

Ročník 1999

SBÍRKA ZÁKONŮ ČESKÉ REPUBLIKY

Částka 97

Rozeslána dne 20. prosince 1999

Cena Kč 850,-

O B S A H:

296. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 1/1998 Sb., kterou se stanoví požadavky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv (Český lékopis 1997)

296

VYHLÁŠKA

Ministerstva zdravotnictví

ze dne 19. listopadu 1999,

kteřou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 1/1998 Sb., kteřou se stanoví požadavky na jakost, postup pří přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv (Český lékopis 1997)

Ministerstvo zdravotnictví po projednání s Ministerstvem zemědělství a Ministerstvem průmyslu a obchodu stanoví podle § 75 odst. 4 zákona č. 79/1997 Sb., o léčivech a o změnách a doplnění některých souvisejících zákonů:

k vyhláške Ministerstva zdravotnictví č. 1/1998 Sb. jsou obsaženy v příloze této vyhlášky.

Čl. II

Čl. I

Změny Českého lékopisu 1997 vydaného v příloze

Tato vyhláška nabývá účinnosti dnem 1. ledna

2000.

Ministr:

MUDr. David, CSc. v. r.

Příloha k vyhláške č. 296/1999 Sb.

ČESKÝ LÉKOPIS 1997

-

DOPLNĚK 1999

Změny Českého lékopisu 1997

V příloze vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 1/1998 ze dne 9. prosince 1997, kterou se stanoví požadavky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv, se provedou tyto změny¹⁾:

¹⁾ Změny označené (E) jsou převzaté z Ph. Eur. 3 - Suppl. 1999

str. 13 (E)

Značky a symboly

10. až 4. řádek zdola:

nový text: C.I.P. Collection de Bactéries de l'Institut Pasteur
B.P. 52, 25 Rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15, France

I.P. Collection Nationale de Culture de Microorganismes
(C.N.C.M.)
Institut Pasteur,
25 Rue du Docteur Roux
75724 Paris Cedex 15, France

str. 32

Fyzikální a fyzikálně-chemické metody

Odstavec *Červený roztok*:

5. řádek:

současný text: ... *peroxidu vodíku zředěného R* ...

nový text: *peroxidu vodíku zředěného RS* ...

6. řádek:

současný text: ... *kyseliny sírové zředěné R* ...

nový text: ... *kyseliny sírové zředěné RS* ...

Odstavec *Modrý roztok*:

5. řádek:

současný text: ... *kyseliny octové zředěné R* ...

nový text: ... *kyseliny octové zředěné RS* ...

str. 38

1. řádek zdola:

současný text: **Použije se roztok bromthymolové modři R1

nový text: **Použije se *modř bromthymolová RS1*

str. 64 (E)

Odstavec **Počet teoretických pater**, 1. řádek:

současný text: ... *izotermických podmínek* ...

nový text: ... *izokratických podmínek* ...

3394 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 84

Zkoušky totožnostiNázev odstavce **Amoniové soli** se nahrazuje názvem **Amonné soli**Název odstavce **Amoniové soli a soli těkavých bází** se nahrazuje názvem **Amonné soli a soli těkavých bází**

str. 85

Odstavec **Bromidy, b)**, 3. řádek:současný text: ... *kyseliny octové R* ...nový text: ... *kyseliny octové RS* ...

str. 88

3. řádek:

současný text: ... *amoniaku 26% RS* ...nový text: ... *amoniaku 26% R* ...Odstavec **Olovo, a) a b)**, 1. řádek:současný text: ... *kyseliny octové R* ...nový text: ... *kyseliny octové RS* ...Odstavec **Salicylany, a)**, 2. řádek:současný text: ... *kyseliny octové R* ...nový text: ... *kyseliny octové RS* ...

str. 89

Odstavec **Vápník, b)** 1. řádek:současný text: ... *kyseliny octové R* ...nový text: ... *kyseliny octové RS* ...

str. 96

Limitní zkouškyOdstavec **2.4.8 Těžké kovy, Metoda A**, 4. řádek:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml předepsaného vodného roztoku ...

str. 97

1. řádek:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml předepsaného vodného roztoku ...

Odstavec **Metoda B**:

6. řádek:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml předepsaného vodného roztoku ...

8. až 9. řádek:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml předepsaného vodného roztoku ...

Odstavec **Metoda C**:

6. řádek zdola:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml roztoku získaného ze zkoušené látky ...

4. řádek zdola:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml roztoku získaného ze zkoušené látky ...

str. 98

Odstavec **Metoda D:**

6. řádek zdola:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml roztoku získaného ze zkoušené látky ...

4. řádek zdola:

současný text: ... 2 ml zkoušeného roztoku ...

nový text: ... 2 ml roztoku získaného ze zkoušené látky ...

str. 100

Odstavec **2.4.13 Sírany**, 4. řádek:současný text: ... *kyseliny octové R* ...nový text: ... *kyseliny octové RS* ...

str. 110

5. a 6. řádek:

současný text: - *vodíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 cm/min až 50 cm/min nebo *helia pro chromatografii R* při průtokové rychlosti 20 cm/min až 35 cm/s. ...nový text: - *vodíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 cm/s až 50 cm/s nebo *helia pro chromatografii R* při průtokové rychlosti 20 cm/s až 35 cm/s. ...

str. 114

2.4.25 Zbytkový ethylenoxid a dioxanOdstavec **B**, 11. řádek:současný text: ... a 0,10 ml *dioxanu RS1*...nový text: ... a 0,10 ml *dioxanu RS* ...

str. 114 (E)

Odstavec **B**, 12. řádek:

současný text: ... homogenní roztok.

nový text: ... homogenní roztok a nechá se stát 45 min při 70 °C.

str. 118

Stanovení obsahu3. řádek pod **Tab. 2.5.4-1:**současný text: ... *bromidu jedného R* ...nový text: ... *bromidu jedného RS* ...

str. 119

4. řádek zdola:

současný text: ... *fenolftalein R* ...nový text: ... *fenolftalein RS* ...

3396 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 121

Odstavec **Vápník**, 2. řádek:současný text: ... *kyseliny kalkonkarbonové s chloridem sodným R* ...nový text: ... *kyseliny kalkonkarboxylové s chloridem sodným R* ...

str. 155

Biologické zkouškyOdstavec **Tlumivý roztok s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0**, 1., 2. a 3. řádek:Vypouští se ⁵⁾, včetně patové poznámky: ⁵⁾ odpovídá 0,067 mol/l.

str. 198 (E)

2.7.4 Stanovení účinnosti krevního koagulačního faktoru VIIIOdstavec **Zkoumadla**, 14., 15. a 16. řádek:

současný text: ... Konečná koncentrace fosfolipidu během tvorby faktoru Xa je 1 nmol/l až 50 nmol/l, nejlépe 10 nmol/l až 35 nmol/l. Zkoumadlo obsahuje ionty vápníku v konečné koncentraci 5 nmol/l až 15 mmol/l. ...

nový text: ... Konečná koncentrace fosfolipidu během tvorby faktoru Xa je 1 μmol/l až 50 μmol/l, nejlépe 10 μmol/l až 35 μmol/l. Zkoumadlo obsahuje ionty vápníku v konečné koncentraci 5 mmol/l až 15 mmol/l. ...

str. 216

Farmakognostické metody

Tab. N-1, sloupec Požadovaný obsah silice v ml/kg, 3. řádek:

současný text: ≥ 10,0

nový text: >10,0

str. 329

Odstavec **Zbytek po odpaření**, 2. řádek:

současný text: ... nejvýše 0,2 mg ...

nový text: ... nejvýše 2,0 mg ...

str. 614 (E)

Statistické analýzy výsledků biologických zkoušekTab. 3.2.8.1-VI Analýza rozptylu s vyloučením dat o přípravku **Z**, sloupec **P**, 2. řádek:

současný text: > 0,05

nový text: < 0,05

str. 762

Doporučené dávky některých officinálních léčiv používaných u zvířatOdstavec **PROCAINI HYDROCHLORIDUM**, 5. řádek:

současný text: ... C, F: 2% roztok až na 20 ml (0,2 g)

nový text: ... C, F: 1% roztok až na 20 ml (0,2 g)

str. 767

Odstavec **TRIAMCINOLONI ACETONIDUM**:

4. řádek:

současný text: F: 0,11-0,22 mg.kg⁻¹ ...nový text: F: 0,11-0,22 mg.kg⁻¹ ...

6. řádek:

současný text: intraartric. ...

nový text: intraartic. ...

Změny Českého lékopisu 1997 3397

- str. 786 (E) **Aciclovirum**
4. a 5. řádek:
současný text: ... **nejméně 7** (počítáno V_0 z píku odpovídajícího kyselině octové). ...
nový text: ... **nejméně 7** (V_0 se vypočítá za použití *dimethylsulfoxidu R*). ...
- str. 788 **Acidum aceticum 99%**
Odstavec **Redukující látky**, 2. a 3. řádek:
současný text: ... *dichromanu draselného 0,167 mol/l VS* ...
nový text: ... *dichromanu draselného 0,0167 mol/l VS* ...
- str. 813 **Acidum hydrochloricum 35%**
Odstavec **Volný chlor**, 3. řádek:
současný text: ... (4 µg/ml).
nový text: ... (4 µg/g).
Odstavec **Sírany**, 3. řádek:
současný text: ... (20 µg/ml).
nový text: ... (20 µg/g).
Odstavec **Arsen**, 2. řádek:
současný text: ... (2 µg/ml).
nový text: ... (2 µg/g).
Odstavec **Těžké kovy**, 3. řádek:
současný text: ... (2 µg/ml).
nový text: ... (2 µg/g).
- str. 814 **Acidum hydrochloricum 10%**
Odstavec **Volný chlor**, 3. řádek:
současný text: ... (1 µg/ml).
nový text: ... (1 µg/g).
Odstavec **Sírany**, 3. řádek:
současný text: ... (5 µg/ml).
nový text: ... (5 µg/g).
Odstavec **Arsen**, 2. řádek:
současný text: ... (0,5 µg/ml).
nový text: ... (0,5 µg/g).
- str. 836 **Acidum salicylicum**
Odstavec **Vzhled roztoku**, 1. řádek:
současný text: 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R*. ...
nový text: 1,0 g se rozpustí v 10 ml *lihu 96% R*. ...
- str. 837
Odstavec **Sírany**, 5. a 6. řádek:
současný text: ... *chloridu vápenatého R* ...
nový text: ... *chloridu barnatého R* ...
- str. 843 **Acidum tiaprofenicum**
Odstavec **Těžké kovy**, 2. řádek:
současný text: ... *roztoku olova (10 µg Pb)*.
nový text: ... *roztoku olova (10 µg Pb/ml)*.

3398 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 852

Adeps lanaeOdstavec **Parafiny**, 6. a 7. řádek:

současný text: ... Eluáty se spojí, předestilují, odpaří se ...

nový text: ... Eluáty se spojí, zahustí se destilací na malý objem, odpaří se ...

str. 854

Adeps lanae cum aquaOdstavec **Parafiny**, 7. řádek:

současný text: ... Eluáty se spojí, předestilují, odpaří se ...

nový text: ... Eluáty se spojí, zahustí se destilací na malý objem, odpaří se ...

str. 896 (E)

AlprazolamumOdstavec **Příbuzné látky**, 8. a 9. řádek:současný text: ... naplněné *silikagelem fenylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),nový text: ... naplněné *silikagelem fenylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 µm),

str. 926

Ammonii chloridumOdstavec **Roztok S**:současný text: ... *vodě destilované* ...nový text: ... *vodě destilované R* ...

str. 950

Ampicillinum natricum

8. a 7. řádek zdola:

Vypouští se věta: Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 92,5 % až 100,5 % sloučeniny $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$.

str. 953 (E)

Odstavec **Stanovení obsahu**, 2. a 1. řádek zdola:

současný text: ... Nastříkne se porovnávací roztok (b). ...

nový text: ... Nastříkne se 50 µl porovnávacího roztoku (b). ...

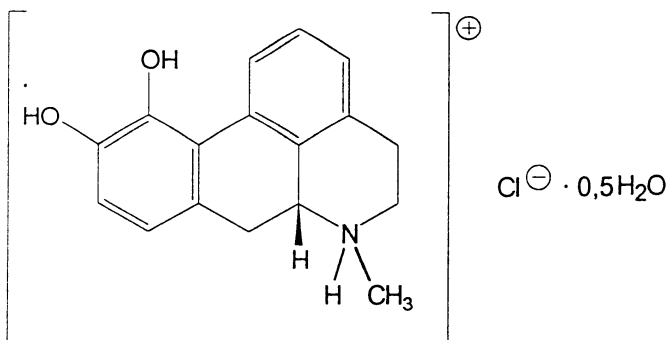
str. 972

Anisi stellati fructusNázev odstavce **Voda**, semimikrostanovení (2.2.13) se nahrazuje názvem **Voda**, stanovení destilací (2.2.13).

str. 975

Apomorphini hydrochloridum

Strukturální vzorec se nahrazuje vzorcem:



- str. 987 **Aqua purificata**
8. řádek:
současný text: ... *Pseudomonas aeruginosa* ...
nový text: ... *Pseudomonas aeruginosa* ...
- str. 1055 **Bergamottae etheroleum**
Odstavec **Zbytek po odpaření silic:**
současný text: 4,2 % až 6,5 %. 5 g se odpařuje na vodní lázni 6 h.
nový text: 4,2 % až 6,5 %; 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.
- str. 1070 (E) **Betamethasoni dipropionas**
Odstavec **Příbuzné látky**, 7. a 6. řádek zdola:
současný text: ... není větší než 0,75násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %) ...
nový text: ... není větší než 0,75násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %) ...
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:
současný text: 50,0 g se rozpustí ...
nový text: 50,0 mg se rozpustí ...
- str. 1087 **Betulae folium**
Odstavec **Stanovení obsahu**, 10. řádek:
současný text: ... roztoku *chloridu hlinitého RS* ...
nový text: ... *chloridu hlinitého RS1* ...
- str. 1124 **Butylhydroxyanisolum**
10. a 9. řádek zdola:
současný text: Je to 2-terc.butyl-4-methoxyphenol. Může obsahovat nejvýše 10,0 % 3-terc.butyl-4-methoxyphenolu.
nový text: Je to 2-terc.butyl-4-methoxyfenol. Může obsahovat nejvýše 10,0 % 3-terc.butyl-4-methoxyfenolu.
- str. 1129 **Butylscopolamini bromidum**
Název článku se nahrazuje názvem **Butylscopolaminii bromidum**.
- str. 1131 **Cacao oleum**
Odstavec **Zkouška totožnosti A**, 6. řádek:
současný text: ... roztokem *rhodamidu R* ...
nový text: ... roztokem *rhodaminu B R* ...
- str. 1132
Odstavec **Číslo zmydelnění:**
současný text: ... 192 až 198.
nový text: ... 192 až 198; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.
- str. 1136 **Calcii dobesilas**
V článku **Calcii dobesilas** v odstavci *Synonyma* se název *Calcii dobesilas monohydricum* nahrazuje názvem *Calcii dobesilas monohydricus*

3400 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 1137

Odstavec **Stanovení obsahu**, 3. řádek:

současný text: ... odpovídá 10,91 mg ...

nový text: ... odpovídá 10,46 mg ...

str. 1190 (E)

Odstavec **Celková síra**, 5. řádek zdola:současný text: ... *sirovodíku R v oxidu uhličitém R1*...nový text: ... *sirovodíku R1 v oxidu uhličitém R1*...**Carbonei dioxidum**

str. 1203

Doplňuje se CAS 68917-82-8.

Carvi etheroleum

str. 1204

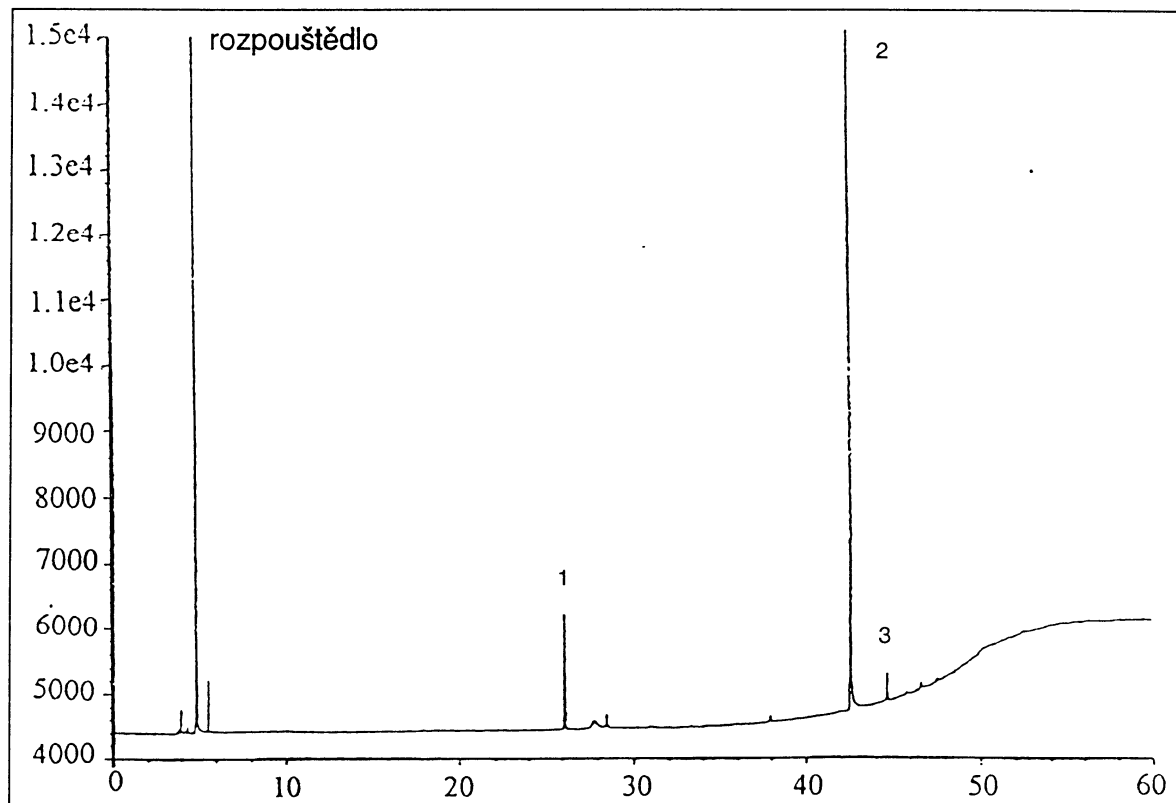
Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:

současný text: Nejvýše 0,150 g.

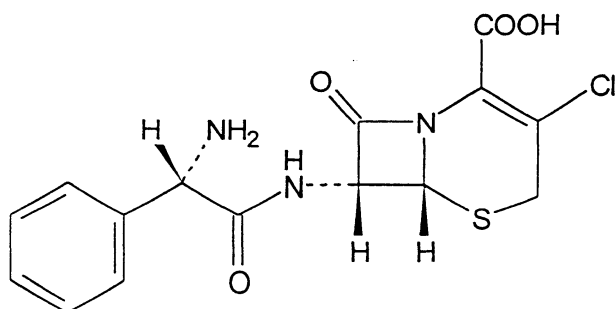
nový text: Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.

Odstavec **Rozpustnost v lihu** (2.8.10) se doplňuje o text:Je rozpustná v 1 objemovém dílu *lihu R* (90%) (V/V).

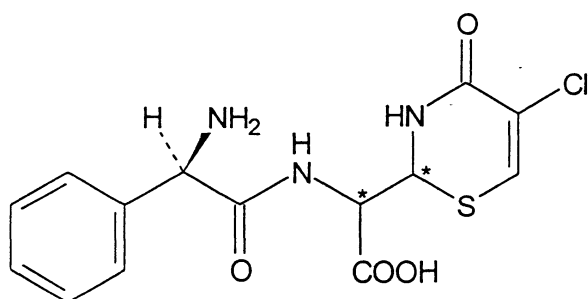
str. 1207

Caryophylli etheroleumNa konci článku **Caryophylli etheroleum** se doplňuje vzorový chromatogram:Vzorový chromatogram. 1. β -karyofylen, 2. eugenol, 3. acetyleugenol

str. 1212 (E)

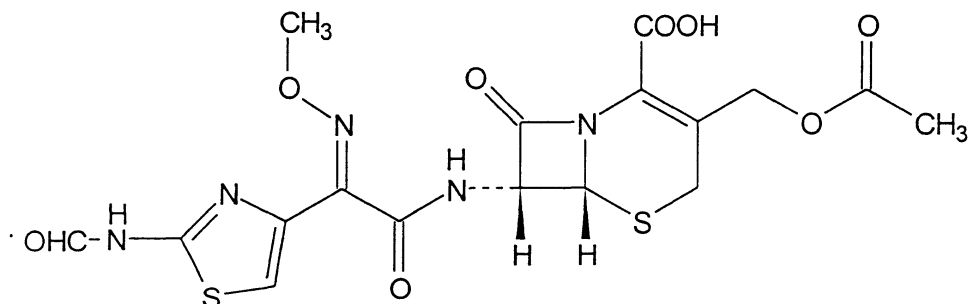
CefaclorumOdstavec **Nečistota C**. Vzorec a název se nahrazují:

C. kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*S*)-2-amino-2-fenylacetamido]-3-chlor-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová,

Odstavec **Nečistota E**. Vzorec a název se nahrazují:

E. kyselina 2-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamido]-2-(5-chlor-3,4-dihydro-2*H*-1,3-thiazin-2-yl)octová,

str. 1230 (E)

Cefotaximum natricumVzorec **Nečistoty C** se nahrazuje:

str. 1231

Odstavec **Nečistota E**:současný text: ... N-[5*aR*,*GR*]-1,4,6,7- ...nový text: ... N-(5*aR*,6*R*)-1,4,6,7- ...

3402 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 1248

Cellulosi pulvis

Tabulka vnitřní viskozity

Nový text 1. řádku tabulky:

η_{rel}	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
--------------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

str. 1249 (E)

Za řádek začínající 9,9 se vloží řádek:

η_{rel}	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
--------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

str. 1258

Cetirizini dihydrochloridum

8. řádek zdola:

současný text: ... (RS)-4-(4-chlorbenzhydryl)-1-acetoxyethylpiperaziniumdichlorid. ...

nový text: ... (RS)-4-(4-chlorbenzhydryl)-1-karboxymethoxyethylpiperazinium-dichlorid. ...

str. 1261

Odstavec **Nečistota E**:

současný text: E. kyselina (RS)-2-{2-[2-[4-(4-chlorbenzhydryl)piperazin-1-yl]ethoxy]}octová (ethoxycetirizin),

nový text: E. kyselina (RS)-2-{2-[2-[4-(4-chlorbenzhydryl)piperazin-1-yl]ethoxy]ethoxy}-octová (ethoxycetirizin),

str. 1314

Chlortalidonum

Název odstavce **Specifická optická otáčivost (2.2.7)** se nahrazuje názvem **Optická otáčivost (2.2.7)**.

str. 1342

Ciprofloxacinum hydrochloridum

Název článku se nahrazuje názvem **Ciprofloxacini hydrochloridum**.

str. 1372

Cloroxinum

Odstavec **Absorbance**, 1. řádek:

současný text: ... v kyselině chlorovodíkové RS1 ...

nový text: ... v kyselině chlorovodíkové 10% RS ...

str. 1382

Codeini dihydrogenophosphas hemihydricus

Český název Hemihydrát dihydrogenkodeiniumfosfatu se opravuje na název Hemihydrát kodeiniumdihydrogenfosfatu.

str. 1384

Codeini dihydrogenophosphas sesquihydricus

Český název Seskvihydrát dihydrogenkodeiniumfosfatu se opravuje na název Seskvihydrát kodeiniumdihydrogenfosfatu.

str. 1414

Coriandri etheroleum

Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:

současný text: Nejvýše 0,150 g.

nový text: Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.

str. 1424

Crataegi folium cum floreOdstavec **Stanovení obsahu:**

2. řádek:

současný text: ... *kyseliny chlorovodíkové RS1* ...nový text: ... *kyseliny chlorovodíkové RS* ...

10. řádek:

současný text: ... *chloridu hlinitého RS* ...nový text: ... *chloridu hlinitého RS1* ...

str. 1468

Desmopressinum

7. řádek zdola:

současný text: Nastříkne se 50 ml ...

nový text: Nastříkne se 50 µl ...

4. řádek zdola:

současný text: Nastříkne se 50 ml ...

nový text: Nastříkne se 50 µl ...

str. 1523

Dihydroergotamini mesilas

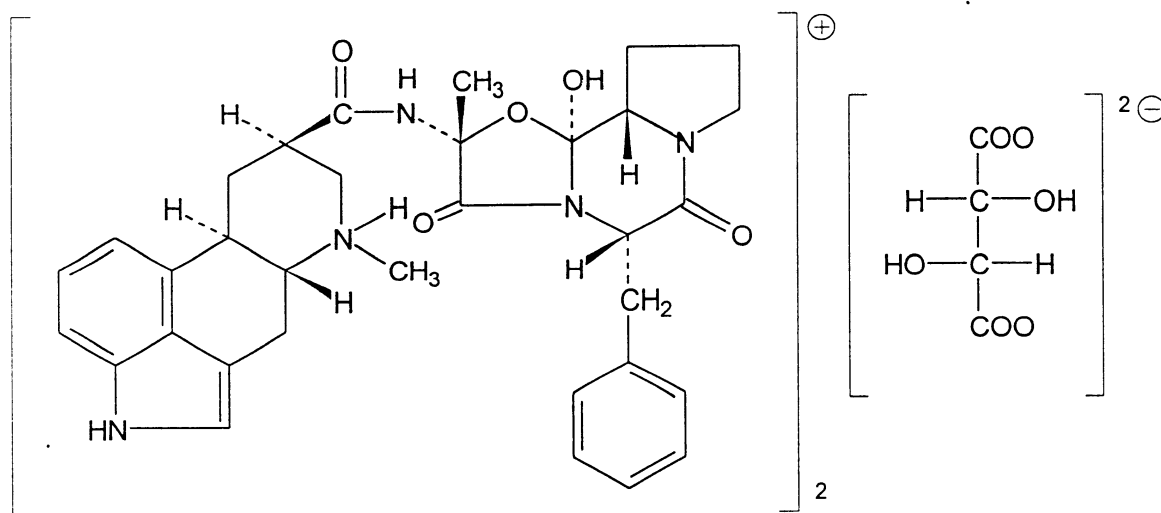
2. a 3. řádek pod strukturním vzorcem:

současný text: Je to dihydroergotaminiummethansulfonat, tj. (5*S*,10*R*)-5'-benzyl-9,10-dihydro-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-ergotamantrion-methansulfonat. ...nový text: Je to (5*S*,10*R*)-5'-benzyl-9,10-dihydro-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-trioxoergotaman-6-iummethansulfonat. ...

str. 1525

Dihydroergotamini tartras

Strukturní vzorec se nahrazuje vzorcem:



2. a 3. řádek pod strukturním vzorcem:

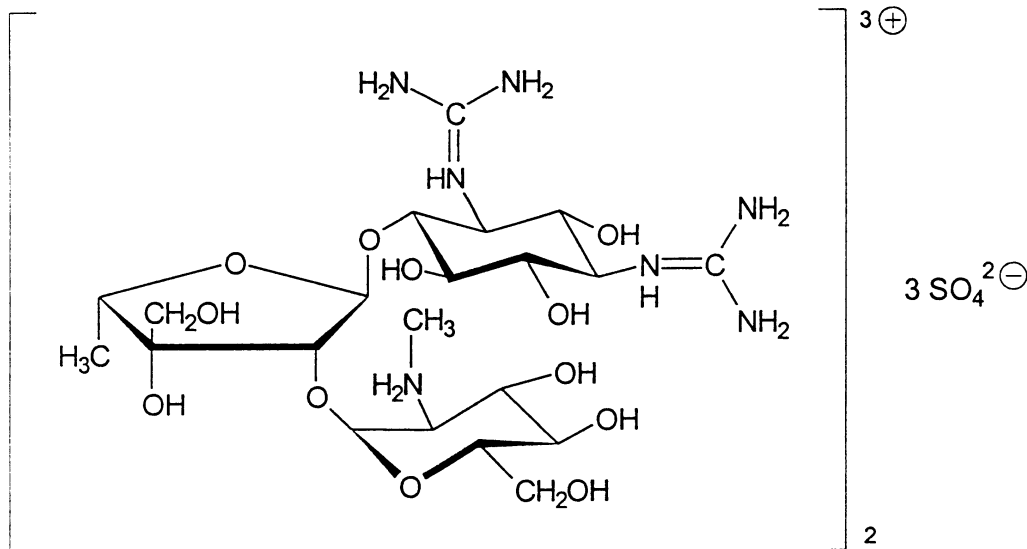
současný text: Je to (5*S*,10*R*)-5'-benzyl-9,10-dihydro-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-ergotamantrion-(2*R*,3*R*)-tartarat.nový text: Je to bis[(5*S*,10*R*)-5'-benzyl-9,10-dihydro-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-trioxoergotaman-6-iumtartarat.

3404 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 1527

Dihydrostreptomycini sulfas

Strukturální vzorec se nahrazuje vzorcem:



3. řádek pod strukturálním vzorcem:

současný text: ... -streptamonium}trisulfat ...

nový text: ... -streptaminium}trisulfat ...

str. 1578 (E)

Doxycyclini hyclasOdstavec **Označování**, 3. řádek:

současný text: - prostá pyrogenních látek.

nový text: - prostá bakteriálních endotoxinů.

str. 1603

Epinephrini hydrogenotartrasOdstavec **Zkouška totožnosti A**, 2. řádek:současný text: ... *amoniak* 17,5% *R* ...nový text: ... *amoniak* 17,5% *RS* ...

str. 1608 (E)

ErgocalciferolumOdstavec **Redukující látky**, 1. řádek zdola:

současný text: ... absorpance porovnávacího roztoku (2 µg/l).

nový text: ... absorpance porovnávacího roztoku (20 µg/l).

str. 1612

Ergotamini tartras

2. řádek pod strukturálním vzorcem:

současný text: Je to bis[(5'S)-5'-benzyl-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-trioxoergotamonium]-(-2R,3R)-tartarat.

nový text: Je to bis[(5'S)-5'-benzyl-12'-hydroxy-2'-methyl-3',6',18-trioxoergotaman-6-ium]-tartarat.

- str. 1647 (E) **Ethylcellulosum**
Odstavec **Stanovení obsahu**, 9. řádek zdola:
současný text: Vypočítá se obsah jodethanu v procentech podle vzorce: ...
nový text: Vypočítá se obsah ethoxyskupin v procentech podle vzorce: ...
- str. 1654 **Ethylis biscoumacetas**
Odstavec **Jiné organické látky**:
3. řádek:
současný text: ... v *methanolu R* ...
nový text: ... v *chloroformu R* ...
4. řádek:
současný text: ... v *methanolu R* ...
nový text: ... v *chloroformu R* ...
6. řádek:
současný text: ... *methanolem R* ...
nový text: ... *chloroformem R* ...
7. řádek:
současný text: ... *methanolem R* ...
nový text: ... *chloroformem R* ...
- str. 1705 **Fluocinoloni acetonidum**
6. řádek zdola:
současný text: *Porovnávací roztok (a)*. ...
nový text: *Porovnávací roztok (b)*. ...
- str. 1708 **Fluoresceinum natricum**
Odstavec **Zinek**, 2. řádek:
současný text: ... *kyanoželeznatanu draselného RS* ...
nový text: ... *hexakyanoželeznatanu draselného RS* ...
- str. 1712 (E) **Fluoxetini hydrochloridum**
Odstavec **Příbuzné látky**, 11. řádek zdola:
současný text: Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku odpovídající fluoxetinu nečistotě C není větší než 0,0015násobek plochy hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) (0,15 %).
nový text: Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) plocha žádného píku odpovídající nečistotě C není větší než 0,0015násobek plochy hlavního píku (0,15 %).
- str. 1728 **Foeniculi etheroleum**
Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:
současný text: Nejvýše 8,0 %.
nový text: Nejvýše 8,0 % (0,08 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.
- str. 1730 **Framycetini sulfas**
3. řádek pod strukturním vzorcem:
současný text: ... -streptamoniumsulfat ...
nový text: ... -streptaminiumsulfat ...

3406 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 1736

Fructosum

Odstavec D, 2. řádek:

současný text: ... *kyseliny chlorovodíkové zředěné R* ...nový text: ... *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* ...

str. 1742

Galla

Odstavec Ztráta sušením, 1. řádek:

současný text: ... *práškované drogy se suší* ...nový text: ... *práškované drogy (355) se suší* ...

Odstavec Celkový popel:

současný text: ... *Nejvýše 1,0 %*.nový text: ... *Nejvýše 2,0 %*.

Odstavec Stanovení obsahu:

11. a 12. řádek:

současný text: ... *se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 2,0 ml filtrátu se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS* ...nový text: ... *se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se smíchají s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS* ...

15. a 16. řádek:

současný text: ... *5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS* ...nový text: ... *5,0 ml roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se smíchají s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS* ...

str. 1747

Gelatina

Odstavec Peroxidy, 1. řádek:

současný text: ... *smíchá se s oxidem vanadičným v kyselině sírové RS* ...nový text: ... *smíchá se s 2 ml oxidu vanadičného v kyselině sírové RS* ...

str. 1754

Geranii etheroleum

Odstavec Zbytek po odpaření silic:

současný text: *Zbytek po odpaření silice je nejvýše 0,150 g.*nový text: *Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.*

str. 1772

Glycerolum

Odstavec Estery, 4. a 5. řádek:

současný text: ... *Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 8,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS.*nový text: ... *Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejméně 8,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS.*

Odstavec Těžké kovy, 2. a 3. řádek:

současný text: ... *Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).*nový text: ... *Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).*

str. 1774

Glycerolum 85%

1. a 2. řádek:

současný text: ... Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 8,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

nový text: ... Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejméně 8,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

Odstavec **Těžké kovy**, 2. a 3. řádek:

současný text: ... Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního *roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

nový text: ... Porovnávací roztok se připraví za použití základního *roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

str. 1864 (E)

HydroxyethylcellulosumOdstavec **Ethylenoxid**, 1. řádek:

současný text: ... stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28).

nový text: ... stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28) metodou standardního přidavku.

str. 1884

Ibuprofenum

7. a 6. řádek zdola:

současný text: ... porovnávacího roztoku (b).

nový text: ... porovnávacího roztoku (a).

str. 1885

IchthammolumČlánek **Ichthammolum**, 2. odstavec v záhlaví článku:

současný text: Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 50,0 % až 56,0 % sušiny, 4,5 % až 7,0 % celkového amoniaku (NH_3 ; M_r 17,03), nejméně 10,5 % organicky vázané síry a nejvýše 20,0 % celkové síry ve formě síranu.

nový text: Látka obsahuje 50,0 % až 56,0 % sušiny. Počítáno na sušinu, obsahuje 4,5 % až 7,0 % celkového amoniaku (NH_3 ; M_r 17,03), nejméně 10,5 % organicky vázané síry a nejvýše 20,0 % celkové síry ve formě síranu.

str. 1979

Kanamycini monosulfas

2. řádek:

současný text: ... -streptomium-sulfatu, ...

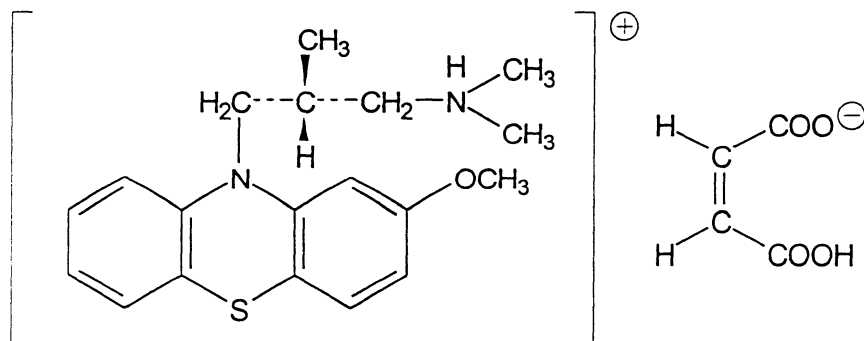
nový text: ... -streptaminiumsulfatu, ...

3408 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

str. 2023

Levomepromazini hydrogenomaleas

Strukturální vzorec se nahrazuje vzorcem:



str. 2033

Lincomycini hydrochloridum monohydricum

Český název Linkomyciniumchlorid se nahrazuje názvem Monohydrát linkomyciniumchloridu.

str. 2044

Lisinoprilum dihydricum

2. řádek pod strukturálním vzorcem:

Současný text: M_r bezvodého 437,49Nový text: M_r bezvodého 405,49

str. 2059

Lupuli flos

Odstavec **Zkouška totožnosti C**, 5. a 4. řádek zdola:

současný text: ... zkoumadlem fosfomolybdenan-wolframovým zředěným R ...

nový text: ... zkoumadlem fosfomolybdenan-wolframovým zředěným RS ...

str. 2065

Macidis etheroleum

Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:

současný text: Nejvýše 0,150 g.

nový text: Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 4 h na vodní lázni.

str. 2120

Menthae piperitae etheroleum

Název odstavce **Hustota** se opravuje na název **Relativní hustota**.

str. 2124

Menthae piperitae herba

2. věta definice látky:

současný text: ... Obsahuje nejméně 0,8 ml ...

nový text: ... Obsahuje nejméně 8,0 ml ...

str. 2125

Odstavec **Zkouška totožnosti D**, 15. řádek:

současný text: (methylacetat). ...

nový text: (menthylacetat). ...

- str. 2171 **Methylrosanilinii chloridum**
Odstavec **Zkouška totožnosti A**, 1. řádek:
současný text: 2,5 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100 ml. Měří se absorbance ...
nový text: 2,5 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100 ml. 10 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100 ml. Měří se absorbance ...
- str. 2257 **Natrii hydroxidum**
Odstavec **Roztok S**, 2. řádek:
současný text: ... 17 ml kyseliny chlorovodíkové *RS1* ...
nový text: ... 17 ml kyseliny chlorovodíkové *RS* ...
- str. 2265 **Natrii perboras**
Odstavec **Zkouška totožnosti C**, 1. řádek:
současný text: ... 0,5 ml methanolu *R* ...
nový text: ... 5 ml methanolu *R* ...
- str. 2280 **Neomycini sulfas**
3. a 4. řádek pod strukturálním vzorcem:
současný text: ... -streptamoniumsulfat ...
nový text: ... -streptaminiumsulfat ...
- str. 2358 (E) **Oxytetracyclinum**
Odstavec **Příbuzné látky**, 4. řádek:
současný text: ... plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (0,5 %).
nový text: ... plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (0,5 % a 2,0 %).
- str. 2387 **Paraffinum solidum**
2. řádek shora:
současný text: ... vypláchnuté vodou a vysušené ...
nový text: ... vypláchnuté vodou *R* a vysušené ...
- str. 2456 **Pini pumilionis etheroleum**
Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:
současný text: Zbytek váží nejvýše 0,150 g.
nový text: Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.
- str. 2483 **Polysorbatum 40**
Odstavec **Číslo zmýdelnění**, 2. řádek:
současný text: ... se zředí 50 ml vody *R*.
nový text: ... se zředí 50 ml lihu 96% *R*.
- str. 2534 (E) **Promethazini hydrochloridum**
Odstavec **Nečistoty**:
současný text:
B. (2*RS*)-*N,N*-dimethyl-2-(10*H*-fenothiazin-10-yl)propan-1-amin,
C. (2*RS*)-*N*-methyl-1-(10*H*-fenothiazin-10-yl)propan-2-amin (isopromethazin),

3410 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

nový text:

- B. (2RS)-N,N-dimethyl-2-(10H-fenothiazin-10-yl)propan-1-amin (isopromethazin),
C. (2RS)-N-methyl-1-(10H-fenothiazin-10-yl)propan-2-amin,

str. 2540 (E)

Propylenglycoli monostearas

Odstavec **Zkouška totožnosti B**, 3. až 1. řádek zdola:

současný text: ... Retenční časy a velikosti dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přibližně shodné s retenčními časy a velikostí hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

nový text: ... Retenční časy dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přibližně shodné s retenčními časy hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

str. 2568

Quercus cortex

Odstavec **Stanovení obsahu:**

12. a 13. řádek:

současný text: ... se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 2,0 ml filtrátu se smíchá s 1,0 ml *kyseliny fosfowolframové RS* ...

nový text: ... se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 5,0 ml filtrátu se zředí *vodou R* na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se smíchají s 1,0 ml *kyseliny fosfowolframové RS* ...

16. a 17. řádek:

současný text: ... 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml *kyseliny fosfowolframové RS* ...

nový text: ... 5,0 ml roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se smíchají s 1,0 ml *kyseliny fosfowolframové RS* ...

str. 2602

Rosmarini etheroleum

Odstavec **Zbytek po odpaření silic:**

současný text: Nejvýše 0,150 g.

nový text: Nejvýše 3,0 % (0,03 g); 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.

str. 2632

Sennae fructus angustifoliae

10. a 9. řádek zdola:

současný text: vyjádřeno jako sennosid B $C_{20}H_{38}O_{20}$

nový text: vyjádřeno jako sennosid B $C_{42}H_{38}O_{20}$

str. 2640 (E)

Sesami oleum

Odstavec **Označování**, za 1. řádek se doplní:

- zda je olej získán lisováním, nebo extrakcí,

str. 2644

Solani amyllum

Odstavec **Železo**, 1. řádek:

současný text: ... protřepe s 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* ...

nový text: ... protřepe s 15 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* ...

str. 2682

Streptomycini sulfas

3. řádek pod strukturním vzorcem:

současný text: ... -streptomonium} trisulfat ...

nový text: ... -streptaminium} trisulfat ...

- str. 2708 **Sulfathiazolum**
Odstavec **Příbuzné látky**, 8. řádek:
současný text: ... *sulfanilamidu* CRL ...
nový text: ... *sulfanilamidu* R ...
- str. 2721 **Suxamethonii jodidum**
Název článku se nahrazuje názvem **Suxamethonii iodidum**.
- str. 2722
Odstavec **Choliniumjodid**, 4. a 6. řádek:
současný text: ... *choliniumjodidu* CRL ...
nový text: ... *choliniumjodidu* R ...
- str. 2723
Vypouští se zkouška **Voda**, semimikrostanovení (2.5.12).
- str. 2737 **Terebinthinae etheroleum rectificatum**
Odstavec **Zbytek po odpaření silic**:
současný text: Nejvýše 0,5 % (0,01 g); stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.
nový text: Nejvýše 0,5 % (0,01 g); 2,00 g se zahřívají 2 h na vodní lázni.
- str. 2748 (E) **Tetracosactidum**
Odstavec **Aminokyseliny**, 6. řádek:
Za aminokyselinu prolin se doplňuje aminokyselina glycin.
- str. 2774 (E) **Thymi herba**
3. řádek v definici drogy:
současný text: ... 5 ml těkavých fenolů v 1 kilogramu silice, počítáno ...
nový text: ... 0,5 % těkavých fenolů v kilogramu drogy, počítáno ...
- str. 2781 (E) **Ticarcillinum natricum**
Odstavec **Příbuzné látky**, 9. řádek:
současný text: - následujících mobilních fází:
nový text: - mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
- str. 2782
Odstavec **Stanovení obsahu**:
9. řádek:
současný text: ... s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min ...
nový text: ... s průtokovou rychlostí 1 ml/min ...
2. řádek zdola:
současný text: ... porovnávací roztok (a) se nastříkují ...
nový text: ... porovnávací roztok se nastříkují ...
- str. 2801 **Tocoferoli alfa acetatis pulvis**
6. a 5. řádek zdola:
současný text:
 S_T - plochu píku *tokoferolu alfa* CRL na chromatogramu porovnávacího roztoku,

3412 Český lékopis 1997 – Doplněk 1999

S'_T - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

nový text:

S_T - plochu píku *tokoferolacetatu alfa CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

S'_T - plochu píku tokoferolacetatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

2. řádek zdola:

současný text:

m_T - hmotnost *tokoferolu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

nový text:

m_T - hmotnost *tokoferolacetatu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

str. 2831

Trimecaini hydrochloridum

Odstavec **Mesidin**, 2. řádek:

současný text: ... 2,0 ml *dusitanu sodného 1 mol/l RS* ...

nový text: ... 2,0 ml *dusitanu sodného 0,1 mol/l RS* ...

str. 2872

Valerianae radix

Odstavec **Extraktivní látky**, 3. řádek:

současný text: ... do sucha na vodní lázni při 100 °C až 105 °C. ...

nový text: ... do sucha na vodní lázni a suší se při 100 °C až 105 °C. ...

str. 2880

Vaselinum album

Odstavec **Vyšší aromatické uhlovodíky**, *Kontrolní roztok*:

současný text: ... použije se čirá horní vrstva.

nový text: ... použije se čirá dolní vrstva.

str. 2881

Vaselinum flavum

Odstavec **Vyšší aromatické uhlovodíky**, *Kontrolní roztok*:

současný text: ... použije se čirá horní vrstva.

nový text: ... použije se čirá dolní vrstva.

str. 2882

2. řádek:

současný text: ... směs se zahřívá ve vodní lázni ...

nový text: ... směs se 10 min zahřívá ve vodní lázni ...

str. 2904

Xantinoli nicotinas

Odstavec **Sírany**:

současný text: ... (2.4.14) ...

nový text: ... (2.4.13) ...

str. 2942

Liquida ad usum dermicum

6. řádek zdola:

současný text: ... (5.1.5) ...

nový text: ... (5.1.4) ...

str. 2966

Producta ab ADN recombinante

21. řádek zdola:

současný text: **Pravidelnost výroby**

nový text: **Dodržování výrobního postupu**

20. řádek zdola:

současný text: ... dokládající pravidelnost výroby ...

nový text: ... dokazující dodržování výrobního postupu ...

str. 2997 (E)

Vaccina ad usum veterinarium

Odstavec **Mykoplazmata:**

Vypouští se 2. až 4. řádek.

str. 3252 (E)

Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum

Odstavec **Stanovení účinnosti**, 14. a 15. řádek:

současný text: ... pro vědecké a jiné experimentální účely.

nový text: ... pro experimentální a jiné vědecké účely.

str. 3253 (E)

Odstavec *Stanovení účinnosti zkoušené vakcíny:*

5. řádek:

současný text: ... jedné ze šesti šestnáctičlenných skupin ...

nový text: ... jedné ze šesti skupin ...

