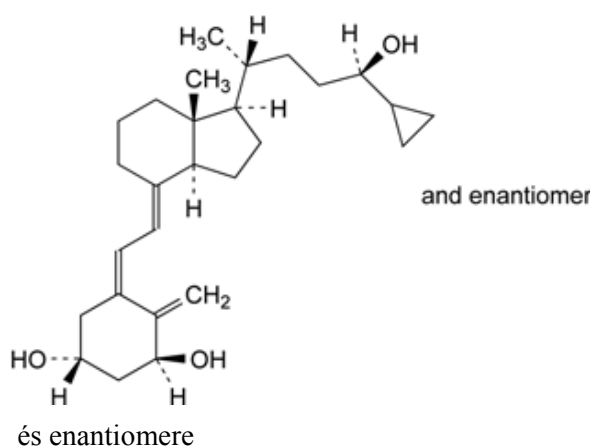
D.  $R = OH$ ,  $R' = H$ : (5*Z*,7*E*,22*E*,24*R*)-24-ciklopropil-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-triol (24-*epi*-kalcipotriol),



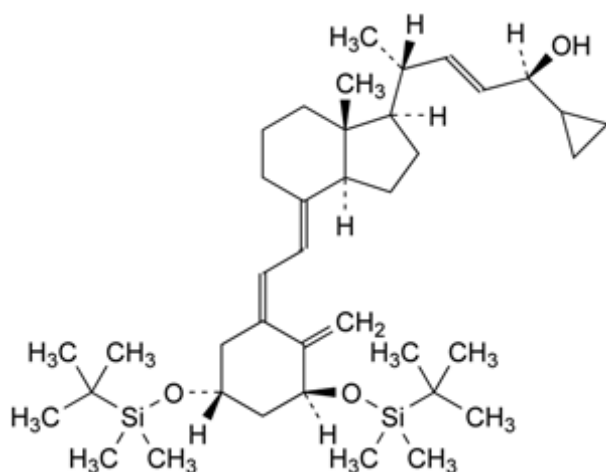
B. (5*Z*,7*Z*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-triol ((7*Z*)-kalcipotriol),



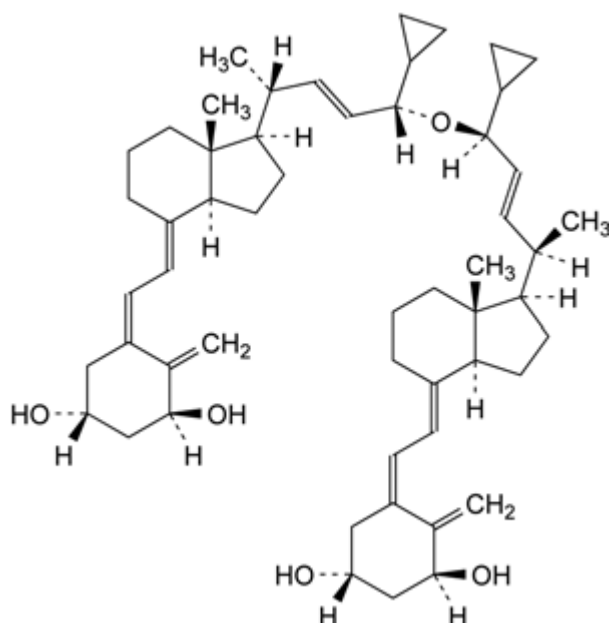
C. (5*E*,7*E*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-triol ((5*E*)-kalcipotriol),



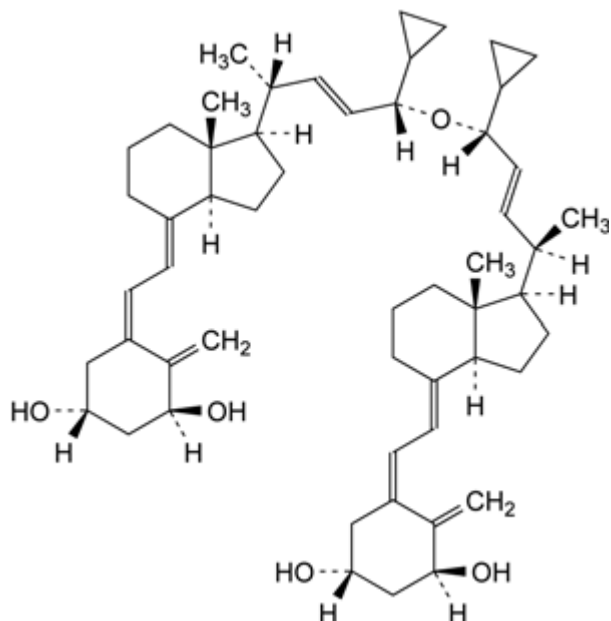
E. *rac*-(5*Z*,7*E*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-9,10-szekokola-5,7,10(19)-trién-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-triol,



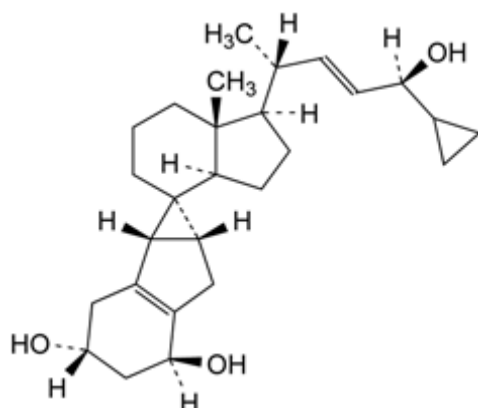
F. (5*Z*,7*E*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -bisz[[1,1-dimetil-til)-dimetilszilil]oxi]-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-24-ol,



G. 24,24'-oxibisz[(5*Z*,7*E*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol],



H. (5*Z*,7*E*,22*E*,24*R*)-24-ciklopropil-24-[[[(5*Z*,7*E*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -dihydroxi-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-24-il]oxi]-9,10-szekokola-5,7,10(19),22-tetraén-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ -diol,



I. (6*S*,7*R*,8*R*,22*E*,24*S*)-24-ciklopropil-6,8:7,19-diciklo-9,10-szekokola-5(10)22-dién-1 $\alpha$ ,3 $\beta$ ,24-triol (kalcipotriol-szupraszterin).