11. řádek:

současný text: ... ke čtyřem skupinám po deseti zvířatech. ...

nový text: ... ke čtyřem skupinám po pěti zvířatech. ...

str. 3359

Obsah

18. řádek zdola:

současný text: 2.1.6 Detekční ...

nový text: 1998 2.1.6 Detekční ...

str. 3361

10. řádek:

současný text: 2.4.23 Steroly ...

nový text: 1998 2.4.23 Steroly ...

12. řádek:

současný text: 2.4.25 Zbytkový ...

nový text: 1998 2.4.25 Zbytkový ...

2. a 1. řádek zdola:

současný text: 2.5.29 Oxid siřičitý

2.5.30 Oxidanty

nový text: 1998 2.5.29 Oxid siřičitý

1998 2.5.30 Oxidanty

str. 3363

9. řádek:

současný text: 2.9.4 Zkouška disoluce ...

nový text: 1998 2.9.4 Zkouška disoluce ...

str. 3370

6. řádek zdola:

současný text: Ciprofloxacinum hydrochloridum ...

nový text: Ciprofloxacinum hydrochloridum ...

3414 *Český lékopis 1997 – Doplněk 1999*

str. 3384

11. řádek zdola:

současný text: Suxamethonii jodidum ...

nový text: Suxamethonii iodidum ...

str. 3387

7. řádek:

současný text: Praeademixta ad alimenta ...

nový text: Praeadmixta ad alimenta ...

2 Zkušební metody

2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody

2.2.6 Index lomu¹⁾



Index lomu n'_λ prostředí vztažený na vzduch se udává jako poměr sinu úhlu dopadu paprsku světla ve vzduchu k sinu úhlu lomu paprsku světla v daném prostředí.

Pokud není uvedeno jinak, měří se index lomu při $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ při vlnové délce D-linie sodíkového světla ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$); užívaný symbol je potom n_D^{20} .

Přístroje na měření indexu lomu – refraktometry obvykle stanovují mezní úhel. Základní částí těchto přístrojů je hranol o známém indexu lomu, který je ve styku se zkoušenou kapalinou.

Ke kalibraci přístroje se použijí referenční kapaliny uvedené v tabulce 2.2.6-1. Hodnota indexu lomu každé referenční kapaliny je uvedena v označení na obalu.

Tab. 2.2.6-1

Referenční kapalina	$\Delta n/\Delta t$ (teplotní koeficient)
<i>trimethylpentan CRL</i>	-0,00049
<i>toluen CRL</i>	-0,00056
<i>methylnaftalen CRL</i>	-0,00048

Při použití bílého světla je refraktometr vybaven příslušným kompenzačním zařízením. Přístroj umožňuje přesný odečet nejméně na tři desetinná místa a je vybaven zařízením umožňujícím práci při předepsané teplotě. Stupnice teploměru je dělena po $0,5^\circ\text{C}$ nebo přesněji.

2.2.27 Tenkovrstvá chromatografie



Tenkovrstvá chromatografie je separační metoda, u které stacionární fázi tvoří vhodný materiál nanesený v rovnoměrné tenké vrstvě na skleněný, kovový nebo plastový podklad (desku). Roztoky stanovovaných látek se na vrstvu nanášejí před vyvíjením. Separace je založena na adsorpci, dělení, iontové výměně nebo na kombinaci těchto mechanismů a dochází k ní migrací (vyvíjením) rozpuštěných látek (roztoky analytů) tenkou vrstvou stacionární fáze v rozpouštědle nebo vhodné směsi rozpouštědel (mobilní fáze).

Zařízení

Desky. Chromatografie se provádí na vrstvou potažených deskách popsanych ve stati *Zkoumadla (4.1.1)*.

Předběžná úprava vrstev. Před separací mohou být vrstvy, je-li třeba, promyty, např. může být provedena migrace vhodným rozpouštědlem. Vrstvy mohou být rovněž impregnovány vyvíjením,

¹⁾ Pharmeuropa 10, 3, 407 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

3416 Zkušební metody

ponořením nebo postříkem. Je-li nutné, vrstvy je možno před použitím aktivovat zahřátím v sušárně při 100 °C až 105 °C po dobu 1 h.

Chromatografická komora s plochým nebo dvojžlábkovým dnem z inertního průsvitného materiálu vhodné velikosti pro použité desky, opatřená dobře těsnícím víkem. Komora pro horizontální vyvíjení je opatřena žlábkem pro mobilní fázi a přídatným zařízením umožňujícím přímý kontakt mobilní fáze a stacionární fáze.

Mikropipety, mikroinjekční stříkačky, kalibrované kapiláry pro jedno použití nebo jiné nanášecí zařízení, které je vhodné pro správné nanášení roztoků.

Fluorescenční detekční zařízení pro přímé hodnocení fluorescence nebo zhášení fluorescence.

Detekční činidla pro detekci oddělených skvrn postříkem, vystavením vlivu par nebo ponořením.

Pracovní postup

Vertikální vyvíjení. Stěny chromatografické komory se vyloží filtračním papírem. Do chromatografické komory se nalije podle její velikosti takové množství mobilní fáze, aby po impregnaci filtračního papíru byla vrstva ponořena do vhodné hloubky vzhledem k rozměrům použité desky. Pro nasycení se komora uzavře víkem a nechá se stát 1 h při 20 °C až 25 °C. Není-li předepsáno jinak, chromatografická separace se provádí v nasycené komoře.

Nanese se předepsaný objem roztoků po dostatečně malých dávkách ve formě proužků nebo kruhových skvrn ve vhodné vzdálenosti od spodního okraje a bočních okrajů desky. Roztoky se nanášejí na start rovnoběžně se spodním okrajem desky tak, aby vzdálenost mezi skvrnami byla nejméně 10 mm.

Po odpaření rozpouštědla z nanesených roztoků se vrstva vloží do chromatografické komory tak, aby byla v co nejvíce vertikální poloze a skvrny nebo proužky byly nad hladinou mobilní fáze. Komora se uzavře, udržuje se při teplotě 20 °C až 25 °C a chrání se před slunečním světlem. Deska se vyjme, když mobilní fáze dosáhne předepsané vzdálenosti, vysuší se a deteguje se předepsaným způsobem.

Pro dvojrozměrnou chromatografii se vrstva po prvním vyvíjení vysuší a provede se druhé vyvíjení ve směru kolmém na směr prvního vyvíjení.

Horizontální vyvíjení. Nanese se předepsaný objem roztoků po dostatečně malých dávkách tak, aby vznikly kruhové skvrny o průměru 1 mm až 2 mm nebo proužky 5 mm až 10 mm x 1 mm až 2 mm ve vhodné vzdálenosti od spodního okraje a bočních okrajů desky. Roztoky se nanášejí na start rovnoběžně se spodním okrajem desky tak, aby vzdálenost mezi skvrnami byla nejméně 5 mm. Po odpaření rozpouštědla z nanesených roztoků se pomocí injekční stříkačky nebo pipety vnese do žlábků vyvíjecí komory vhodné množství mobilní fáze, deska se do chromatografické komory umístí horizontálně a spojí se zařízením podle pokynů výrobce s mobilní fází. Je-li předepsáno, vyvíjení se započne simultánně z obou stran. Komora se uzavře a udržuje se při teplotě 20 °C až 25 °C. Deska se vyjme, když mobilní fáze dosáhne vzdálenosti předepsané v článku, vysuší se a chromatogram se deteguje předepsaným způsobem.

Pro dvojrozměrnou chromatografii se vrstva po prvním vyvíjení vysuší a provede se druhé vyvíjení ve směru kolmém na směr prvního vyvíjení.

Vizuální hodnocení

Zkouška totožnosti. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se vizuálně porovnává s odpovídající skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku porovnáním barvy, velikosti a retenčního faktoru (R_F) obou skvrn.

Retenční faktor (R_F) je definován jako poměr vzdálenosti koncentračního vrcholu (obvykle střed skvrny) ke vzdálenosti čela mobilní fáze, měřeno od místa nanášení.

Ověření separační schopnosti pro zkoušky totožnosti. Obvykle je dostačující provedení testu způsobilosti popsaného ve stati *Zkoumadla (4.1.1)*. Pouze ve zvláštních případech může být v článku předepsáno další kritérium pro test způsobilosti.

Zkouška na příbuzné látky. Vedlejší skvrna (skvrny) na chromatogramu zkoušeného roztoku se vizuálně porovnává (porovnávají) s odpovídající(mi) skvrnou (skvrnami) na chromatogramu porovnávacího roztoku obsahujícího nečistotu (nečistoty) nebo se skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku připraveného ředěním zkoušeného roztoku.

Ověření separační schopnosti. Požadavky na ověření separační schopnosti jsou uvedeny v příslušném článku.

Ověření detekční schopnosti. Detekční schopnost je dostatečná, je-li skvrna nebo proužek na chromatogramu nejzřetelnějšího porovnávacího roztoku zřetelně viditelná.

Kvantitativní stanovení

Požadavky na rozlišení a separaci jsou uvedeny v jednotlivých člancích.

Látky detegovatelné v ultrafialovém nebo denním světle separované tenkovrstvou chromatografií mohou být stanoveny přímo na desce za použití vhodného přístrojového vybavení. Deska se hodnotí měřením reflektance nebo transmitance dopadajícího světla, přičemž se pohybuje buď deska nebo měřicí zařízení. Podobně za použití vhodného optického systému může být měřena fluorescence. Látky obsahující radionuklidy mohou být kvantifikovány třemi způsoby: buď přímým měřením radioaktivity podél celého chromatogramu (viz *Radiofarmaca*), nebo po rozstříhání desky na proužky měřením radioaktivity každého jednotlivého proužku za použití vhodného detektoru, anebo po seškrabání stacionární fáze a rozpuštění ve vhodném scintilačním roztoku měřením jeho radioaktivity za použití kapalinového scintilačního detektoru.

Zařízení. Přístrojové vybavení pro přímé měření na desce se skládá:

- ze zařízení pro přesné umístění a reprodukovatelné dávkování objemů připravených roztoků na vrstvu,
- z mechanického zařízení pro pohyb desky nebo měřícího zařízení ve směru osy x nebo osy y,
- ze zapisovače a vhodného integrátoru nebo počítače,
- *pro látky detegovatelné v ultrafialovém nebo denním světle:* pro měření reflektance nebo transmitance fotometr se zdrojem světla, optické zařízení schopné generovat monochromatické světlo a fotoelektrický článek odpovídající citlivosti; pro měření fluorescence kromě toho monochromatický filtr pro vyčlenění určité spektrální oblasti vyzářeného světla,
- *pro látky obsahující radionuklidy:* vhodný detektor radioaktivity, u kterého musí být ověřena oblast linearity.

Postup. Připraví se předepsaným způsobem zkoušený roztok, a je-li třeba, připraví se i porovnávací roztoky stanovované látky ve stejném rozpouštědle jako zkoušený roztok. Nanesou se stejné objemy všech připravených roztoků a chromatogram se vyvine.

Látky detegovatelné v ultrafialovém nebo denním světle: Připraví a nanesou se nejméně tři porovnávací roztoky, v nichž jsou koncentrace zkoušené látky v rozpětí jejího očekávaného obsahu ve zkoušeném roztoku (přibližně 80 %, 100 % a 120 %). Po skončeném vyvíjení se provede, je-li třeba, detekce předepsaným činidlem a zaznamená se reflektance, transmitance nebo fluorescence chromatogramů zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků. Naměřené hodnoty se použijí pro výpočet množství látky ve zkoušeném roztoku.

3418 Zkušební metody

Látky obsahující radionuklidy: Připraví a nanese se zkoušený roztok, jehož koncentrace je přibližně 100 % očekávaného obsahu. Stanoví se celková radioaktivita a radioaktivita každého jednotlivého píku se vyjádří jako procento z celkového množství radioaktivity.

Není-li předepsáno jinak, lze výsledky stanovení hodnotit, jestliže rozlišení (R_s) mezi měřenými píky na chromatogramu je větší než 1,0.

Rozlišení (R_s) se vypočte ze vzorce:

$$R_s = \frac{1,18 \cdot (z_b - z_a)}{b_{0,5a} + b_{0,5b}},$$

$$z_b > z_a,$$

v němž značí:

z_b, z_a - vzdálenosti podél základní linie mezi bodem nanesení vzorku a kolmicemi spuštěnými z vrcholů dvou sousedních píků (mm),

$b_{0,5a}, b_{0,5b}$ - šířky píků v polovině jejich výšky (mm).

Jestliže se limitní řada nečistot hodnotí fotometricky, je důležitým parametrem pro stanovení detekčního limitu poměr signálu k šumu (S/N).

Poměr signálu k šumu (S/N) se vypočítá ze vzorce:

$$\frac{S}{N} = \frac{2H}{h},$$

v němž značí:

H - výšku píku odpovídajícího stanovované složce na chromatogramu získaném s předepsanou porovnávací látkou, měřenou z maxima píku k základně signálu sledovaného po dráze odpovídající 20násobku šířky píku v polovině jeho výšky,

h - maximální amplitudu šumu pozadí na chromatogramu kontrolního roztoku získaného při slepé zkoušce, sledovaného po dráze odpovídající 20násobku šířky píku v polovině jeho výšky na chromatogramu předepsané porovnávací látky a sledovaného v místě rovnoměrně situovaném okolo místa, kde by se tento pík nacházel.

2.2.41 Cirkulární dichroismus



1998

Jako cirkulární dichroismus se označuje rozdíl absorbancí levotočivě a pravotočivě cirkulárně polarizovaného světla u opticky aktivní látky v oblasti jejího absorpčního pásu.

Přímé měření poskytuje střední algebraickou hodnotu:

$$\Delta A = A_L - A_R,$$

ΔA - diferenční cirkulárně dichroická absorbance,

A_L - absorbance levotočivě cirkulárně polarizovaného světla,

A_R - absorbance pravotočivě cirkulárně polarizovaného světla.

Cirkulární dichroismus se vypočítá podle rovnice:

$$\Delta \varepsilon = \varepsilon_L - \varepsilon_R = \frac{\Delta A}{c \cdot l},$$

$\Delta \varepsilon$ - molární cirkulární dichroismus nebo molární diferenční dichroická absorptivita vyjádřená v $\text{litr} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,

ε_L - molární absorptivita (2.2.25) levotočivě cirkulárně polarizovaného světla,

ε_R - molární absorptivita pravotočivě cirkulárně polarizovaného světla,

c - koncentrace zkoušeného roztoku v $\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$,

l - tloušťka vrstvy v cm.

K charakterizaci cirkulárního dichroismu se mohou používat také následující veličiny:

Faktor dissymetrie:

$$g = \frac{\Delta\varepsilon}{\varepsilon},$$

ε - molární absorptivita (2.2.25).

Molární elipticita:

Některé typy přístrojů měří přímo hodnotu elipticity Θ , vyjádřenou ve stupních. Při použití těchto přístrojů může být molární elipticita vypočítána pomocí následující rovnice:

$$[\Theta] = \frac{\Theta \cdot M}{c \cdot l \cdot 10},$$

$[\Theta]$ - molární elipticita vyjádřená ve stupních.cm².decimol⁻¹,

Θ - hodnota elipticity odečtená na přístroji,

M - relativní molekulová hmotnost zkoušené látky,

c - koncentrace zkoušeného roztoku v g.ml⁻¹,

l - tloušťka vrstvy v centimetrech.

Vzájemný vztah mezi molární elipticitou a molárním cirkulárním dichroismem udává následující rovnice:

$$[\Theta] = 2,303\Delta\varepsilon \frac{4500}{\pi} \approx 3300\Delta\varepsilon.$$

Molární elipticita se často používá při analýze bílkovin a nukleových kyselin. V tomto případě se molární koncentrace vyjadřuje jako monomerní zbytek vypočítaný pomocí výrazu:

$$\frac{\text{molekulová hmotnost}}{\text{počet aminokyselin}}.$$

Střední relativní molekulová hmotnost monomerního zbytku je 100 až 120 (obvykle 115) pro bílkoviny a asi 330 pro nukleové kyseliny (ve formě sodných solí).

Zařízení. Zdrojem světla (S) je xenonová lampa; světlo prochází dvojítm monochromátorem (M) s křemennými hranoly (P₁, P₂).

Lineární světelný paprsek z prvního monochromátoru je štěpen na dvě složky, které jsou v druhém monochromátoru polarizovány v pravých úhlech. Výstupní šterbina v monochromátoru eliminuje mimořádný paprsek.

Získané polarizované monochromatické světlo prochází opticky aktivním modulátorem (Cr); výsledkem je střídavé cirkulárně polarizované světlo.

Paprsek pak prochází zkoumaným vzorkem (C) a dopadá na fotonásobič (PM) spojený se zesilovačem, který produkuje dva elektrické signály: jedním je stejnosměrný proud V_c a druhým střídavý proud s modulační frekvencí V_{ac} charakteristickou pro zkoušený vzorek. Fáze udává znaménko cirkulárního dichroismu. Poměr V_{ac} / V_c je úměrný diferenci absorpci ΔA , která vytvořila signál. Dichrograf běžně pracuje v oblasti vlnových délek 170 nm až 800 nm.

Kalibrace přístroje.

Přesnost stupnice absorbance. 10,0 mg *isoandrosteronu R* se rozpustí v *dioxanu R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 10,0 ml. Spektrum cirkulárního dichroismu roztoku se zaznamená v rozmezí vlnových délek 280 nm až 360 nm. V maximu při 304 nm hodnota $\Delta\varepsilon$ je +3,3.

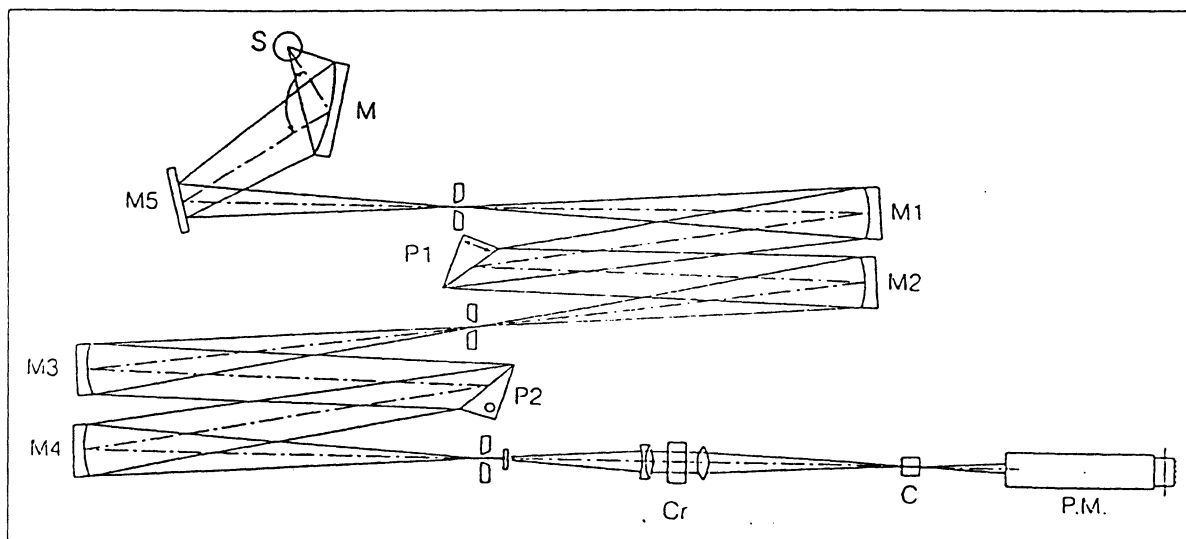
Pro toto měření může být použit také roztok (*1S*)-(+)-10-*kafrysulfonové kyseliny R*.

3420 Zkušební metody

Linearita modulace. 10,0 mg (1S)-(+)-10-kafrsulfonové kyseliny R se rozpustí ve vodě R a zředí se stejným rozpouštědlem na 10,0 ml. Přesná koncentrace kafrsulfonové kyseliny v roztoku se určí ultrafialovou spektrofotometrií (2.2.25) s použitím hodnoty specifické absorpce 1,49 při 285 nm.

Spektrum cirkulárního dichroismu se zaznamená mezi 185 nm a 340 nm. V maximu při 290,5 je hodnota $\Delta\varepsilon$ +2,2 až +2,5. V maximu při 192,5 nm je změřená hodnota $\Delta\varepsilon$ -4,3 až -5.

Pro kalibraci může být také použit (1S)-(+) nebo antipod (1R)-(-)-amonium-10-kafrsulfonat R.



Obr. 2.2.41-1 Optické schéma dichrografu

2.3 Zkoušky totožnosti

2.3.2 Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií



1999

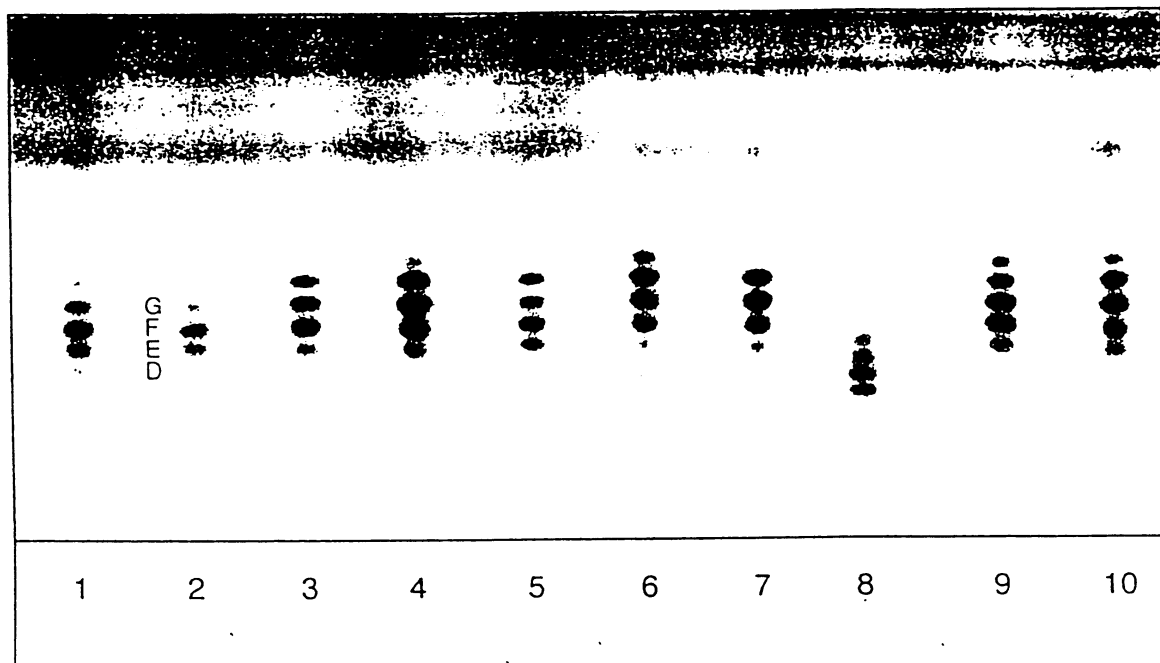
Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu pro vysokoučinnou tenkovrstvou chromatografií.

Zkoušený roztok. Není-li předepsáno jinak, rozpustí se asi 20 mg (1 kapka) mastného oleje ve 3 ml *dichlormethanu R*.

Porovnávací roztok. Rozpustí se asi 20 mg (1 kapka) *oleje kukuřičného R* ve 3 ml *dichlormethanu R*.

Na vrstvu se odděleně nanese po 1 μ l každého roztoku a vyvíjí se dvakrát *etherem R* po dráze 0,5 cm. Pak se vyvíjí dvakrát směsí objemových dílů *dichlormethanu R*, *kyseliny octové ledové R* a *acetonu R* (20 + 40 + 50) po dráze 8 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (100 g/l) v *lihu 96% R*, zahřívá se asi 3 min při 120 °C a pozoruje se v denním světle.

Na chromatogramu jsou charakteristické skvrny odpovídající obrázku 2.3.2-1.



Obr. 2.3.2-1 Charakteristické chromatogramy k určení totožnosti mastných olejů

- | | |
|---------------------------|--------------------------------------------|
| 1. <i>Arachidis oleum</i> | 6. <i>Sojae oleum</i> |
| 2. <i>Olivae oleum</i> | 7. <i>Helianthi oleum</i> |
| 3. <i>Sesami oleum</i> | 8. <i>Rapae oleum</i> |
| 4. <i>Maydis oleum</i> | 9. <i>Rapae oleum (sine acido erucico)</i> |
| 5. <i>Amygdalae oleum</i> | 10. <i>Tritici aestivi oleum</i> |

3422 Zkušební metody

2.4 Limitní zkoušky

2.4.8 Těžké kovy



1999

Tato metoda stanovení těžkých kovů se zařazuje na konec stati (2.4.8) publikované v Českém lékopisu 1997.

Metoda F

Zkoušený roztok. Předepsané množství zkoušené látky se převede do čisté suché 100ml dlouhohrdlé spalovací baňky (300ml baňka může být použita, pokud reakce nadměrně pění). Baňka se upevní tak, aby svírala úhel 45° a přidá se dostatečný objem směsi 8 ml *kyseliny sírové R* a 10 ml *kyseliny dusičné R*. Opatrně se zahřívá do začátku reakce, po jejím ukončení se postupně přidávají další podíly stejné směsi kyselin, po každém přidání se zahřívá, až je přidán celý objem 18 ml směsi kyselin. Zahřívá se intenzivněji dále a opatrně se vaří až do ztmavnutí roztoku. Ochladí se, přidají se 2 ml *kyseliny dusičné R* a opět se zahřívá do ztmavnutí roztoku. Zahřívá se, dokud po dalším přidání *kyseliny dusičné R* směs již netmavne, pak se silně zahřívá, až se tvoří husté bílé dýmy. Ochladí se, opatrně se přidá 5 ml *vody R*, mírně se vaří, až se tvoří husté bílé dýmy a objem se zmenší na 2 ml až 3 ml. Ochladí se, opatrně se přidá 5 ml *vody R* a pozoruje se barva roztoku. Jestliže je roztok žlutý, opatrně se přidá 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a opět se odpařuje, až se tvoří husté bílé dýmy a objem se zmenší na 2 ml až 3 ml. Jestliže je roztok ještě žlutý, opakuje se přidání 5 ml *vody R* a 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*, až je roztok bezbarvý. Ochladí se a opatrně se zředí asi na 25 ml *vodou R*.

Upraví se pH roztoku *amoniakem 32% R* (*amoniak zředěný RS1* může být použit, pokud je žádoucí přiblížení tomuto specifickému rozsahu) na 3,0 až 4,0 za použití indikátorového papírku malého rozsahu pH jako vnějšího indikátoru, zředí se *vodou R* na 40 ml a promíchá se.

Přidají se 2 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5* a 1,2 ml *zkoumadla thioacetamidového R*, ihned se promíchá. Zředí se *vodou R* na 50 ml a promíchá se.

Porovnávací roztok. Připraví se současně a stejným způsobem za použití předepsaného objemu základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Po 2 min hnědé zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku.

2.4.22 Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií



1999

Cizí oleje se stanoví jako methylestery mastných kyselin přítomných ve zkoušených olejích.

Tato metoda není použitelná pro oleje obsahující acylglyceroly mastných kyselin s epoxy-, hydroepoxy-, cyklopropyl- a cyklopropenylovými skupinami nebo oleje s velkým podílem mastných kyselin s kratším řetězcem než 8 uhlíkových atomů nebo pro oleje s vyšším číslem kyselosti než 2,0.

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Je-li v článku předepsáno, zkoušený olej se před methylací suší. Naváží se 1,0 g zkoušeného oleje do 25ml zabroušené baňky s kulatým dnem opatřené zpětným chladičem a upravené k zavádění plynu. Přidá se 10 ml *methanolu bezvodého R*, 0,2 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (60 g/l) v *methanolu R* a za míchání se pod zpětným chladičem zahřívá k varu za současného probublávání *dusíkem R* rychlostí asi 50 ml/min. Když je roztok čirý (asi po 10 min),

pokračuje se v zahřívání ještě 5 min. Baňka se ochladí pod tekoucí vodou a obsah se převede do dělicí nálevky. Vnitřek baňky se opláchne 5 ml *heptanu R*, který se přidá do dělicí nálevky a protřepe se. Přidá se 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (200 g/l) a intenzivně se protřepe. Po rozdělení se organická vrstva převede do nádobky, vysuší se *síranem sodným bezvodým R*, nechá se stát a zfiltruje se.

Porovnávací roztok (a). Podle tabulky 2.4.22-1 se připraví 0,50 g směsi kalibračních látek, rozpustí se v *heptanu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *heptanem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony nebo nerezové ocelové kolony délky 2 m až 3 m a vnitřního průměru 2 mm až 4 mm naplněné *křemelinou pro plynovou chromatografii R* (125 μm až 200 μm) impregnovanou 5 % až 15 % *makrogolsukcinatu R* nebo *makrogoladipatu R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 25 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 180 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 200 °C. Pokud je to nutné nebo předepsané, zvyšuje se teplota kolony rychlostí 5 °C/min ze 120 °C na 200 °C.

Chromatografický postup může být alternativně proveden za použití:

- skleněné nebo křemenné kapilární kolony (je dávana přednost koloně se stěnami pokrytými kapalnou fází) délky 10 m až 30 m a vnitřního průměru 0,2 mm až 0,8 mm, jejíž vnitřní povrch je pokryt vrstvou poly[(kyanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxanu R nebo makrogolu 20 000 R (tloušťky 0,1 μm až 0,5 μm) nebo jinou vhodnou stacionární fází,
- helia pro chromatografii R nebo vodíku pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,3 ml/min (pro kolonu o vnitřním průměru 0,32 mm),
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100 nebo menšího, podle vnitřního průměru použité kolony (1 : 50 pro kolonu o vnitřním průměru 0,32 mm).

Teplota kolony se udržuje na 160 °C až 200 °C podle délky a typu použité kolony (pro kolonu délky 30 m pokrytou *makrogolem 20 000 R*, 200 °C), teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 250 °C. Je-li nutno nebo předepsáno, zvyšuje se teplota kolony rychlostí 3 °C/min ze 170 °C na 230 °C (pro kolonu s *makrogolem 20 000 R*).

Nastříkne se 0,5 μl porovnávacího roztoku (a). Upraví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla 50 % až 70 % celé stupnice zapisovače.

Urcí se retenční časy jednotlivých mastných kyselin. Nastříkne se 1 μl porovnávacího roztoku (b) a zkontroluje se poměr signálu k šumu pro pík odpovídající methylmyristatu.

Nastříkne se 0,5 μl až 1,0 μl zkoušeného roztoku. Zaznamenávají se chromatogramy po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času methyloleatu. Chromatogramy se vyhodnotí, jak je uvedeno níže.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je počet teoretických pater (n) (2.2.28), počítáno pro pík odpovídající methylstearatu, nejméně 2000 pro náplňové kolony a 30 000 pro kapilární kolony,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení (R_s) (2.2.28) mezi píky odpovídajícími methyloleatu a methylstearatu nejméně 1,25 pro náplňové a 1,8 pro kapilární kolony a je-li předepsáno v článku, rozlišení mezi píky odpovídajícími methylinolenatu ($C_{18:3}$) a methylarachidatu ($C_{20:0}$) nebo methylarachidatu ($C_{20:0}$) a methylkosenoatu ($C_{20:1}$) nejméně 1,8,
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je poměr signálu k šumu (2.2.28) pro pík odpovídající methylmyristatu nejméně 5.

3424 Zkušební metody

Vyhodnocení chromatogramů

Je třeba se vyvarovat pracovních podmínek, které umožňují vznik maskovaných píků (přítomnost složek s malými rozdíly v retenčních časech, jako u kyseliny linolenové a kyseliny arachidové).

Kvalitativní analýza. Sestrojí se kalibrační křivky za použití chromatogramu získaného s kalibračními látkami (porovnávací roztok (a)) a informací v tabulce 2.4.22-1:

- a) za izotermických podmínek vynesemím logaritmu redukováných retenčních časů jako funkce počtu uhlíkových atomů mastné kyseliny; identifikují se píky pomocí takto získané přímky a „ekvivalentní délky řetězce“ pro různé píky. Kalibrační křivka nasycených kyselin je přímka. Logaritmy redukováných retenčních časů nenasycených kyselin jsou umístěny na této přímce v bodech odpovídajících necelým číslům, která se nazývají „ekvivalentní délky řetězce“;
- b) za podmínek lineárního teplotního programu vynesemím retenčních časů jako funkce počtu uhlíkových atomů mastných kyselin; určení totožnosti se provede pomocí kalibrační křivky.

Tab. 2.4.22-1 Kalibrační látky*

Směs následujících látek	Ekvivalentní délka řetězce**	Složení v %	
		Izotermické podmínky	Lineární teplotní program
<i>Methylaurat R</i>	12,0	5	10
<i>Methylmyristat R</i>	14,0	5	15
<i>Methylpalmitat R</i>	16,0	10	15
<i>Methylstearat R</i>	18,0	20	20
<i>Methylarachidat R</i>	20,0	40	20
<i>Methyloleat R</i>	18,6	20	20

* Pro GC s kapilární kolonou a s nástřikem s děličem se doporučuje, aby složka s nejdelším řetězcem ze zkoušené směsi byla přidána ke kalibrační směsi.

** Tato hodnota, která má být počítána pomocí kalibrační křivky, je uvedena jako příklad pro kolonu s *makrogolsukcinatem R*.

Kvantitativní analýza. Používá se metoda vnitřní normalizace, při níž součet ploch všech píků na chromatogramu, kromě píku rozpouštědla, je brán jako 100 %. Doporučuje se použití elektronického integrátoru. Obsah složky je vypočítán jako procentuální podíl plochy odpovídajícího píku z celkového součtu ploch všech píků. Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05 % celkové plochy.

2.4.24 Totožnost a kontrola zbytkových rozpouštědel

1999

Zkušební postupy popsané v této obecné metodě mohou být použity:

1. Pro určení totožnosti většiny zbytkových rozpouštědel třídy 1 a třídy 2 v léčivých látkách a pomocných látkách, nebo léčivých přípravcích, nejsou-li zbytková rozpouštědla známa.
2. Jako limitní zkouška pro rozpouštědla třídy 1 a třídy 2 přítomná v léčivých látkách a pomocných látkách nebo léčivých přípravcích.
3. Pro kvantifikaci rozpouštědel třídy 2, jsou-li limitní hodnoty vyšší než 1000 µg/g (0,1 %), nebo třídy 3, je-li požadována kvantifikace.

Třídy zbytkových rozpouštědel jsou uvedeny v obecné kapitole 5.4.

Jsou popsána 3 rozpouštědla pro přípravu vzorků a použité podmínky pro head space nástřik plyných vzorků do chromatografického systému. Jsou předepsány 2 chromatografické systémy, ale přednost je dáována systému A, zatímco systém B je normálně používán pro potvrzení totožnosti. Výběr postupu pro přípravu vzorku závisí na rozpustnosti zkoušené látky a v některých případech i analyzovaných zbytkových rozpouštědlech.

Za popsaných podmínek head space nástřiku nebývají běžně detegována tato rozpouštědla: formamid, 2-ethoxyethanol, 2-methoxyethanol, ethylenglykol, N-methylpyrrolidon a sulfolan. Pro kontrolu těchto zbytkových rozpouštědel by měly být používány jiné vhodné postupy.

Je-li postup zkoušky používán pro kvantitativní stanovení zbytkových rozpouštědel v látce, musí být validován.

Pracovní postup

Provede se plynová chromatografie se statickým head space nástřikem (2.2.28).

Příprava vzorku 1. Je určena pro stanovení zbytkových rozpouštědel v látkách ve vodě rozpustných.

Roztok vzorku (1). 0,200 g zkoušené látky se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20,0 ml.

Příprava vzorku 2. Je určena pro stanovení zbytkových rozpouštědel v látkách ve vodě nerozpustných.

Roztok vzorku (2). 0,200 g zkoušené látky se rozpustí v *N,N-dimethylformamidu R* (DMF) a zředí se jím na 20,0 ml.

Příprava vzorku 3. Je určena pro stanovení *N,N-dimethylacetamidu a/nebo N,N-dimethylformamidu*, je-li známo nebo lze předpokládat, že jeden z nich nebo oba budou přítomny ve zkoušené látce.

Roztok vzorku (3). 0,200 g zkoušené látky se rozpustí v *1,3-dimethyl-2-imidazolidinonu R* (DMI) a zředí se jím na 20,0 ml.

V některých případech není pro přípravu vzorku vhodný ani jeden z uvedených postupů, v takovýchto případech musí být prokázáno, že rozpouštědlo použité pro přípravu vzorku a podmínky statické head space analýzy jsou vhodné.

Roztok rozpouštědla (a). 1,0 ml roztoku zbytkového rozpouštědla třídy 1 CRL se zředí vodou R na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10,0 ml.

Roztok rozpouštědla (b). Vhodná množství zbytkových rozpouštědel třídy 2 se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se vodou R na 100,0 ml. Zředění je takové, aby koncentrace odpovídala 1/20 limitní hodnoty uvedené v tabulce 2.

Roztok rozpouštědla (c). 1,00 g rozpouštědla nebo rozpouštědel přítomných ve zkoušené látce se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* nebo ve vodě R, je-li to vhodné, a zředí se vodou R na 100,0 ml. Zředí se na koncentraci odpovídající 1/20 limitní hodnoty uvedené v tabulce 1 nebo 2.

Kontrolní roztok. Připraví se jako roztok rozpouštědla (c), ale bez přídavku rozpouštědla (rozpouštědel) použitých k ověření nepřítomnosti interferujících pík.

Zkoušený roztok. 5,0 ml roztoku vzorku a 1,0 ml kontrolního roztoku se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

Porovnávací roztok (a) (Třída 1). 1,0 ml roztoku rozpouštědla (a) a 5,0 ml vhodného rozpouštědla se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

Porovnávací roztok (a₁) (Třída 1). 5,0 ml roztoku vzorku a 1,0 ml roztoku rozpouštědla (a) se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

3426 Zkušební metody

Porovnávací roztok (b) (Třída 2). 1,0 ml roztoku rozpouštědla (b) a 5,0 ml vhodného rozpouštědla se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

Porovnávací roztok (c). 5,0 ml roztoku vzorku a 1,0 ml roztoku rozpouštědla (c) se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml kontrolního roztoku a 5,0 ml vhodného rozpouštědla se odměří do lahvičky pro nástřik vzorku.

Lahvičky se vzduchotěsně uzavřou pryžovým septem pokrytým polytetrafluorethylenem a zajistí hliníkovým uzávěrem. Roztok se zhomogenizuje protřepáním.

Mohou být použity tyto podmínky statického head space nástřiku:

Pracovní parametry	Postup pro přípravu vzorku		
	1	2	3
Teplota pro ustavení rovnováhy (°C)	80	105	80
Doba ustavování rovnováhy (min)	60	45	45
Teplota přechodové kapiláry (°C)	85	110	105

Nosný plyn: *Dusík pro chromatografii R* nebo *helium pro chromatografii R*, při vhodném tlaku

Doba tlakování (s)	30	30	30
Nástřikovaný objem (ml)	1	1	1

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

System A

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm nebo 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou zesíťovanými 6 % *polykvanpropylfenylsiloxanu R* a 94 % *polydimethylsiloxanu R* (tloušťka filmu: 1,8 µm nebo 3 µm),
- *dusíku pro chromatografii R* nebo *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při lineární průtokové rychlosti asi 35 cm/s a dělicím poměru 1 : 5,
- plamenoionizačního detektoru (může být použit též hmotnostní spektrometr nebo detektor elektronového záchytu pro chlorovaná zbytková rozpouštědla třídy 1).

Teplota kolony se udržuje na 40 °C po dobu 20 min, potom se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 240 °C, při níž se udržuje 20 min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 140 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Dochází-li k interferenci stanovovaných rozpouštědel s matricí, použije se:

System B

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm nebo 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou makrogolem 20 000 R (tloušťka filmu: 0,25 µm),
- *dusíku pro chromatografii R* nebo *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při lineární průtokové rychlosti asi 35 cm/s a dělicím poměru 1 : 5,
- plamenoionizačního detektoru (může být použit též hmotnostní spektrometr detektor nebo detektor elektronového záchytu pro chlorovaná zbytková rozpouštědla třídy 1).

Teplota kolony se udržuje na 50 °C po dobu 20 min, potom se zvyšuje rychlostí 6 °C/min na 165 °C, při níž se udržuje 20 min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 140 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (a) na kolonu popsanou v systému A a zaznamená se chromatogram za takových podmínek, aby mohl být stanoven poměr signálu k šumu pro 1,1,1-trichlorethan. Tento poměr musí být nejméně 5. Typický chromatogram je ukázán na obrázku 2.4.24-1.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (a₁) na kolonu popsanou v systému A. Píky odpovídající zbytkovým rozpouštědlům třídy 1 musí být ještě detegovatelné.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (b) na kolonu popsanou v systému A a zaznamená se chromatogram za takových podmínek, aby mohlo být určeno rozlišení mezi píky odpovídajícími acetonitrilu a dichlormethanu. Systém je vhodný, jestliže získaný chromatogram je podobný chromatogramu na obrázku 2.4.24-2 a rozlišení mezi píky acetonitrilu a dichlormethanu je nejméně 1,0.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze zkoušeného roztoku na kolonu popsanou v systému A. Jestliže na získaném chromatogramu není žádný pík odpovídající jednomu z píků zbytkových rozpouštědel na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) nebo (b), pak zkoušená látka vyhovuje požadavkům zkoušky. Jestliže kterýkoliv pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá některému z píků zbytkových rozpouštědel na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) nebo (b), musí být použit systém B.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (a) na kolonu popsanou v systému B a zaznamená se chromatogram za takových podmínek, aby mohl být stanoven poměr signálu k šumu pro benzen. Tento poměr musí být nejméně 5. Typický chromatogram je ukázán na obrázku 2.4.24-3.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (a₁) na kolonu popsanou v systému B. Píky odpovídající zbytkovým rozpouštědlům třídy 1 musí být ještě detegovatelné.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (b) na kolonu popsanou v systému B a zaznamená se chromatogram za takových podmínek, aby mohlo být určeno rozlišení mezi píky odpovídajícími acetonitrilu a trichlorethylenu. Systém je vhodný, jestliže získaný chromatogram je podobný chromatogramu na obrázku 2.4.24-4 a rozlišení mezi píky acetonitrilu a trichlorethylenu je nejméně 1,0.

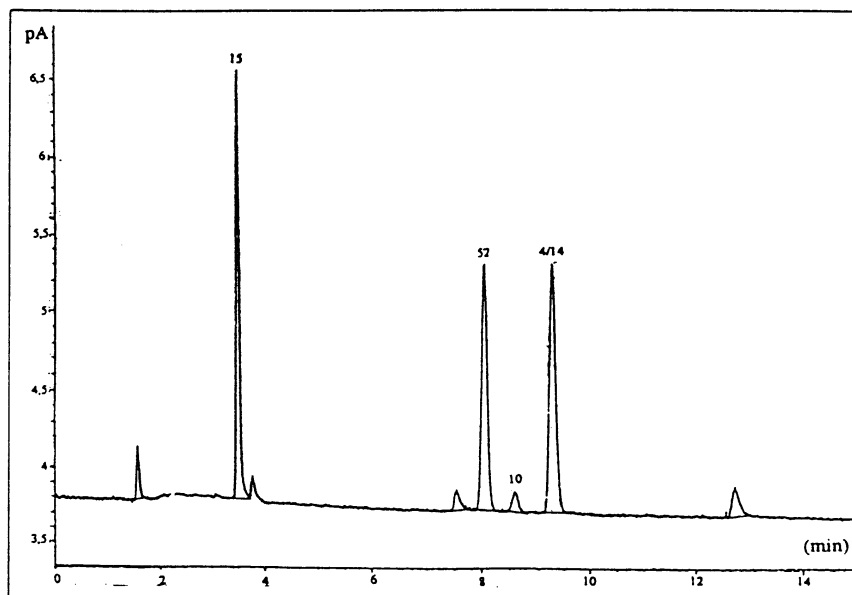
Nastříkne se 1 ml plynné fáze zkoušeného roztoku na kolonu popsanou v systému B. Jestliže na získaném chromatogramu není žádný pík odpovídající jednomu z píků zbytkových rozpouštědel na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) nebo (b), pak zkoušená látka vyhovuje požadavkům zkoušky. Jestliže kterýkoliv pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá některému z píků zbytkových rozpouštědel na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) nebo (b) a potvrzuje závěr zkoušky za použití systému A, postupuje se takto:

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (c) na kolonu popsanou pro systém A nebo systém B. Je-li nutné, nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku odpovídajícího určenému zbytkovému rozpouštědlu (rozpuštědlům) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (d) na kolonu. Nesmí být pozorovatelný žádný interferující pík.

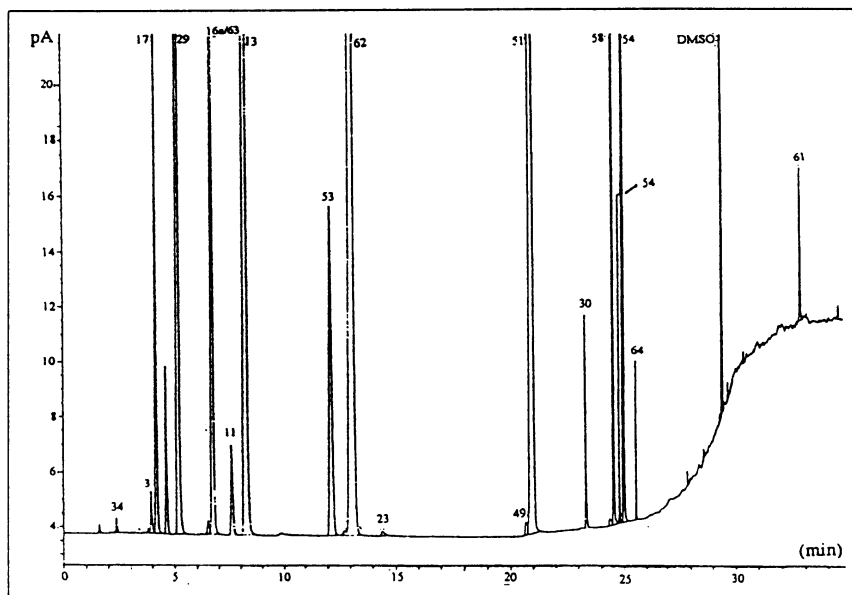
Nastříkne se 1 ml plynné fáze zkoušeného roztoku a 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (c) na kolonu. Tyto nástřiky se opakují ještě dvakrát.

3428 Zkušební metody



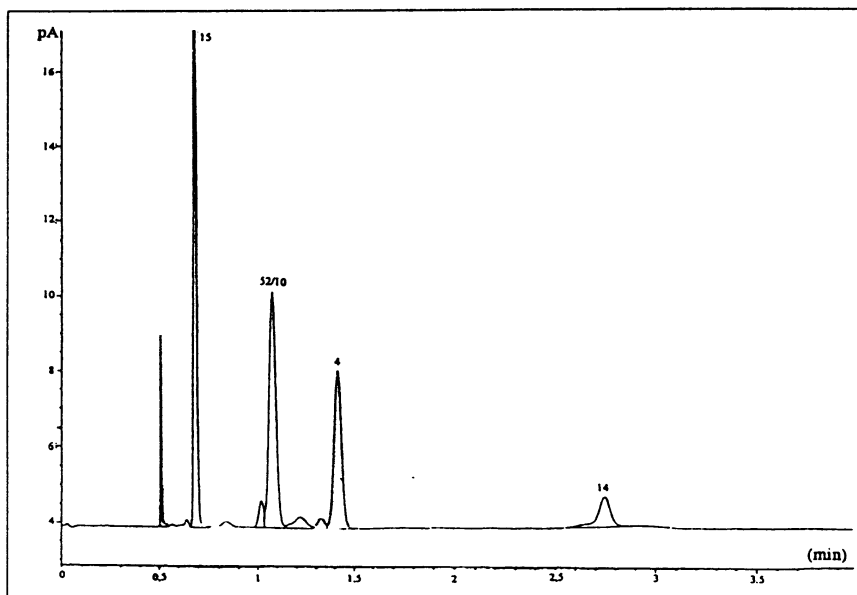
Obr. 2.4.24-1 Typický chromatogram rozpouštědel třídy 1 za použití podmínek popsanych pro systém A a Postup 1. Plamenoionizační detektor.

4: benzen; 10: chlorid uhličitý; 14: 1,2-dichlorethan; 15: 1,1-dichlorethylen; 52: 1,1,1-trichlorethan.



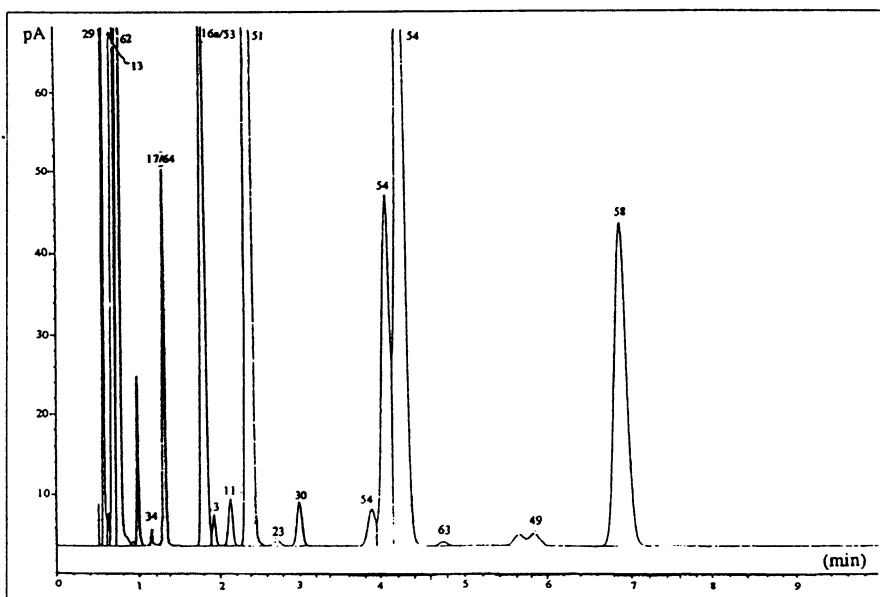
Obr. 2.4.24-2 Chromatogram rozpouštědel třídy 2 za použití podmínek popsanych pro systém A a Postup 1. Plamenoionizační detektor.

3: acetonitril; 11: chloroform; 13: cyklohexan; 16a: cis-1,2-dichlorethylen; 17: dichlormethan; 29: hexan; 30: 2-hexanon; 34: methanol; 49: pyridin; 51: toluen; 53: 1,1,2-trichlorethylen; 54: xylene ortho, meta, para; 58: chlorbenzen; 61: tetralin; 62: methylcyklohexan; 63: nitromethan; 64: 1,2-dimethoxyethan, DMSO dimethylsulfoxid.



Obr. 2.4.24-3 Chromatogram zbytkových rozpouštědel třídy 1 za použití podmínek popsanych pro systém B a Postup 1. Plamenoionizační detektor.

4: benzen; 10: chlorid uhličitý; 14: 1,2-dichlorethan; 15: 1,1-dichlorethylen; 52: 1,1,1-trichloroethan.



Obr. 2.4.24-4 Typický chromatogram zbytkových rozpouštědel třídy 2 za použití podmínek popsanych pro systém B a Postup 1. Plamenoionizační detektor.

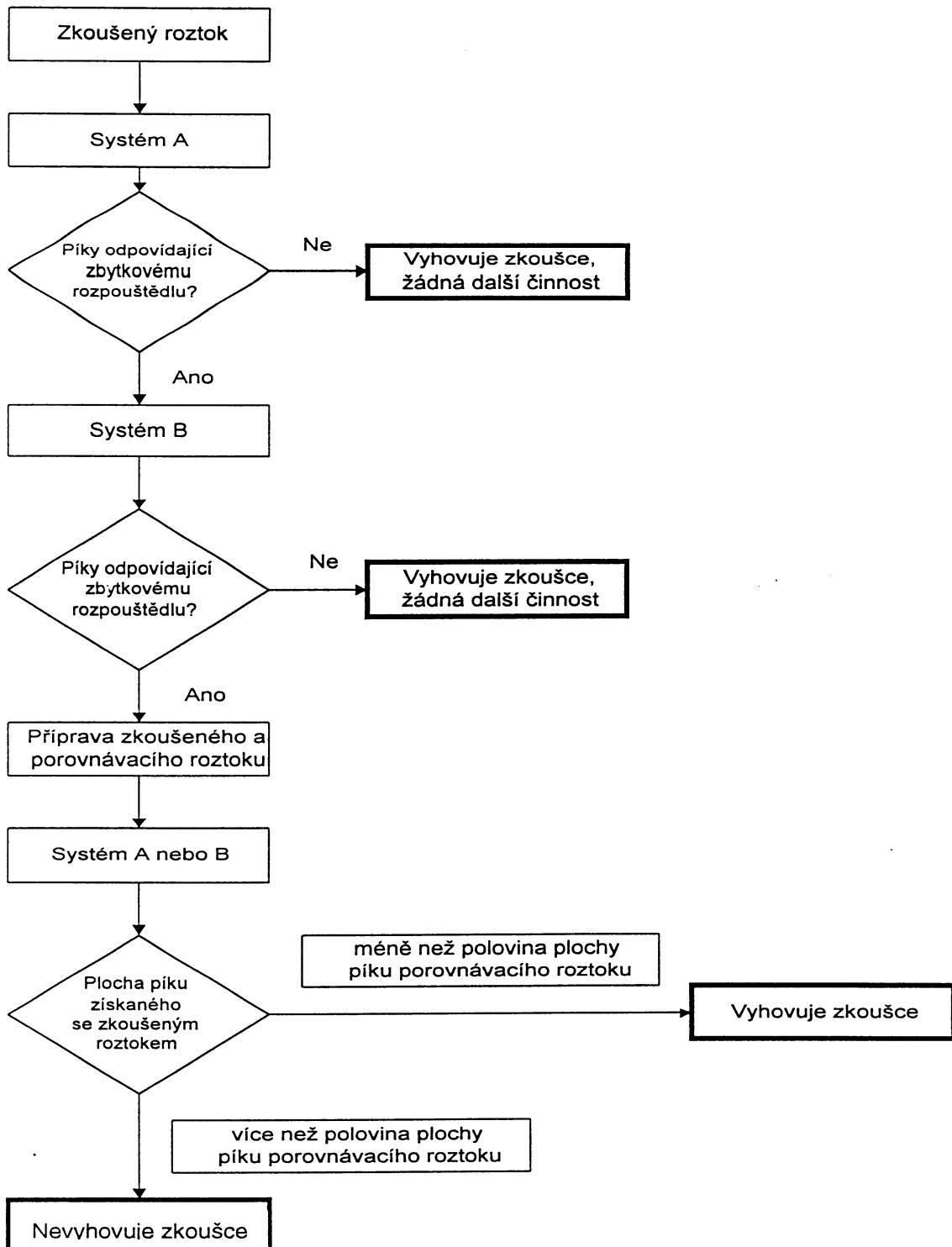
3: acetonitril; 11: chloroform; 13: cyklohexan; 16a: cis-1,2-dichlorethylen; 17: dichlormethan; 23: 1,4-dioxan; 29: hexan; 30: 2-hexanon; 34: methanol; 49: pyridin; 51: toluen; 53: 1,1,2-trichlorethylen; 54: xylene, ortho, meta, para; 58: chlorbenzen; 61: tetralin; 62: methylcyklohexan; 63: nitromethan; 64: 1,2-dimethoxyethan.

3430 *Zkušební metody*

Průměrná hodnota plochy píku zbytkového rozpouštědla (rozpuštědel) na chromatogramu zkoušeného roztoku nesmí být větší než polovina průměrné hodnoty plochy píku odpovídajícího zbytkového rozpouštědla (rozpuštědel) na chromatogramu porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka rozdílů ploch píků analytu získaných ze tří párů opakovaných nástřiků porovnávacího roztoku (a) a zkoušeného roztoku je nejvýše 15 %.

Průběhový diagram postupu je ukázán na obrázku 2.4.24-5.

Jsou-li zbytková rozpouštědla (třída 2 nebo třída 3) přítomna v koncentracích 0,1 % a větších, může být jejich obsah stanovován metodou standardního přídatku.



Obr. 2.4.24-5 Průběhový diagram pro identifikaci zbytkových rozpouštědel a aplikaci limitní zkoušky



1999

2.4.26 N,N-Dimethylanilin

A. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *N,N*-diethylanilinu *R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 50 mg *N,N*-diethylanilinu *R* se rozpustí ve 4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a zředí se vodou *R* na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100 ml.

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí ve zkumavce se zabroušenou zátkou ve 30,0 ml vody *R*. Přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Teplota roztoku se upraví na 26 °C až 28 °C. Přidá se 1,0 ml hydroxidu sodného koncentrovaného *RS* a míchá se do úplného rozpuštění. Přidají se 2,0 ml trimethylpentanu *R*. Třepe se 2 min a vrstvy se nechají oddělit. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok. 50,0 mg *N,N*-dimethylanilinu *R* se rozpustí ve 4,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a zředí se vodou *R* na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 30,0 ml. Přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a 1,0 ml hydroxidu sodného koncentrovaného *RS*. Přidají se 2,0 ml trimethylpentanu *R*. Třepe se 2 min a vrstvy se nechají oddělit. Použije se horní vrstva.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou filmem síťovaného polyfenylmethylsiloxanu *R* (tloušťka filmu 0,52 μm),
- helia pro chromatografii *R* jako nosného plynu s dělicím poměrem 1 : 20, vstupním tlakem na koloně 50 kPa a průtokem na děliči 20 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- vstřikovací trubice se skládá z kolony dlouhé asi 1 cm naplněné křemelinou pro plynovou chromatografii *R* impregnovanou 10 % polydimethylsiloxanu *R*.

Teplota kolony se udržuje 5 min na 150 °C, pak se zvyšuje rychlostí 20 °C/min na 275 °C a při této teplotě se udržuje 3 min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 220 °C a teplota detektoru na 300 °C.

Retenční časy jsou: pro *N,N*-dimethylanilin asi 3,6 min a pro *N,N*-diethylanilin asi 5,0 min.

Nastříkuje se 1 μl zkoušeného roztoku a 1 μl porovnávacího roztoku.

B. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití naftalenu *R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 50 mg naftalenu *R* se rozpustí v cyklohexanu *R* a zředí se jím na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí cyklohexanem *R* na 100 ml.

Zkoušený roztok. K 1,00 g zkoušené látky se přidá ve zkumavce se zabroušenou zátkou 5 ml hydroxidu sodného 1 mol/l *RS* a 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Zkumavka se uzavře a intenzivně třepe 1 min. Je-li nutno, odstředí se. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok. K 50,0 mg *N,N*-dimethylanilinu *R* se přidají 2 ml kyseliny chlorovodíkové *R* a 20 ml vody *R*, třepe se do rozpuštění a zředí se vodou *R* na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 250,0 ml. K 1,0 ml se ve zkumavce se zabroušenou zátkou přidá 5 ml hydroxidu sodného 1 mol/l *RS* a 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Zkumavka se uzavře a intenzivně třepe 1 min. Je-li nutno, odstředí se. Použije se horní vrstva.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii *R* impregnovanou 3 % polyfenylmethylsiloxanu *R*,
- dusíku pro chromatografii *R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 120 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 150 °C.

Nastříkuje se 1 μl zkoušeného roztoku a 1 μl porovnávacího roztoku.

2.5 Stanovení obsahu

2.5.5 Číslo peroxidové



1999

Číslo peroxidové I_p udává množství aktivního kyslíku v milimolech obsažené v peroxidické formě v 1000 g látky, stanoví se metodami popsanými níže.

Jestliže není předepsáno jinak, použije se metoda A. Každá změna metody A na metodu B by měla být validována.

Metoda A

5,00 g zkoušené látky (m) se převede do 250ml kuželové baňky se zabroušenou skleněnou zátkou. Přidá se 30 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *chloroformu R* (3 + 2) a třepe se do rozpuštění látky. Potom se přidá 0,5 ml *jodidu draselného nasyceného RS*, promíchá se a přesně za 1 min se přidá 30 ml *vody R*. Titruje se *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS*, který se pomalu přidává za rovnoměrného míchání do změny žlutého zbarvení na téměř bezbarvé. Potom se přidá 5 ml *škrobu RS* a pokračuje se v titraci přidáváním *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* po kapkách a za stálého míchání do odbarvení. Současně se za stejných podmínek provede slepá zkouška, při níž spotřeba *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* není vyšší než 0,10 ml.

Číslo peroxidové se vypočítá podle vzorce:

$$I_p = \frac{10 \cdot (n_1 - n_2)}{m},$$

v němž značí:

- n_1 - spotřebu *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* při titraci v ml,
- n_2 - spotřebu *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* při slepé zkoušce v ml,
- m - navážku zkoušené látky v g.

Metoda B

Postup se provede za chránění před aktinickým světlem.

Předepsané množství zkoušené látky (m), viz tabulka 2.5.5-1, se převede do kuželovité baňky opatřené zátkou. Přidá se 50 ml směsi objemových dílů *trimethylpentanu R* a *kyseliny octové ledové R* (2 + 3) a míchá se do rozpuštění zkoušené látky. Pipetou o vhodném objemu se přidá 0,5 ml *jodidu draselného nasyceného RS*, baňka se uzavře a promíchá se. Roztok se nechá stát 1 min \pm 1 s, nejméně třikrát se důkladně protřepe a potom se přidá 30 ml *vody R*.

Tab. 2.5.5-1

Předpokládané číslo peroxidové	Navážka zkoušené látky (g)
0 až 12	2,00 až 5,00
12 až 20	1,20 až 2,00
20 až 30	0,80 až 1,20
30 až 50	0,500 až 0,800
50 až 90	0,300 až 0,500

3434 Zkušební metody

Roztok se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS*, přidává se postupně za stálého intenzivního míchání do změny žlutého zbarvení na téměř bezbarvé. Přidá se asi 0,5 ml *škrobu RS1* a pokračuje se v titraci za stálého míchání zvláště v blízkosti bodu ekvivalence, aby se uvolnil všechen jod z vrstvy rozpouštědla. Roztok thiosíranu sodného se přidává po kapkách až do odbarvení.

Pokud se při titraci spotřebuje méně než 0,5 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*, opakuje se stanovení za použití *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* za stálého intenzivního míchání.

Poznámka. K 15 s až 30 s zpoždění při neutralizaci škrobového indikátoru dochází pro peroxidové číslo 70 a vyšší, trimethylpentan má sklon pěnít na povrchu vodného prostředí a v tomto případě je třeba přiměřeně míchat rozpouštědlo a odměrný roztok, až do uvolnění poslední stopy jodu. Doporučuje se použít *thiosíran sodný 0,01 mol/l VS* pro peroxidové číslo nižší než 150. Může se přidat malé množství (0,5 % až 1,0 %) vyšších HLB emulgátorů k reakční směsi, aby se zpomalilo dělení fází a zkrátilo se tak zpoždění při uvolnění jodu.

Provede se slepá zkouška. Jestliže spotřeba titračního činidla při slepé zkoušce je vyšší než 0,1 ml, odstraní se nečistoty činidel a opakuje se stanovení.

Číslo peroxidové se vypočítá podle vzorce:

$$I_p = \frac{1000 \cdot (V_1 - V_0) \cdot c}{m},$$

v němž značí:

c - koncentraci thiosíranu sodného v mol/l,

V_1 - spotřebu thiosíranu sodného při titraci v ml,

V_0 - spotřebu thiosíranu sodného při slepé zkoušce v ml,

m - navážku zkoušené látky v g.

2.5.31 Ribosa v polysacharidových vakcínách



1998

Zkoušený roztok. Použije se odměrná baňka vhodného objemu pro přípravu roztoku přípravku obsahujícího asi 5 mg suchého polysacharidu v mililitru. Do této baňky se kvantitativně přenesou obsah nádobky a zředí se *vodou R* na potřebný objem. Dále se roztok zředí tak, aby objemy použité při zkoušce obsahovaly 2,5 µg až 25 µg ribosy. Zředěný roztok se převede po 0,20 ml do tří zkumavek a po 0,40 ml do dalších tří zkumavek.

Porovnávací roztoky. 25 mg *ribosy R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml (základní roztok obsahující 0,25 g/l ribosy). Bezprostředně před použitím se zředí 1 ml základního roztoku *vodou R* na 10,0 ml (pracovní zředění: 25 mg/l ribosy). Do šesti zkumavek se přenesou 0,10 ml, 0,20 ml, 0,40 ml, 0,60 ml, 0,80 ml a 1,0 ml tohoto roztoku.

Slepá zkouška. Použijí se 2 ml *vody R*.

Postup. Obsah každé zkumavky se doplní *vodou R* na objem 2 ml, protřepe se a do každé zkumavky se přidají 2 ml roztoku *chloridu železitého R* (0,5 g/l) v *kyselině chlorovodíkové R*. Po protřepání se přidá 0,2 ml roztoku *orcinolu R* (100 g/l) v *ethanolu R*. Zkumavky se vloží na 20 min do vodní lázně a potom se ochladí v ledové vodě. Měří se absorbance (2.2.25) každého roztoku při 670 nm proti kontrolnímu roztoku získanému při slepé zkoušce. Sestrojí se kalibrační křivka ze zjištěných absorbancí šesti porovnávacích roztoků a odpovídajících obsahů ribosy a odečte se množství ribosy pro každé zředění zkoušeného roztoku. Ze tří získaných hodnot pro každý objem se vypočítá průměr.

2.5.32 Coulometrická titrace, mikrometoda

Princip metody



Coulometrická titrace vody je založena na kvantitativní reakci vody s oxidem siřičitým a jodem v bezvodém prostředí za přítomnosti zásady s dostatečnou tlumicí kapacitou. Na rozdíl od odměrné metody uvedené ve stati (2.5.12) je jod produkován elektrochemicky v reakční nádobce oxidací jodidu. Jod generovaný na anodě reaguje okamžitě s vodou a oxidem siřičitým, které jsou obsaženy v reakční nádobce. Množství vody v látce je přímo úměrné množství elektrického náboje spotřebovaného do bodu ekvivalence titrace. Když všechna voda v nádobce (stanovené látky) zreagovala, je dosaženo bodu ekvivalence a objeví se nadbytek jodu. 1 mol jodu odpovídá 1 molu vody, množství elektrického náboje 10,71 C odpovídá 1 mg vody.

Vlhkost ze systému je odstraněna předchozí elektrolýzou. Jednotlivá stanovení se mohou provádět po sobě ve stejném roztoku zkoumadel za následujících podmínek:

- každá složka zkoušené směsi je kompatibilní s dalšími složkami,
- neprobíhají žádné další reakce,
- objem a vodní kapacita elektrolytového zkoumadla jsou dostatečné.

Coulometrická titrace je omezena na stanovení malých množství vody, nejlépe v rozmezí 10 µg až 10 mg.

Přesnost a správnost metody jsou podmíněny především tím, jak účinně lze vyloučit ze systému atmosférickou vlhkost. To lze monitorovat měřením velikosti posunu základní linie.

Zařízení

Zařízení se skládá z reakční nádoby, elektrod a elektromagnetické míchačky. Nádobka je tvořena větším prostorem anodovým a menším prostorem katodovým. V závislosti na tvaru elektrod mohou být oba prostory odděleny membránou a v každém prostoru je platinová elektroda. Kapalné nebo rozpuštěné vzorky jsou vnášeny přes septum injekční stříkačky. Alternativně může být použita technika odpařování, při níž je vzorek zahříván ve zkumavce (sušárně) a voda je odpařována a vedena do reakční nádoby proudem suchého inertního plynu. Obecně je třeba se vyhnout vnášení pevných vzorků do reakční nádoby. Avšak, je-li to nezbytné, provádí se to utěsněným vstupem. Je třeba učinit vhodná opatření, aby se zabránilo zanesení vlhkosti ze vzduchu, např. pracuje se v boxu opatřeném rukavicemi v atmosféře suchého inertního plynu. Postup analýzy je řízen vhodným elektronickým zařízením, které též zobrazuje výsledek.

Pracovní postup

Obě části nádoby se naplní *elektrolytovým zkoumadlem pro mikrostanovení vody R* podle návodu výrobce a provede se coulometrická titrace do trvalého konečného bodu. Předepsané množství zkoušené látky se vnese do reakční nádoby, 30 s se míchá, pokud není v článku uvedeno jinak, a znovu se titruje do trvalého konečného bodu. V případě, že je použito sušárny, předepsané množství vzorku se převede do zkumavky a zahřívá se. Po odpaření vody ze vzorku do reakční nádoby se začne titrovat. Hodnota se odečte z výstupu přístroje a vypočítá se, je-li to nutné, procentuální obsah nebo množství vody ve zkoušené látce. Pokud je to vhodné podle druhu vzorku a přípravku, provede se slepá zkouška.

3436 Zkušební metody

Ověření správnosti

Mezi dvě po sobě následující titrace vzorku se vnese do nádoby přesně zvážené množství vody řádově stejné velikosti, jako je množství vody ve vzorku, buď jako *voda R*, nebo ve formě *základního roztoku pro mikrostanovení vody* a provede se coulometrická titrace. Výtěžnost se pohybuje v rozmezí 97,5 % až 102,5 % pro přidání 1000 μg H_2O , v rozmezí 90,0 % až 110,0 % pro přidání 100 μg H_2O .

2.6 Biologické zkoušky

2.6.1 Zkouška na sterilitu¹⁾



Tato zkouška se provádí s léčivými látkami, pomocnými látkami, léčivými přípravky a zdravotnickými prostředky, u nichž je lékopisem předepsána sterilita. Vyhovující výsledek však pouze udává, že zkoušený vzorek není znečištěn žádným mikroblem zjistitelným v podmínkách zkoušky. Seznam dalších požadavků k prokázání sterility celé šarže je uveden na konci tohoto textu.

Opatření proti mikrobiálnímu znečištění

Zkouška na sterilitu se provádí za aseptických podmínek, např. použitím laminárního boxu o třídě čistoty A umístěného v místnosti vyhovující třídě čistoty B, nebo v izolátoru. Opatření přijatá proti kontaminaci nepůsobí na mikroorganismy, které se mají při zkoušce zjistit. Pracovní podmínky, v nichž je zkouška prováděna, se pravidelně monitorují vhodným vzorkováním pracovního prostředí a provádějí se vhodné kontroly, jak jsou popsány v příslušných směrnících Evropského společenství a v navazujících *Notes for guidance on GMP*.

Živné půdy

Následující živné půdy byly shledány vhodnými pro zkoušku na sterilitu. Thioglykolanová půda je především určena pro kultivaci anaerobních bakterií, ale umožní zjistit také aerobní bakterie. Půda z hydrolyzátů soji a kaseinu je především určena pro kultivaci aerobních bakterií, ale je vhodná i pro kultivaci hub. Mohou se používat i jiné živné půdy, pokud prokazatelně podporují růst široké řady mikroorganismů.

Thioglykolanová půda

L-cystin	0,5 g
agar granulovaný (obsah vlhkosti do 15 %)	0,75 g
chlorid sodný	2,5 g
glukosa monohydrát	5,5 g
kvasničný výtazek (rozpuštný ve vodě)	5,0 g
pankreatický hydrolyzát kaseinu	15,0 g
thioglykolan sodný nebo	0,5 g
kyselina thioglykolová	0,3 ml
roztok sodné soli resazurinu (1 g/l) čerstvě připravený	1,0 ml
voda R	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,1 \pm 0,2$.

Smíchá se L-cystin, agar, chlorid sodný, glukosa, kvasničný výtazek a pankreatický hydrolyzát kaseinu s vodou a zahřívá se, dokud se nerozpustí. Přidá se thioglykolan sodný nebo kyselina thioglykolová do roztoku a přidá se, je-li třeba, *hydroxid sodný 1 mol/l RS* tak, aby roztok po sterilizaci měl pH $7,1 \pm 0,2$. Je-li zapotřebí filtrace, zahřeje se roztok téměř až k varu a za tepla se filtruje navlhčeným filtračním papírem. Potom se přidá roztok sodné soli resazurinu, promíchá se a rozplní do vhodných nádob, které zajistí takový poměr povrchu k výšce sloupce půdy, aby se do konce

¹⁾ Pharmeuropa 10, 3, 407 (1998). Závazné od 1. 9. 1998.

3438 *Zkušební metody*

inkubační doby nezměnilo pohlčováním kyslíku barevně víc, než horní třetina půdy. Používá se validovaný postup sterilizace. Uchovává se při teplotě 2 °C až 25 °C ve sterilních, utěsněných nádobách, není-li určen a k okamžitému použití. Je-li třeba, regeneruje se půda těsně před použitím, např. 20 min zahříváním ve vodní lázni a rychlým ochlazením. Nesterilní vzduch se přitom nesmí dostat do nádoby.

Půda z hydrolyzátů sóji a kaseinu

pankreatický hydrolyzát kaseinu	17,0 g
papainový hydrolyzát sóji	3,0 g
chlorid sodný	5,0 g
hydrogenfosforečnan draselný	2,5 g
glukosa monohydrát	2,5 g
voda R	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,3 \pm 0,2$.

Pevné látky se za mírného zahřátí rozpustí ve vodě a roztok se ochladí na pokojovou teplotu. V případě potřeby se přidá *hydroxid sodný 1 mol/l RS* tak, aby roztok měl po sterilizaci pH $7,3 \pm 0,2$. Je-li třeba, filtruje se do vyjasnění, rozplní se do vhodných nádob a sterilizuje se validovaným postupem. Uchovává se při teplotě mezi 2 °C až 25 °C ve sterilních, utěsněných nádobách, pokud není určena pro okamžité použití.

Užité půdy, ať již ty výše popsané nebo jiné, vyhovují následujícím zkouškám provedeným před zkouškou zkoušeného přípravku nebo současně s ní.

Sterilita. Vzorky živné půdy se 14 dní inkubují při teplotách podle tabulky 2.6.1-1. Není pozorován růst mikroorganismů.

Růstová zkouška aerobních a anaerobních bakterií a hub. Části vybrané půdy se naočkují malým počtem jednoho typu mikroorganismu (10 až 100 jednotek vytvářejících kolonie), který je uveden v tabulce 2.6.1-1, a inkubují se za podmínek podle této tabulky nejdéle 3 dny v případě bakterií a nejdéle 5 dní v případě hub. Rody a kmeny uvedené v tabulce nejsou jediné, které lze použít; jiné mikroorganismy mohou být také vhodné.

Použije se metoda výchozí kultury (systému jednotné inokulace), takže živé mikroorganismy užité pro očkování nejsou vzdáleny o více než pět generací od původní výchozí kultury.

Půdy jsou vhodné tehdy, objeví-li se jasně viditelný časný růst mikroorganismů.

Validační zkouška

Pro každý typ mikroorganismu uvedený v tabulce 2.6.1-1 se provede zkouška, jak je popsáno dále v odstavci Zkouška na sterilitu zkoušeného přípravku. Užije se přesně stejná metoda s výjimkou následujících modifikací.

Membránová filtrace

Po převedení obsahu zkoušené nádoby nebo nádob na membránu se přidá inokulum malého množství živých mikroorganismů (je vhodné 10 až 100 jednotek vytvářejících kolonie) do poslední části sterilního promývacího roztoku.

Tab. 2.6.1-1 Mikroorganismy vhodné pro růstovou a validační zkoušku

Živná půda	Mikroorganismus		Inkubace	
	druh	doporučený kmen	Teplota (° C)	maximální doba
Thioglykolanová půda	Aerobní bakterie		Pro všechny aeroby	
	Staphylococcus aureus	ATCC 6538P	32,5 ± 2,5	3 dny
		CIP 53,156		
	NCTC 7447			
	CCM 2022			
CNCTC Mau 28/58				
Bacillus subtilis	ATCC 6633			
	CIP 52,62			
	NCIB 8054			
	CCM 1999			
Pseudomonas aeruginosa	CNCTC Bs 8/58			
	ATCC 9027			
	NCIMB 8626			
	CIP 82,118			
	CCM 1961			
	CNCTC Ps 37/65			
	Anaerobní bakterie		Pro všechny anaeroby	
Clostridium sporogenes	ATCC 19404	32,5 ± 2,5	3 dny	
	CIP 79,3			
	CCM 4409			
	CNCTC Cl 66/79			
Půda z hydrolyzátů sója a kaseinu*	Houby		Pro všechny houby	
	Candida albicans	ATCC 10231	22,5 ± 2,5	5 dní
IP 4872				
ATCC 2091				
IP 1180,79				
CCM 8226				
Aspergillus niger	CNCTC 55/79			
	ATCC 16404			
	CCM 8222			

*v této půdě se pomnožuje též *Bacillus subtilis* (ATCC 6633 nebo CIP 52,62)

Přímé očkování

Po převedení obsahu zkoušené nádoby nebo nádob do živné půdy se přidá inokulum malého množství živých mikroorganismů (je vhodné 10 až 100 jednotek vytvářejících kolonie).

Ve dvou případech se provede růstová zkouška jako pozitivní kontrola. Všechny nádoby s živnou půdou se inkubují při teplotách podle tabulky 2.6.1-1 po dobu nejvýše 3 dnů pro bakterie a 5 dnů pro houby.

Dojde-li k jasně viditelnému časnému růstu, vizuálně srovnatelnému s růstem v kontrolních nádobkách bez zkoušeného přípravku, potom přípravek nemá v podmínkách zkoušky žádný protimikrobní účinek nebo takový účinek byl uspokojivě vyloučen. Zkouška na sterilitu se pak může provést bez dalších modifikací.

3440 Zkušební metody

Nedojde-li v přítomnosti zkoušeného přípravku k jasně viditelnému časnému růstu, vizuálně srovnatelnému s růstem v kontrolních nádobkách bez zkoušeného přípravku, přípravek má protimikrobní účinek, který nebyl v podmínkách zkoušky uspokojivě vyloučen. Podmínky zkoušky se upraví tak, aby byl protimikrobní účinek odstraněn a zkouška se opakuje.

Tato validace se provádí:

- a) má-li se na sterilitu zkoušet nový přípravek,
- b) kdykoliv se změní experimentální podmínky zkoušky.

Validace se může provést současně se zkouškou na sterilitu zkoušeného přípravku, ale před hodnocením výsledku této zkoušky.

Zkouška na sterilitu zkoušeného přípravku

Zkouška se může provést metodou membránové filtrace nebo přímým očkovaním zkoušeného přípravku do živné půdy. Vhodné negativní kontroly jsou obsaženy v každém případě. Všude tam, kde to povaha přípravku dovolí, tj. u filtrovatelných vodných, lihových nebo olejových přípravků, u přípravků mísitelných nebo rozpustných ve vodných nebo olejových rozpouštědlech, které samy v podmínkách zkoušky nemají žádný protimikrobní účinek, se použije metoda membránové filtrace.

Membránová filtrace

Použijí se membránové filtry s jmenovitou velikostí pórů nejvýše 0,45 μm , jejichž účinnost zadržet mikroorganismy byla ověřena. Filtry např. z dusičnanů celulosy se používají pro vodné, olejové a slabě lihové roztoky, filtry z octanu celulosy se používají pro silně lihové roztoky. Pro určité přípravky, např. antibiotika, mohou být zapotřebí speciální filtry.

Dále popsaná metoda je určena pro filtry o průměru 50 mm. Pokud se použijí filtry jiného průměru, měly by se jim přizpůsobit objemy zředovacího i promývacího roztoku. Filtrační přístroj a membránové filtry se sterilizují vhodnými postupy. Přístroj je upraven tak, aby zkoušený roztok mohl být do něho naplněn a filtrován za aseptických podmínek a aby umožnil vyjmutí membránového filtru a jeho přenesení do živné půdy nebo aby bylo možné provést inkubaci po přidání živné půdy do přístroje.

Vodné roztoky. Je-li to vhodné, přenese se na membránový filtr malé množství vhodné sterilní tekutiny, jako např. neutrální roztok masového nebo kaseinového peptonu (1g/l) o pH 7,1 \pm 0,2, a zfiltruje se. Tekutina může obsahovat vhodné neutralizační anebo inaktivační látky, např. v případě antibiotik.

Na membránový filtr nebo filtry se přenese obsah zkoušené nádoby nebo nádob, a je-li třeba, zředí se na asi 100 ml vybraným sterilním rozpouštědlem, v každém případě se však použije nejméně množství předepsané v tabulce 2.6.1-2 a ihned se zfiltruje. Membránový filtr se nejméně třikrát stejnou rychlostí promyje vybraným sterilním rozpouštědlem, jehož množství je stejné jako při validační zkoušce. Membránový filtr se přenese do živné půdy nebo se asepticky rozdělí na dvě stejné části a každá z nich se přenese do vhodné půdy. Užije se stejný objem půdy jako při validační zkoušce. Lze též nalít půdu na membránu v přístroji. Pokud není předepsáno jinak, inkubují se půdy určené zejména k průkazu bakterií při teplotě 32,5 $^{\circ}\text{C} \pm 2,5$ $^{\circ}\text{C}$ a půdy určené zejména k průkazu hub při 22,5 $^{\circ}\text{C} \pm 2,5$ $^{\circ}\text{C}$ a to vždy nejméně 14 dní.

Rozpustné pevné látky. Na každou živnou půdu se použije nejméně podle tabulky 2.6.1-2 určené množství zkoušené látky, které se rozpustí ve vhodném rozpouštědle, jako např. neutrální roztok masového nebo kaseinového peptonu (1g/l), a dále se postupuje stejně jako u vodných roztoků za použití membránového filtru vhodného pro zvolené rozpouštědlo.

Oleje a olejové roztoky. Na každou živnou půdu se použije nejméně podle tabulky 2.6.1-2 určené množství zkoušené látky. Oleje a olejové roztoky s dostatečně nízkou viskozitou se bez ředění filtrují přímo suchým membránovým filtrem. Viskózní oleje se mohou zředit vhodným sterilním ředidlem, jako je isopropylmyristat, u něhož je prokázáno, že v podmínkách zkoušky nemá protimikrobní účinky. Olej se nechá proniknout membránovým filtrem vlastní tíhou a tlak nebo sání se nastavuje postupně. Membránový filtr se promyje nejméně třikrát stejnou rychlostí asi 100 ml vhodného sterilního roztoku, jako je např. neutrální roztok masového nebo kaseinového peptonu (1 g/l), obsahující 1 g/l (*p*-terc.oktylfenoxy)polyoxyethanol nebo 10 g/l polysorbátu 80. Membránový filtr nebo filtry se přenesou do živné půdy nebo živných půd nebo naopak se k nim půda přidá, jak je uvedeno u vodných roztoků, a inkubují se při stejných teplotách po stejnou dobu.

Masti a krémy. Na každou živnou půdu se použije množství přípravku uvedené v tabulce 2.6.1-2. Masti s hydrofobním základem a emulze typu v/o se mohou ředit až na 1% koncentraci isopropylmyristatem, jak je popsáno výše, a zahřívát, pokud je to nutné, na nejvýše 40 °C. Výjimečně je lze, pokud je to nutné, zahřát až na 44 °C. Zfiltruje se tak rychle, jak je to jen možné, a postupuje se, jak je popsáno u olejů a olejových roztoků.

Přímé očkování do živných půd

Do živné půdy se dá takové množství zkoušeného přípravku, jak je předepsáno v tabulce 2.6.1-2 tak, aby objem vzorku nečinil více než 10 % objemu živné půdy, není-li předepsáno jinak.

Olejové kapaliny. Použijí se živné půdy, k nimž se přidá roztok polysorbátu 80 (10 g/l) nebo (*p*-terc.oktylfenoxy)polyoxyethanol (1 g/l) nebo jiné emulgující látky ve vhodné koncentraci, u níž bylo prokázáno, že v podmínkách zkoušky nemá protimikrobní účinek.

Masti a krémy. Zředí se v poměru 1 : 10 vhodným emulgátorem ve sterilním rozpouštědle, např. neutrálním roztoku masového nebo kaseinového peptonu (1 g/l). Zředěný přípravek se očkuje do živné půdy, která neobsahuje emulgující látku.

Má-li zkoušený přípravek protimikrobní účinky, provede se zkouška po neutralizaci vhodnou neutralizační látkou nebo po zředění dostatečným množstvím živné půdy. Je-li nutné použít větší objem přípravku, lze dát přednost použití koncentrované živné půdy připravené tak, aby se dosáhlo potřebného zředění. V některých případech lze koncentrovanou živnou půdu přímo přidat k přípravku v jeho obalu.

Pokud není předepsáno jinak, inkubují se naočkované půdy nejméně 14 dní při teplotách uvedených v tabulce 2.6.1-1. V průběhu inkubace se půdy několikrát prohlížejí. Půdy s olejovými přípravky se každý den opatrně protřepou. Pokud se však použije k důkazu anaerobů thioglykolanová nebo jí podobná půda, je nutno omezit třepání nebo míchání na minimum, aby byly zachovány anaerobní podmínky.

Odečítání a hodnocení výsledků

V živných půdách se v průběhu a na závěr inkubace makroskopicky zjišťuje případný růst mikroobů. Jestliže zkoušený přípravek způsobí zakalení živné půdy, takže nelze určit přítomnost nebo absenci mikrobiálního růstu vizuálně po 14 dnech od začátku inkubace, přeneše se vhodná část živné půdy do nové nádoby se stejnou živnou půdou. Pokračuje se v inkubaci původního i nového vzorku nejméně 14 + 7 dní od původního očkování.

Jestliže není pozorován žádný růst, vyhovuje zkoušený přípravek zkoušce na sterilitu. Je-li zjištěn růst, přípravek nevyhovuje zkoušce na sterilitu, pokud nelze jasně prokázat, že zkouška byla neplatná z důvodů, jež se nevztahují na zkoušený přípravek. Zkouška může být považována za neplatnou, je-li splněna jedna nebo více z následujících podmínek:

3442 Zkušební metody

- a) údaje o mikrobiologické kontrole prostředí, ve kterém jsou prováděny zkoušky na sterilitu, odhalí chybu,
 - b) prověření testovacího postupu užitého během předmětné zkoušky odhalí chybu,
 - c) mikrobiální růst se objeví v negativních kontrolách,
 - d) po identifikaci mikroorganismů izolovaných zkouškou může být růst tohoto nebo těchto druhů jednoznačně připsán chybám materiálu nebo metody užitých při provádění zkoušky na sterilitu.
- Je-li zkouška prohlášena za neplatnou, opakuje se se stejným množstvím jednotek jako původní zkouška.

Jestliže při opakování zkoušky není pozorován žádný růst, vyhovuje zkoušený přípravek zkoušce na sterilitu. Je-li při opakované zkoušce zjištěn růst, přípravek nevyhovuje zkoušce na sterilitu.

Postup zkoušky pro parenterální, oční a jiné neinjekční přípravky, u nichž je požadována sterilita

Pokud se použije metoda membránové filtrace, zkouší se, pokud možno, celý obsah nádoby, ale nejméně množství uvedené v tabulce 2.6.1-2. Je-li třeba, zředí se asi na 100 ml vhodným sterilním roztokem, např. neutrálním roztokem masového nebo kaseinového peptonu (1 g/l). Celkový objem filtrovaný jedním filtrem nepřesahuje 1000 ml, není-li uvedeno a schváleno jinak.

Použije-li se metoda přímého očkování do živné půdy, očkuje se množství podle tabulky 2.6.1-2. Zkoušky na bakteriální a houbovou sterilitu se provádějí se stejným vzorkem zkoušeného přípravku. Pokud objem nebo množství v jedné nádobě nestačí k provedení obou zkoušek, použije se obsah dvou nebo více nádob k naočkování různých půd.

Je-li obsah přípravku v obalu větší než 100 ml, použije se membránová metoda, není-li uvedeno a schváleno jinak.

Tab. 2.6.1-2 Zkouška na sterilitu - množství zkoušeného přípravku

Typ přípravku	Množství v obalu	Minimální množství, které se použije pro každou půdu, není-li uvedeno a schváleno jinak
Parenterální přípravky	<i>Tekutiny</i> - méně než 1 ml - 1 ml a více	celý obsah obalu polovina obalu, ale nejvýše 20 ml
	<i>Pevné látky</i> - méně než 50 mg - více než 50 mg, ale méně než 300 mg - 300 mg a více	celý obsah obalu polovina obalu 150 mg
Oční přípravky, ostatní neinjekční přípravky	<i>Vodné roztoky</i>	celý obsah jednoho nebo více obalů, nejméně 2,5 ml
	<i>Ostatní přípravky rozpustné ve vodě nebo isopropylmyristatu</i>	celý obsah jednoho nebo více obalů, nejméně 0,25 g
	<i>Ner rozpustné přípravky, krémy a masti, jež je nutno suspendovat nebo emulgovat</i>	celý obsah jednoho nebo více obalů, nejméně 0,25 g

Pokyny k použití zkoušky na sterilitu

Účel zkoušky na sterilitu, jako ostatně všech lékopisných zkoušek, je poskytnout nezávislému kontrolujícímu analytikovi prostředky k ověření, že jednotlivý materiál splňuje požadavky lékopisu. Výrobci nejsou povinni provádět takové zkoušky, ani vyloučit užití modifikací nebo alternativ popsaných metod za předpokladu, že jsou přesvědčeni o tom, že bude-li přípravek zkoušen oficiálními metodami, vyhoví požadavkům lékopisu.

Pokyny pro výrobce

Stupeň jistoty získaný uspokojivým výsledkem zkoušky na sterilitu (nepřítomnost kontaminovaných jednotek ve vzorku) a vztahený na kvalitu celé šarže, je funkcí stejnorodosti podmínek výroby a efektivnosti přijatého systému odebírání vzorků. Pro účely tohoto textu je šarže definována jako homogenní soubor těsně uzavřených obalů připravených takovým způsobem, že riziko kontaminace je stejné pro každou jednotku v tomto souboru obsaženou.

Pokud se přípravek sterilizuje v uzavřených konečných obalech, vyšší stupeň záruky než provedení zkoušky na sterilitu poskytuje sledování správného průběhu sterilizace celé šarže pomocí měření a automatického zaznamenávání hodnot biologicky opodstatněných fyzikálních parametrů. Podmínky, za kterých může být považováno za vhodné parametrické uvolnění, jsou popsány ve stati 5.1.1-*Metody přípravy sterilních přípravků*. Pro vyhodnocení postupu aseptické výroby může být použita metoda, při níž se tento postup napodobí za použití živých půd. Nehledě k tomu, že zkouška na sterilitu je jediná analytická metoda použitelná pro přípravky vyrobené v aseptických podmínkách, je to dále v každém případě jediná dostupná analytická metoda pro autority, které mají vzorky přípravků zkoušet na sterilitu.

3444 *Zkušební metody*

Pravděpodobnost detekce mikroorganismů zkouškou na sterilitu roste s jejich počtem ve zkoušeném vzorku a kolísá podle schopnosti růstu přítomných mikroorganismů. Pravděpodobnost odhalení velmi nízkého stupně kontaminace, i když je homogenní v celé šarži, je velmi malá. Interpretace výsledků zkoušky na sterilitu se opírá o předpoklad, že obsahy všech obalů v šarži, pokud by byly zkoušeny, daly by stejný výsledek. Jelikož je zřejmé, že každý obal nemůže být zkoušen, je třeba přijmout vhodný plán odběru vzorků. Vodítko pro minimální počet jednotek doporučených ke zkoušení ve vztahu k velikosti šarže je v tabulce 2.6.1-3 a vychází z předpokladu, že přípravek byl vyroben za podmínek určených k vyloučení kontaminace. Aplikace doporučení musí brát ohled na objem přípravku v obalu, na validaci sterilizační metody a na jiné speciální zřetele týkající se sterility přípravku.

Tab. 2.6.1.-3 Doporučený nejmenší počet jednotek pro zkoušku na sterilitu

Počet jednotek v šarži	Nejmenší počet jednotek pro zkoušku na sterilitu pro každou půdu (*)
<i>Parenterální přípravky</i> - nejvýše 100 obalů - více než 100, méně než 500 obalů - více než 500 obalů	10 % nebo 4 obaly – podle toho, co je více 10 obalů 2 % nebo 20 obalů – podle toho, co je méně
<i>Oční přípravky a ostatní neinjekční přípravky</i> - nejvýše 200 obalů - více než 200 obalů Je-li přípravek v jednodávkovém obalu, použijte se tabulka pro parenterální přípravky	5 % nebo 2 obaly – podle toho, co je více 10 obalů
<i>Nerozplněné pevné přípravky</i> - do 4 obalů - více než 4, méně než 50 obalů - více než 50 obalů	každý obal 20 % nebo 4 obaly – podle toho, co je více 2 % nebo 10 obalů – podle toho, co je více

(*) Stačí-li obsah jednoho obalu k inokulaci dvou půd, pak tento sloupec udává počet obalů potřebných pro obě půdy dohromady

2.6.2 **Mykobakterie**

1999

Podstata zkoušky. Nepřítomnost mykobakterií se zjišťuje kultivací ve vhodných živných půdách.

Postup zkoušky. Je-li zkoušený vzorek kontaminován jinými mikroorganismy, než jsou mykobakterie, ošetří se vhodným dekontaminačním roztokem, jako je např. roztok acetylcysteinu s hydroxidem sodným nebo roztok laurylsíranu sodného.

Na dvě vhodné pevné půdy (za vhodnou se považuje Löwenstein-Jensenova půda a Middlebrookova 7H10 půda) se trojmo naočkuje po 0,2 ml vzorku a dále se do vhodné tekuté půdy trojmo naočkuje po 0,5 ml vzorku. Všechny půdy se inkubují 56 dnů při 37 °C.

Růstové vlastnosti živných půd v přítomnosti zkoušeného přípravku se ověří naočkováním vhodného kmene *Mycobacterium tuberculosis*, jako je např. BCG, a je-li třeba, použije se vhodná neutralizační látka.

Jestliže v prvních osmi dnech inkubace vyrostou kolonie kontaminujících mikroorganismů, zkouška se opakuje a zároveň se provede bakteriologická zkouška na sterilitu.

Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže se na konci inkubační doby nezjistí nárůst mykobakterií v žádné zkumavce.

2.6.7 Zkouška na mykoplazmata



1998

Tam, kde je předepsána zkouška na mykoplazmata pro banku základních buněk, banku pracovních buněk, výchozí kulturu viru nebo kontrolní buňky, použije se metoda kultivační a metoda imunofluorescence v buněčné kultuře. Tam, kde je předepsána zkouška na mykoplazmata pro virovou sklizeň ve vakcíně před rozplněním nebo v šarži, použije se kultivační metoda. Metoda imunofluorescence v buněčné kultuře se může také použít, je-li třeba, k ověření půd.

KULTIVAČNÍ METODA

Výběr kultivačních půd

Zkouška se provádí za použití dostatečného počtu jak pevných, tak tekutých živných půd, aby se za vybraných podmínek inkubace zajistil růst malých počtů mykoplazmat, která mohou být přítomna ve zkoušeném přípravku.

Tekuté živné půdy obsahují fenolovou červeň. Vybrané druhy živných půd mají prokazatelně dostatečné živné vlastnosti nejméně pro organismy uvedené dále. Živné vlastnosti každé nové šarže živné půdy jsou ověřovány pro příslušné organismy uvedené na seznamu.

Acholeplasma laidlawii (vakcíny pro humánní a veterinární použití, při jejichž výrobě byla použita antibiotika)

Mycoplasma gallisepticum (kde se při výrobě použil materiál ptačího původu nebo kde vakcína je určena pro drůbež)

Mycoplasma hyorhinis (neaviární veterinární vakcíny)

Mycoplasma orale (vakcíny pro humánní a veterinární užití)

Mycoplasma pneumoniae (vakcíny pro humánní užití) nebo jiný vhodný druh, fermentující glukózu

Mycoplasma synoviae (kde se při výrobě použil materiál ptačího původu nebo kde vakcína je určena pro drůbež)

Zkušební kmeny jsou izoláty z terénu, které neprošly více než patnácti subkultivacemi a jsou uchovávány zmrazené nebo v lyofilizovaném stavu.

Po klonování se kmeny identifikují jako požadované druhy vhodnou metodou, porovnáním se sbírkovými kulturami např.:

<i>Acholeplasma laidlawii</i>	NCTC 10116	CIP 75,27	ATCC 23206
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	NCTC 10115	CIP 104967	ATCC 19610
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	NCTC 10130	CIP 104968	ATCC 17981
<i>Mycoplasma orale</i>	NCTC 10112	CIP 104969	ATCC 23714
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	NCTC 10119	CIP 103766	ATCC 15531
<i>Mycoplasma synoviae</i>	NCTC 10124	CIP 104970	ATCC 25204

Inkubační podmínky

Naočkovaná živná půda se rozdělí na dvě stejné části a jedna část se inkubuje za aerobních a druhá část za mikroaerofilních podmínek; pevné živné půdy se udržují v atmosféře s patřičnou

3446 Zkušební metody

vlhkostí, aby se zamezilo vysychání povrchu půd. Za aerobních podmínek se inkubuje v atmosféře vzduchu s odpovídající vlhkostí a obsahující pro pevné půdy 5 % až 10 % oxidu uhličitého. Za mikroaerofilních podmínek se inkubuje v dusíkové atmosféře, obsahující pro pevné půdy 5 % až 10 % oxidu uhličitého.

Živné vlastnosti

S každou novou šarží živné půdy se provede zkouška živných vlastností. Vybraná živná půda se naočkuje vhodnými zkušebními mikroorganismy; použije se nejvýše 100 jednotek vytvářejících kolonie na misku o průměru 60 mm obsahující 9 ml pevné živné půdy a nejvýše 40 jednotek vytvářejících kolonie pro 100ml nádobu s odpovídající tekutou půdou; pro každý druh organismu se použije samostatná plotna a nádoba. Živné půdy se inkubují za podmínek, které budou použity ke zkoušce zkoušeného výrobku (aerobní, mikroaerofilní nebo obojí, v závislosti na požadavcích zkušebního organismu). Půdy vyhovují zkoušce na živné vlastnosti, dojde-li k přiměřenému růstu zkušebních organismů doprovázenému příslušnou barevnou změnou v tekutých živných půdách.

Inhibiční látky

Zkouška na živné vlastnosti se provede v přítomnosti zkoušeného přípravku. Je-li růst zkušebních organismů zřetelně menší než ten, který byl zjištěn bez přítomnosti zkoušeného přípravku, přípravek obsahuje inhibiční látky, které se před provedením zkoušky na mykoplazmata neutralizují (nebo se jejich účinek vyloučí jinak např. ředěním). Účinnost neutralizace nebo jiného postupu se kontroluje opakováním zkoušky na inhibiční látky po neutralizaci.

Zkouška na mykoplazmata ve zkoušeném přípravku

Pro pevné živné půdy se použijí misky o průměru 60 mm a obsahující 9 ml půdy. Každá z nejméně dvou misek s každou pevnou půdou se naočkuje 0,2 ml zkoušeného přípravku a 100 ml každé tekuté půdy se naočkuje 10 ml zkoušeného přípravku. Inkubuje se 21 dní při 35 °C až 38 °C za aerobních a mikroaerofilních podmínek a současně se jako kontrola inkubuje nenaočkovaná dávka 100 ml každé tekuté živné půdy. Objeví-li se po přidání zkoušeného přípravku jakékoliv významné změny pH, původní hodnota pH se obnoví přidáním roztoku buď hydroxidu sodného, nebo kyseliny chlorovodíkové. První, druhý nebo třetí den po naočkování se vyočkuje po 0,2 ml z každé tekuté půdy na dvě misky s každou pevnou půdou a inkubuje se nejméně 21 dní při 35 °C až 38 °C za aerobních a mikroaerofilních podmínek. Postup se opakuje šestý, sedmý nebo osmý den a znovu třináctý nebo čtrnáctý den zkoušky. Tekuté živné půdy se prohlížejí každý druhý nebo třetí den, a objeví-li se změna barvy, okamžitě se přeočkují. Pevné živné půdy se prohlížejí jednou týdně.

Jestliže jsou tekuté živné půdy kontaminovány bakteriemi nebo houbami, zkouška se opakuje. Jestliže nejdříve za sedm dní po naočkování je nejvýše jedna miska v každé části zkoušky náhodně kontaminována bakteriemi nebo houbami nebo zničena, vyloučí se tato miska za předpokladu, že se při bezprostředním vyšetření neprokáže růst mykoplazmat. Pokud je v kterékoliv části v průběhu zkoušky více než jedna miska náhodně kontaminována bakteriemi nebo houbami nebo rozbíta, je zkouška neplatná a opakuje se.

Do zkoušky se zařadí pozitivní kontrola připravená naočkováním nejvýše 100 jednotek vytvářejících kolonie vhodného druhu, jako *M. orale* a *M. pneumoniae*.

Na konci inkubační doby se všechny pevné naočkované půdy mikroskopicky vyšetří na přítomnost mykoplazmat.

Přípravek vyhovuje zkoušce, nezjistí-li se růst mykoplazmat v žádné z naočkovaných půd. Zjistí-li se růst mykoplazmat, zkouška se může opakovat s použitím dvojnásobného množství ino-

kula, půd a misek. Nejistí-li se růst mykoplazmat, přípravek vyhovuje zkoušce. Zkouška není platná, jestliže pozitivní kontrola neprokáže růst zkušebnímu mikroorganismu.

Metoda imunofluorescence v buněčné kultuře

Buněčné kultury se obarví fluorescenčním barvivem, které se váže na DNK. Mykoplazmata se zjistí pomocí fluorescence jejich charakteristických částic nebo nitkovitých útvarů na povrchu buněk, a jestliže je kontaminace silná, i v okolním prostředí.

Ověření substrátu

Jako substrát se použije kultura buněk Vero, předem odzkoušená pomocí inokula, které neobsahuje více než 100 jednotek vytvářejících kolonie kmene rostoucího dobře v tekuté nebo pevné půdě a dokáže se schopnost metody prokázat případnou kontaminaci mykoplazmaty, např. vhodnými kmeny *Mycoplasma hyorhinae* a *Mycoplasma orale*. Mohou se použít různé buněčné substráty, např. produkční buněčná linie, jestliže se prokázalo, že poskytne přinejmenším stejnou citlivost pro důkaz možné kontaminace mykoplazmaty.

Zkušební metoda

Nejméně 1 ml zkoušeného přípravku se použije k dvojnásobnému naočkování, jak je popsáno v odstavci Postup zkoušky, na kulturu indikátorových buněk představující plochu nejméně 25 cm² souvislé buněčné kultury.

Do zkoušky se zařadí negativní (neinfikovaná) kontrola a dvě pozitivní kontroly mykoplazmat, jako např. *Mycoplasma hyorhinae* a *Mycoplasma orale*. Pro pozitivní kontrolu se použije k očkovaní inokulum, které obsahuje nejvýše 100 jednotek vytvářejících kolonie.

Jestliže pro virové suspenze je interpretace výsledků ovlivněna zřetelnými cytopatickými efekty, může se virus neutralizovat specifickým antisérem, které nemá inhibiční účinek na mykoplazmata, nebo se použije substrát buněčné kultury, který neumožní pomnožení viru. K průkazu nepřítomnosti inhibičního účinku v séru se provedou kontrolní zkoušky v přítomnosti a v nepřítomnosti antiséra.

Postup zkoušky

1. Připraví se kultura v pravidelné hustotě ($2 \cdot 10^4$ až $2 \cdot 10^5$ buněk v mililitru, $4 \cdot 10^3$ až $2,5 \cdot 10^4$ buněk/cm²) a inkubuje se při $36 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ nejméně dva dny. Naočkuje se zkoušený přípravek a inkubuje nejméně dva dny. Provede se nejméně jedna subkultivace. Poslední subkultura se pěstuje na krycím sklíčku ve vhodné nádobě nebo na nějakém jiném povrchu vhodném pro postup zkoušky. U poslední subkultury se nenechá dojít ke splývání nárůstu, protože by to mohlo inhibovat barvení a narušit zobrazení mykoplazmat.
2. Odstraní se živná půda.
3. Nárůst se promyje *tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 7,4* a potom směsí stejných objemových dílů tohoto tlumivého roztoku a vhodného fixačního roztoku a nakonec fixačním roztokem. Pokud se pro barvení používá *bisbenzimid R*, pak je vhodným fixačním roztokem čerstvě připravená směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *methanolu R* (1 + 3).
4. Přidá se fixační roztok a nechá se 10 min stát.
5. Fixační roztok se odstraní.
6. Jestliže se nárůst bude barvit později, úplně se vysuší. Zvláštní péči potřebuje barvení na sklíčku po vysušení, protože mohou vznikat artefakty.
7. Jestliže se nárůst barví ihned, vymyje se fixační roztok dvakrát sterilní vodou, která se odstraní.
8. Přidá se *bisbenzimid pracovní roztok R* nebo nějaký jiný vhodný roztok barvicí DNK a nechá se stát 10 min.

3448 *Zkušební metody*

9. Odstraní se barvivo a nárůst se promyje vodou.
10. Každé podložní sklíčko, je-li to vhodné, se pokryje kapkou směsi stejných objemových dílů *glycerolu R a tlumivého roztoku fosforečnan-citronanového o pH 5,5*, přebytečná kapalina se odsaje z rohů podložního sklíčka.
11. Vyšetří se epifluorescencí (330 nm/380 nm excitační filtr, LP 440 nm clona) při 100 až 400 násobném zvětšení nebo větším.
12. Mikroskopický vzhled zkoušené kultury se porovná s negativní a pozitivní kontrolou a vyšetří na mimojadernou fluorescenci. Mykoplazmata se jeví jako body nebo vlákna v cytoplasmě a občas i v mezibuněčném prostoru.

Zkoušený přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže není prokázána přítomnost mykoplazmat v kulturách jím očkovaných. Zkoušku lze hodnotit, jestliže pozitivní kontroly ukážou přítomnost použitých zkušebních organismů.

Následující část se uvádí pro informaci a jeho návod, netvoří závaznou součást obecných metod.

Doporučené živné půdy pro kultivační metodu

Následující půdy se doporučují. Jiné půdy mohou být použity za předpokladu, že se u každé šarže prokáže schopnost podporovat růst mykoplazmat v přítomnosti a nepřítomnosti zkoušeného přípravku.

I. Půdy doporučené pro důkaz *Mycoplasma gallisepticum*.

a) Tekutá půda

infuze z hovězího srdce (1)	90,0 ml
koňské sérum (nezahřáté)	20,0 ml
roztok kvasničného výtažku (250 g/l)	10,0 ml
roztok octanu thallného (10 g/l)	1,0 ml
roztok červeně fenolové (0,6 g/l)	5,0 ml
roztok penicilinu (20 000 m.j./ml)	0,25 ml
roztok kyseliny deoxyribonukleové (2 g/l)	1,2 ml
pH se upraví na 7,8.	

b) Pevná půda

Připraví se stejně jako tekutá půda s tím rozdílem, že infuze z hovězího srdce obsahuje v litru 15 g agaru.

II. Půdy doporučené pro důkaz *Mycoplasma synoviae*.

a) Tekutá půda

infuze z hovězího srdce (1)	90,0 ml
esenciální vitaminy (2)	0,025 ml
roztok glukosy monohydrátu (500 g/l)	2,0 ml
prasečí sérum (inaktivované 30 min při 56 °C)	12,0 ml
roztok β-nikotinamid-adeninu dinukleotidu (10 g/l)	1,0 ml
roztok cysteiniumchloridu (10 g/l)	1,0 ml
roztok červeně fenolové (0,6 g/l)	5,0 ml
roztok penicilinu (20 000 m.j./ml)	0,25 ml

Smíchají se roztoky β-nikotinamid-adeninu dinukleotidu a cysteiniumchloridu a za 10 min se přidají k ostatním složkám.

pH se upraví na 7,8.

b) *Pevná půda*

infuze z hovězího srdce (1)	90,0	ml
ionagar (3)	1,4	g
pH se upraví tak, aby bylo 7,8, sterilizuje se v autoklávu a pak se přidají:		
esenciální vitaminy (2)	0,025	ml
roztok glukosy monohydrátu (500 g/l)	2,0	ml
prasečí sérum (nezahřáté)	12,0	ml
roztok β -nicotinamid-adeninu dinukleotidu (10 g/l)	1,0	ml
roztok cysteiniumchloridu (10 g/l)	1,0	ml
roztok červeně fenolové (0,6 g/l)	5,0	ml
roztok penicilinu (20 000 m.j./ml)	0,25	ml

III. Půdy doporučené pro důkaz neviárních mykoplazmat.

a) *Tekutá půda*

tlumivý solný roztok podle Hankse (modifikovaný) (4)	800	ml
destilovaná voda	67	ml
infuze ze srdce a mozku (5)	135	ml
PPLO tekutá půda (6)	248	ml
roztok kvasničného výtažku (170 g/l)	60	ml
bacitracin	250	mg
metcilin	250	mg
roztok červeně fenolové (5 g/l)	4,5	ml
roztok octanu thallného (56 g/l)	3	ml
koňské sérum	165	ml
prasečí sérum	165	ml
pH se upraví na 7,4 až 7,45.		

b) *Pevná půda*

Tlumivý solný roztok podle Hankse (modifikovaný) (4)	200	ml
DEAE - dextran	200	mg
ionagar (3)	15,65	g

Dobře se promíchá a sterilizuje v autoklávu. Ochladí se na 100 °C a přidá se do 1740 ml tekuté půdy popsané výše.

(1) *Infuze z hovězího srdce*

hovězí srdce (pro přípravu infuze)	500	g
pepton	10	g
chlorid sodný	5	g
destilovaná voda do	1000	ml
Sterilizuje se v autoklávu.		

(2) *Esenciální vitaminy*

biotin	100	mg
pantotenan vápenatý	100	mg
choliniumchlorid	100	mg
kyselina listová	100	mg
<i>i</i> -inositol	200	mg
nikotinamid	100	mg
pyridoxoliumchlorid	100	mg
riboflavin	10	mg

3450 *Zkušební metody*

thiaminiumchlorid	100 mg
destilovaná voda do	1000 ml

(3) *Ionagar*

Velmi čistý agar používaný pro mikrobiologii a imunologii se připravuje výměnou iontů, čímž vzniká produkt mající vyšší čistotu, čírost a pevnost gelu.

Obsahuje přibližně:

voda	12,2 %
popel	1,5 %
popel nerozpustný v kyselině	0,2 %
chloridy	0
fosforečnany (jako P ₂ O ₅)	0,3 %
celkový dusík	0,3 %
měď	8 µg/g
železo	170 µg/g
vápník	0,28 %
hořčík	0,32 %

(4) *Tlumivý solný roztok podle Hankse (modifikovaný)*

chlorid sodný	60,4 g
chlorid draselný	0,32 g
síran hořečnatý heptahydrát	0,08 g
chlorid hořečnatý hexahydrát	0,08 g
chlorid vápenatý bezvodý	0,112 g
hydrogenfosforečnan sodný dihydrát	0,0596 g
dihydrogenfosforečnan draselný, bezvodý	0,048 g
destilovaná voda do	800 ml

(5) *Infuze ze srdce a mozku*

infuze z telecího mozku	200 g
infuze z hovězího srdce	250 g
pepton (enzymaticky připravený)	10 g
glukosa	2 g
chlorid sodný	5 g
hydrogenfosforečnan sodný, bezvodý	2,5 g
destilovaná voda do	1000 ml

(6) *PPLO tekutá půda*

infuze z hovězího srdce	50 g
pepton	10 g
chlorid sodný	5 g
destilovaná voda do	1000 ml

2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (celkový počet živých mikroorganismů)



1998

Dále popsaná zkouška umožňuje kvantitativně spočítat mezofilní houby a bakterie, které mohou růst v aerobních podmínkách.

Zkouška je určena především ke zjištění, zda látka, která je předmětem lékopisného článku vyhovuje nebo nevyhovuje mikrobiologickým požadavkům uvedeným v tomto článku. Pokud se zkouška používá pro tyto účely, postupuje se podle následujících pokynů, včetně potřebného počtu odebraných vzorků a dále uvedené interpretace výsledků. Zkouška se může také použít ve stati *Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3)*, jak je popsána v lékopise. Dále se může užít pro monitorování kvality surovin a může se použít ve spojení s požadavky uvedenými ve stati *Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4)*. Pokud ji výrobce použije v takových případech, jako je monitorování kvality surovin anebo konečných přípravků nebo při validaci postupu, je provedení zkoušky, včetně počtu odebraných vzorků a interpretace výsledků, záležitostí dohody mezi výrobcem a oprávněnou autoritou.

Stanovení se provádí za podmínek vylučujících nahodilé znečištění zkoušeného výrobku. Opatření vylučující znečištění mají být taková, aby nepůsobila na prokazované mikroorganismy. Jestliže zkoušený výrobek má protimikrobní účinky, musí být přiměřeným způsobem zneutralizovány. Používají-li se k tomuto účelu inaktivující látky, prokáže se jejich účinek a také že nejsou toxické pro mikroorganismy.

Celkový počet živých mikroorganismů se stanoví metodou membránové filtrace nebo počítáním na pevných půdách, jak je předepsáno v lékopisném článku.

Metoda nejpravděpodobnějšího počtu je vyhrazena pro stanovení počtu bakterií v případech, kdy se nedá provést žádná jiná metoda. Výběr metody může být založen na různých faktorech, jako jsou např. povaha výrobku a očekávaný počet mikroorganismů. Kterákoliv vybraná metoda se dostatečně validuje.

Ve spojení s kapitolou (5.1.3) nebo (5.1.4) se může použít metoda zalévání do agaru, metoda očkování na povrch agarové půdy nebo metoda membránové filtrace.

Příprava vzorku

Plán vzorkování. Vzorkování výrobku se provede podle dobře definovaného plánu odběru vzorků. Tento plán závisí na faktorech, jako jsou velikost šarže, zdravotní riziko spojené s nepřijatelně vysokou kontaminací přípravku, na jeho charakteru a na očekávaném stupni kontaminace. Jestliže není předepsáno jinak, použije se 10 g nebo 10 ml zkoušené látky nebo přípravku odebraných za shora uvedených podmínek. Vzorky se vyberou náhodně z nerozplněného materiálu nebo z dostupných obalů přípravku. K získání potřebného množství se smíchá, je-li třeba, obsah dostatečného počtu obalů, které postačují k vytvoření vzorku podle povahy zkoušené látky nebo přípravku.

Trojúrovňový vzorkovací plán je příkladem vzorkovacího plánu vhodného pro výrobky, kde může být homogenita problémem ve vztahu k rozložení mikroorganismů. V tom případě se z každé šarže odebere a vyzkouší odděleně pět vzorků. Tři uznané úrovně jsou: (i) přijatelné vzorky, tj. obsahující méně než m jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru, kde m je limit určený v příslušném článku; (ii) kritické vzorky, tj. které obsahují více než m jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru, ale méně než $10m$ jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru; (iii) vadné vzorky, tj. obsahující více než $10m$ jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru.

Výrobky rozpustné ve vodě. 10 g nebo 10 ml zkoušeného výrobku se rozpustí nebo zředí v tlumivém roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 nebo v jiné vhodné tekutině. Obecně se připraví desetinné ředění, ale vlastnosti výrobku nebo požadovaná citlivost mohou vyžadovat použití jiných poměrů. Jestliže je známa protimikrobní účinnost výrobku, může se do rozpouštědla

3452 Zkušební metody

přidat inaktivující látka. Pokud je třeba, upraví se pH na hodnotu asi 7 a připraví se řada desetinásobných ředění za použití stejného rozpouštědla.

Nelipofilní výrobky nerozpustné ve vodě. 10 g nebo 10 ml zkoušeného výrobku se suspenduje v tlumivém roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 nebo jiné vhodné tekutině. Obecně se připraví desetinná suspenze, ale vlastnosti některých výrobků mohou vyžadovat použití větších objemů. Je možné přidat vhodnou povrchově aktivní látku, např. polysorbát 80 (1 g/l) k usnadnění tvorby suspenze špatně smáčitelných látek. Jestliže je známa protimikrobní účinnost výrobku, může se do rozpouštědla přidat inaktivující látka. Pokud je třeba, upraví se pH na hodnotu asi 7 a připraví se řada desetinásobných ředění za použití stejného rozpouštědla.

Výrobky lipofilní. 10 g nebo 10 ml zkoušeného výrobku se zhomogenizuje s nejvýše polovinou jeho hmotnosti sterilního polysorbátu 80 nebo jiné vhodné povrchově aktivní látky, kterou je možno v případě potřeby zahřát nejvýše na 40 °C, ve výjimečných případech nejvýše na 45 °C. Dobře se promíchá a udržuje se při této teplotě na vodní lázni nebo v termostatu a přidá se dostatečné množství přehřátého tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 k přípravě desetinného ředění původního výrobku. Zatímco se udržuje teplota, míchá se pečlivě co nejkratší dobu nezbytnou k vytvoření emulze, nejdéle však 30 min. Další řada desetinásobných ředění se může připravit za použití tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 obsahujícího vhodnou koncentraci sterilního polysorbátu 80 nebo jiné povrchově aktivní látky.

Zkoušení vzorku

Membránová filtrace

Použijí se membránové filtry s nominální velikostí pórů nejvýše 0,45 µm, jejichž účinnost zadržet bakterie byla ověřena. Typ materiálu filtru se vybere tak, aby účinnost filtru nebyla ovlivněna složkami zkoušeného vzorku. Filtry z dusičnanů celulosy se např. používají pro vodné, olejové a slabě lihové roztoky a filtry z octanu celulosy se např. používají pro silně lihové roztoky. Přístroj je navržen tak, aby umožnil přenést filtr na agarovou půdu.

Vhodné množství vzorku, připraveného jak je popsáno v odstavci Příprava vzorku (přednostně představující 1 g výrobku nebo méně, jestliže se očekává větší množství jednotek vytvářejících kolonie), se přenesse na každý ze dvou membránových filtrů a ihned se zfiltruje. Každý filtr se promyje třemi dávkami, z nichž každou tvoří asi 100 ml vhodné tekutiny, jako např. tlumivý roztok chloridu sodného s peptonem o pH 7,0. K tomuto roztoku je možné přidat povrchově aktivní látky, jako je polysorbát 80, nebo látky inaktivující protimikrobní účinky. Je-li postup validován, může se na promytí použít méně než tři dávky. Membránový filtr určený především pro počítání bakterií se přenesse na povrch vhodné agarové půdy (jako je agarová půda B) a druhý, určený především pro počítání hub, na povrch vhodné půdy (jako je agarová půda C). Misky s agarem B se inkubují při 30 °C až 35 °C a misky s agarem C při 20 °C až 25 °C po dobu 5 dní, pokud se nezíská spolehlivý počet dříve. Vyberou se misky s nejvyšším počtem kolonií, který však nepřesahuje 100, a vypočítá se počet jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru výrobku.

Počítání na pevných půdách

Metoda zalévání do agarů. Použijí se Petriho misky o průměru 9 cm, do každé se přidá 1 ml vzorku připraveného, jak je popsáno v odstavci Příprava vzorku, a 15 ml až 20 ml rozehráté agarové půdy vhodné pro kultivaci bakterií (jako např. agarová půda B) nebo rozehráté agarové půdy vhodné pro kultivaci hub (jako např. agarová půda C). Půdy se rozehrívají při teplotě, která nepřesahuje 45 °C. Použijí-li se větší Petriho misky, zvětší se příslušně i množství agarů. S každou živou půdou a s každým zředěním se připraví nejméně dvě Petriho misky. Plotny s půdou pro bakte-

rie se inkubují při 30 °C až 35 °C (pro houby při 20 °C až 25 °C) po dobu 5 dní, pokud se nezíská spolehlivý počet dřívě. Vyberou se misky odpovídající jednomu ředění a ukazující nejvyšší počet kolonií, který však nepřesahuje 300 (100 kolonií pro houby). Z aritmetického průměru počtů se vypočítá množství jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru.

Metoda očkování na povrch agarové půdy. Použijí se Petriho misky o průměru 9 cm, do každé se přidá 15 ml až 20 ml agarové půdy vhodné pro kultivaci bakterií (jako je agarová půda B) nebo agarové půdy vhodné pro kultivaci hub (jako je agarová půda C) rozehráté asi na 45 °C a se utuhnout. Používají-li se větší Petriho misky, použije se přiměřeně větší množství živné půdy. Povrch půd se nechá zaschnout, např. ve skříni s laminárním prouděním vzduchu nebo v termostatu. Odměřený objem, nejméně však 0,1 ml vzorku připraveného jak je posáno v odstavci Příprava vzorku, se rozetře na povrch půdy. Pro každou půdu a každé ředění se použijí nejméně dvě Petriho misky. Při inkubaci a počítání jednotek vytvářejících kolonie se postupuje stejně, jak je popsáno v metodě zalévání do agaru.

Metoda nejpravděpodobnějšího počtu

Správnost a přesnost této metody (MPN) je menší než u metody membránové filtrace nebo počítání na pevných půdách. Nespolehlivé výsledky jsou získávány obzvláště při počítání plísní. Z těchto důvodů se metoda MPN používá pro počítání bakterií v případě, kdy se žádná jiná metoda nedá provést. Je-li použití této metody oprávněné, postupuje se následujícím způsobem.

Připraví se řada nejméně tří následujících desetinasobných ředění výrobku, jak je popsáno v odstavci Příprava vzorku. Z každého ředění se použijí tři stejné dávky (1 g nebo 1 ml) k očkování tří zkumavek s 9 ml nebo 10 ml vhodné tekuté půdy (jako je půda A). Je-li třeba, může se k půdě přidat povrchově aktivní látka, jako je polysorbát 80, nebo látka inaktivující protimikrobní účinky. Jestliže jsou připraveny tři stupně ředění, naočkuje se devět zkumavek a všechny se 5 dnů inkubují při 30 °C až 35 °C. Pro každý stupeň ředění se zaznamenává počet zkumavek, které vykazují mikrobiální růst. Jestliže odečítání výsledků je obtížné nebo nejisté vzhledem k povaze zkoušeného výrobku, vyočkuje se do stejné půdy nebo na vhodnou pevnou půdu (jako je agarová půda B) a inkubuje se 18 h až 24 h při stejné teplotě a použijí se tyto výsledky. Nejpravděpodobnější počet bakterií v gramu nebo miligramu zkoušeného výrobku se stanoví z tabulky 2.6.12-1.

3454 Zkušební metody

Tab. 2.6.12-1 Nejpravděpodobnější počet bakterií

Tři zkumavky pro každé ředění							
Počet zkumavek s pozitivním růstem			Nejpravděpodobnější počet v 1 g	Kategorie*		95% meze spolehlivosti	
0,1 g	0,01 g	0,001 g		1	2		
0	0	0	< 3			-	-
0	1	0	3		x	< 1	17
1	0	0	3	x		1	21
1	0	1	7		x	2	27
1	1	0	7	x		2	28
1	2	0	11		x	4	35
2	0	0	9	x		2	38
2	0	1	14		x	5	48
2	1	0	15	x		5	50
2	1	1	20		x	8	61
2	2	0	21	x		8	63
3	0	0	23	x		7	129
3	0	1	38	x		10	180
3	1	0	43	x		20	210
3	1	1	75	x		20	280
3	2	0	93	x		30	390
3	2	1	150	x		50	510
3	2	2	210		x	80	640
3	3	0	240	x		100	1400
3	3	1	460	x		200	2400
3	3	2	1100	x		300	4800
3	3	3	> 1100			-	-

* Kategorie 1: normální výsledky obdrženy v 95 % případů.

Kategorie 2: méně pravděpodobné výsledky obdrženy pouze ve 4 % případů. Tyto se nemohou použít pro důležitá rozhodnutí. Výsledky, které jsou ještě menší než tyto v kategorii 2, nejsou uvedeny a jsou vždy nepřijatelné.

Účinnost kultivační půdy a validita metod na stanovení počtu

Bakteriální kmeny se 18 h až 24 h kultivují odděleně v nádobách obsahujících vhodnou tekutou půdu (jako je půda A) při 30 °C až 35 °C. Kmeny hub se kultivují odděleně na vhodné agarové půdě (jako je půda C bez antibiotik) při 20 °C až 25 °C 48 h (*Candida albicans*) nebo 7 dní (*Aspergillus niger*).

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538 (NCIB 9518, CIP 4.83, CCM 4516, CNCTC Mau 29/58)
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739 (NCIB 8545, CIP 53.126, CCM 4517)
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633 (NCIB 8054, CIP 52.62, CCM 1999, CNCTC Bs 8/58)
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231 (NCPF 3179, IP 48.72, CCM 8215, CNCTC 59/91)
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404 (IMI 149007, IP 1431.83, CCM 8222)

K přípravě referenční suspenze obsahující asi 100 jednotek vytvářejících kolonie se použije tlumivý roztok chloridu sodného s peptonem o pH 7,0. Suspenze každého z mikroorganismů se použije samostatně jako u metod na stanovení počtu, v přítomnosti a nepřítomnosti zkoušeného výrobku. Pokud se zkouška provádí pomocí membránové filtrace nebo počítáním na pevných půdách, počty kolonií všech zkoušených mikroorganismů by se neměly lišit od hodnot vypočítaných z inokula o více než faktor 5. Pokud se zkouška provádí metodou nejpravděpodobnějšího počtu, pak vypočítaný výsledek je v 95% mezích spolehlivosti. Pro zkoušku sterility agarové půdy a ředícího roztoku a aseptického provedení zkoušky se místo zkoušeného přípravku použije sterilní roztok chloridu sodného s peptonem o pH 7,0. Nesmí se objevit růst mikroorganismů.

Interpretace výsledků

Za celkový počet bakterií se považuje průměrný počet jednotek vytvářejících kolonie nalezený na agarové půdě B. Za celkový počet hub se považuje průměrný počet jednotek vytvářejících kolonie nalezený na agarové půdě C. Celkový počet živých mikroorganismů je součet počtu bakterií a hub. Jestliže je prokázáno, že stejné typy mikroorganismů rostou na obou agarových půdách, může se provést oprava. Jestliže se použila metoda nejpravděpodobnějšího počtu, tak vypočítaná hodnota je počet bakterií.

Je-li v článku uveden limit počtu mikroorganismů, interpretuje se takto:

10^2 mikroorganismů - nejvyšší přípustná hodnota je 5×10^2 ,

10^3 mikroorganismů - nejvyšší přípustná hodnota je 5×10^3 , atd.

Jestliže je např. použit trojúrovňový vzorkovací plán, postupuje se následovně:

Pro každý z pěti vzorků se spočítá samostatně celkový počet živých mikroorganismů. Látka nebo přípravek vyhovují zkoušce, jestliže jsou splněny následující podmínky: (i) žádný z jednotlivých výsledků celkového počtu živých mikroorganismů nepřesahuje desetinásobek předepsaného limitu (tj. žádné nepřijatelné vzorky) a (ii) nejvýše dva z jednotlivých výsledků celkového počtu živých mikroorganismů jsou mezi předepsaným limitem a desetinásobkem tohoto limitu (tj. nejvýše dva kritické vzorky).

Doporučené roztoky a agarové půdy jsou popsány v kapitole (2.6.13).

2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (zkoušky na specifické mikroorganismy)



1999

V těchto obecných metodách se předpokládá použití určitých selektivních půd. Vlastností společnou pro všechny selektivní půdy je, že subletálně poškozené mikroorganismy nejsou zachyceny. Jelikož subletálně poškozené mikroorganismy jsou důležité pro kvalitu výrobku, jejich oživení musí být zahrnuto do zkušebních postupů, které používají selektivní půdy.

Jestliže zkoušený výrobek má protimikrobní účinky, neutralizují se tyto účinky odpovídajícím způsobem.

3456 Zkušební metody

Enterobakterie a určité jiné gramnegativní bakterie

Přestože zkouška byla určena pro zjištění bakterií patřících do čeledi Enterobacteriaceae, je známo, že mohou být nalezeny i jiné typy mikroorganismů (např. *Aeromonas*, *Pseudomonas*).

Důkaz. Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, ale místo tlumivého roztoku s chloridem sodným a peptonem o pH 7,0 se použije tekutá půda D. Zhomogenizuje se a inkubuje při 35 °C až 37 °C po dobu postačující k oživení bakterií, ale nepostačující k jejich pomnožení (obvykle 2 h, ale nejvýše 5 h). Obal se protřepe a obsah homogenizátu A odpovídající 1 g nebo 1 ml zkoušeného výrobku se kvantitativně přenesou do 100 ml pomnožovací půdy E a inkubuje se 18 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Potom se vyočkuje na misky s agarovou půdou F a inkubuje se 18 h až 24 h při 35 °C až 37 °C. Výrobek vyhovuje, jestliže na žádné misce nevyrostou kolonie gramnegativních bakterií.

Kvantitativní stanovení. Do vhodných množství obohacené tekuté půdy E se přidají z homogenizátu A a/nebo z jeho ředění množství odpovídající 0,1 g, 0,01 g a 0,001 g nebo 0,1 ml, 0,01 ml a 0,001 ml zkoušeného výrobku. Inkubuje se 24 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Z každé kultury se pro dosažení selektivní izolace provede vyočkování na agarovou půdu F. Inkubuje se 18 h až 24 h při 35 °C až 37 °C. Růst dobře vyvinutých, červených nebo načervenalých kolonií gramnegativních bakterií se hodnotí jako pozitivní výsledek. Zaznamená se nejmenší množství zkoušeného výrobku, které dává pozitivní výsledek a největší množství zkoušeného výrobku, které dává negativní výsledek.

Z tabulky 2.6.13-1 se stanoví pravděpodobný počet bakterií.

Tab. 2.6.13-1

Výsledky pro množství přípravku			Pravděpodobný počet bakterií v 1 g přípravku
0,1 g nebo 0,1 ml	0,01 g nebo 0,01 ml	0,001 g nebo 0,001 ml	
+	+	+	více než 10^3
+	+	-	méně než 10^3 a více než 10^2
+	-	-	méně než 10^2 a více než 10
-	-	-	méně než 10

Escherichia coli

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, ale místo tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 se použije tekutá půda A, zhomogenizuje se a inkubuje se 18 h až 24 h při 35 °C až 37 °C. Obsah nádoby se protřepe a množství odpovídající 1 g nebo 1 ml zkoušeného výrobku se přenesou do 100 ml půdy G a inkubuje se 18 h až 24 h při 43 °C až 45 °C. Vyočkuje se na agarovou půdu H a inkubuje se 18 h až 72 h při 35 °C až 37 °C. Nárůst červených, nemukózních kolonií gramnegativních tyčinek indikuje možnou přítomnost *Escherichia coli*. Ta se potvrdí vhodnými biochemickými zkouškami, jako je tvorba indolu. Výrobek vyhovuje zkoušce, jestliže žádné takovéto kolonie nejsou pozorovány nebo když jsou potvrzující biochemické zkoušky negativní.

Salmonella

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, ale použije se místo tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 tekutá půda A, zhomogenizuje se a inkubuje se 18 h až 24 h při 35 °C až 37 °C. 1 ml obohacené kultury se přenesou do 10 ml tekuté půdy I a inkubuje se 18 h až 24 h při 41 °C až 43 °C. Potom se vyočkuje na nejméně dvě různé

pevné půdy vybrané z agarové půdy J, agarové půdy K a agarové půdy L. Inkubuje se 18 h až 72 h při 35 °C až 37 °C. Pravděpodobná přítomnost salmonel je indikována růstem kolonií tohoto vzhledu:

- na půdě J: dobře rozvinuté bezbarvé kolonie,
- na půdě K: dobře rozvinuté červené kolonie s černým středem nebo bez něho,
- na půdě L: malé průsvitné bezbarvé nebo růžové až matně bílé kolonie, často obklopené růžovou nebo červenou zónou.

K potvrzení nálezu se samostatně naočkuje několik podezřelých kolonií na povrch a vpichem do agarové půdy M. Přítomnost salmonel je předběžně potvrzena, jestliže uvnitř půdy, ale nikoliv na jejím povrchu, dojde ke změně barvy z červené na žlutou a obvykle též ke tvorbě plynu. Tvoří se nebo též netvoří sirovodík. Potvrzení se může zpřesnit vhodnými biochemickými a sérologickými zkouškami. Výrobek vyhovuje zkoušce, jestliže se nenajdou kolonie popsaného typu nebo jestliže jsou potvrzující biochemické a sérologické zkoušky negativní.

Pseudomonas aeruginosa

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, a použije se 10 ml nebo množství odpovídající 1 g nebo 1 ml k naočkování do 100 ml tekuté půdy A, zhomogenizuje se a inkubuje se 18 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Potom se vyočkuje na misku s agarovou půdou N a inkubuje se 18 h až 72 h při 35 °C až 37 °C. Není-li zjištěn růst mikroorganismů, výrobek vyhovuje. Jestliže se objeví růst gramnegativních tyčinek, vhodné množství z morfologicky odlišných izolovaných kolonií se přenese do tekuté půdy A a inkubuje se 18 h až 24 h při 41 °C až 43 °C. Výrobek vyhovuje, jestliže při 41 °C až 43 °C není pozorován žádný růst.

Staphylococcus aureus

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, a použije se 10 ml nebo množství odpovídající 1 g nebo 1 ml k naočkování do 100 ml tekuté půdy A, zhomogenizuje se a inkubuje se 18 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Vyočkuje se na misku s agarovou půdou O a inkubuje se 18 h až 72 h při 35 °C až 37 °C. Černé kolonie grampozitivních koků obklopené jasnou zónou indikují přítomnost *S. aureus*. Výsledek je možno potvrdit vhodnými biochemickými zkouškami, jako jsou koagulasová a deoxyribonukleasová zkouška. Výrobek vyhovuje zkoušce, jestliže se na agarové půdě O neobjeví popsaný typ kolonií nebo jestliže jsou ověřovací biochemické zkoušky negativní.

Růstové a selektivní vlastnosti půd a validace zkoušky

Dále uvedené zkoušky se provedou nejméně u každé šarže dehydrované tekuté půdy.

Postupuje se následujícím způsobem. Dále uvedené zkušební kmeny se 18 h až 24 h kultivují samostatně ve zkumavkách obsahujících vhodné tekuté půdy při 30 °C až 35 °C:

Staphylococcus aureus např. ATCC 6538 (NCIB 9518, CIP 4.83, CCM 4516, CNCTC Mau 29/58): tekutá půda A,

Pseudomonas aeruginosa např. ATCC 9027 (NCIB 8626, CIP 82.118, CCM 1961, CNCTC Ps 37/65): tekutá půda A,

Escherichia coli např. ATCC 8739 (NCIB 8545, CIP 53.126, CCM 4517): tekutá půda A,

Salmonella typhimurium nedoporučuje se žádný určitý kmen (může se použít nějaká pro člověka nepatogenní salmonela, např. *Salmonella abony* (NCTC 6017, CIP 80.39, CCM 4518): tekutá půda A.

Část roztoku každé kultury se zředí tlumivým roztokem s chloridem sodným a peptonem o pH 7,0 tak, aby suspenze obsahovala asi 1000 živých mikroorganismů v 1 ml. Smíchají se stejné díly od

3458 Zkušební metody

všech suspenzí a použije se 0,4 ml (přibližně 100 mikroorganismů od každého kmene) jako inokulum ve zkouškách na *S. aureus*, *Ps. aeruginosa*, *E. coli* a na Salmonelly, a to za přítomnosti i nepřítomnosti zkoušeného výrobku. Pro všechny mikroorganismy se má dosáhnout pozitivního výsledku.

Klostridie

Dále popsané zkoušky jsou určeny pro vymezené účely. První metoda je určena pro výrobky, u nichž je nezbytné vyloučit přítomnost patogenních klostridií a které je proto nutno zkusit na jejich nepřítomnost. Tyto výrobky mají obecně nízký celkový počet mikroorganismů. Druhá metoda je semikvantitativním stanovením *Clostridium perfringens* a je určena pro přípravky, kde množství tohoto druhu je kritériem jejich kvality.

1. *Zkouška na klostridie*. Zkoušený výrobek se zpracuje tak, jak je popsáno v obecné metodě (2.6.12). Připraví se dvě stejné dávky odpovídající 1 g nebo 1 ml zkoušeného výrobku. Jedna dávka se zahřívá 10 min na 80 °C a potom se rychle ochladí. Po protřepání se z ní naočkuje 10 ml do zkumavky (38 mm x 200 mm) nebo do jiné vhodné nádoby obsahující 100 ml živné půdy P. Druhá dávka se nezahřívá a naočkuje se stejným způsobem do druhé zkumavky. Obě zkumavky se inkubují za anaerobních podmínek 48 h při 35 °C až 37 °C. Po inkubaci se obě zkumavky vyočkují na tekutou půdu Q, do níž byl přidán gentamicin a inkubují se opět 48 h při 35 °C až 37 °C. Výrobek vyhovuje, jestliže není pozorován růst mikroorganismů.

Je-li pozorován růst, přeočkuje se každá odlišná kolonie na tekutou půdu Q bez gentamicinu a inkubuje se za aerobních a anaerobních podmínek. Dojde-li jenom k anaerobnímu růstu grampozitivních tyčinek (s endosporami nebo bez nich) s negativní katalasovou reakcí, indikuje to přítomnost rodu *Clostridium*. Je-li to nutné, porovná se růst kolonií na obou plotnách a použije se katalasová zkouška k vyloučení aerobních a fakultativně anaerobních druhů rodu *Bacillus*, které dávají pozitivní katalasovou reakci. Tato zkouška může být provedena na rozlišení stejných kolonií na agarové půdě nebo nepřímo po přenesení kolonie na podložní skličko přidáním kapky *peroxidu vodíku zředěného RS*. Tvorba bublinek plynu indikuje pozitivní katalasovou reakci.

2. *Stanovení počtu Clostridium perfringens*

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno v obecné metodě 2.6.12, a připraví se ještě stonásobné a tisícínásobné zředění v *tlumivém* roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0. Stanoví se nejpravděpodobnější počet bakterií, jak je uvedeno při stanovení celkového počtu živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) za použití živné půdy R ve zkumavce nebo v jiné vhodné nádobě s malou Durhamovou zkumavkou. Opatrně se promíchá a inkubuje se 24 h až 48 h při 45,5 °C až 46,5 °C. Zkumavky, které zčernají od sírníku železitého a v nichž je Durhamova zkumavka naplněna plynem (nejméně v jedné desetině objemu), indikují přítomnost *Clostridium perfringens*. Nejpravděpodobnější počet *Cl. perfringens* se odečte z tabulky 2.6.12-1.

Ke kontrole se použijí tyto kmeny:

pro 1. metodu: *Clostridium sporogenes*, např.

ATCC 19404 (NCTC 532, CIP 79.3,
CCM 4409, CNCTC CI 66/79),

pro 2. metodu: *Clostridium perfringens*, např.

ATCC 13124 (NCIB 6125, NCTC 8237,
CIP 103 409, CCM 4435, CNCTC CI 68/83).

Je-li to nutné, použije se *Clostridium sporogenes* ke kontrole selektivity a anaerobních podmínek.

Následující část se uvádí pro informaci a jako návod, netvoří závaznou část lékopisu.

Doporučené živné půdy a roztoky

Následující roztok a živné půdy byly shledány dostatečnými pro účely, pro které jsou v lékopise předepsány pro zkoušku na mikrobiální znečištění. Jiné půdy mohou být použity, mají-li podobné výživné a selektivní vlastnosti pro mikroorganismy, které se mají zjišťovat.

Tlumivý roztok s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0

Dihydrogenfosforečnan draselný	3,6 g
Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát	7,2 g
Chlorid sodný	4,3 g
Pepton (z masa nebo kaseinu)	1,0 g
Voda	1000 ml

Mohou se přidat povrchově aktivní látky nebo látky inaktivující protimikrobní účinek, jako např.:

Polysorbát 80	1 g/l až 10 g/l.
---------------	------------------

Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C.

Tekutá půda A (půda s hydrolyzáty sóji a kaseinu)

Pankreatický hydrolyzát kaseinu	17,0 g
Papainový hydrolyzát sóji	3,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Hydrogenfosforečnan draselný	2,5 g
Glukosa monohydrát	2,5 g
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,3 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C.

Agarová půda B (agarová půda s hydrolyzáty sóji a kaseinu)

Pankreatický hydrolyzát kaseinu	15,0 g
Papainový hydrolyzát sóji	5,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Agar	15,0 g
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,3 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C.

Agarová půda C (Sabouraudův glukosový agar s antibiotiky)

Pepton (z masa a kaseinu)	10,0 g
Glukosa monohydrát	40,0 g
Agar	15,0 g
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $5,6 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C. Bezprostředně před použitím se přidá 0,10 g sodné soli benzylpenicillinu a 0,10 g tetracyklinu na 1 l půdy ve formě sterilního roztoku, nebo se přidá 50 mg chloramfenikolu na 1 l půdy před sterilizací.

Tekutá půda D (laktosová půda)

Masový výtažek	3,0 g
Pankreatický hydrolyzát želatiny	5,0 g
Laktosa monohydrát	5,0 g
Voda	1000 ml

3460 Zkušební metody

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $6,9 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ihned se ochladí.

Obohacená tekutá půda E (Mosselova obohacená půda pro Enterobacteriaceae)

Pankreatický hydrolyzát želatiny	10,0 g
Glukosa monohydrát	5,0 g
Sušená hovězí žluč	20,0 g
Dihydrogenfosforečnan draselný	2,0 g
Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát	8,0 g
Zeleň brilantní	15 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po zahřátí bylo $7,2 \pm 0,2$. Zahřívá se 30 min při $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ihned se ochladí.

Agarová půda F (žlučový agar s glukosou, violetí krystalovou a červení neutrální)

Kvasničný výtažek	3,0 g
Pankreatický hydrolyzát želatiny	7,0 g
Žlučové soli	1,5 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Glukosa monohydrát	10,0 g
Agar	15,0 g
Červeň neutrální	30 mg
Violet krystalová	2 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po zahřátí bylo $7,4 \pm 0,2$. Zahřeje se k varu; nelze zahřívát v autoklávu.

Tekutá půda G (MacConkeyova půda)

Pankreatický hydrolyzát želatiny	20,0 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Sušená hovězí žluč	5,0 g
Červeň bromkresolová	10 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,3 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při $121\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Agarová půda H (MacConkeyův agar)

Pankreatický hydrolyzát želatiny	17,0 g
Pepton (z masa a kaseinu)	3,0 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Žlučové soli	1,5 g
Agar	13,5 g
Červeň neutrální	30 mg
Violet krystalová	1 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,1 \pm 0,2$. Za stálého třepání se povaří 1 min a pak se sterilizuje 15 min v autoklávu při $121\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tekutá půda I (tetrathionanová půda se žlučí a zelení brilantní)

Pepton	8,6 g
Sušená hovězí žluč	8,0 g

Chlorid sodný	6,4 g
Uhličitan vápenatý	20,0 g
Tetrathionan draselný	20,0 g
Zeleň brilantní	70 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby bylo po zahřátí $7,0 \pm 0,2$. Zahřeje se právě k varu. Nelze opakovaně zahřívát.

Agarová půda J (deoxycholano-citronanový agar)

Masový výtažek	10,0 g
Pepton z masa	10,0 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Citronan sodný	20,0 g
Citronan železitý	1,0 g
Deoxycholan sodný	5,0 g
Agar	13,5 g
Červeň neutrální	20 mg
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po zahřátí bylo $7,3 \pm 0,2$. Povaří se 1 min, ochladí na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a rozplní se do Petriho misek. Nelze zahřívát v autoklávu.

Agarová půda K (deoxycholanový agar s xylosou a lysinem)

Xylosa	3,5 g
L-lysin	5,0 g
Laktosa monohydrát	7,5 g
Sacharosa	7,5 g
Chlorid sodný	5,0 g
Kvasničný výtažek	3,0 g
Červeň fenolová	80 mg
Agar	13,5 g
Desoxycholan sodný	2,5 g
Thiosíran sodný	6,8 g
Citronan amonno-železitý	0,8 g
Voda	1000 ml

pH se upraví tak, aby po zahřátí bylo $7,4 \pm 0,2$. Zahřeje se k varu, ochladí na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a rozplní se do Petriho misek. Nelze zahřívát v autoklávu.

Agarová půda L (agar se zelení brilantní, červení fenolovou, laktosou a sacharosou)

Pepton (z masa a kaseinu)	10,0 g
Kvasničný výtažek	3,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Sacharosa	10,0 g
Agar	20,0 g
Červeň fenolová	80 mg
Zeleň brilantní	12,5 mg
Voda	1000 ml

Povaří se 1 min. pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $6,9 \pm 0,2$. Bezprostředně před použitím se sterilizuje 15 min v autoklávu při $121\text{ }^{\circ}\text{C}$, ochladí se na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a rozplní se do Petriho misek.

3462 Zkušební metody

Agarová půda M (agarová půda se třemi cukry a železem)

Masový výtažek	3,0 g
Kvasničný výtažek	3,0 g
Pepton (z masa a kaseinu)	20,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Sacharosa	10,0 g
Glukosa monohydrát	1,0 g
Citronan amonno-železitý	0,3 g
Thiosíran sodný	0,3 g
Červeň fenolová	25 mg
Agar	12,0 g
Voda	1000 ml

Za stálého třepání se zahřeje a 1 min se povaří. pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,4 \pm 0,2$. Rozplní se do zkumavek do 1/3 jejich výšky, sterilizuje se v autoklávu 15 min při 121°C a ochladí se v takové poloze, při které má půda dostatečnou hloubku a šikmý povrch.

Agarová půda N (cetrimidový agar)

Pankreatický hydrolyzát želatiny	20,0 g
Chlorid hořečnatý	1,4 g
Síran draselný	10,0 g
Cetrimid	0,3 g
Agar	13,6 g
Voda	1000 ml
Glycerol	10,0 ml

Za stálého třepání se zahřeje a 1 min se povaří. pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $7,2 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121°C .

Agarová půda O (Baird-Parkerův agar)

Pankreatický hydrolyzát kaseinu	10,0 g
Masový výtažek	5,0 g
Kvasničný výtažek	1,0 g
Chlorid lithný	5,0 g
Agar	20,0 g
Glycin	12,0 g
Pyruvan sodný	10,0 g
Voda	950 ml

Za stálého třepání se zahřeje a 1 min se povaří. pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo $6,8 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121°C , ochladí se na 45°C až 50°C a přidá se 10 ml sterilního roztoku teluričitanu draselného (10 g/l) a 50 ml emulze vaječného žloutku.

Živná půda P (obohacená půda pro klostridia)

Masový výtažek	10,0 g
Pepton	10,0 g
Kvasničný výtažek	3,0 g
Rozpustný škrob	1,0 g
Glukosa, monohydrát	5,0 g
Cysteiniumchlorid	0,5 g
Chlorid sodný	5,0 g

Octan sodný	3,0 g
Agar	0,5 g
Voda	1000 ml

Agar se nechá nabobtnat a rozpustí se zahřátím k varu za stálého míchání. Je-li třeba, upraví se pH tak, aby po sterilizaci bylo asi 6,8. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C.

Půda Q (Columbia agar)

Pankreatický hydrolyzát kaseinu	10,0 g
Peptický hydrolyzát masa	5,0 g
Pankreatický hydrolyzát srdce	3,0 g
Kvasničný výtažek	5,0 g
Kukuřičný škrob	1,0 g
Chlorid sodný	5,0 g
Agar podle schopnosti tvořit gel	10,0 až 15,0 g
Voda	1000 ml

Agar se nechá nabobtnat a rozpustí se zahřátím k varu za stálého míchání. Je-li třeba, upraví se pH tak, aby po sterilizaci bylo $7,3 \pm 0,2$. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C. Ochladí se na 45 °C až 50 °C; je-li třeba, přidá se gentamiciniumsulfat v množství odpovídajícím 20 mg báze gentamicinu a rozplní se do Petriho misek.

Půda R (laktoso-siřičitanová půda)

Pankreatický hydrolyzát kaseinu	5,0 g
Kvasničný výtažek	2,5 g
Chlorid sodný	2,5 g
Laktosa monohydrát	10,0 g
Cysteiniumchlorid	0,3 g
Voda	1000 ml

Po rozpuštění se upraví pH na $7,1 \pm 0,1$ a rozplní se po 8 ml do zkumavek délky 160 mm a průměru 16 mm a obsahujících malou Durhamovu zkumavku. Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C a uchovává se při 4 °C. Před použitím se půda zahřívá 5 min ve vodní lázni a ochladí se. Do každé zkumavky se přidá 0,5 ml roztoku disiřičitanu sodného (12 g/l) a 0,5 ml roztoku citronanu železito-amonného (10 g/l). Oba roztoky se připraví v čas potřeby a filtrují se přes membránový filtr (0,45 μm).

Neutralizační činidla

Neutralizační činidla se mohou použít k neutralizaci protimikrobních účinků. Mohou se přidat k tlumivému roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0 přednostně před sterilizací. Jestliže se použijí, prokáže se jejich účinnost a že nejsou pro mikroorganismy toxické.

Typický neutralizační roztok má následující složení:

Polysorbát 80	30 g
Lecitin vaječný	3 g
Histidin hydrochlorid	1 g
Pepton (z masa nebo kaseinu)	1 g
Chlorid sodný	4,3 g
Dihydrogenfosforečnan draselný	3,6 g
Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát	7,2 g
Voda	1000 ml

3464 Zkušební metody

Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °C.

Pokud má roztok nedostatečnou neutralizační schopnost, může se zvýšit množství polysorbátu 80 nebo lecitinu. Jako alternativa se mohou přidat inaktivující látky uvedené v tabulce 2.6.13-2.

Tab. 2.6.13-2 Látky inaktivující protimikrobní účinky, které se mohou přidat k tlumivému roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0

Druh protimikrobní látky	Inaktivující látka	Koncentrace	Poznámka
Fenoly	Laurylsulfat sodný Polysorbát 80 a lecitin Vaječný žloutek	4 g/l 30 g/l a 3 g/l 5 ml/l až 50 ml/l	Přidává se po sterilizaci tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0
Organické sloučeniny rtuti	Thioglykolat sodný	0,5 g/l až 5 g/l	
Halogeny	Thiosíran sodný	5 g/l	
Kvartérní amoniové sloučeniny	Vaječný žloutek	5 ml/l až 50 ml/l	Přidává se po sterilizaci tlumivého roztoku chloridu sodného s peptonem o pH 7,0

2.6.14 Bakteriální endotoxiny



1999

Pět metod uvedených v tomto článku je určeno ke zjištění, zda koncentrace endotoxinu v přípravku, který má v lékopise článek obsahující limit pro bakteriální endotoxiny, vyhovuje tomuto limitu. Výrobci, kteří mají v úmyslu se přesvědčit, zda-li např. jejich výrobní postupy snižují koncentraci endotoxinu v přípravku během výroby, nejsou vázáni postupy uvedenými v tomto článku.

Ve zkoušce na bakteriální endotoxiny se používá lyzát z amebocytů ostrorepa, *Limulus polyphemus* (LAL test). Po přidání roztoku s obsahem endotoxinů k roztoku lyzátu vzniká ve směsi zákal, sraženina nebo gel. Rychlost reakce závisí na koncentraci endotoxinu, hodnotě pH a teplotě. K reakci je nutná přítomnost určitých dvojmocných kationtů, enzymatický komplex podporující srážení a srážlivý protein, které jsou obsaženy v lyzátu. Štěpení chromogenního peptidu v roztoku lyzátu po aktivaci endotoxiny obsaženými v roztoku lze též použít ke stanovení koncentrace endotoxinů z koncentrace uvolněného barviva.

V této kapitole je popsáno pět následujících metod:

Metoda A. Gelová metoda: limitní zkouška

Metoda B. Semikvantitativní gelová metoda

Metoda C. Turbidimetrická kinetická metoda

Metoda D. Chromogenní peptidová kinetická metoda

Metoda E. Chromogenní peptidová metoda konečného bodu

Jestliže je v článku uvedena zkouška na endotoxiny bez uvedení metody, provede se zkoušení gelovou metodou A, která byla pro přípravek validována. Jinak se zkouška provádí metodou validovanou pro přípravek a uvedenou v článku.

V člancích jsou uvedeny požadavky na bakteriální endotoxiny jako limitní koncentrace endotoxinu; přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže neobsahuje *více* endotoxinu, než je limitní koncentrace. Splnění tohoto požadavku může být ale doloženo jedině důkazem, že koncentrace endotoxinu v přípravku je *nižší* než limitní koncentrace endotoxinu.

Zkouška se provádí způsobem, který vylučuje mikrobiální kontaminaci.

Před provedením zkoušky na endotoxiny na zkoušeném přípravku je nutno ověřit:

- zda použité zařízení neadsorbují endotoxiny,
- hodnotu lambda (λ) použitého lyzátu. Lambda je definována jako deklarovaná citlivost lyzátu uvedená na obalu (gelová metoda) nebo nejnižší koncentrace endotoxinu použitá při přípravě standardní křivky (kvantitativní metoda),
- nepřítomnost interferujících faktorů.

Je-li třeba, očistí se laboratorní zařízení od endotoxinů.

Není-li v článku pro přípravek, který je analyzován, uvedeno jinak, uplatňují se u všech pěti metod stejné požadavky popsané pro metodu A až metodu E.

V této stati jsou označením zkouška míněny všechny druhy nádob, včetně jamek mikrotitrční destičky.

Ve zkoušce se používá tento referenční přípravek a tato zkoumadla.

Referenční endotoxin BRP. Je kalibrován v mezinárodních jednotkách (m.j.) porovnáním s mezinárodním standardem.

Lyzát z amebocytů limula. Je vyroben podle požadavků odpovědné autority země výrobce. Lyzát se rozpustí podle návodu. U každé šarže se ověří deklarovaná citlivost (λ); ta je uvedena v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru.

Voda pro LAL. Voda má požadovanou jakost, jestliže dává negativní výsledek v podmínkách předepsaných pro zkoušku na endotoxiny ve zkoušeném přípravku. Je možno ji připravit trojnásobnou destilací vody na přístroji vybaveném účinným zařízením, které zabraňuje hromadění kapek, nebo jinými prostředky dávajícími vodu požadované jakosti.

Kyselina chlorovodíková pro LAL 0,1 mol/l a hydroxid sodný pro LAL 0,1 mol/l. Přípravují se z kyseliny chlorovodíkové R a hydroxidu sodného R a vody pro LAL. Obě látky jsou vhodné pro zkoušku, jestliže po úpravě pH na 6,0 až 8,0 dávají v podmínkách zkoušky negativní výsledek.

Není-li uvedeno jinak, ve zkoušce se pro přípravu roztoků a ředění použije voda pro LAL.

Gelové metody

Metody A a B jsou založeny na tvorbě pevného gelu v roztoku obsahujícím bakteriální endotoxiny po smíchání a inkubaci s lyzátem. U obou metod je požadováno ověřit citlivost lyzátu udanou výrobcem podle postupu uvedeného v části Citlivost lyzátu a prokázat nepřítomnost interferujících faktorů podle postupu uvedeného v části Interferující faktory.

Metody A a B se odlišují v tom, že metoda A ověřuje, zda oba vzorky zkoušeného přípravku obsahují méně endotoxinu, než je limit koncentrace endotoxinu uvedený v odpovídajícím článku, zatímco v metodě B se koncentrace endotoxinu ve zkoušeném přípravku stanoví semikvantitativně a geometrický průměr ve zkoušeném přípravku koncentrace endotoxinu je nižší, než je limit koncentrace endotoxinu uvedený v lékopisném článku.

Následující části: Postup, Citlivost lyzátu a Interferující faktory se používají u obou metod A a B.

Postup. Odpovídající objem lyzátu se nakape do všech zkoumavek nebo jiných vhodných nádob (např. podložní sklo) vyhřátých na teplotu $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$. V dostatečně dlouhých intervalech umožňujících odečtení jednotlivých výsledků se k jednotlivým lyzátům přidá stejný objem zkoušeného

3466 Zkušební metody

roztoku a ihned se opatrně smíchá s lyzátem. Reakční směs se za vyloučení vibrací a odpařování vody inkubuje po konstantní dobu, která byla stanovena experimentálně (obvykle 20 min až 60 min) a poté se odečtou výsledky. Jako pozitivní reakce se hodnotí tvorba pevného gelu, který se neporuší při opatrném převrácení nádoby. Výsledek je negativní, jestliže se takový gel nevytvoří.

Citlivost lyzátu. Připraví se nejméně čtyři sériová dvojnásobná ředění *referenčního endotoxinu BRP* tak, aby v jednotlivých ředěních byla dosažena koncentrace 2λ , λ , $0,5 \lambda$ a $0,25 \lambda$, kde λ je deklarovaná citlivost použitého lyzátu. Alespoň poslední ředění každé série dává negativní výsledek. Postupem uvedeným v části Postup zkoušky se zkouší všechna ředění a negativní kontrolní roztok, kterým je *voda pro LAL*. Vypočítá se průměr logaritmů nejnižší koncentrace endotoxinu, u které byla v každé sérii ředění zjištěna pozitivní reakce. Antilogaritmus tohoto průměru vyjadřuje citlivost lyzátu. Pokud se její hodnota neliší více než dvojnásobně od hodnoty deklarované, je uvedena citlivost potvrzena a používá se ve všech zkouškách prováděných s tímto lyzátem.

Interferující faktory. pH roztoku má být v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. Zpravidla má pH v rozmezí 6,0 až 8,0. Je-li třeba, upraví se pH vzorku před přidáním lyzátu *kyselinou chlorovodíkovou pro LAL 0,1 mol/l* nebo *hydroxidem sodným pro LAL 0,1 mol/l* nebo vhodným tlumivým roztokem. Postupuje se stejně, jak je popsáno v části Citlivost lyzátu, ale připraví se ředění *referenčního endotoxinu BRP* v neošetřených vzorcích zkoušeného přípravku, ve kterých již není endotoxin zjištělný. Tyto vzorky se použijí ve zředění nepřesahujícím nejvyšší účinné ředění (MVD), které se vypočítá ze vzorce:

$$\text{MVD} = \frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu}}{\text{citlivost lyzátu}},$$

kde jsou obě hodnoty vyjádřeny v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru.

Jestliže je limitní koncentrace endotoxinu v jednotlivém lékopisném článku uvedena v mezinárodních jednotkách endotoxinu v miligramu přípravku nebo v mezinárodní jednotce přípravku, vynásobí se limit endotoxinu koncentrací přípravku ve zkoušeném roztoku (v miligramech v mililitru nebo v mezinárodních jednotkách zkoušeného přípravku v mililitru), aby se získala limitní koncentrace endotoxinu v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru zkoušeného přípravku. Výše popsaný postup násobení se použije u roztoků přípravků připravených rozpuštěním podle návodu uvedeného na obalu.

Jestliže se citlivost lyzátu stanovená v přítomnosti zkoušeného přípravku neliší více než dvojnásobně od citlivosti stanovené bez přítomnosti zkoušeného přípravku, pak přípravek neobsahuje faktory, které interferují v experimentálních podmínkách, a může se zkoušet bez dalších úprav. V opačném případě, kdy zkoušený přípravek působí inhibicí nebo aktivací, se interferující faktory odstraní vhodným způsobem, jako je ředění, filtrace, neutralizace, dialýza nebo přidání látek schopných uvolnit adsorbované endotoxiny. Použití citlivějšího lyzátu umožňuje vyšší ředění zkoušeného přípravku a usnadňuje tak odstranění interference.

Jestliže zkoušený přípravek nevyhovuje zkoušce v ředění nižším, než je MVD, zkouška se opakuje za použití MVD.

Ultrafiltraci je možno použít tehdy, jestliže interferující faktory procházejí filtrem s nominálním separačním limitem odpovídajícím relativní molekulové hmotnosti 10 000 až 20 000. Je možno použít asymetrické membránové filtry z triacetatcelulosity, které se však musí přezkoušet na přítomnost složek způsobujících falešně pozitivní výsledky. Látky zachycené na filtru, které obsahují endotoxin, se opláchnou *vodou pro LAL* nebo vhodným tlumivým roztokem a endotoxiny se získají ve *vodě pro LAL* nebo ve vhodném tlumivém roztoku. Pro každý zkoušený přípravek je stanoven zkoušený objem a konečný objem pro zpětné uvolnění endotoxinu.

Pro ověření, že zvolený způsob účinně odstraňuje interferenci a přitom neodstraňuje endotoxiny, se zkouška na interferující vlivy opakuje se zkoušeným přípravkem, ke kterému se přidá *referenční endotoxin BRP* a použije se jeden ze zvolených způsobů na odstranění interferujících faktorů.

METODA A. GELOVÁ METODA (LIMITNÍ ZKOUŠKA)

Zkouška na endotoxin ve zkoušeném přípravku. Provádí se dvojmo, jak je popsáno v části Postup zkoušky, při použití takového ředění, které nepřevyšuje maximální účinné ředění zkoušeného přípravku, který v případě nutnosti byl ještě podroben některému ze způsobů odstraňujících interferující faktory.

Zároveň se zkouší negativní kontrola tvořená z *vody pro LAL* a dvě pozitivní kontroly, které obsahují *referenční endotoxin BRP* v koncentraci odpovídající dvojnásobku deklarované citlivosti lyzátu a z nichž jedna obsahuje zkoušený přípravek (podrobený, je-li třeba, postupu k odstranění interferujících faktorů po přidání referenčního endotoxinu) v koncentraci použité ve zkoušce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže negativní a obě pozitivní kontroly dávají odpovídající výsledek.

Zkoušený přípravek vyhovuje, jestliže obě zkoušené směsi dávají negativní výsledek. Zkoušený přípravek nevyhovuje zkoušce, jestliže obě zkoušené směsi dávají pozitivní výsledek. Jestliže je pozitivní výsledek pouze v jedné zkoušené směsi a ve druhé negativní, zkouška se opakuje; zkoušený přípravek vyhovuje, jestliže v obou zkoušených směsích je zjištěn negativní výsledek.

METODA B. SEMIKVANTITATIVNÍ GELOVÁ METODA

Stanovení endotoxinů ve zkoušeném přípravku. Je-li třeba, vzorky určené ke zkoušení se zpracují postupem odstraňujícím interferující faktory. Připraví se tyto roztoky:

- a) dva samostatně připravené roztoky zkoušeného přípravku v ředění použitém ke kontrole odstranění interferujících faktorů. Použije se *voda pro LAL* k přípravě dvou nezávislých sériových ředění zkoušeného vzorku po čtyřech zkumávkách v koncentraci 1, 1/2, 1/4 a 1/8 ve vztahu k ředění, se kterým byla provedena kontrola na odstranění interferujících faktorů,
- b) dvě řady po čtyřech zkumávkách obsahující *vodu pro LAL* a *referenční endotoxin BRP* v koncentraci 2λ , λ , $1/2 \lambda$ a $1/4 \lambda$,
- c) dvojici zkumavek se zkoušeným přípravkem v samostatně připraveném ředění, které bylo použito ke kontrole na interferující faktory a s *referenčním endotoxinem BRP* o koncentraci 2λ ,
- d) *voda pro LAL* (jako negativní kontrola).

Zkouška se provede postupem uvedeným v části Citlivost lyzátu. Zkoušku lze hodnotit, jsou-li splněny tři následující podmínky:

- výsledek v roztoku (d) je negativní,
- výsledky v roztocích (c) jsou pozitivní,
- geometrický průměr koncentrace endotoxinu v roztocích (b) je v rozmezí $1/2 \lambda$ až 2λ .

Pro každé ředění (a) se stanoví nejnižší koncentrace přípravku, která dává pozitivní výsledek, tedy obsahuje 1 m.j. endotoxinu v mililitru. Jestliže byl původní roztok zkoušeného přípravku ředěn faktorem d_1 , aby vyhověl zkoušce na interferující faktory, a tento roztok byl dále ředěn faktorem d_2 k získání nejnižší koncentrace s pozitivním výsledkem, pak množství endotoxinu v m.j./ml v původním roztoku zkoušeného přípravku se rovná $\lambda \times d_1 \times d_2$. Vypočítá se geometrický průměr ze dvou výsledků obou ředění (a). Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže geometrický průměr koncentrací endotoxinu je nižší než limitní koncentrace endotoxinu uvedená v příslušném článku.

Kinetické metody

Obě metody, turbidimetrická kinetická (metoda C) a chromogenní peptidová kinetická metoda (metoda D) používají lineární regresi logaritmu odpovědi na logaritmu koncentrace endotoxinu. Způsob provedení je uveden v části Postup pro každou metodu zvlášť; části Ověření parametrů standardní křivky, Interferující faktory a Stanovení endotoxinu ve zkoušeném přípravku jsou vhodné jak pro turbidimetrickou kinetickou metodu, tak pro chromogenní peptidovou kinetickou metodu.

METODA C. TURBIDIMETRICKÁ KINETICKÁ METODA

Postup. Vhodným zařízením se měří reakční čas potřebný k dosažení předem určeného stupně zákalu v roztoku, ke kterému byl vhodným způsobem přidán lyzát. Koncentrace endotoxinu v roztoku se vypočítá z logaritmu reakčního času a kalibrační křivky. Postup pro přípravu kalibrační křivky je uveden v části Ověření parametrů standardní křivky.

Rychlost změny zákalu v lineární části regresní křivky se též může použít ke stanovení koncentrace endotoxinu.

METODA D. CHROMOGENNÍ PEPTIDOVÁ KINETICKÁ METODA

Postup. Měří se reakční čas potřebný k dosažení předem určené intenzity zbarvení po uvolnění barviva z vhodného chromogenního peptidu komplexem endotoxin-lyzát; zbarvení se stanoví spektrofotometricky při vhodné vlnové délce. Koncentrace endotoxinu v roztoku se odvodí z logaritmu reakčního času pomocí kalibrační křivky. Postup pro přípravu kalibrační křivky je uveden v části Ověření parametrů standardní křivky.

METODA C A METODA D

Ověření parametrů standardní křivky. Požaduje se vždy při použití nové šarže lyzátu nebo při změně podmínek, které by mohly ovlivnit výsledek zkoušky.

Připraví se nejméně dvě samostatné řady, každá nejméně o čtyřech koncentracích referenčního endotoxinu BRP v požadovaném rozsahu. Limity uvedené výrobcem by se neměly překročit. Použije se nejméně jedna koncentrace na jednu jednotku v logaritmické stupnici a jako negativní kontrola voda pro LAL. Do každé zkumavky se přidá stejný objem lyzátu a u metody D vhodné množství chromogenního peptidu. Měří se reakční čas, jak bylo uvedeno výše.

Pro každou zkumavku se stanoví logaritmus reakčního času jako funkce logaritmu koncentrace endotoxinu a analyzuje se regrese logaritmu reakčního času na logaritmu koncentrace endotoxinu za použití standardní metody (metoda nejmenších čtverců).

Regresní křivka má signifikantní sklon a je signifikantně lineární; obojí na 95% hladině významnosti pro rozmezí koncentrací endotoxinu uvedené výrobcem lyzátu.

Stanoví se počet logaritmicky stejně vzdálených koncentrací, pro které je regresní křivka lineární. Je-li tímto číslem trojice ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$), použije se druhá koncentrace λ_2 jako λ_m ve zkoušce na interferující faktory a ve stanovení endotoxinu ve zkoušeném přípravku. Jestliže je toto číslo rovno 4 nebo 5, použije se v tomto případě třetí koncentrace λ_3 jako λ_m .

Kromě těchto požadavků se dodržují všechny další zkoušky nebo požadavky uvedené výrobcem lyzátu.

Interferující faktory. Připraví se čtyři samostatná ředění roztoku obsahujícího *referenční endotoxin BRP* v koncentraci λ_m a zkoušený přípravek ředěný faktorem vypočítaným podle vzorce:

$$\frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu}}{\lambda_m}$$

Hodnota pH roztoku má být v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. Zpravidla je pH v rozmezí 6,0 až 8,0. Je-li třeba, upraví se pH vzorku před přidáním lyzátu *kyselinou chlorovodíkovou pro LAL 0,1 mol/l* nebo *hydroxidem sodným pro LAL 0,1 mol/l* nebo vhodným tlumivým roztokem. Zkouška se provede se čtveřicí roztoků a vypočítá se průměrná koncentrace endotoxinu jako antilogaritmus průměrné logaritmické koncentrace endotoxinu.

Jestliže je průměrná koncentrace endotoxinu nejméně 50 % hodnoty λ_m , zkoušený přípravek neobsahuje faktory, které by interferovaly s lyzátem v podmínkách zkoušky, a vzorky tohoto přípravku se mohou zkoušet bez dalších úprav k vyloučení interferujících faktorů.

Je-li průměrná koncentrace endotoxinu nižší než 50 % hodnoty λ_m , je nutno odstranit interferující faktory, jak je uvedeno v metodě A. Jestliže průměrná koncentrace přesahuje nejvyšší koncentraci v lineární části regresní křivky, zkouška se opakuje za použití vyššího ředícího faktoru pro zkoušený přípravek vypočítaného podle vzorce:

$$\frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu}}{\lambda_m},$$

kde $\lambda_1 < \lambda_m < \lambda_m$.

Stanovení endotoxinů ve zkoušeném přípravku. Nejprve se, je-li to třeba, odstraní ze zkoušeného přípravku interferující faktory. Hodnota pH roztoku má být v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. Zpravidla je pH v rozmezí 6,0 až 8,0. Je-li třeba, upraví se pH vzorku před přidáním lyzátu *kyselinou chlorovodíkovou pro LAL 0,1 mol/l* nebo *hydroxidem sodným pro LAL 0,1 mol/l* nebo vhodným tlumivým roztokem.

Připraví se tyto roztoky:

- dvojice samostatně připravených roztoků zkoušeného přípravku ve stejném ředění jaké bylo použito ke kontrole odstranění interferujících faktorů,
- dvojice samostatně připravených roztoků obsahujících *referenční endotoxin BRP* v koncentraci λ_m nebo λ_m podle toho, která je třeba, a zkoušený přípravek v ředění, jak je uvedeno v bodě a),
- tři logaritmicky stejně vzdálené koncentrace *referenčního endotoxinu BRP* pokrývající lineární část regresní křivky. Každé ředění se připraví dvakrát,
- voda pro LAL* jako negativní kontrola.

Provede se zkouška postupem uvedeným v části *Ověření parametrů standardní křivky*. Vypočítá se koncentrace endotoxinu pro každou dvojici roztoků (a) a (b) pomocí regresní křivky připravené z kontrolní série (c).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou splněny tři následující podmínky:

- výsledek negativní kontroly (d) nepřevyšuje limit pro slepou hodnotu naměřenou při validaci citlivosti lyzátu,
- výsledky kontrolní série (c) vyhovují požadavkům uvedeným v *Ověření parametrů standardní křivky*,
- množství endotoxinu, vypočítané z geometrického průměru koncentrace endotoxinu v roztocích (b) po odečtení geometrického průměru koncentrace endotoxinu roztoků (a), je vyšší než 50 % a nižší než 200 %. Vypočítá se množství v procentech jako podíl výsledku po odečtení λ_m nebo λ_m (podle toho, která hodnota byla použita) a výsledek se násobí 100.

3470 Zkušební metody

Zkoušený přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže koncentrace každého z dvojice roztoků (a) je nižší než λ_m nebo λ_m mezinárodních jednotek endotoxinu v mililitru podle toho, která hodnota byla použita. Jestliže koncentrace endotoxinu jednoho z dvojice roztoků je nižší a druhá vyšší než tento limit, zkouška se opakuje. Zkoušený přípravek vyhovuje, jestliže oba roztoky (a) vyhovují limitu.

METODA E. CHROMOGENNÍ PEPTIDOVÁ METODA KONEČNÉHO BODU

Postup. Při vhodné vlnové délce se měří spektrometrem koncentrace barviva uvolněného po inkubaci z roztoku obsahujícího endotoxin, lyzát a chromogenní peptid. Koncentrace endotoxinu se vypočítá z absorpce při zvolené vlnové délce pomocí kalibrační křivky připravené postupem uvedeným v části Ověření parametrů standardní křivky.

Ověření parametrů standardní křivky. Požaduje se vždy při použití nové šarže lyzátu nebo při změně podmínek, které by mohly ovlivnit výsledek zkoušky.

Připraví se čtyři samostatné řady *referenčního endotoxinu BRP ve vodě pro LAL* tak, aby přesahovala rozmezí uvedené výrobcem lyzátu; rozmezí má obsahovat limit (λ) deklarovaný výrobcem. Použije se kontrolní roztok připravený podle návodu výrobce lyzátu.

Do každé zkumavky se přidají předepsaná množství lyzátu a chromogenního peptidu a směs se inkubuje po dobu stanovenou výrobcem.

Reakce se zastaví a měří se absorpance při vhodné vlnové délce.

Pro každou zkumavku v každé čtveřici ředění se do grafu zaznamená absorpance každé koncentrace jako funkce koncentrace endotoxinu a analyzuje se regrese absorpance na koncentraci použitím standardní analytické metody (metoda nejmenších čtverců). Regresní křivka má signifikantní sklon a je lineární, obojí na 95% hladině významnosti pro rozmezí koncentrací endotoxinu uvedených výrobcem lyzátu. Vypočítá se koncentrace endotoxinu λ_m , což je aritmetický průměr nejvyšší (λ_n) a nejnižší (λ_i) koncentrace endotoxinu, při které je regresní křivka lineární. Všechny hodnoty se uvedou v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru.

Kromě těchto požadavků se dodržují všechny další zkoušky nebo požadavky uvedené výrobcem lyzátu.

Interferující faktory. Připraví se čtyři samostatná ředění roztoku obsahujícího *referenční endotoxin BRP* v koncentraci λ_m a zkoušený přípravek ředěný faktorem vypočítaným podle vzorce:

$$\frac{\text{limitní koncentrace endotoxinu}}{\lambda_m},$$

Hodnota pH roztoku má být v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. Zpravidla je pH v rozmezí 6,0 až 8,0. Je-li třeba, upraví se pH vzorku před přidáním lyzátu *kyselinou chlorovodíkovou pro LAL 0,1 mol/l* nebo *hydroxidem sodným pro LAL 0,1 mol/l* nebo vhodným tlumivým roztokem.

Zkouška se provede se čtveřicí roztoků a vypočítá se průměrná koncentrace endotoxinu.

Jestliže je průměrná koncentrace endotoxinu nejméně 50 % a nejvýše 200 % hodnoty λ_m , zkoušený přípravek neobsahuje faktory, které by interferovaly s lyzátem v podmínkách zkoušky, a vzorky tohoto přípravku mohou být zkoušeny bez dalších úprav k vyloučení interferujících faktorů.

Je-li průměrná koncentrace endotoxinu nižší než 50 % nebo vyšší než 200 % hodnoty λ_m , je nutno odstranit interferující faktory, jak je uvedeno v metodě A.

Jestliže průměrná koncentrace přesahuje nejvyšší koncentraci v lineární části regresní křivky, zkouška se opakuje za použití vyššího ředícího faktoru pro zkoušený přípravek vypočítaného podle vzorce:

limitní koncentrace endotoxinu,
 λ_m

kde $\lambda_l < \lambda_m < \lambda_h$.

Stanovení endotoxinů ve zkoušeném přípravku. Nejprve se, je-li to třeba, odstraní ze zkoušeného přípravku interferující faktory. Hodnota pH roztoku má být v rozmezí stanoveném výrobcem lyzátu. Zpravidla je pH v rozmezí 6,0 až 8,0. Je-li třeba, upraví se pH vzorku před přidáním lyzátu *kyselinou chlorovodíkovou pro LAL 0,1 mol/l* nebo *hydroxidem sodným pro LAL 0,1 mol/l* nebo vhodným tlumivým roztokem.

Připraví se tyto roztoky:

- a) dva samostatně připravené roztoky zkoušeného přípravku v ředění použitém ke kontrole odstranění interferujících faktorů,
- b) dva samostatně připravené roztoky obsahující *referenční endotoxin BRP* v koncentraci λ_m nebo λ_h podle toho, která je třeba, a zkoušený přípravek v ředění, jak je uvedeno v bodě a),
- c) dvojice roztoků *referenčního endotoxinu BRP* o koncentraci λ_h a dvojice roztoků o koncentraci λ_l ,
- d) *voda pro LAL* jako negativní kontrola.

Provede se zkouška postupem uvedeným v části *Ověření parametrů standardní křivky*. Po inkubaci se ve všech roztocích (a), (b), (c) a (d) změří absorbance. Absorbance roztoků (c) a (d) se použije pro výpočet regresní křivky a vypočítá se koncentrace endotoxinu v roztocích (a) a (b).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou splněny tři následující podmínky:

- výsledek negativní kontroly (d) nepřevyšuje limit pro slepou hodnotu naměřenou při validaci citlivosti lyzátu,
- výsledky kontrolních roztoků (c) vyhovují požadavkům pro kalibrační křivky použité pro ověření citlivosti lyzátu,
- množství endotoxinu, vypočítané z aritmetického průměru koncentrací endotoxinu v roztocích (b) po odečtení aritmetického průměru koncentrace endotoxinu roztoků (a), je vyšší než 50 % a nižší než 200 %. Vypočítá se procento množství v procentech jako podíl výsledku po odečtení λ_m nebo λ_h podle toho, která hodnota byla použita, a výsledek se násobí 100.

Zkoušený přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže koncentrace každého z dvojice roztoků (a) je nižší než λ_m nebo λ_h mezinárodních jednotek endotoxinu v mililitru podle toho, která hodnota byla použita. Jestliže koncentrace endotoxinu jednoho z dvojice roztoků je nižší a druhá vyšší než tento limit, zkouška se opakuje. Zkoušený přípravek vyhovuje, jestliže oba roztoky (a) vyhovují limitu.

Následující část je uvedena pro informaci a jako návod, netvoří závaznou součást lékopisu.

Zkouška na bakteriální endotoxin: směrnice

1. Úvod

Endotoxiny pocházející z gramnegativních bakterií jsou nejčastější příčinou toxických reakcí přisuzovaných kontaminaci farmaceutických přípravků pyrogenními látkami; pyrogenní účinnost endotoxinů je mnohem vyšší než účinnost jiných pyrogenních látek. Endotoxiny jsou lipopolysacharidy. Ačkoli množství pyrogenních látek s odlišnou strukturou je malé, obecně platí, že nepřítomnost bakteriálních endotoxinů v přípravku je známkou absence pyrogenních složek za předpokladu, že lze vyloučit přítomnost neendotoxinových pyrogenních látek.

Přítomnost endotoxinů v přípravku může být zakryta faktory interferujícími s reakcí mezi amebocytárním lyzátem a endotoxiny. Proto analytik, chce-li nahradit zkoušku na pyrogenní látky na

3472 Zkušební metody

králícih, která je požadována lékopisným článkem, zkouškou na endotoxin, prokáže, že přípravek lze zkoušet validovaným způsobem, který může obsahovat postup na odstranění interferujících faktorů.

Jak je uvedeno ve zkoušce na bakteriální endotoxiny, je třeba mít dostatečné informace o následujících aspektech dříve, než bude zkouška se vzorkem uznána za validovanou:

- 1.1 Prokáže se vhodnost materiálů ke zkoušce. Má se prokázat nepřítomnost endotoxinu ve vodě pro LAL a v ostatních zkoumadlech a má se ověřit citlivost lyzátu, aby se ověřila citlivost deklarovaná výrobcem.
- 1.2 Protože zkoušený přípravek může ve zkoušce interferovat, přezkouší se citlivost lyzátu v nepřítomnosti i v přítomnosti zkoušeného přípravku. Mezi oběma hodnotami citlivosti se nezjistí signifikantní rozdíl.

Zkouška na bakteriální endotoxin uvádí též způsob odstranění interferujících faktorů (viz Gelové metody); v případě interference se po použití takového postupu provede další zkouška, aby se ověřilo, zda použitá metoda skutečně neutralizovala nebo odstranila interferenci.

Jestliže zkoušený vzorek nevyhovuje zkoušce (pozitivní výsledek), je možno zkoušku opakovat. Zřejmé nevyhovění přípravku požadavkům zkoušky může být způsobeno chybou v jeho přípravě, ředěním nebo jinou náhodnou laboratorní kontaminací.

V této části jsou vysvětleny důvody pro požadavky obsažené ve zkoušce na bakteriální endotoxiny a potom je pojednáno o odečítání a interpretaci výsledků.

Nahrazení lékopisné zkoušky na pyrogenní látky prováděné na králícih LAL testem v podstatě představuje použití alternativní metody analýzy, a proto vyžaduje validaci. Některé pokyny k jejímu provedení jsou uvedeny v této části.

Referenční metoda na stanovení bakteriálních endotoxinů je uvedena v článku daného přípravku; není-li metoda uvedena, použije se jako referenční metoda A. Má-li se použít jiná než referenční metoda, musí analytik prokázat, že tato metoda je vhodná pro přípravek a dává výsledky, které jsou shodné s výsledky získanými referenční metodou (viz též část 11).

Ačkoliv ve zkoušce na bakteriální endotoxiny je určen jako zdroj lyzátu druh *Limulus polyphemus*, je možno aktivní lyzát též získat z blízce příbuzných druhů, jako je rod *Tachypleus*. Výraz "amebocytární lyzát" se v textu používá pro označení validovaného amebocytárního lyzátu bez ohledu na jeho biologický původ.

2. Metoda

Ačkoliv přidání endotoxinu k roztoku amebocytárního lyzátu může vést ke vzniku zákalu, sraženiny nebo gelu, pouze vznik gelu byl zvolen jako rozhodující u prvního typu zkoušky na bakteriální endotoxiny. Výhodou byla jednoduchost založená na rozhodnutí, zda přípravek vyhovuje nebo nevyhovuje na základě prostým okem patrné tvorby nebo nepřítomnosti gelu. Kvantitativní metody uvedené jako metody C, D, E byly vyvinuty později: vyžadují více přístrojového vybavení, ale jsou vhodnější pro automatické zkoušení velkého počtu vzorků jednoho přípravku.

Endotoxiny se mohou adsorbovat na povrch zkumavek nebo pipet z určitých plastů nebo typů skla. Uvolnění látek z plastických materiálů může vyvolat interferenci. Proto se mají používané materiály kontrolovat; složení následujících šarží zkumavek nebo pipet se mohou mírně lišit, a proto se doporučuje, aby laboratorní pracovník opakoval takové zkoušení u každé nové šarže materiálů.

Zatímco výsledky zkoušky na pyrogenní látky na králícih jsou závislé na dávce pyrogenu, výsledky zkoušky na bakteriální endotoxiny závisí na koncentraci endotoxinu ve směsi. Rozhodnutí použít zkoušku na bakteriální endotoxiny jako limitní zkoušku je dáno tím, že za prvé musí být definována prahová koncentrace endotoxinu pro zkoušený přípravek a za druhé analytik provádě-

ující zkoušku má vědět, kdy je koncentrace endotoxinu v přípravku pod nebo nad hranicí této prahové hodnoty. Kvantitativními metodami C, D, E je stanovení koncentrace endotoxinu ve zkoušeném vzorku jednoduché, ale v rutinní kontrole kvality je základním požadavkem otázka, zda-li tato koncentrace je nebo není vyšší než požadovaný limit.

Při stanovování prahové koncentrace endotoxinu u zkoušeného přípravku je nutno brát zřetel na lidskou dávku přípravku, s cílem mít jistotu, že pokud je koncentrace endotoxinu v přípravku pod prahovou hodnotou, pak výsledná maximální dávka podaná odpovídajícím způsobem za hodinu neobsahuje dostatečné množství endotoxinu k rozvoji toxické reakce.

Jestliže je koncentrace endotoxinu v přípravku přesně rovna prahové hodnotě, dojde ke vzniku gelu jako v případě, kdy je koncentrace endotoxinu mnohem vyšší a přípravek nevyhoví zkoušce, protože nelze rozlišit mezi koncentrací přesně se rovnající prahové koncentraci a mezi koncentrací vyšší. Pouze v případě, kdy nedojde ke vzniku gelu, může analytik rozhodnout, že koncentrace endotoxinu nepřesáhla koncentraci prahovou.

U pevných přípravků je třeba prahovou koncentraci endotoxinu na jednotku hmotnosti nebo mezinárodní jednotku přípravku převést na koncentraci endotoxinu v mililitru zkoušeného roztoku, neboť zkoušku lze provádět pouze u roztoků. Přípravky, které existují pouze v tekutém stavu, jako jsou infuzní roztoky, jsou uvedeny dále.

Stanovení prahové koncentrace endotoxinu v mezinárodních jednotkách endotoxinu v jednotce přípravku (jednotka hmotnosti nebo mezinárodní jednotka) vyžaduje definovat:

M = maximální dávka přípravku pro dospělé vyjádřená v jednotkách hmotnosti nebo mezinárodních jednotkách na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu, pokud se podává zamýšleným způsobem. Při stanovení maximální dávky pro dospělé se má použít hmotnost 70 kg pro dospělou osobu. Dětská dávka na kilogram hmotnosti za hodinu se má použít jen v případě, je-li vyšší než odpovídající dávka pro dospělé,

K = maximální dávka endotoxinu v mezinárodních jednotkách endotoxinu na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu, kterou může pacient dostat předepsaným způsobem bez nežádoucích účinků (Tabulka 2.6.14-1).

Předpokládá se ke zkoušení roztok obsahující c mg (nebo mezinárodních jednotek) přípravku v mililitru. Potom objem M/c ml je objem obsahující maximální dávku M . Jestliže tento objem obsahuje K mezinárodních jednotek endotoxinu, bude výsledek zkoušky pozitivní.

Proto limitní koncentrace endotoxinu (ELC) v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru, jež je shodná s prahovou koncentrací endotoxinu v miligramu nebo v mezinárodní jednotce přípravku v pevném stavu, je rovna:

$$\text{ELC} = \frac{K \cdot c}{M},$$

v němž značí:

K - nejvyšší přijatelnou dávku endotoxinu v mezinárodních jednotkách na kilogram hmotnosti za hodinu,

c - koncentraci roztoku v miligramech nebo mezinárodních jednotkách přípravku v mililitru,

M - maximální dávku přípravku v miligramech nebo mezinárodních jednotkách na kilogram hmotnosti za hodinu.

U přípravků, které jsou již v tekuté formě, se vyjádří maximální dávka pro dospělého na kilogram hmotnosti za hodinu v mililitrech. Výše uvedené vyjádření limitní koncentrace endotoxinu platí též pro přípravky, u nichž je uvedena maximální dávka v mililitrech na kilogram hmotnosti za hodinu nahrazením M a c hodnotou jedna.

3474 Zkušební metody

Prahová koncentrace endotoxinu byla v minulosti definována jako maximální povolená koncentrace endotoxinu (MAEC). Avšak prakticky přípravek obsahující množství endotoxinu, které se rovná přesně MAEC, by nevyhověl zkoušce stejně jako přípravek obsahující endotoxinu více. Jediný způsob, jak se přesvědčit, že MAEC v přípravku nebyla překročena, je prokázat, že koncentrace endotoxinu v přípravku je nižší než MAEC; takže je mnohem logičtější používat termín limitní koncentrace endotoxinu (ELC) jako koncentraci endotoxinu, která nesmí být dosažena.

Limitní koncentrace endotoxinu závisí na druhu přípravku a jeho použití a je uvedena v jednotlivých článcích, do nichž je třeba nahlédnout. Hodnoty K jsou uvedeny v tabulce 2.6.14-1.

Tab. 2.6.14-1

Zamýšlený způsob podání	K v mezinárodních jednotkách endotoxinu na kilogram tělesné hmotnosti za hodinu
Intravenózní	5,0
Intravenózní pro radiofarmaka	2,5
Intrathekalní	0,2

Které ředění přípravku se má použít ve zkoušce, aby byla naprostá jistota, že negativní výsledek zkoušky znamená, že koncentrace endotoxinu v přípravku je nižší než ELC a že pozitivní výsledek znamená, že lyzát detegoval alespoň ELC. Toto ředění závisí na ELC a na citlivosti lyzátu: označuje se jako maximální platné ředění (MVD) a tato hodnota se může vypočítat ze vzorce.

$$\text{MVD} = \frac{\text{ELC}}{\lambda} = \frac{K \cdot c}{M \cdot \lambda},$$

v němž značí:

λ - uvedenou citlivost lyzátu v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru.

Jestliže hodnota maximálního platného ředění není celým číslem, pak je možno pro rutinní účel zvolit odpovídající celé číslo nižší, než je MVD (čímž je míněna hodnota ředění roztoku přípravku nižší, než je udaná hodnota MVD). V tomto případě negativní výsledek zkoušky ukazuje, že koncentrace endotoxinu v přípravku se nachází pod hladinou limitní hodnoty. Je-li však koncentrace endotoxinu v přípravku v takovéto zkoušce nižší než ELC, ale dostatečně vysoká k tomu, aby při reakci s lyzátem došlo k tvorbě gelu, může být zkouška hodnocena za těchto podmínek jako pozitivní. Tudiž, je-li zkouška s tímto "vhodným" ředicím faktorem pozitivní, je nutno přípravek ředit na MVD a zkoušku opakovat. V jakémkoli případě pochybností nebo sporu se použije MVD.

To zdůrazňuje důležitost potvrzení citlivosti lyzátu.

Příklad

Zkouší se roztok sodné soli fenytoinu obsahující 50 mg/ml (zamýšlený pro intravenózní podání). Stanoví se MVD za použití následujících proměnných:

M - maximální lidská dávka = 15 mg na kilogram hmotnosti za hodinu,

c - 50 mg/ml,

K - 5 m.j. endotoxinu na kilogram za hodinu v mezinárodních jednotkách,

λ - 0,4 m.j. endotoxinu v mililitru.

Řešení:

$$\text{ELC} = \frac{K \cdot c}{M} = \frac{5 \cdot 50}{15}$$
$$\text{MVD} = \frac{\text{ELC}}{\lambda} = \frac{5 \cdot 50}{15} \cdot \frac{1}{0,4} = 41,67$$

Pro rutinní zkoušení tohoto přípravku je vhodné ředit 1 ml roztoku ke zkoušce na 20 ml (MVD/2 zaokrouhлено na nejbližší menší celé číslo). Je-li však zkouška pozitivní, bude analytik muset ředit 1 ml na 41,67 ml a opakovat zkoušku. Ředění na 41,67 ml je rovněž nutné, jestliže se zkoušením má vyřešit sporný výsledek.

3. Referenční materiál

Referenční endotoxin BRP je určen pro použití jako porovnávací přípravek. Byl přezkoušen proti mezinárodnímu standardu endotoxinu a jeho účinnost je vyjádřena v mezinárodních jednotkách endotoxinu v mililitru. Mezinárodní jednotka endotoxinu je definována jako specifická účinnost obsažená v definovaném množství mezinárodního standardu.

Pro rutinní účely je možno použít jiný přípravek endotoxinu, jestliže byl přezkoušen proti mezinárodnímu standardu endotoxinu nebo endotoxinu BRP a jeho účinnost je vyjádřena v mezinárodních jednotkách endotoxinu.

Jedna ampule referenčního přípravku obvykle obsahuje větší množství, než je množství potřebné pro jednu zkoušku, a analytik potřebuje vědět, jak dlouho lze obsah otevřené ampule používat. Pokles účinnosti nebyl pozorován v ampulích, které byly otevřeny v laminárním boxu, uzavřeny vhodným materiálem a dva týdny skladovány při +4 °C. Analytik samozřejmě musí ověřit účinnost takovéto ampule při rutinním laboratorním režimu, je-li odkázán na prodloužené používání otevřené ampule.

4. Voda pro LAL

Zkoušení na nepřítomnost endotoxinu v této látce zkouškou na pyrogenní látku na králíku bylo vyloučeno z praktických a teoretických důvodů:

- králík není dostatečně citlivý, aby mohl detegovat endotoxin ve vodě pro LAL určené ke zkoušení přípravků s velice nízkou limitní koncentrací endotoxinu,
- relativně nízká přesnost teplotní odpovědi u králíka vede k opakování na mnoha králících,
- termíny "pyrogenní látky" a "endotoxiny" označují skupiny látek, které nejsou zcela totožné.

Text zkoušky na bakteriální endotoxiny ukazuje, že i jiná metoda, než je trojnásobná destilace, se může použít k přípravě *vody pro LAL*. Reverzní osmosa byla použita s dobrým výsledkem; někteří analytici mohou dávat přednost vodě destilované více než třikrát. V každém případě použitá metoda musí zaručit, že výsledný produkt je prost zjizitelných endotoxinů.

5. Hodnota pH směsi

Ve zkoušce na bakteriální endotoxiny dochází ke vzniku gelu nejvhodněji při pH 6,0 až 7,5. Při přidání lyzátu ke vzorku může však dojít k poklesu pH. Proto, aby byla jistota, že pH směsi není nižší než 6,0, má se analytik přesvědčit o tom, že hodnota pH zkoušeného vzorku není nižší než 6,5.

6. Validace lyzátu

Při přípravě roztoku lyzátu je důležité se řídit návodem výrobce.

Poslední pozitivní ředění u gelové metody A a B se převedou na logaritmy. Důvodem toho graficky znázorněné rozložení četnosti těchto logaritmických hodnot dává obvykle normální distribuční křivku mnohem vyrovnanější, než je distribuční rozložení ředících faktorů jako takových;

3476 Zkušební metody

v podstatě jde o tak podobné hodnoty, že je přijatelné použít normální frekvenční distribuci jako matematický model a stanovit interval spolehlivosti Studentovým t -testem.

Kinetické metody C a D používají logaritmus koncentrace endotoxinu, protože lze použít model lineární regrese log reakčního času na log koncentrace endotoxinu. Chromogenní metoda konečného bodu, metoda E, používá odlišný model. V tomto případě výsledek (absorbance závislá na uvolněním barvivu) může být hodnocen jako lineární funkce koncentrace endotoxinu v použitém koncentračním rozmezí.

7. Předběžná zkouška na interferující faktory

Některé přípravky nelze přímo zkoušet na přítomnost endotoxinu, protože je nelze smíchat se zkoumadly, nelze u nich upravit hodnotu pH v rozmezí 6,5 až 7,5 nebo inhibují nebo aktivují tvorbu gelu. Proto je nutno provést předběžnou zkoušku na zjištění přítomnosti interferujících faktorů: jsou-li nalezeny, pak analytik prokáže, že postup použitý k jejich odstranění byl dostatečně účinný.

Předmětem předběžného zkoušení je nulová hypotéza, že citlivost lyzátu v přítomnosti zkoušeného přípravku se signifikantně neliší od citlivosti lyzátu bez přítomnosti vzorku. Jednoduché kritérium je použito v metodě A a B: nulovou hypotézu lze přijmout, jestliže citlivost lyzátu v přítomnosti přípravku je nejméně poloviční a nejvýše dvojnásobná, než je citlivost lyzátu samotného.

Klasickým způsobem se stanoví průměrné hodnoty logaritmu ředicích faktorů lyzátu pro citlivost s přípravkem a bez něho a vypočítá se rozdíl mezi oběma průměrnými hodnotami Studentovým t -testem.

Zkouška na interferující faktory v gelových metodách A a B vyžaduje použití vzorku přípravku, u něhož nebyla zjištěna přítomnost endotoxinu. To představuje teoretický problém, když se má zkoušet zcela nový přípravek. V důsledku různých přístupů byly navrženy kvantitativní metody C, D a E.

8. Odstranění interferujících faktorů

Postup k odstranění interference nemá ani zvyšovat ani snižovat množství endotoxinu ve zkoušeném přípravku (např. nesmí dojít ke snížení vlivem adsorbce). Správný způsob jak toto ověřit je, že se do zkoušky zařadí vzorek přípravku, ke kterému se přidá známé množství endotoxinu a poté se měří zpětně koncentrace endotoxinu.

Metody C a D. Jestliže zkoušený přípravek vykazuje interferenci, kterou nelze odstranit klasickými metodami, provede se CSE křivka se stejným typem přípravku zbaveného endotoxinů vhodným způsobem nebo ředěním přípravku. Zkouška na endotoxiny se provede porovnáním s touto standardní křivkou.

Ukázalo se, že v mnoha případech je dostatečně účinná ultrafiltrace přípravku na asymetrických membránových filtrech z triacetatcelulosity. Filtry mají být patřičně validovány, protože v některých případech mohou deriváty celulosity (β -D-glykany) způsobovat falešně pozitivní výsledky.

Polysulfonové filtry uvedené v dřívějším textu byly shledány nevhodnými, protože někteří uživatelé při jejich použití získali falešně pozitivní výsledky.

9. Poslání kontrol

Účelem kontroly vody pro LAL a referenčního přípravku endotoxinu ve dvojnásobné koncentraci, než je vyznačená citlivost lyzátu, je ověřit aktuální citlivost lyzátu v podmínkách zkoušky. Účelem negativní kontroly je ověřit nepřítomnost měřitelné koncentrace endotoxinu ve vodě pro LAL.

Druhá pozitivní kontrola, která obsahuje zkoušený přípravek v koncentraci použité ve zkoušce, je zařazena proto, aby byla prokázána nepřítomnost interferujících faktorů v průběhu a v podmínkách prováděné zkoušky.

10. Hodnocení a interpretace výsledků

Jak je uvedeno v úvodním odstavci textu, zkouška s lyzátem z amebocytů se používá jako limitní test a stanovení limitu závisí na popsanych faktorech. Nepatrné množství endotoxinu ve vodě pro LAL nebo v některém jiném zkoumadle nebo materiálu, jemuž je vystaven lyzát při zkoušce, nemusí být zjištěno, pokud nedosáhne limitu citlivosti lyzátu. Může však zvyšovat množství endotoxinu v roztoku se zkoušeným přípravkem právě na hranici hodnoty citlivosti lyzátu a způsobovat pozitivní reakci.

Riziko tohoto případu lze snížit přezkoušením vody pro LAL a ostatních zkoumadel a materiálů s co nejcitlivějším lyzátem, který je dostupný, nebo s takovým, který je mnohem citlivější, než je lyzát použitý pro zkoušený přípravek. Ani takto nelze zcela vyloučit riziko falešně pozitivního výsledku. Tento postup by měl být zařazen, aby byla zajištěna bezpečná interpretace výsledků oproti případu falešně negativního testu, který může vést k propuštění nevyhovujícího přípravku ohrožujícího zdraví pacienta.

11. Náhrada zkoušky na pyrogenní látky na králících nebo zkoušky na endotoxin předepsané v lékopisném článku

V člancích na přípravky pro parenterální použití, které mohou obsahovat toxická množství bakteriálních endotoxinů, se požaduje buď zkouška na pyrogenní látky na králících, nebo zkouška na bakteriální endotoxiny. Je-li předepsána zkouška na bakteriální endotoxiny a není uvedena žádná z pěti metod (A až E) popsanych ve stati 2.6.14, pak se pro tento přípravek validovala gelová limitní metoda A. Je-li uvedena jedna z dalších metod (B až E), je to ta, která byla validována pro tento přípravek. Náhrada zkoušky na pyrogenní látky na králících zkouškou na bakteriální endotoxin nebo náhrada uvedené či předpokládané metody na stanovení endotoxinu jinou metodou je považována za použití alternativní metody místo lékopisné zkoušky, jak je uvedeno v části 1. *Obecné zásady:*

Zkoušky na čistotu a stanovení obsahu nebo účinnosti popsané v lékopisu jsou oficiální metody, na nichž jsou založeny lékopisné normy. Se souhlasem oprávněné autority se pro kontrolní účely mohou použít alternativní analytické metody za předpokladu, že bude dosaženo shody s metodami oficiálními. V případě pochybností nebo sporu jsou rozhodující pouze oficiální metody analýzy.

Pro validaci jiné zkoušky na bakteriální endotoxin, než je obsažena nebo určena v lékopisném článku, jsou navrženy následující postupy:

- 11.1 Postup, materiály a zkoumadla používané v metodě se validují, jak je popsáno v příslušné zkoušce.
- 11.2 Přítomnost interferujících faktorů (a je-li to třeba, postupy k jejich odstranění) se prověří na vzorkách nejméně ze tří výrobních šarží. Je vhodné pamatovat na to, že metody D a E používají chromogenní peptid a vyžadují zkoumadla, která chybějí u metody A, B a C, takže vyhovující výsledek v metodě A, B nebo C v metodě na interferující faktory nelze vztáhnout na metodu D nebo E bez dalšího zkoušení.
- 11.3 Jestliže jsou dostupné vzorky z výrobní šarže, které ve zkoušce na pyrogenní látky na králících byly pozitivní, měly by se také přezkoušet na bakteriální endotoxiny metodou, o níž se uvažuje jako o alternativní. Nejsou-li tyto vzorky dostupné, pak je rozhodující zkouška na pyrogenní látky a zkouška na bakteriální endotoxiny zbytečná.

12. Validace zkoušky pro nové přípravky

Postup uvedený v části 11.1 a 11.2 se použije u všech nových přípravků pro parenterální podání, které se mají zkoušet na přítomnost bakteriálních endotoxinů podle požadavků lékopisu.

13. Nové přípravky ovlivňující tělní teplotu

Jestliže se u nového přípravku během jeho vývoje ukáže, že by mohl ovlivňovat tělní teplotu, je možno použít jednu z metod (A až E) k důkazu nepřítomnosti bakteriálních endotoxinů; zejména kvantitativní metoda (B, C, D nebo E) může dát užitečnou informaci. V tomto případě se postupuje, jak je uvedeno v části 11.1 a 11.2. Avšak jsou-li patrné známky kontaminace přípravku neendotoxinovými pyrogenními látkami, je nutno získat podklady z mnohem rozsáhlejšího zkoušení.

2.6.16 Důkaz cizích antigenů v humánních virových vakcínách



1998

Pokud tyto zkoušky vyžadují nejprve neutralizaci viru, použijí se specifické protilátky, které nejsou humánního ani opičího původu: jestliže byl virus pomnožen na tkáni ptačího původu, nemohou to být ani protilátky ptačího původu. K přípravě antiséra se užívá imunizační antigen připravený na buněčné kultuře z odlišného druhu, než je kultura užívaná pro přípravu vakcíny a prosté cizích agens. Jestliže je předepsáno použití SPF vajec, tato vejce se získávají z chovů prostých specifikovaných patogenů (5.2.2).

Virové inokulum

Vzorok virového inokula se odeberou při sklizni, a jestliže se ihned nezkoušejí, uchovávají se při teplotě nižší než $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Dospělé myši. Každé z nejméně deseti dospělých myší o hmotnosti 15 g až 20 g se vstříkne intracerebrálně 0,03 ml a intraperitoneálně 0,5 ml virového inokula. Myši se pozorují nejméně 21 dní. U všech myší uhynulých po uplynutí prvních 24 h, nebo které mají příznaky nemoci, se provede pitva, aby se odhalily známky infekčního onemocnění. Postupuje se jednak makroskopickým pozorováním, jednak přeočkováním vhodné tkáňové suspenze intracerebrálně a intraperitoneálně nejméně dalším pěti dospělým myším, které se pozorují 21 dní. Virové inokulum vyhovuje, jestliže žádná myš nevykazuje známky infekce, jež by se mohly přičíst inokulu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže dobu pozorování přežije nejméně 80 % původně inokulovaných myší.

Sající myši. Každé z nejméně dvaceti myší mladších než 24 h se vstříkne intracerebrálně 0,01 ml a intraperitoneálně 0,1 ml virového inokula. Myši se pozorují denně nejméně 14 dní. U všech myší uhynulých po uplynutí prvních 24 h, nebo které mají příznaky nemoci, se provede pitva, aby se odhalily známky infekčního onemocnění. Postupuje se jednak makroskopickým pozorováním, jednak přeočkováním vhodné tkáňové suspenze intracerebrálně a intraperitoneálně nejméně dalším pěti sajícím myším, které se denně pozorují 14 dní. Virové inokulum vyhovuje, jestliže žádná sající myš nevykazuje známky infekce, jež by se mohly přičíst inokulu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže dobu pozorování přežije nejméně 80 % původně inokulovaných sajících myší.

Morčata. Nejméně pěti morčatům o hmotnosti 350 g až 450 g se vstříkne intraperitoneálně po 5 ml virového inokula. Zvířata se pozorují nejméně 42 dní, aby se odhalily všechny příznaky nemoci. U všech zvířat, která po uplynutí prvních 24 h uhynou, nebo která mají příznaky nemoci, se provede pitva s makroskopickým vyšetřením; tkáň se vyšetří mikroskopicky a kultivačně na přítomnost infekce. Zvířata, která přežila dobu pozorování, se usmrtí a vyšetří se stejným způsobem. Virové inokulum vyhovuje, jestliže žádné morče nevykazuje známky infekce, jež by se mohly přičíst inokulu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže dobu pozorování přežije nejméně 80 % původně inokulovaných morčat.

Virové inokulum a sklizený virus

Vzorky se odeberou při sklizni, a jestliže se ihned nezkoušejí, uchovají se při teplotě nižší než $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Bakteriální a houbová sterilita. 10 ml vzorku vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Mykoplazmata. 10 ml vzorku vyhovuje zkoušce na mykoplazmata (2.6.7).

Mykobakterie (2.6.2). 5 ml vzorku se zkouší na přítomnost *Mycobacterium* spp. kultivačními metodami uznanými za citlivé pro detekci těchto organismů.

Zkoušky na jiná cizí agens na tkáňových kulturách. Množství neutralizovaného vzorku, jestliže není předepsáno jinak, které odpovídá 500 lidských dávek nebo 50 ml vakcíny, podle toho, co je více, se zkouší na přítomnost cizích agens naočkováním do kultur buněk kontinuální linie opičí ledviny a lidských buněk. Jestliže virus roste na lidských diploidních buňkách, neutralizovaný sklizený virus se také zkouší na oddělené kultuře diploidních buněk. Jestliže byl vakcinační virus pomnožován v buněčném systému jiném než opičím nebo lidským, naočkují se také buňky tohoto druhu, ale z odlišné šarže. Tyto buňky se kultivují při $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a prohlížejí se 14 dní. Virové inokulum nebo sklizený virus vyhovují, jestliže žádná z buněčných kultur nevykazuje známky přítomnosti jakéhokoli cizího agens, jež nelze přičíst náhodné kontaminaci. Zkoušku lze hodnotit, jestliže přežívá nejméně 80 % buněčných kultur.

Ptačí viry (pouze pro viry pomnožené na tkáni ptačího původu). Neutralizuje se množství vzorku odpovídající buď 100 lidským dávkám, nebo 10 ml, podle toho, co je více. Na jedno kuřecí embryo se použije 0,5 ml. Skupina oplozených SPF vajec 9 až 11 dní starých se inokuluje alantoidní cestou a druhá skupina, 5 až 7 dní starých, do žloutkového vaku. Inkubuje se 7 dní. Virové inokulum nebo sklizený virus vyhovují, jestliže alantoidní tekutiny ani tekutiny žloutkového vaku nevykazují přítomnost hemaglutinačního agens a jestliže všechna embrya a chorioalantoidní membrány makroskopicky vyšetřené, jsou normální. Zkoušku lze hodnotit, jestliže nejméně 80 % embryí přežije 7 dní.

Kultura produkčních buněk: kontrolní buňky

Aby se ověřila nepřítomnost virů způsobujících cytopatickou degeneraci, posuzují se kontrolní buňky mikroskopicky buď po celou dobu inkubace, nebo po nejméně 14 dní od naočkování výrobních nádob, podle toho, která doba je delší. Zkoušku lze hodnotit, jestliže dobu pozorování přežije nejméně 80 % kontrolních kultur.

Po 14 dnech nebo v čase poslední sklizně, podle toho, které období je delší, se provedou dále popsané zkoušky.

Zkouška na hemadsorbující viry. Nejméně 25 % kontrolních kultur se zkouší na přítomnost hemadsorbujících virů přidáním morčecích červených krvinek. Jestliže jsou morčecí krvinky skladovány, uchovávají se nejdéle 7 dní při $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Polovina kultur se odečítá po 30 min inkubace při $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, druhá polovina po 30 min inkubace při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Nejistí se přítomnost hemadsorbujících agens.

Zkouška na jiná cizí agens v tkáňových kulturách. Směs supernatantních tekutin z kontrolních buněk se zkouší na přítomnost cizích agens naočkováním do kultur buněk opičí ledviny a lidských buněk. Jestliže byl vakcinační virus pomnožován v buněčném systému jiném než opičím nebo lidským, naočkují se také buňky tohoto druhu, ale z odlišné šarže. V každém buněčném systému se zkouší nejméně 5 ml. Naočkováno kultury se inkubují při $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ a pozorují se 14 dní. Nejistí se přítomnost cizího agens.

3480 Zkušební metody

Jestliže se kultura produkčních buněk uchovává při jiné teplotě než $36\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$, provede se doplňující zkouška na cizí agens při produkční teplotě na buňkách stejného typu, jaký se použil pro pomnožení viru.

Viry ptačí leukózy (pouze pro viry pomnožené na tkáni ptačího původu). Zkouška na viry ptačí leukózy se provede s 5 ml supernatantní tekutiny z kontrolních buněk.

Kontrolní vejce

Hemaglutinační agens. 0,25 ml alantoidní tekutiny z každého vejce se zkouší na přítomnost hemaglutinačního agens přímým smísením s kuřecími červenými krvinkami. Po pasáži na SPF vejcích se postupuje takto: 5 ml vzorku ze směsi amniových tekutin z kontrolních vajec se naočkuje po 0,5 ml do alantoidních dutin a do amniových dutin SPF vajec. Kontrolní vejce vyhovují, jestliže se v žádné z obou zkoušek nezjistí známky přítomnosti hemaglutinačních agens.

Viry ptačí leukózy. Použije se 10 ml směsné amniové tekutiny z kontrolních vajec. Provede se rozhojnění pěti pasážemi na buněčných kulturách z kuřecích embryí, které prokazatelně neobsahují viry ptačí leukózy; zkouška na přítomnost ptačí leukózy se provede použitím buněk z páté pasáže. Kontrolní vejce vyhovují, jestliže se zkouškou neprokážou žádné známky přítomnosti viru ptačí leukózy.

Ostatní cizorodá agens. 5 ml směsné amniotické tekutiny z kontrolních vajec se naočkuje do lidských a opičích buněčných kultur. Buněčné kultury se pozorují 14 dní. Kontrolní vejce vyhovují, jestliže se nezjistí přítomnost cizích agens. Zkoušku lze hodnotit, jestliže dobu pozorování přežije nejméně 80 % naočkovaných kultur.

2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin



1999

1 Úvod

Techniky amplifikace nukleových kyselin jsou založeny na dvou rozdílných přístupech:

1. amplifikace cílové sekvence nukleové kyseliny používající např. polymerasovou řetězovou reakci (PCR), ligasovou řetězovou reakci (LCR) nebo izotermální amplifikaci ribonukleové kyseliny (RNK),
2. amplifikace hybridizačního signálu používající např. pro kyselinu deoxyribonukleovou metodu tzv. větvené DNK (bDNK). V tomto případě se amplifikace signálu docílí bez vystavení nukleové kyseliny opakovaným amplifikačním cyklům.

V této všeobecné kapitole se jako referenční technika popisuje metoda PCR. Mohou se používat alternativní metody, pokud splňují dále popsané požadavky na kvalitu.

2 Rozsah působnosti

Tato stať zavádí požadavky na přípravu vzorku, na amplifikaci sekvencí DNK *in vitro* a na detekci specifického produktu PCR. Za pomoci PCR se mohou detegovat definované sekvence DNK. Rovněž sekvence RNK se mohou detegovat po reverzní transkripci RNK na komplementární DNK (cDNK) a následné amplifikaci.

3 Princip metody

PCR je postup umožňující *in vitro* specifickou amplifikaci segmentů DNK nebo segmentů RNK po jejich reverzní transkripci na cDNK.

Po denuraci dvouřetězové DNK na jednořetězovou DNK dva syntetické oligonukleotidové primery opačné polaritě se přihibridizují k odpovídajícím komplementárním sekvencím DNK,

kteřá má být amplifikována. Krátké dvouřetězcové úseky, které jsou výsledkem specifického párování mezi primerem a komplementární sekvencí DNK, ohraničují segment DNK, který bude amplifikován a slouží jako výchozí body pro syntézu DNK *in vitro* pomocí tepelně stabilní DNK polymerasy.

Amplifikace DNK probíhá v cyklech, které tvoří:

- tepelná denaturace nukleové kyseliny (cílové sekvence) na dva jednoduché řetězce,
- specifické přihibridizování primerů k cílové sekvenci za vhodných reakčních podmínek,
- prodloužení primerů, které jsou navázány na oba jednoduché řetězce, DNK polymerasou při vhodné teplotě (syntéza DNK).

Opakované cykly tepelné denaturace, přihibridizování primerů a syntéza DNK vedou k exponenciální amplifikaci segmentu DNK omezeného primery.

Specifický produkt PCR známý jako *amplikon* může být detegován různými metodami s vhodnou specifitou a citlivostí.

4 Zkoušený materiál

Z důvodu vysoké citlivosti PCR je nutno vzorky optimálně chránit před vnější kontaminací cílovými sekvencemi.

Vzorkování, uchovávání a doprava zkoušeného materiálu se provádějí za podmínek minimalizujících degradaci cílové sekvence. Pro cílové sekvence RNK je třeba zvláštní opatrnost, neboť RNK je vysoce citlivá na degradaci ribonukleasami. Je třeba věnovat pozornost i tomu, že některé přidávané látky, jako jsou zkoumadla, antikoagulantia nebo konzervační látky, mohou interferovat v postupu zkoušky.

5 Zkušební metoda

5.1 Zamezení kontaminaci

Riziko kontaminace vyžaduje přísné oddělení prostor podle zpracovávaného materiálu a používané technologie. Faktory, které je třeba uvážit, jsou pohyb personálu, pracovní oděv, pohyb materiálu, větrání a dekontaminační postupy.

System se má rozdělit do několika oddělení, jako jsou např.:

- prostor, kde se připravují základní zkoumadla, jako jsou např. primery, tlumivé roztoky, a kde se zachází výhradně s materiály neobsahujícími matrice,
- pre-PCR - prostor, kde se zachází se zkoumadly, vzorky a kontrolami,
- PCR-amplifikace - s amplifikovaným materiálem se zachází v uzavřeném systému,
- detekce post-PCR - jediný prostor, kde se zachází s amplifikovaným materiálem v otevřeném systému.

5.2 Příprava vzorku

Při přípravě vzorku se cílová sekvence extrahuje nebo uvolňuje z testovaného materiálu účinným a reprodukovatelným způsobem tak, aby bylo možné za zvolených reakčních podmínek provést amplifikaci.

Mohou se použít různé způsoby fyzikálně-chemické extrakce anebo obohacovací metody. Aditiva přítomná ve zkoušeném materiálu mohou interferovat s PCR. Pro kontrolu nepřítomnosti inhibitorů pocházejících ze zkoušeného materiálu se použijí postupy uvedené v odstavci 7.3.2.

V případě matric RNK je třeba zabránit působení ribonukleas.

5.3 Amplifikace

Amplifikace cílové sekvence metodou PCR se provádí opakovanými cykly v optimalizovaných podmínkách (teplotní profil pro denaturaci dvouřetězcové DNK, přihibridizování primerů a jejich prodloužování, inkubační časy při zvolených teplotách, rychlost nabíhání zvolených teplot).

3482 Zkušební metody

Tyto podmínky závisejí na různých parametrech, jako jsou:

- délka a složení bází primerů a cílových sekvencí;
- typ DNK polymerasy, složení tlumivého roztoku a reakční objemy použité pro amplifikaci;
- typ použitého termocykleru a koeficient teplotní vodivosti mezi přístrojem, reakční zkumavkou a reagující tekutinou.

5.4 Detekce

Amplikon vytvořený PCR se může identifikovat velikostí, sekvencí, chemickou modifikací nebo kombinací těchto parametrů. Charakterizace na základě velikosti se může dosáhnout gelovou elektroforézou (použije se vrstva agarosového nebo polyakrylamidového gelu nebo kapilární elektroforéza), nebo chromatografií na koloně (např. HPLC). Charakterizace na základě složení sekvencí se může provést specifickou hybridizací vzorků majících komplementární sekvence k cílové sekvenci nebo štěpením amplifikovaného materiálu restrikcí enzymem ve specifických místech pro cílovou sekvenci.

Charakteristika chemickou modifikací se může provést např. inkorporací fluoroforu do amplikonu a následnou detekcí fluorescence po excitaci.

Detekce amplikonů se může provést použitím značených vzorků umožňujících následnou radioizotopovou nebo imunoenzymatickou detekci.

6 Hodnocení a interpretace výsledků

Výsledky jsou platné pouze tehdy, jsou-li pozitivní kontroly jednoznačně pozitivní a negativní kontroly jednoznačně negativní. Vysoká citlivost PCR metody a potenciální riziko kontaminace vyžaduje potvrzení pozitivních výsledků dvojným opakováním celého zkušební postupu, pokud možno s novým množstvím vzorku. Vzorky se považují za pozitivní, jestliže alespoň jedna z opakovaných zkoušek je pozitivní.

7 Jištění jakosti

7.1 Validace systému zkoušky PCR

Validační program zahrnuje validaci přístrojů a validaci použitých metod PCR. Doporučení jsou obsažena v Předpisu ICH (hlava Q2B) *Validace analytických metod: Metodologie*.

Vhodné národní referenční přípravky nebo pracovní referenční přípravky se kalibrují proti mezinárodnímu standardu na cílové sekvence, pro které bude zkouška používána, a tato kalibrace je nezbytná pro validaci PCR zkoušky.

Při validaci se stanoví pozitivní limitní hodnota. Pozitivní limitní hodnota je definována jako minimální počet cílových sekvencí v objemu vzorku, které mohou být detegovány v 95 % zkušebních sérií. Pozitivní limitní hodnota závisí na vzájemně souvisejících faktorech, jako jsou objem extrahovaného vzorku a účinnost extrakční metody, přepis cílové RNK na cDNK, amplifikační postup a detekce.

Pro stanovení detekčního limitu zkušebního systému se uvede odkaz na pozitivní limitní hodnotu pro každou cílovou sekvenci a provedení zkoušky nad a pod tímto bodem.

7.2 Kontrola jakosti zkoumadel

Všechna zkoumadla potřebná pro metodiku se kontrolují dříve, než se běžně použijí. Jejich vhodnost nebo nepřijatelnost je dána předem definovanými kritérii jakosti.

Primery jsou klíčovou složkou zkoušky PCR a je nutné věnovat pečlivou pozornost jejich složení, čistotě a validaci jejich použití ve zkoušce PCR. Každá nová šarže primeru se před přijetím zkouší na specifitu, amplifikační účinnost a inhibiční nečistoty. Primery mohou být modifiková-

ny (např. konjugací s fluoroforem nebo antigenem), aby umožnily použití specifické metody detekce ampliconu a to za předpokladu, že tyto modifikace neinhibují přesnost a účinnost amplifikace cílové sekvence.

7.3 Průběžná kontrola

7.3.1 Vnější kontroly

Ke snížení rizika kontaminace a zajištění dostatečné citlivosti jsou do každé PCR zkoušky zařazeny následující vnější kontroly:

- pozitivní kontrola: obsahuje definovaný počet kopií cílových sekvencí, jejichž počet je stanoven zvlášť pro každý zkušební systém a je určen jako násobek pozitivní limitní hodnoty zkušebního systému,
- negativní kontrola: vzorek téže matrice prokazatelně neobsahující cílové sekvence.

7.3.2 Vnitřní kontroly

Vnitřní kontroly jsou definované sekvence nukleových kyselin obsahující vazebná místa pro primery. Vnitřní kontroly jsou amplifikovány s podobnou účinností jako zkoušená cílová sekvence, ale amplicony jsou jasně rozpoznatelné. Vnitřní kontroly jsou téhož typu nukleové kyseliny (DNK/RNK) jako zkoušený materiál. Vnitřní kontrola se přidává ke zkoušenému materiálu před izolací nukleové kyseliny, a slouží proto jako celková kontrola (extrakce, reverzní transkripce, amplifikace, detekce).

7.4 Vnější hodnocení jakosti

Účast v programech vnějšího hodnocení jakosti je důležitým postupem jistění jakosti PCR pro každou laboratoř a každého pracovníka.

2.7 Metody stanovení účinnosti

2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik



1999

Účinnost antibiotika se stanoví porovnáním inhibice růstu citlivých mikroorganismů vyvolané známými koncentracemi zkoušeného antibiotika a referenční látky.

Referenční látky použité ke stanovení jsou ty, jejichž účinnost byla přesně stanovena v poměru k odpovídajícímu mezinárodnímu standardu nebo mezinárodnímu referenčnímu přípravku.

Plán stanovení je takový, aby dovolil ověřit validitu matematického modelu, na němž je založeno porovnání účinnosti. Je-li vybrán model rovnoběžných přímek, dvě logaritmické přímky dávky a odpovědi (nebo transformované odpovědi) zkoušeného přípravku a referenčního přípravku jsou rovnoběžné a jsou lineární v intervalu dávek použitých k výpočtu. Tyto podmínky se validují pro danou hladinu pravděpodobnosti, obvykle $P = 0,05$. Jiné matematické modely, jako model např. regresního poměru, mohou být též použity, je-li prokázána validita zkoušky.

Pokud není v článku uvedeno jinak, je interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovení nejméně 95 % a nejvýše 105 % stanovené účinnosti.

Stanovení se provádí metodou A nebo metodou B.

A. Difuzní metoda

Živná půda vhodná pro stanovení se rozehrěje a při vhodné teplotě, např. 48 °C až 50 °C pro vegetativní formy, se naočkuje suspenzí mikroorganismů citlivých na zkoušené antibiotikum v takovém množství, které vytváří zřetelně ohraničené inhibiční zóny o průměru přiměřeném koncentraci zkoušeného antibiotika. Naočkovaná půda se ihned vylije do Petriho misek nebo velkých pravouhlých misek (ploten) v takovém množství, aby se vytvořila jednodílná vrstva silná 2 mm až 5 mm. Živná půda může být též vylita ve dvou vrstvách, z nichž jenom vrchní je naočkována. Takto připravené misky se uchovávají tak, aby před použitím nedošlo k viditelnému růstu mikroorganismů nebo k jejich usmrcení a aby povrch půd byl v čase použití suchý.

Pro přípravu roztoků stejných účinností a známých koncentrací zkoušeného antibiotika a referenční látky se použijí rozpouštědla a tlumivé roztoky uvedené v tabulce 2.7.2-1. Roztoky se nanosou buď na povrch půdy, např. do sterilních cylindříků z porcelánu, z nerezavějící oceli, případně z jiných vhodných materiálů, nebo do otvorů vyříznutých v živné půdě. Do každého cylindříku nebo otvoru se přidá stejný objem roztoků. Lze též použít sterilní disky z absorbujícího papíru vhodné kvality, které se před položením na půdu napustí roztoky referenční látky nebo zkoušeného antibiotika.

K ověření platnosti stanovení se použijí nejméně tři rozdílné dávky referenční látky a tři odpovídající dávky zkoušeného antibiotika s předpokládanou stejnou účinností jako dávky referenční látky. Doporučuje se používat geometrickou řadu dávek. Při běžných stanoveních, u nichž je prokázán lineární průběh systému na přiměřeném počtu třídávkových stanovení, a pokud s tím souhlasí oprávněná autorita, může postačovat i dvoudávkové stanovení. Ve všech sporných případech se však použije metoda třídávková, jak je předepsáno výše.

Do každé Petriho misky nebo pravouhlé misky se nanosou roztoky podle statisticky vhodného plánu. V případě malých misek, které nepojmou více než šest roztoků, se doporučuje měnit umístění roztoku zkoušeného antibiotika a referenční látky, aby se zabránilo interakcím koncentrovanějších roztoků.

Inkubuje se při vhodné teplotě asi 18 h. Doba předinkubační difuze, obvykle 1 h až 4 h, při pokojové teplotě nebo 4 °C, jak je vhodné, se může použít k potlačení účinku časových rozdílů mezi aplikací roztoků a tak zlepšit regresí.

Změří se průměry kruhových inhibičních zón s přesností nejméně 0,1 mm nebo jejich plochy s přesností. Pomocí vhodných statistických metod se vypočítá účinnost zkoušeného antibiotika.

V každé zkoušce se použije pro každou dávku tolik inhibičních zón, aby byla zajištěna požadovaná přesnost. Stanovení účinnosti se může opakovat a výsledky mohou být statisticky sloučeny, aby se dosáhlo požadované přesnosti stanovení a ověřilo se, že účinnost zkoušeného antibiotika není menší než požadované minimum.

Tab. 2.7.2-1 Difuzní metoda

Antibiotikum	Referenční látka	Rozpouštědlo k přípravě základního roztoku	Tlumivý roztok (pH)	Mikroorganismus	Půda a konečné pH ($\pm 0,1$)	Inkubační teplota (°C)
Amphotericinum B	<i>Amphotericinum B</i> CRL	<i>Dimethylformamid R</i>	pH 10,5 (0,2 mol/l)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IP 1432.83 ATCC 9763 CCM 8191 CNCTC 51/65	F – pH 6,1	35 až 37
Bacitracinum zincicum	<i>Bacitracinum zincicum</i> CRL	kyselina chlorovodíková 0,01 mol/l VS	pH 7,0 (0,05 mol/l)	<i>Micrococcus flavus</i> NCTC 7743 CIP 53.160 ATCC 10240 CCM 732 CNCTC M 8/58	A – pH 7,0	35 až 39
Bleomyciniulfas	<i>Bleomyciniulfas</i> CRL	voda R	pH 6,8 (0,1 mol/l)	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 607 CCM 4622 CNCTC My 23/64	G – pH 7,0	35 až 37
Colistiniulfas	<i>Colistiniulfas</i> CRL			<i>Bordetella bronchiseptica</i> NCTC 8344 CIP 53.157 ATCC 4617	B – pH 7,3	35 až 39

3486 Zkušební metody

Colistimet-hatum natricum	<i>Colistimet-hatum natricum</i> CRL	voda R	pH 6,0 (0,05 mol/l)	CCM 4416 CNCTC Brb 5/63 <i>Escherichia coli</i> NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536 CCM 3988 CNCTC Ec 326/71	B – pH 7,3	35 až 39
Dihydro-streptomycini sulfas	<i>Dihydro-streptomycini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 1.83 CCM 2217 CNCTC Bs 17/65 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	A – pH 7,9 A – pH 7,9	30 až 37 30 až 37
Erythromycini estolas Erythromycini ethylsuccinas Erythromycini stearas	<i>Erythromycinum</i> CRL	<i>methanol</i> R viz články <i>methanol</i> R	 pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 CCM 2218 CNCTC Bac 2/65 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	A – pH 7,9 A – pH 7,9	30 až 37 30 až 37
Framycetini sulfas	<i>Framycetini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i>	E – pH 7,9	30 až 37

Metody stanovení účinnosti 3487

				NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58 <i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 CCM 2218 CNCTC Bac 2/65	E – pH 7,9	30 až 37
Gentamicini sulfas	<i>Gentamicini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 CCM 2218 CNCTC Bac 2/65 <i>Staphylo- coccus epi- dermidis</i> NCIB 8853 CIP 68.21 ATCC 12228 CCM 4418 CNCTC M 12/63	A – pH 7,9 A – pH 7,9	35 až 39 35 až 39
Kanamycini monosulfas Kanamycini sulfas acidus	<i>Kanamycini monosulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58 <i>Staphylo- coccus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P	A – pH 7,9 A – pH 7,9	30 až 37 35 až 39

3488 Zkušební metody

				CCM 2022 CNCTC Mau 28/58		
Neomycini sulfas	<i>Neomycini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus pumilus</i> NCTC 8241 CIP 76.18 CCM 2218 CNCTC Bac 2/65 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	E – pH 7,9 E – pH 7,9	30 až 37 30 až 37
Netilmicini sulfas	<i>Netilmicini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8 ± 0,1	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	A – pH 7,9	32 až 35
Nystatinum	<i>Nystatinum</i> CRL	dimethyl- formamid R	pH 6,0 (0,05 mol/l) obsahující 5 % (V/V) dimethyl- formamidu R	<i>Candida tropicalis</i> CIP 1433- 83 NCYC 1393 CCM8223 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCYC 87 CIP 1432.83 ATCC 9763 CCM 8191 CNCTC 51/65	F – pH 6,0	30 až 37 30 až 32
Polymyxini B sulfas	<i>Polymyxini B sulfas</i>	voda R	pH 6,0 (0,05 mol/l)	<i>Bordetella bronchisep-</i>	B – pH 7,3	35 až 39

Metody stanovení účinnosti 3489

	<i>CRL</i>			<i>tica</i> NCTC 8344 CIP 53.157 ATCC 4617 CCM 4416 CNCTC Brb 5/63		
Rifamycinum natri-cum	<i>Rifamycinum natri-cum CRL</i>	<i>methanol R</i>	pH 7,0 (0,05 mol/l)	<i>Micrococcus flavus</i> NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341 CCM 552 CNCTC Sar 5/58	A – pH 6,6	35 až 39
Spiramycinum	<i>Spiramycinum CRL</i>	<i>methanol R</i>	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	A – pH 7,9	30 až 32
Streptomycini sulfas	<i>Streptomycini sulfas CRL</i>	<i>voda R</i>	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 8236 CIP 1.83 CCM 2217 CNCTC Bs 17/65 <i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	A – pH 7,9 A – pH 7,9	30 až 37 30 až 37
Tobramycinum	<i>Tobramycinum CRL</i>	<i>voda R</i>	pH 8,0 (0,05 mol/l)	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	A – pH 7,9	30 až 37

3490 Zkušební metody

				CCM 1999 CNCTC Bs 8/58		
Tylosinum a.u.v. Tylosini tartras a.u.v.	<i>Tylosinum</i> CRL	roztok <i>methanolu R</i> (2,5 % (V/V)) v tlumivém roztoku fosforečna- novém o pH 7,0 (0,1 mol/l)	směs obje- mových dílů <i>methanolu R</i> a tlumivého roztoku fosforečna- nového o pH 8,0 (0,1 mol/l) (40 + 60)	<i>Micrococ- cus flavus</i> NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341 CCM 552 CNCTC Sar 5/58	A – pH 8,0	32 až 35
Vancomyci- ni hydro- chloridum	<i>Vancomyci- ni hydro- chloridum</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Bacillus subtilis</i> NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 CCM 1999 CNCTC Bs 8/58	A – pH 8,0	37 až 39

B. Turbidimetrická metoda

Vhodná živná půda se naočkuje suspenzí vybraného mikroorganismu, který je citlivý na zkoušené antibiotikum tak, aby se v podmínkách zkoušky docílilo vhodně rozsáhlého potlačení růstu mikrobiální kultury. Použije se známé množství suspenze vybrané tak, aby byl asi po čtyřhodinové inkubaci dobře měřitelný zákal.

Naočkovaná půda se použije ihned po naočkování.

Pro přípravu roztoků referenční látky a roztoků zkoušeného antibiotika ve známých koncentracích, u nichž se předpokládá stejná účinnost, se použije rozpouštědlo a tlumivý roztok uvedený v tabulce 2.7.2-2. K ověření platnosti stanovení se použijí nejméně tři dávky referenční látky a tři dávky zkoušeného antibiotika s předpokládanou stejnou účinností jako dávky referenční látky. Doporučuje se použít geometrickou řadu dávek. K dosažení linearity je někdy nutné vybrat z většího počtu tři následující dávky za použití odpovídajících dávek referenční látky a zkoušeného antibiotika.

Použijí se stejné zkumavky. Do každé z nich se převede stejný objem jednoho z roztoků a stejný objem naočkované živné půdy (např. 1 ml roztoku a 9 ml živné půdy).

Zároveň se připraví dvě kontrolní zkumavky bez antibiotika s naočkovanou živnou půdou a do jedné se ihned přidá 0,5 ml *formaldehydu R*. Tyto zkumavky slouží ke standardizaci optického přístroje použitého k měření růstu.

Zkumavky se umístí buď náhodně, nebo podle latinského čtverce, nebo náhodného bloku do vodní lázně nebo jiného vhodného přístroje, dovolujícího uvést rychle všechny zkumavky na uve-

denou inkubační teplotu. Uchovávají se při této teplotě 3 h až 4 h a zabezpečí se stejná teplota a stejná doba inkubace.

Po inkubaci se zastaví ve všech zkumavkách růst mikroorganismů přidáním 0,5 ml *formaldehydu R* nebo zahřátím a změří se zákal s přesností na tři místa za použití vhodného optického přístroje. Alternativně lze použít jiný postup, který dovoluje měřit zákal každé zkumavky po přesně stejné době inkubace.

Vypočítá se účinnost za pomoci vhodných statistických metod.

Linearita vztahu dávka – odpověď, transformovaná nebo netransformovaná, je často získána pouze ve velmi omezeném intervalu; je to ten interval, který se má použít pro výpočet účinnosti a obsahuje nejméně tři následné dávky dovolující ověřit linearitu. Při běžných stanoveních, u nichž je prokázán lineární průběh systému, pokud byla na přiměřeném počtu třídávkových stanovení a pokud s tím souhlasí oprávněná autorita, může postačovat dvoudávkové stanovení. Ve všech sporných případech se však použije třídávková metoda.

V každé zkoušce se použije pro každou dávku tolik zkumavek, aby byla zajištěna požadovaná přesnost. Stanovení účinnosti se může opakovat a výsledky mohou být statisticky sloučeny, aby se dosáhlo požadované přesnosti stanovení a ověřilo se, že účinnost zkoušeného antibiotika není menší než požadované minimum.

Tab. 2.7.2-2 Turbidimetrická metoda

Antibiotikum	Referenční látka	Rozpouštědlo k přípravě základního roztoku	Tlumivý roztok (pH)	Mikroorganismus	Půda a konečné pH ($\pm 0,1$)	Inkubační teplota ($^{\circ}\text{C}$)
Colistini sulfas Colistimet-hatum natri-cum	<i>Colistini sulfas CRL</i> <i>Colistimet-hatum natri-cum CRL</i>	<i>voda R</i>	pH 7,0	<i>Escherichia coli</i> NCIB 8666 CIP 2.83 ATCC 9637 CCM 2024	C – pH 7,0	35 až 37
Dihydro-streptomycini sulfas	<i>Dihydro-streptomycini sulfas CRL</i>	<i>voda R</i>	pH 8,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031 CCM 4415 CNCTC Klp 85/69	C – pH 7,0	35 až 37
Erythromycini estolas Erythromycini ethylsuccinas	<i>Erythromycini CRL</i>	<i>methanol R</i> viz články	pH 8,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031 CCM 4415	D – pH 7,0	35 až 37

3492 Zkušební metody

Erythromycini stearas				CNCTC Klp 85/69 <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Framycetini sulfas	<i>Framycetini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Gentamicini sulfas	<i>Gentamicini sulfas</i> CRL	voda R	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Gramicidinum	<i>Gramicidinum</i> CRL	methanol R	pH 7,0 K zamezení ztrát způsobených adsorpcí v průběhu ředění může být nutná přísada detergentu, např. <i>poly-sorbátu</i> 80 R (0,1 mg/ml)	<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 10541 CCM 4533 CNCTC Str 6/58 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37

Metody stanovení účinnosti 3493

Kanamycini monosulfas Kanamycini sulfas acidus	<i>Kanamycini monosulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Neomycini sulfas	<i>Neomycini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Rifamycinum natri-cum	<i>Rifamycinum natri-cum</i> CRL	methanol R	pH 7,0	<i>Escherichia coli</i> NICB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536 CCM 3988 CNCTC Ec 326/71	C – pH 7,0	35 až 37
Spiramycinum	<i>Spiramycinum</i> CRL	methanol R	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Streptomycini sulfas	<i>Streptomycini sulfas</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i> NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031 CCM 4415 CNCTC Klp 85/69	C – pH 7,0	35 až 37

3494 Zkušební metody

Tobramycinum	<i>Tobramycinum</i> CRL	voda R	pH 7,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	35 až 37
Tylosinum a.u.v. Tylosini tartras a.u.v.	<i>Tylosinum</i> CRL	roztok methanolu R (2,5 % (V/V)) v tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,1 mol/l)	směs objemových dílů methanolu R a tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 8,0 (0,1 mol/l) (40 + 60)	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 6571 CIP 53.154 ATCC 9144 CCM 2107 CNCTC Mau 76/69	C – pH 7,0	37
Vancomycini hydrochloridum	<i>Vancomycini hydrochloridum</i> CRL	voda R	pH 8,0	<i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538P CCM 2022 CNCTC Mau 28/58	C – pH 7,0	37 až 39

Následující část se uvádí pro informaci a jako návod, netvoří závaznou součást obecné metody.

Doporučené mikroorganismy

Následující text uvádí doporučené mikroorganismy a podmínky jejich použití. Jiné mikroorganismy se mohou použít, pokud mají prokazatelně stejnou citlivost na zkoušené antibiotikum a použijí se ve vhodné živné půdě a ve vhodných podmínkách teploty a pH. Výběr koncentrací roztoků se má provést tak, aby zaručil, že v podmínkách zkoušky existuje lineární vztah mezi logaritmem dávky a odpovědí.

Příprava inokula

Bacillus subtilis a *Bacillus pumilus*. Suspenze spor mikroorganismu použitého k naočkování se připraví takto:

Mikroorganismy se kultivují 7 dní při 35 °C až 37 °C na vhodné pevné půdě, do které byl přidán síran manganatý R (1 mg/l). Nárůst, který obsahuje zejména spory, se spláchne sterilní vodou R. Suspenze se 30 min zahřívá při 70 °C a potom se zředí na přiměřenou koncentraci spor,

obvykle $10 \cdot 10^6$ až $100 \cdot 10^6$ v ml. Suspenze spor se mohou uchovávat po dlouhou dobu při teplotě nepřevyšující 4 °C.

Alternativně se mohou suspenze spor připravit kultivací mikroorganismů v půdě C při 26 °C po dobu 4 dní až 6 dní. Potom se asepticky přidá dostatek *síranu manganatého R* do koncentrace 1 mg/l a inkubuje se dalších 48 h. V suspenzi se mikroskopicky zjistí, zda proběhla přiměřená tvorba spor (asi 80 %), a suspenze se odstředí. Sediment se resuspenduje ve sterilní *vodě R* tak, aby se dosáhla koncentrace spor v ml $10 \cdot 10^6$ až $100 \cdot 10^6$, a potom se zahřívá 30 min na 70 °C. Suspenze se uchovává při teplotě nepřevyšující 4 °C.

Bordetella bronchiseptica. Testovací mikroorganismus se kultivuje na půdě B 16 h až 18 h při 35 °C až 37 °C. Nárůst se smyje sterilní *vodou R* a zředí na vhodný zákal.

Staphylococcus aureus, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Micrococcus flavus*, *Staphylococcus epidermidis*. Připraví se stejně, jak je popsáno v odstavci *Bordetella bronchiseptica*, ale použije se půda A a naředí se na takový zákal, který při turbidimetrickém stanovení prokazatelně poskytuje uspokojující vztah dávky k odpovědi nebo při difuzním stanovení vytváří zřetelně ohraničené inhibiční zóny postačujícího průměru.

Sacharomyces cerevisiae, *Candida tropicalis*. Testovací mikroorganismus se kultivuje 24 h na půdě F při 30 °C až 37 °C. Nárůst se smyje sterilním roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) a zředí se jím na vhodný zákal.

Tlumivé roztoky

Tlumivé roztoky o pH v rozmezí 5,8 až 8,0 se připraví smícháním 50,0 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* s množstvím *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS*, uvedeným v následující tabulce a doplněním čerstvě připravenou *vodou destilovanou R* na 200,0 ml.

Tab. 2.7.2-3

pH	množství <i>hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS</i> v ml
5,8	3,72
6,0	5,70
6,2	8,60
6,4	12,60
6,6	17,80
6,8	23,65
7,0	29,63
7,2	35,00
7,4	39,50
7,6	42,80
7,8	45,20
8,0	46,80

Tyto tlumivé roztoky se použijí pro všechny mikrobiologické zkoušky uvedené v tabulce 2.7.2-1 s výjimkou:

- 1) *bleomyciniumsulfatu*, pro který se tlumivý roztok o pH 6,8 připraví takto: rozpustí se 6,4 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 18,9 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

3496 *Zkušební metody*

2) amfotericinu, na který se tlumivý roztok o pH 10,5 (0,2 mol/l) připraví takto: 35,08 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě destilované R*, přidá se 1,12 g *hydroxidu draselného R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml.

Živné půdy

Mohou se použít následující půdy nebo půdy jim rovnocenné.

Půda A

pepton	6 g
pankreatický hydrolyzát kaseinu	4 g
hovězí výtažek	1,5 g
kvasničný výtažek	3 g
glukosa monohydrát	1 g
agar	15 g
voda	do 1000 ml

Půda B

pankreatický hydrolyzát kaseinu	17 g
papainový hydrolyzát sóji	3 g
chlorid sodný	5 g
hydrogenfosforečnan draselný	2,5 g
glukosa monohydrát	2,5 g
agar	15 g
polysorbát 80	10 g
voda	do 1000 ml

Polysorbát 80 se přidá k horkému roztoku ostatních složek po jejich rozvaření a bezprostředně před upravením objemu.

Půda C

pepton	6 g
hovězí výtažek	1,5 g
kvasničný výtažek	3 g
chlorid sodný	3,5 g
glukosa monohydrát	1 g
hydrogenfosforečnan draselný	3,68 g
dihydrogenfosforečnan draselný	1,32 g
voda	do 1000 ml

Půda D

výtažek ze srdce	1,5 g
kvasničný výtažek	1,5 g
pepton z kaseinu	5,0 g
glukosa monohydrát	1 g
chlorid sodný	3,5 g
hydrogenfosforečnan draselný	3,68 g
dihydrogenfosforečnan draselný	1,32 g
dusičnan draselný	2 g
voda	do 1000 ml

Půda E

pepton	5 g
masový výtažek	3 g
hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát	26,9 g
agar	10 g
voda	do 1000 ml

Hydrogenfosforečnan sodný se přidá jako sterilní roztok po sterilizaci půdy.

Půda F

pepton	9,4 g
kvasničný výtažek	4,7 g
hovězí výtažek	2,4 g
chlorid sodný	30,0 g
glukosa monohydrát	10,0 g
agar	23,5 g
voda	do 1000 ml

Půda G

glycerol	10 g
pepton	10 g
masový výtažek	10 g
chlorid sodný	3 g
agar	15 g
voda	do 1000 ml

pH $7 \pm 0,1$ po sterilizaci

2.7.10 Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VII

1999

Podstata zkoušky. Při stanovení účinnosti koagulačního faktoru VII se využívá jeho biologické aktivity v komplexu faktor VIIa-tkáňový faktor při aktivaci faktoru X za přítomnosti vápenatých iontů a fosfolipidů. Účinnost přípravku faktoru VII se stanoví porovnáním množství přípravku potřebného k dosažení určitého stupně tvorby faktoru Xa ve zkoušené směsi obsahující látky účastnící se aktivace faktoru X s množstvím mezinárodního standardu nebo porovnávacího přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, které je zapotřebí ke stejnému stupni tvorby faktoru Xa.

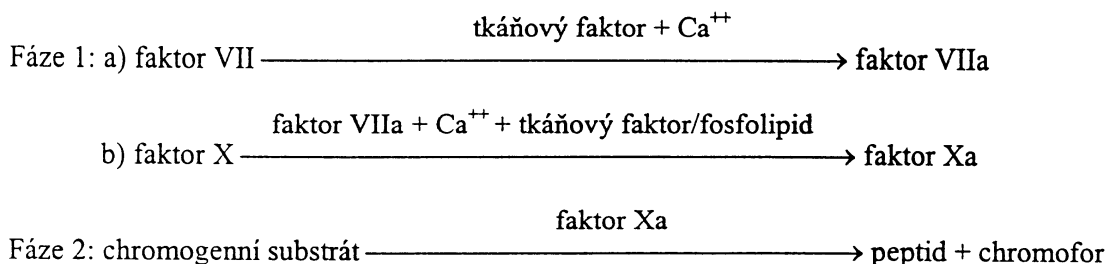
Mezinárodní jednotka je účinnost faktoru VII obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu, kterým je lyofilizovaná plazma. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhlašuje Světová zdravotnická organizace.

Metoda chromogenního stanovení účinnosti se skládá ze dvou fází: z aktivace reakční směsi faktoru X, která obsahuje tkáňový faktor, fosfolipidy a vápenaté ionty a závisí na faktoru VII, a z následného enzymatického rozštěpení chromogenního substrátu faktoru Xa na chromofor, jehož množství se může stanovit spektrofotometricky.

Za vhodných podmínek stanovení účinnosti je lineární závislost mezi stupněm tvorby faktoru Xa a koncentrací faktoru VII. Stanovení účinnosti je shrnuto ve schématu na obrázku 2.7.10-1.

V obou fázích se používají zkoumadla, která lze získat komerčně z různých zdrojů. Ačkoliv se složení jednotlivých zkoumadel může lišit, existují jejich nezbytné vlastnosti, které jsou dále podrobně popsány.

3498 Zkušební metody



Obr. 2.7.10-1. Schematické znázornění stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VII

Zkoumadla

Názvem zkoumadla koagulačního faktoru se označuje skupina přečištěných bílkovin lidského či hovězího původu. Zahrnuje faktor X a tromboplastinový tkáňový faktor/fosfolipid jako aktivátor faktoru VII. Tyto bílkoviny jsou částečně přečištěny a neobsahují nečistoty, které zasahují do aktivace faktoru VII nebo faktoru X. Faktor X je přítomen v množství, které během první fáze stanovení dává konečnou koncentraci 10 nmol/l až 350 nmol/l, přednostně 14 nmol/l až 70 nmol/l. Jako tkáňový faktor/fosfolipid se mohou používat tromboplastin přírodního původu (hovězí nebo králičí mozek) nebo syntetické přípravky. Tromboplastin vhodný ke stanovení tromboplastinového času se ředí 1 : 5 až 1 : 50 tlumivým roztokem tak, aby konečná koncentrace vápenatých iontů byla 15 mmol/l až 25 mmol/l. Konečná tvorba faktoru Xa probíhá v roztoku, který obsahuje lidský nebo hovězí albumin v takové koncentraci, že nedochází k adsorpčním ztrátám, a jehož pH je vhodně upraveno na 7,3 až 8,0. V konečné inkubační směsi je faktor VII jedinou složkou limitující stupeň tvorby faktoru Xa a žádná reakční složka nemá mít vlastní schopnost tvořit faktor Xa.

Ve druhé fázi se určí množství vzniklého faktoru Xa za použití chromogenního substrátu, který je specifický pro faktor Xa. Obvykle je tvořen krátkým peptidem o třech až pěti aminových kyselinách vázaným na chromoforovou skupinu. Při odštěpení této skupiny od peptidového substrátu se její absorpční maximum posune k vlnové délce umožňující spektrofotometrické stanovení množství. Substrát se obvykle rozpustí ve vodě R a používá se ve výsledné koncentraci 0,2 mmol/l až 2 mmol/l. Substrát může také obsahovat vhodné inhibitory k zastavení další tvorby faktoru Xa (přidání edetanu).

Postup stanovení účinnosti

Celý obsah jedné ampule porovnávacího přípravku a zkoušeného přípravku se rozpustí přidáním vhodného množství vody R; použije se během 1 h. Rozpuštěné přípravky se dále naředí tak, aby vznikly roztoky obsahující 0,5 m.j. až 2,0 m.j. faktoru VII v mililitru.

Připraví se další ředění porovnávacího a zkoušeného přípravku za použití izotonického tlumivého roztoku nevázejícího vápník, která obsahují 1 % hovězího nebo lidského albuminu a přednostně mají pH 7,3 až 8,0. Připraví se nejméně tři oddělená nezávislá ředění pro každý přípravek, nejlépe ve dvojici. Ředění se připraví tak, aby konečná koncentrace faktoru VII byla nižší než 0,005 m.j. v mililitru.

Připraví se kontrolní roztok, který obsahuje všechny složky kromě faktoru VII.

Všechna ředění se připravují ve zkumavkách z plastů a použijí se během 1 h.

1. fáze. Ředění porovnávacího přípravku faktoru VII a zkoušeného přípravku se smíchají s vhodným objemem predehřátého zkoumadla koagulačního faktoru nebo s kombinací jeho jed-

notlivých složek a směs se inkubuje ve zkumavkách z plastů nebo na mikrotitračních deskách při 37 °C. Koncentrace různých složek během tvorby faktoru Xa odpovídá specifikaci uvedené v popisu zkoumadla.

Aktivace faktoru X se nechá probíhat po vhodné době. Obvykle se reakce ukončí předtím, než koncentrace faktoru Xa dosáhne své maximální hladiny, aby se docílila uspokojivá lineární závislost mezi dávkou a odpovědí. Doba aktivace se volí také tak, aby tvorba faktoru Xa byla lineárně závislá na čase. Vhodné doby aktivace obvykle kolísají mezi 2 min a 5 min, ale jsou přípustné odchylky, pokud je dosaženo přijatelné linearitě ve vztahu mezi dávkou a odpovědí.

2. fáze. Aktivace se ukončí přidáním přehřátého zkoumadla s obsahem chromogenního substrátu. Provádí se hodnocení stupně štěpení substrátu, které musí být lineární s koncentrací vzniklého faktoru Xa, měřením změny absorbance při vhodné vlnové délce za použití spektrofotometru. Použije se buď průběžné sledování absorbance, které umožňuje vypočítat počáteční stupeň štěpení substrátu, nebo se po vhodné době ukončí hydrolýza snížením pH po přidání vhodné látky, jako je kyselina octová (500 g/l $C_2H_4O_2$) nebo roztok citronanu (1 mol/l) na pH 3. Doba hydrolýzy se nastaví tak, aby se dosáhlo lineární závislosti tvorby chromoforu na čase. Vhodné trvání hydrolýzy obvykle kolísá mezi 3 min a 15 min, ale jsou přípustné odchylky, pokud se dosáhne lepší lineární závislosti mezi dávkou a odpovědí.

Zkontroluje se validita stanovení a vypočítá se účinnost zkoušeného přípravku obvyklými statistickými metodami (např. 5.3. *Statistické analýzy výsledků biologických zkoušek*).

2.7.11 Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru IX



1998

Podstata zkoušky. Účinnost zkoušeného přípravku se stanoví porovnáním množství přípravku potřebného ke zkrácení srážecího času zkušební směsi obsahující jiné látky než faktor IX, jež se podílejí na srážení krve, s množstvím porovnávacího přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, které je zapotřebí k vyvolání stejného účinku.

Mezinárodní jednotka je účinnost deklarovaného množství mezinárodního standardu, kterým je lyofilizovaný koncentrát lidského koagulačního faktoru IX. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Postup stanovení. Zkoušený přípravek a porovnávací přípravek se odděleně rozpustí podle návodu uvedeného v označení na obalu a ihned se použijí. Pokud přípravek obsahuje heparin, stanoví se jeho množství (2.7.12) a heparin se neutralizuje přidáním *protaminiumsulfatu R* (10 µg protaminiumsulfatu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Zkoušený přípravek a porovnávací přípravek se zředí dostatečným množstvím *tlumivého roztoku imidazolového o pH 7,3* tak, aby se získaly roztoky obsahující 0,5 m.j. až 2,0 m.j. v mililitru. Směsí objemových dílů roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l) a *tlumivého roztoku imidazolového o pH 7,3* (1 + 5) se připraví řada dvojnásobných ředění v rozmezí 1 : 10 až 1 : 80. Tato ředění je třeba připravit přesně a ihned je použít.

Použijí se např. inkubační zkumavky, které se ponechají ve vodní lázni při 37 °C. Do každé z nich se dá 0,1 ml *plazmy substrátu RS2* a 0,1 ml příslušného ředění zkoušeného nebo porovnávacího přípravku. Do každé zkumavky se přidá 0,1 ml vhodného ředění *zkoumadla cefalinového R* nebo *krevních destiček náhrady R* a 0,1 ml suspenze 0,5 g *kaolinu lehkého R* ve 100 ml roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l). Pak se obsah zkumavek inkubuje 10 min za stálého protřepávání. Do každé zkumavky se přidá 0,1 ml *chloridu vápenatého R* (7,4 g/l).

Pomocí stopky se změří srážecí čas, tj. interval mezi přidáním chloridu vápenatého a prvními známkami tvorby fibrinu, což je možno určit vizuálně nebo vhodným přístrojem. K výpočtu účin-

3500 Zkušební metody

nosti se použijí obvyklé statistické metody (např. 5.3 *Statistické analýzy výsledků biologických zkoušek*).

Aby se zajistilo, že plazma substrát RS2 neobsahuje zjizitelnou kontaminaci faktorem IX, provede se slepá zkouška, v níž se místo zkoušeného přípravku použije odpovídající množství směsi objemových dílů roztoku citronanu sodného R (38 g/l) a tlumivého roztoku imidazolového o pH 7,3 R (1 + 5). Zkoušku lze hodnotit, jestliže srážecí čas slepé zkoušky je v rozmezí 100 s až 200 s.

2.7.12 Stanovení účinnosti heparinu v koncentrátech koagulačních faktorů

1998

Podstata zkoušky. Měří se absorbance při 405 nm roztoku zkoušeného vzorku a roztoku referenčního přípravku heparinu po inkubaci s definovaným nadbytkem trombinu a chromogenního substrátu specifického pro trombin. Nárůst absorbance (v závislosti na množství uvolněného *p*-nitroanilinu) při 405 nm je nepřímo úměrný množství heparinu ve vzorku.

Zkoušené roztoky. Přípravek se rozpustí předepsaným způsobem a naředí se vhodným tlumivým roztokem (např. roztok chloridu sodného R (7 g/l) a citronanu sodného R (6 g/l) o pH 7,3) na koncentraci asi 0,25 m.j. heparinu v mililitru. Připraví se řada ředění (až do 1 : 32) za použití vhodného tlumivého roztoku (např. roztok trometamolu R (6 g/l), kyseliny edetové R (2,2 g/l), chloridu sodného R (11,3 g/l) o pH 8,4). Naředěné roztoky se nechají stát 30 min.

Porovnávací roztoky. Referenční přípravek heparinu se naředí vhodným tlumivým roztokem (např. roztok trometamolu R (6 g/l), kyseliny edetové R (2,2 g/l), chloridu sodného R (11,3 g/l) o pH 8,4) na koncentraci asi 0,25 m.j. heparinu v mililitru a připraví se řada ředění (až do 1 : 32).

Postup stanovení. Do řady zkumavek z plastu se napipetuje po 200 μ l zkoušeného roztoku nebo porovnávacího roztoku nebo kontrolního roztoku (tlumivý roztok použitý k ředění) a po 200 μ l roztoku antitrombinu III R (3 m.j./ml). Směs se nechá stát 30 min a přidá se po 200 μ l roztoku trombinu hovězího R (20 m.j./ml). Řádně se promíchá pomocí vibrační míchačky a nechá se stát 90 s při 37 °C.

Připraví se roztok chromogenního substrátu specifického pro trombin v koncentraci odpovídající nejméně dvojnásobku hodnoty K_m (Michaelisovy konstanty).

Substrátový roztok se ohřeje na 37 °C a přidá se po 200 μ l do každé zkumavky, která obsahuje zkoušený roztok, porovnávací roztok nebo kontrolní roztok. Vše se řádně promíchá pomocí vibrační míchačky. Inkubuje se 90 s při 37 °C a reakce se zastaví přidáním po 200 μ l roztoku kyseliny octové R (500 g/l C₂H₄O₂) a změří se absorbance při 405 nm.

Obsah heparinu ve zkoušeném přípravku se vypočítá za použití obvyklých statistických metod (např. 5.3. *Statistické analýzy výsledků biologických zkoušek*).

2.9 Metody farmaceutické technologie

2.9.18 Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic



1999

Podstata zkoušky. Zkouškou se stanovují jemné částice charakterizující obláčky aerosolů vytvářené přípravky k inhalaci.

Pokud není uvedeno a schváleno jinak, použijí se ke zkoušce níže uvedené přístroje a zkušební postupy.

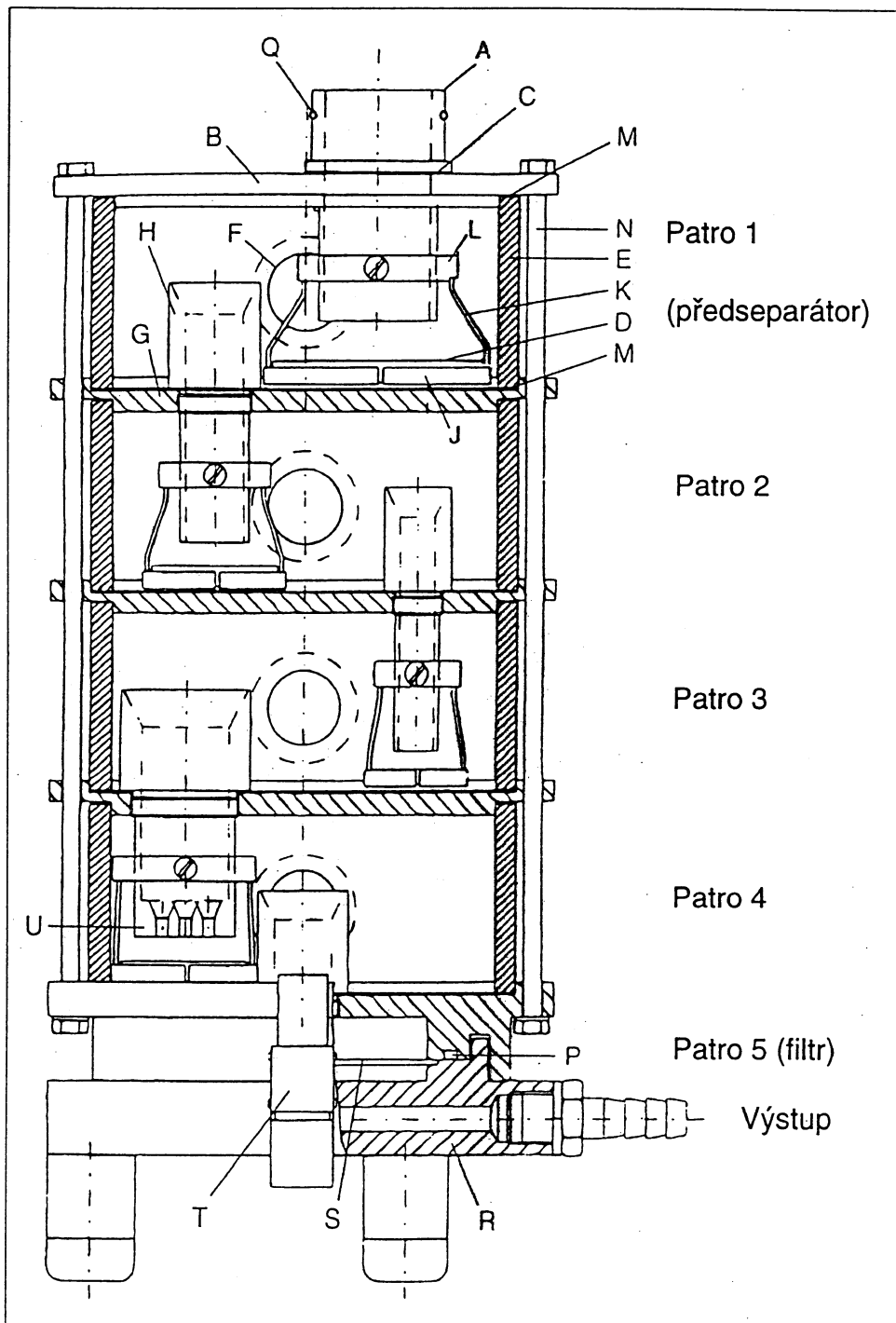
Přístroj 1. Vícestupňový kapalinový odlučovač

Přístroj se skládá z prvního patra (předseparátoru), odlučovacích pater 2, 3, 4 a z filtračního patra 5, které s nimi tvoří celek, viz obrázky 2.9.18-1/3.

K odlučovacímú patru patří horní kovová přepážka (B), kterou prochází vstupní kovová trubice – tryska (A) s odlučovací deskou (D), skleněný válec (E) opatřený vzorkovacím okénkem (F), tvořící svislou stěnu patra, a vodorovná spodní kovová přepážka (G), kterou prostupuje trubice (H) spojující patro s nejbližší nižším patrem. Trubice (U) vedoucí do 4. patra je zakončena sadou trysek. Odlučovací deska (D) je zajištěna kovovým rámem (J) upevněným dvěma dráty (K) k objímce (L) na přepadové trubce (C). Vodorovný povrch sběrné desky je kolmý k ose přepadové trubky. Sběrné desky mají soustředné uspořádání.

Horní povrch odlučovací desky poněkud převyšuje okraj kovového rámu. Vybrání podél obvodu vodorovné příčky slouží ke správnému umístění skleněného válce. Skleněné válce jsou v přepážkách zajištěny těsněním (M) a dohromady jsou sepnuty šesti svorníky (N). Vzorkovací okénka se uzavírají zátkami. Spodní strana nižší přepážky čtvrtého patra má soustředný výstupek opatřený gumovým kroužkem (P), který utěšňuje okraj filtru zachycený v držáku filtru. Držák filtru (R) je konstruován jako miska se soustředným vybráním, v němž je zapuštěna perforovaná podpěra filtru (S). Soustava odlučovacích pater je sepnuta s držákem filtru pomocí dvou úchytných uzávěrů (T). Držák filtru je upraven pro filtry o průměru 76 mm. Na vstup do prvního patra se připojí vstupní díl tvořený trubkou s pravoúhlým kolenem - viz obrázek 2.9.18-4. Vzduchotěsnost spojení se zajistí pryžovým těsnicím kroužkem. Ke vstupnímu dílu, pomocí vhodného adaptéru, se vzduchotěsně připojí náustek inhalačního přípravku. Konec náustku je zarovnan s čelem vstupního dílu.

3502 Zkušební metody



Obr. 2.9.18-1 Vícetupňový kapalinový odlučovač

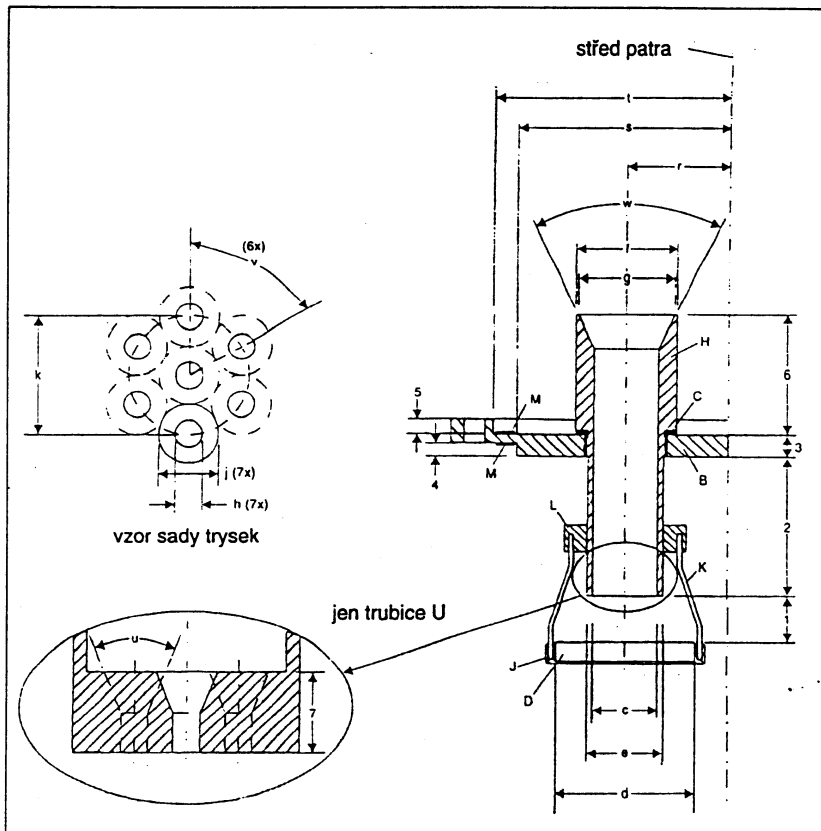
Tab. 2.9.18-1 Specifikace dílů k obrázkům 2.9.18-1/3

Označení ⁽¹⁾	Předmět	Popis	Rozměry ⁽²⁾
A, H	tryska-trubice	kovová trubice zašroubovaná do	viz obrázek 2.9.18-2
B, G	mezistěna	kruhová kovová deska	120
C	těsnění	např. PTFE	dle potřeby k utěsnění trysky
D	odlučovací deska	disk ze slinutého skla porozita 0	viz obrázek 2.9.18-2
E	skleněný válec	skleněná leštěná trubice - výška, včetně těsnění - vnější průměr - tloušťka stěny - vzorkovací okénko (F) - průměr - zátko do okénka	46 100 3,5 18 ISO 24/25
J	kovový rám	kruhový rám profilu L se zářezem - vnitřní průměr - výška - tloušťka horizontální části - tloušťka vertikální části	pro zachycení odluč. desky 4 0,5 2
K	drát	ocelový drát spojující kovový rám - průměr	1
L	objímka	kovová objímka připojená šrou- - vnitřní průměr - výška - tloušťka	vhodný k upevnění trysky 6 5
M	těsnění	např. silikonové	k upevnění skleněn. válce
N	svorník	kovový svorník s maticí (6 párů) - délka - průměr	205 4
P	O-kroužek	gumový kroužek - průměr x tloušťka	66,34 x 2,62
Q	O-kroužek	gumový kroužek - průměr x tloušťka	29,1 x 1,6
R	držák filtru	Kovové pouzdro s podstavcem	viz obrázek 2.9.18-3
S	podpěra filtru	perforovaná kovová destička - průměr - průměr otvoru - vzdálenost mezi středy otvorů	65 3 4
T	úchytné uzávěry		
U	soustava trysek	trubice (H) zakončená soustavou	viz obrázek 2.9.18-2

(1) Vztaženo na obrázek 2.9.18-1.

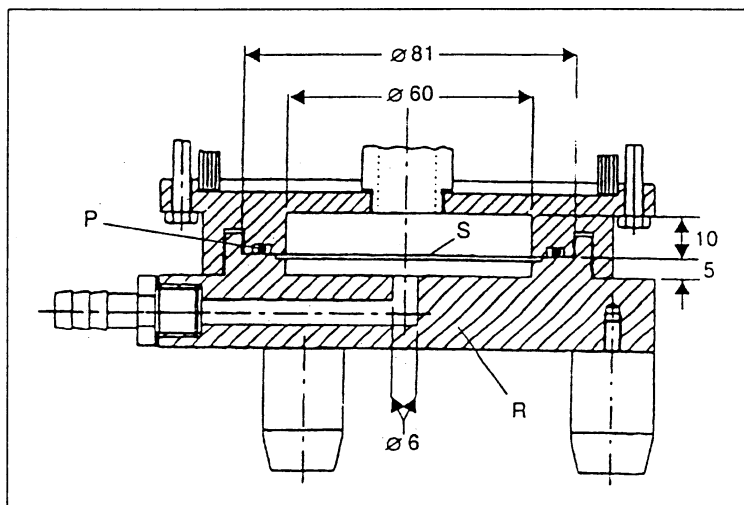
(2) Rozměry v milimetrech, tolerance dle ISO 2768-m, pokud není uvedeno jinak.

3504 Zkušební metody



Obr. 2.9.18-2 Detaily kovové trubice a sběrné desky

Vlevo detaily zakončení trubice U vedoucí do 4. patra (vysvětlivky označení a rozměry viz obrázek 2.9.18-1)



Obr. 2.9.18-3 Detaily filtračního patra (5. patro)

Uvedeny rozměry (\varnothing průměr). Návaznost na označení v tab. 2.9.18-1.

Tab. 2.9.18-2 Rozměry ⁽¹⁾ trysky s odlučovací deskou

Druh	Označení	1. patro	2. patro	3. patro	4. patro	Filtr (5. patro)
Vzdálenost	1	9,5(-,0+,5)	5,5(-,0+,5)	4,0(-,0+,5)	6,0(-,0+,5)	n
Vzdálenost	2	26	31	33	30,5	0
Vzdálenost	3	8	5	5	5	5
Vzdálenost	4	3	3	3	3	n
Vzdálenost	5	0	3	3	3	3
Vzdálenost	6 ⁽³⁾	20	25	25	25	25
Vzdálenost	7	n	n	n	8,5	n
Průměr	c	25	14	8,0(±,1)	21	14
Průměr	d	50	30	20	30	n
Průměr	e	27,9	16,5	10,5	23,9	n
Průměr	f	31,75 (,0+,5)	22	14	31	22
Průměr	g	25,4	21	13	30	21
Průměr	h	n	n	n	2,70(±,5)	n
Průměr	j	n	n	n	6,3	n
Průměr	k	n	n	n	12,6	n
Poloměr ⁽⁴⁾	r	16	22	27	28,5	0
Poloměr	s	46	46	46	46	n
Poloměr	t	n	50	50	50	50
Úhel	w	10°	53°	53°	53°	53°
Úhel	u	n	n	n	45°	n
Úhel	v	n	n	n	60°	n

⁽¹⁾ Rozměry v milimetrech, tolerance dle ISO 2768-m, pokud není uvedeno jinak.

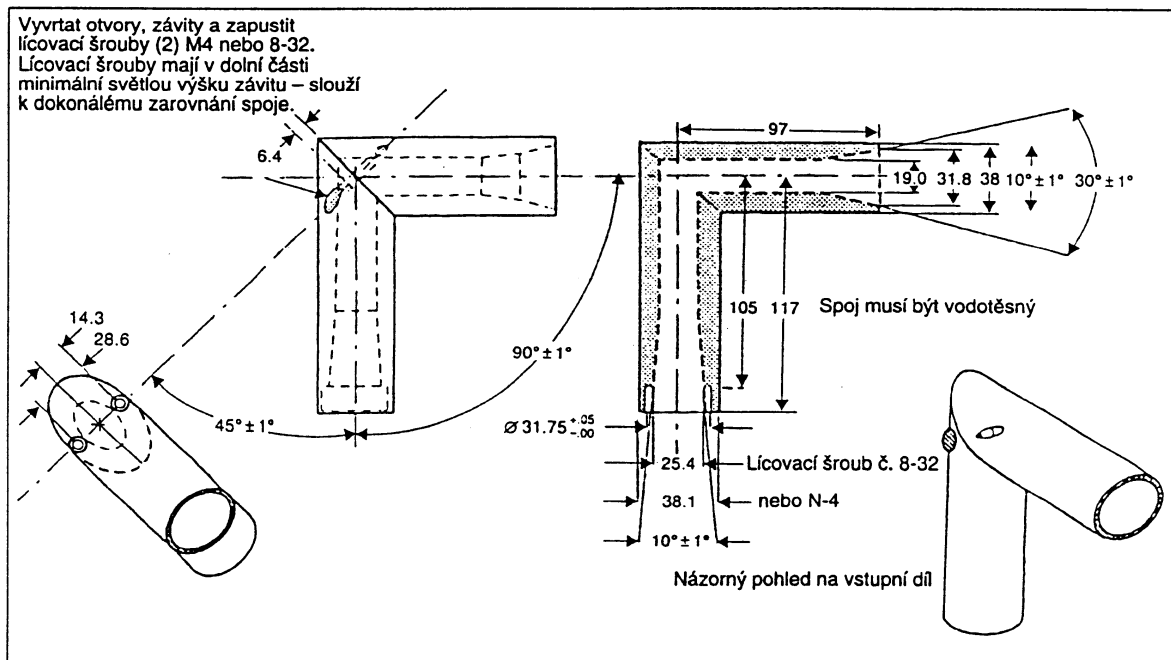
⁽²⁾ Vztahuje se k obrázku 2.9.18-2.

⁽³⁾ Včetně těsnění.

⁽⁴⁾ Vztaženo na střed komory.

n - nevztahuje se na tuto položku

3506 Zkušební metody



Obr. 2.9.18-4 Vstupní díl

Rozměry v milimetrech, není-li určeno jinak.

Poznámky

- (1) Materiál je z hliníku nebo nerezové oceli.
- (2) Strojní opracování z materiálu tvaru tyč kulatá (v průřezu) průměr 38 mm (15").
- (3) Díra 19 mm procházející celou tyčí.
- (4) Seříznutí trubice přesně 45°.
- (5) Vnitřek trubice a úkosu musí být hladký – cca 0,40 µm (16 µm) – leštěný.
- (6) Zabroušení spojovacích míst trubice k dosažení vodotěsnosti.
- (7) Dva díly trubice s vnitřním otvorem 19 mm se sestaví a po vyvrtání a vyřezání otvorů a závitů šrouby M4 x 0,7 nebo 8-32 se sešroubují. Spoj uvnitř trubice musí být dokonalý, bez převisů a dutin.

Postup pro dávkované tlakové přípravky pro inhalaci

Do každého ze čtyř horních pater přístroje se odměří 20 ml vhodného rozpouštědla schopného rozpustit účinnou látku a nasadí se zátky. Nakloněním přístroje se navlhčí zátky, tím se neutralizují elektrostatické náboje. Na patro č. 5 se vloží vhodný filtr a přístroj se sestaví. Na konci vstupního dílu se upevní vhodný adaptér náustku do takové polohy, aby konec náustku rozprašovače (inhalčního přípravku) byl po zasunutí ve vodorovné poloze shodné s osou vstupního dílu a rozprašovač byl v poloze odpovídající jeho použití. Výpust přístroje se spojí s vhodným odsávacím zařízením (vývěvou) a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby do vstupního dílu přicházelo (30 ± 1,5) l/min vzduchu. Pak se průtok vzduchu vypne.

Není-li v instrukcích pro pacienty předepsáno jinak, protřepává se 5 s inhalátorem, vystříkne se jednou do odpadu. Zapne se odsávání z přístroje. Konec náustku se vsune do spojovacího adaptéru přístroje a stlačí se ventil po dobu zaručující kompletní výstřik (podání). Odpojí se inhalátor od adaptéru a postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet podání, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu podání má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním podání se čeká 5 s a pak se vypne odsávání.

Filtrační patro přístroje se rozebere, opatrně se vyjme filtr a účinná složka se rozpouštědlem kvantitativně vyextrahuje. Pak se z přístroje vyjme vstupní díl a adaptér pro náustek a léčivá látka se opět vyextrahuje. Je-li třeba, vnitřek trubice vedoucí na první patro se propláchne rozpouštědlem, které je na prvním patře a které se pak nechá stéci na patro zpět. Léčivá látka se pak vyextrahuje i z vnitřních stěn a sběrných desek všech čtyř horních pater přístroje, vždy do roztoku, který je na daném patře tak, že se přístroj naklání a otáčí, přičemž je třeba dbát na to, aby tekutina nepřetekla na jiné patro.

Za použití vhodné analytické metody se stanoví množství účinné složky obsažené v každém z šesti objemů roztoku.

Vypočte se množství účinné složky (viz níže uvedené).

Postup pro inhalátory prášku

Na páté patro se vloží vhodný nízkoodporový filtr schopný kvantitativně zachytit léčivou látku a přístroj se sestaví. Přístroj se připojí k odsávacímu systému podle schématu na obrázku 2.9.18-5. Není-li předepsáno jinak, uskuteční se zkouška při průtokové rychlosti Q použité ve zkoušce Stejněměrnosti podané dávky prosáním 4 litrů vzduchu přes přístroj.

Ke vstupnímu dílu přístroje se připojí průtokoměr kalibrovaný na průtočný objem na výstupu z měřiče. Průtočný kontrolní ventil se nastaví tak, aby průtoková rychlost dosahovala požadované hodnoty Q ($\pm 5\%$). Pak se vypne průtok.

Nastaví se kritický průtok přes průtočný kontrolní ventil. U přístroje s připojeným inhalátorem se měří absolutní hodnoty tlaků na obou stranách kontrolního ventilu (odečítací místa P2 a P3 na obrázku 2.9.18-5). Poměr $P3/P2 \leq 0,5$ určuje kritický průtok. Když není dosaženo požadovaných hodnot, použije se účinnější vakuová pumpa a měření se opakuje.

Do každého ze čtyř horních pater přístroje se odměří 20 ml vhodného rozpouštědla a nasadí se zátka. Nakloněním přístroje se navlhčí zátka, tím se vyruší elektrostatické náboje. Na konec vstupního dílu se nasadí vhodný adaptér pro náustek přípravku.

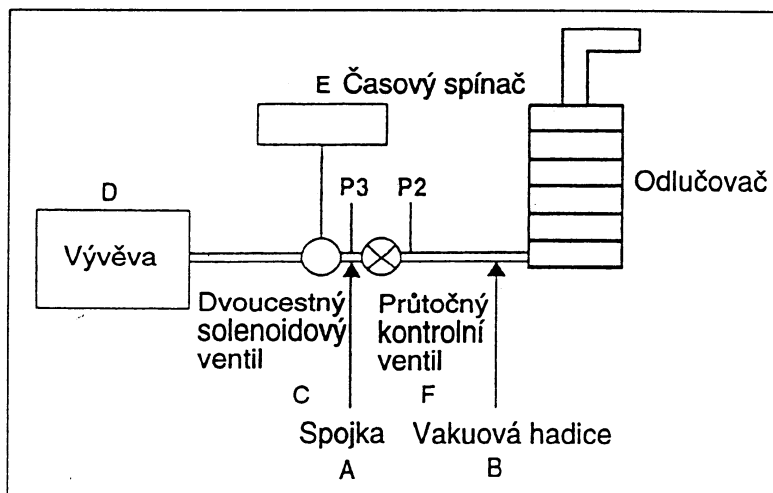
Inhalační práškový přípravek se připraví k použití podle instrukcí pro pacienty. Při běžícím odsávání a uzavření dvoucestného ventilu vsune se náustek přípravku do adaptéru vstupního dílu. Otevřením ventilu po doporučenou dobu T ($\pm 5\%$) se vefoukne (insufluje) prášek do přístroje. Postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet podání, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu podání má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním podání se čeká 5 s a pak se vypne odsávání.

Filtrační patro přístroje se rozebere, opatrně se vyjme filtr a léčivá látka se rozpouštědlem kvantitativně vyextrahuje. Pak se z přístroje vyjme vstupní díl a adaptér pro náustek a léčivá látka se opět vyextrahuje. Je-li třeba, vnitřek trubice vedoucí na první patro se propláchne rozpouštědlem, které je na prvním patře a které se pak nechá stéci na patro zpět. Léčivá látka se pak vyextrahuje i z vnitřních stěn a sběrných desek všech čtyř horních pater přístroje, vždy do roztoku, který je na daném patře tak, že se přístroj naklání a otáčí, přičemž je třeba dbát na to, aby tekutina nepřetekla na jiné patro.

Za použití vhodné analytické metody se stanoví množství léčivé látky obsažené v každém z šesti objemů roztoku.

Vypočte se množství léčivé látky (viz dále uvedené).

3508 Zkušební metody



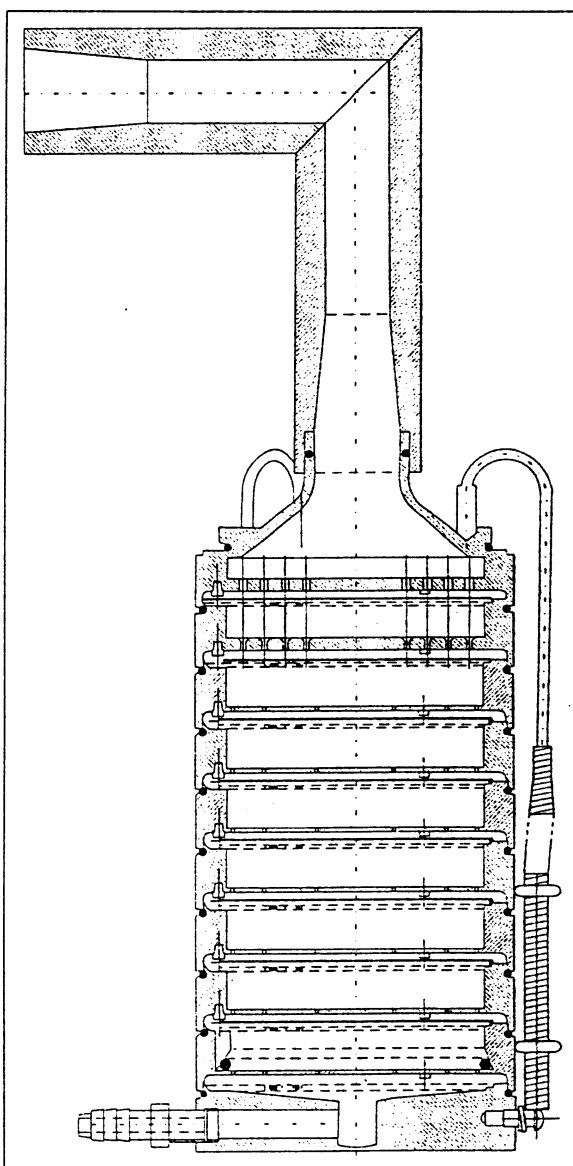
Obr. 2.9.18-5 Aparatura k měření prášků pro inhalaci

Tab. 2.9.18-3 Specifikace dílů k obrázku 2.9.18-5

Označení	Název	Popis
Aa	spojka	vnitřní průměr ≥ 8 mm, např. krátká kovová spojka s odbočkou o menším průměru k P3
B	vakuová hadice	Vnitřní průměr $(8 \pm 0,5)$ mm, délka (50 ± 10) cm, např. silikonová hadice vnějšího průměru 14 mm a vnitřního průměru 8 mm
C	dvoucestný solenoidový ventil	ústí s minimálním odporem průtoku vzduchu, vnitřní průměr ≥ 8 mm a maximální reakční dobou 100 ms (např. typ 256 A08, Bürkert GmbH, D7118), nebo ekvivalentní
D	vývěva	vyhovuje kapacitou pro požadovanou rychlost toku vzduchu přes sestavenou aparaturu s práškovým inhalačním přípravkem připojeným k adaptéru náustku (např. výrobky typ 1023, 1423 nebo 2565, Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI 49022), nebo ekvivalentní. Spojení vývěvy se solenoid. ventilem pomocí krátké a/nebo široké (≥ 10 mm vnitřní průměr) vakuové hadice, spoje minimalizující ztrátu kapacity vývěvy
E	časový spínač	schopný řízení solenoidového ventilu v požadovaných intervalech (např. typ G814, RS Components International, Corby, NN17 9RS, UK), nebo ekvivalentní
P2, P3	manometry	měření za podmínek stálého toku s převodníkem na absolutní tlak
F	průtočný kontrolní ventil	nastavitelný regulační ventil s maximem $C_v \geq 1$, (např. typ 8FV 12LNSS, Parker Hannifin plc., Barnstaple, EX31 1NP, UIK), nebo ekvivalentní

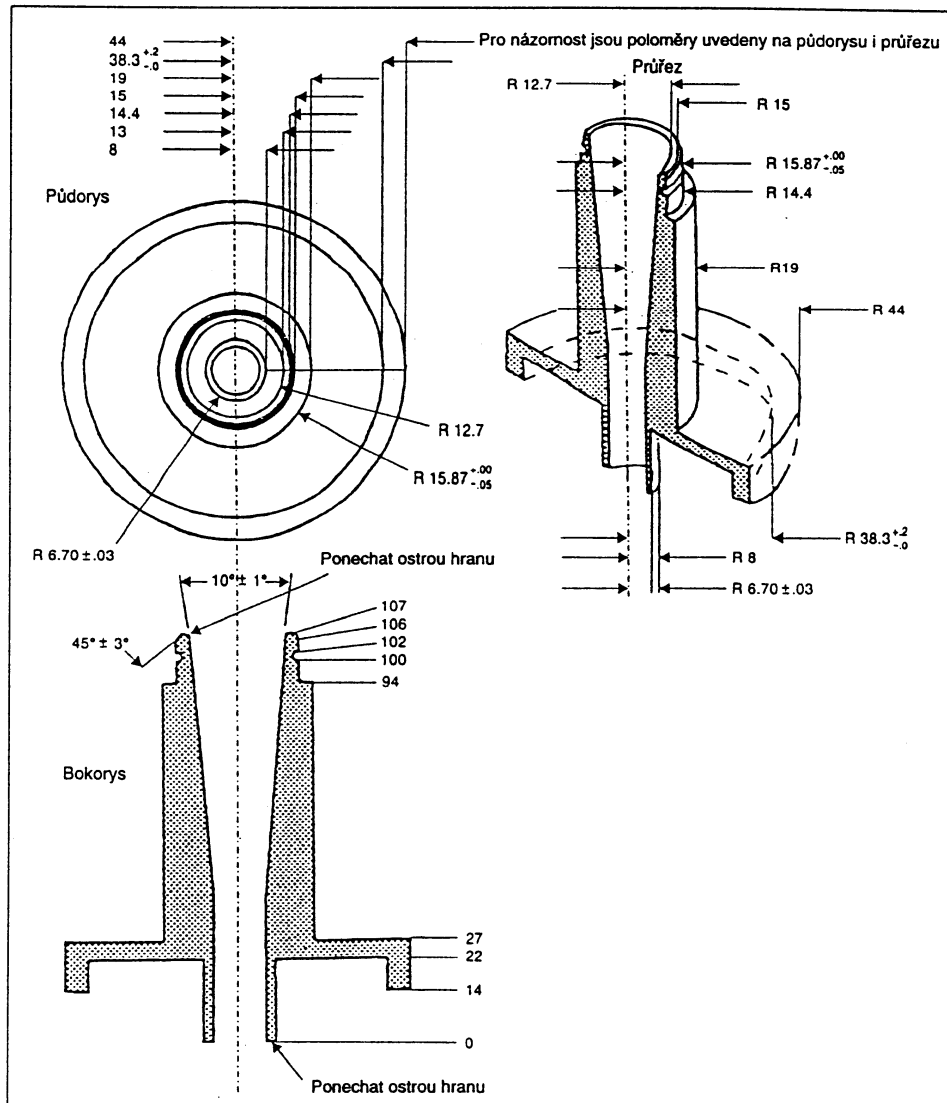
Přístroj 2 - "Andersenův" vzorkovač velikostí

Andersenův 1 ACFM vzorkovač velikostí neživých částic z prostředí tvoří 8 hliníkových pater společně s konečnou filtrací. Jednotlivá patra jsou spojena a utěsněna těsněním (O-kroužek). V provedení používaném pro tlakové inhalátory, viz obrázku 2.9.18-6, kuželový vstup vzorkovače je připojen k pravouhlému, kovovému vstupnímu dílu popsanému na obrázku 2.9.18-4. Použije se vhodný adaptér ke vzduchotěsnému spojení náustku a vstupního dílu. Čelo náustku musí být zarovnáno s čelem vstupního dílu. V sestavě přístroje pro hodnocení práškových inhalačních přípravků umístí se na horní patro předseparátor sloužící k zachycení velkých, nevdechutelných částic prášku. Připojí se ke vstupnímu dílu, viz obrázek 2.9.18-7. K dosažení vysoké tokové rychlosti přes vzorkovač se připojí přístroj k odsávacímu systému přípojkou o vnitřním průměru ≥ 8 mm.



Obr. 2.9.18-6 Andersenův vzorkovač velikostí v úpravě pro tlakové přípravky pro inhalaci

3510 Zkušební metody



Obr. 2.9.18-7 Přípojka vstupního dílu k předseparátoru Andersenova přístroje

Materiál: hliník (lze poniklovat z důvodu chemické inertnosti).

S výjimkou označené, všechny další hrany srazit.

Povrchy strojově leštěné.

Vnitřek trubice zaleštěný na Ra 0,40 μm.

O-kroužek: rozměry: vnitřní průměr 29 mm, vnější průměr 32 mm, šířka 1,8 mm.

Postup pro tlakové inhalační přípravky

Andersenův přístroj se sestaví, včetně vhodného filtru, a zajistí se jeho vzduchotěsnost. Na konci vstupního dílu se upevní vhodný adaptér náustku do takové polohy, aby konec náustku rozprašovače byl po zasunutí ve vodorovné poloze shodné s osou vstupního dílu a rozprašovač byl v poloze odpovídající jeho použití. Výstup z přístroje se spojí s vhodným odsávacím zařízením (vakuovou pumpou) a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby do vstupního dílu přicházelo $(28,3 \pm 1,5)$ l/min vzduchu. Pak se průtok vzduchu vypne.

Není-li v instrukcích pro pacienty předepsáno jinak, protřepává se 5 s inhalátorem a vystříkne se jednou do odpadu. Zapne se odsávání z přístroje. Náustek se vsune do adaptéru a z nádoby příprav-

ku v převrácené poloze, stisknutím ventilu po dostatečnou dobu se uskuteční úplný výstřik. Vyjme se inhalační přípravek z adaptéru a postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet podání, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu podání má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním podání se čeká 5 s a pak se vypne odsávání.

Přístroj se rozebere, opatrně se vyjme filtr a léčivá látka se rozpouštědlem kvantitativně vyextrahuje. Vyjme se vstupní díl a adaptér pro náustek a léčivá látka se opět vyextrahuje. Léčivá látka se pak vyextrahuje i z vnitřních stěn a sběrných desek všech pater přístroje.

Za použití vhodné analytické metody se stanoví množství léčivé látky obsažené v každém z devíti objemů roztoku.

Vypočte se množství léčivé látky (viz dále uvedené).

Postup pro inhalátory prášku

Aby Andersenův přístroj mohl být použit pro stanovení u práškových inhalačních přípravků, volí se jiná průtoková rychlost než 28,3 l/min. Dosud nejsou k dispozici všeobecná kalibrační data, a tudíž každý uživatel musí validovat zařízení při jím použitých podmínkách. Lze použít následující postup.

Přístroj se sestaví, připojí se předseparátor, vloží se vhodný filtr a zajistí se vzduchotěsnost zařízení. K zajištění dostatečného zachycení částic se pokryjí povrchy všech desek glycerolem nebo jinou vhodnou viskózní tekutinou. Stejně se pokryje i předseparátor, případně by mohl obsahovat 10 ml vhodného rozpouštědla. Přístroj se připojí k odsávacímu systému tak, jak je uvedeno na obrázku 2.9.18-5.

Není-li předepsáno jinak, uskuteční se zkouška při průtokové rychlosti použité ve zkoušce Stejněměrnost podané dávky prosáním 4 litrů vzduchu přes přístroj. K dosažení vyšší průtokové rychlosti, je-li potřebné, lze odstranit nejnižší patro ze sestavy přístroje. Ke vstupnímu dílu přístroje se připojí průtokoměr kalibrováný na průtočný objem na výstupu z měřiče. Průtočný kontrolní ventil se nastaví tak, aby průtoková rychlost dosahovala požadované hodnoty Q ($\pm 5\%$). Kritická hodnota průtoku přes kontrolní ventil se nastaví tak, jak je popsáno pro přístroj 1. Vypne se průtok.

Inhalační práškový přípravek se připraví k použití podle instrukcí pro pacienty. Při běžícím odsávání a uzavření dvoucestného ventilu, se vsune náustek přípravku do adaptéru vstupního dílu. Otevřením ventilu po doporučenou dobu T ($\pm 5\%$) se vefoukne (insufluje) prášek do přístroje. Postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet podání, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu podání má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním podání se čeká 5 s a pak se vypne odsávání.

Přístroj se rozebere, opatrně se vyjme filtr a léčivá látka se rozpouštědlem kvantitativně vyextrahuje. Vyjme se vstupní díl a adaptér pro náustek a léčivá látka se opět vyextrahuje. Léčivá látka se pak vyextrahuje i z vnitřních stěn a sběrných desek všech pater přístroje.

Za použití vhodné analytické metody se stanoví množství léčivé látky obsažené v každém z devíti objemů roztoku.

Vypočte se množství léčivé látky (viz dále uvedené).

Výpočty

Po analýzách všech roztoků se vypočte množství léčivé látky na jedno podání (vstříknutí nebo insuflaci) pro každé patro a množství léčivé látky na jedno podání ve vstupním dílu, adaptéru náustku a i předseparátoru, kde byl použit. Celkové množství léčivé látky není menší než 75 % a není větší než 125 % průměrné podané dávky stanovené při zkoušce na Stejněměrnost podané dávky. Je-li celkové množství mimo uvedené rozmezí, zkouška se opakuje.

Počínaje filtrem, počítají se kumulativní množství léčivé látky pro vzorkové průměry částic na příslušných patrech (viz tabulka 2.9.18-4 pro přístroj 1 a tabulka 2.9.18-5 pro přístroj 2). Interpolá-

3512 Zkušební metody

cí se vypočte množství léčivé látky pro částice menší než 5 μm , což je dávka jemných částic (anglická zkratka FPD).

Podle potřeby, kde je to vhodné, nakreslí se graf kumulativních frakcí léčivé látky v závislosti na vzorkovém průměru (viz tabulka 2.9.18-4/5) na logaritmickém pravděpodobnostním papíře a tento graf se použije ke stanovení množstevního středního aerodynamického průměru částic a geometrické standardní odchylky. Lze také použít i vhodné výpočetní metody.

Tab. 2.9.18-4 Výpočty pro přístroj 1. Použití $q_1 = \sqrt{(60/Q)}$, kde Q je průtoková rychlost v l/min

Vzorkový průměr částic (μm)	Množství usazené léčivé látky na jedno podání	Kumulativní množství usazené léčivé látky na jedno podání	Kumulativní podíl léčivé látky (%)
$d_4 = 1,7 \cdot q_1$	z 5. patra, m_5^*	$c_4 = m_5$	$f_4 = (c_4/c) \cdot 100$
$d_3 = 3,1 \cdot q_1$	z 4. patra, m_4	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \cdot 100$
$d_2 = 6,8 \cdot q_1$	z 3. patra, m_3	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \cdot 100$
	z 2. patra, m_2	$c_2 = c_2 + m_2$	100

* 5. patro je filtrační

Tab. 2.9.18-5 Výpočty pro přístroj 2, za podmínky použití 28,3 l/min

Vzorkový průměr částic (μm)	Množství usazené léčivé látky na jedno podání	Kumulativní množství léčivé látky	Kumulativní podíl léčivé látky (%)
$d_7 = 0,4$	z 8. patra, m_8	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \cdot 100$
$d_6 = 0,7$	z 7. patra, m_7	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \cdot 100$
$d_5 = 1,1$	z 6. patra, m_6	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \cdot 100$
$d_4 = 2,1$	z 5. patra, m_5	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \cdot 100$
$d_3 = 3,3$	z 4. patra, m_4	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \cdot 100$
$d_2 = 4,7$	z 3. patra, m_3	$c_2 = c_3 + m_3$	$f_2 = (c_2/c) \cdot 100$
$d_1 = 5,8$	z 2. patra, m_2	$c_1 = c_2 + m_2$	$f_1 = (c_1/c) \cdot 100$
$d_0 = 9,0$	z 1. patra, m_1	$c_0 = c_1 + m_1$	$f_0 = (c_0/c) \cdot 100$
	z 0. patra, m_0	$c = c_0 + m_0$	100

2.9.20 Hodnocení kontaminace viditelnými částicemi

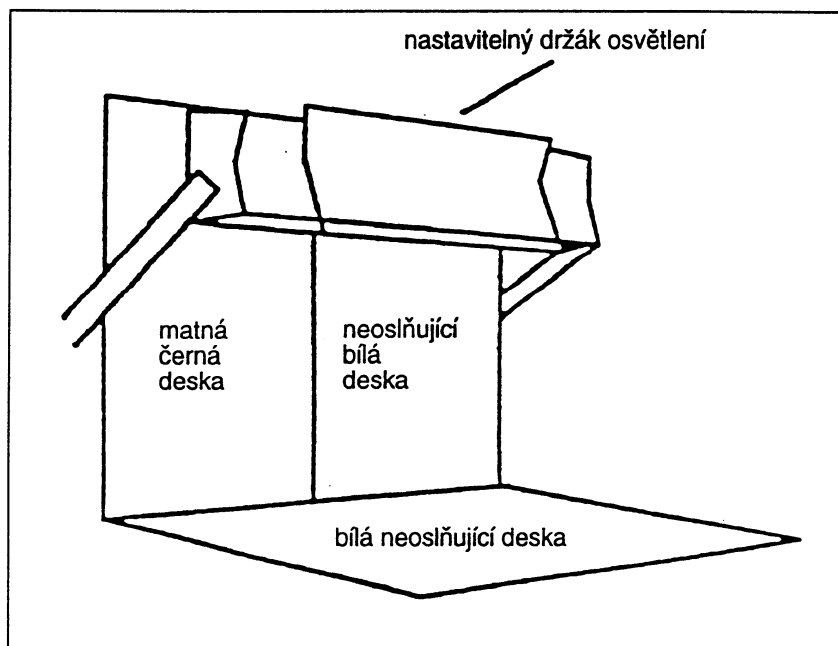


1998

Podstata zkoušky. Zkouškou se vizuálně hodnotí jakost parenterálních roztoků z hlediska jejich nezáměrné kontaminace cizorodými pohyblivými nerozpuštěnými částicemi, jinými než plynové bubliny. Zkouška umožňuje jednoduchou detekci viditelných částic za níže popsaných podmínek. Lze použít i jiné validované metody.

Zařízení. Zařízením, viz obrázek 2.9.20-1, je pozorovací jednotka, kterou tvoří následující části:

- matná černá deska o příslušné velikosti upevněná ve svislé poloze,
- neoslňující bílá deska o příslušné velikosti upevněná ve svislé poloze vedle černé desky,
- nastavitelný držák osvětlení s vhodným stínítkem, zdroj bílého světla a vhodný difuzor (pozorovací světelný zdroj se dvěma zářivkami 13 W, vhodná délka zářivky je 525 mm). Intenzita osvětlení v místě pozorování je udržována při 2000 luxů až 3750 luxů, vyšší hodnoty jsou vhodnější pro nádoby z barevného skla a plastů.



Obr. 2.9.20-1. Zařízení pro pozorování viditelných částic

Postup zkoušky. Odstraní se nalepené štítky a vnější nádobu se umyje a usuší. Opatrně se rozvíří obsah každé pozorované nádoby, nebo se nádoba opatrně obrátí, aby se netvořily vzduchové bubliny, a obsah se pozoruje asi 5 s proti bílé desce. Celý postup se opakuje před černou deskou. Zaznamenává se přítomnost všech částic.

2.9.22 Stanovení doby deformace lipofilních čípků



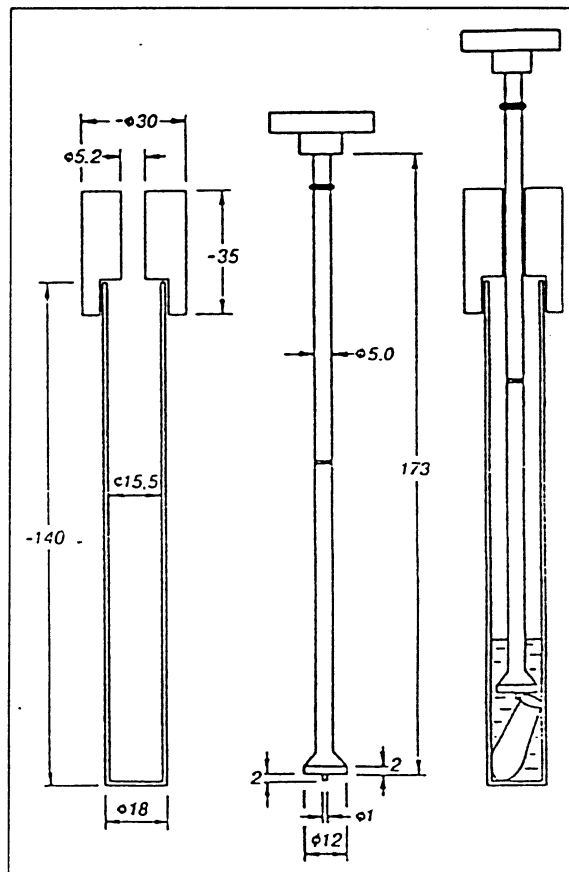
1998

Podstata zkoušky. Účelem zkoušky je za definovaných podmínek stanovit čas potřebný k deformaci čípku umístěného ve vodném prostředí a vystaveného definované zátěži, která na něj působí.

Přístroj. Přístroj, obrázek 2.9.22-1, se skládá ze skleněné trubice s plochým dnem, která má vnitřní průměr 15,5 mm a délku přibližně 140 mm. Trubice je nahoře uzavřena snímatelným plastickým krytem s otvorem o průměru 5,2 mm. Součástí přístroje je tyč o průměru 5,0 mm, která je u svého dolního konce rozšířená na průměr 12 mm. V jejím plochém dnu je upevněna kovová jehla délky 2 mm a o průměru 1 mm.

Tyč se skládá ze dvou částí, spodní část je z plastického materiálu a horní část je z plastického materiálu nebo kovu s diskem působícím jako zatížení. Horní a dolní část jsou spojeny (ruční verze) nebo rozpojeny (automatická verze). Hmotnost celé tyče je $30 \text{ g} \pm 0,1 \text{ g}$. Na horní části tyče je posuvná prstencová značka. Když se tyč zasune do skleněné trubice tak, aby se dotkla dna, prstencová značka se kryje s horním okrajem plastického krytu.

Postup. Skleněná trubice obsahující 10 ml vody se svisle umístí do vodní lázně vyhřáté na $(36,5 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ do hloubky nejméně 7 cm pod hladinu, aniž by se dotkla dna vodní lázně. Čípek se vloží do trubice špičkou napřed a následně se volně provlékne otvorem krytu tyč do skleněné trubice tak, až se kovová jehla dotkne plochého konce čípku. Upevní se kryt na trubici. Zaznamená se čas, kdy dojde k poklesu tyče na dno skleněné trubice, tj. kdy se prstencová značka kryje s horním okrajem plastického krytu.



Obr. 2.9.22-1 Rozměry v milimetrech

2.9.23 Pycnometrické stanovení hustoty tuhých látek



1999

Podstata zkoušky

Stanoví se objem plynu vytlačeného za definovaných podmínek práškem o známé hmotnosti a vypočítá se pycnometrická hustota tohoto prášku.

Zařízení

Zařízení (viz obrázek 2.9.23-1) je tvořeno:

- hermeticky uzavíratelnou zkušební nádobkou o objemu (V_c) v prázdném stavu spojenou ventilem s referenční nádobkou o referenčním objemu (V_r),
- systémem schopným naplnit zkušební nádobku měřicím plynem do dosažení definovaného tlaku (P), který je měřen manometrem,
- připojením ke zdroji měřicího plynu, jímž je přednostně helium, pokud není předepsán jiný plyn⁽¹⁾.

Teplota plynového pycnometru je 15 °C až 30 °C a nesmí se během měření měnit o více než 2 °C.

Zařízení je kalibrováno, to znamená, že objemy (V_c) a (V_r) jsou stanoveny za použití kalibrovaných vyleštěných ocelových kuliček, jejichž celkový objem (asi 6 cm³) je znám s přesností 0,001 cm³. Postup popsany dále se provádí dvakrát. Nejprve s prázdnou zkušební nádobkou a potom s nádobkou naplněnou ocelovými zkušebními kuličkami. Objemy (V_c) a (V_r) se vypočítají za použití rovnice pro objem vzorku, přičemž je nutno brát v úvahu, že při první zkoušce je objem rovný nule.

Pracovní postup

Zváží se zkušební nádobka pyknometru a zaznamená se její hmotnost. Nádobka se naplní daným množstvím prášku zkoušené látky. Zkušební nádobka pyknometru se neprodyšně uzavře. Těkavé nečistoty v prášku se odstraní jeho odplyněním konstantním proplachováním plynem, někdy musí být zpočátku plyn z prášků odstraněn ve vakuu. Zaznamená se referenční tlak systému (P_r) odečtený na manometru, přičemž je ventil spojující referenční nádobku se zkušební nádobkou otevřený. Ventil se uzavře, čímž se oddělí referenční nádobka od zkušební nádobky. Zkušební nádobka se naplní plynem pod tlakem do počátečního tlaku (P_i) a získaný údaj se zaznamená. Ventil spojující zkušební a referenční nádobky se otevře a zaznamená se konečný tlak (P_f). Postup měření se pro stejný vzorek prášku opakuje, až po sobě následující vypočítané objemy vzorku (V_s) se neliší o více než 0,5 %. Objem vzorku se vyjadřuje v cm^3 . Zkušební nádobka se vyprázdní a konečná hmotnost (m) prášku se vyjádří v gramech.

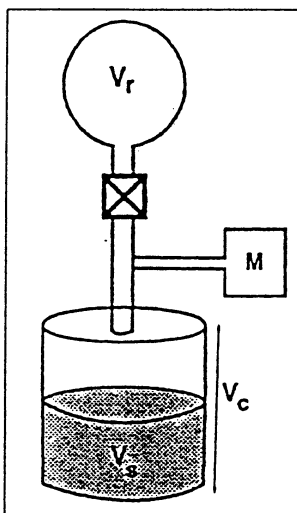
Vyjádření výsledků

Objem vzorku (V_s) je dán jedním z následujících dvou výrazů (které jsou ekvivalentní):

$$V_s = V_c + \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1}, \quad V_s = V_c - \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1}.$$

Hustota (ρ) je vyjádřena rovnicí:

$$\rho = \frac{m}{V_s}.$$



Obr. 2.9.23-1 Schéma plynového pyknometru

V_r - referenční objem V_c - objem nádobky

V_s - objem vzorku M - manometr

⁽¹⁾ Jsou-li použity jiné plyny než helium, nemělo by překvapit, když se obdrží hodnoty jiné, než získané s heliem, protože průnik plynu je závislý na velikosti pórů stejně jako na průřezové ploše pronikající molekuly. Např. hustota porézních materiálů stanovená pyknometricky bude nadhodnocena při měření s použitím dusíku v porovnání s heliem.

2.9.24 Pevnost čípků a vaginálních kuliček



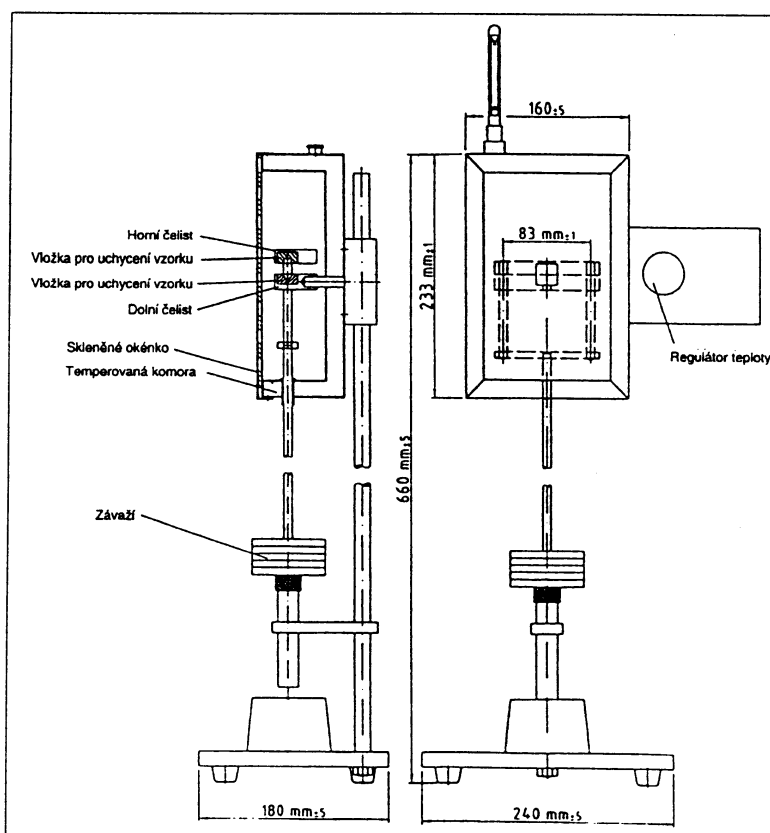
1999

Podstata zkoušky. Zkouška za definovaných podmínek stanoví hmotnost zatížení, při kterém dochází u čípků a vaginálních kuliček k mechanickému porušení.

Používá se pro hydrofobní čípky a hydrofobní vaginální kuličky. Není vhodná pro hydrofilní čípky a hydrofilní vaginální kuličky, např. ze směsi želatiny a glycerolu.

Přístroj. Přístroj (viz obrázky 2.9.24-1 a 2.9.24-2) se skládá z těchto částí:

- temperovaná komora vpředu uzavřená skleněným okénkem a obsahující zařízení k upevnění čípku nebo vaginální kuličky,
- dvě proti sobě postavené čelisti, z nichž horní klesá vertikálně k dolní. Drtící plochy čelistí jsou ploché, kolmé ke směru pohybu a větší než oblast kontaktu s čípkem nebo vaginální kuličkou. Vložka z plastické hmoty je upevněna ve středu čelistí (jedna polovina vložky na každé čelisti). Horní čelist je připojena k závěsu, k němuž je možné přidávat kotouče, z nichž každý váží 200 g. Výchozí hmotnost zatížení je 600 g. Mechanické porušení vzorku se provádí postupným přidáváním kotoučů o hmotnosti 200 g k výchozí hmotnosti zatížení 600 g.



Obr. 2.9.24-1 Přístroj pro měření pevnosti čípků a vaginálních kuliček

Postup. Ověří se, že přístroj je ve vertikální poloze. Komora se ohřeje na 25 °C.

Léková forma, která se má zkoušet, se uchovává nejméně 24 h při požadované teplotě měření. Čípek nebo vaginální kulička se vloží vertikálně mezi čelisti do držáku vzorku špičkou vzhůru. Horní tlakový blok tyče závěsu, na kterou se dává zátěž, se opatrně dá do výchozí polohy

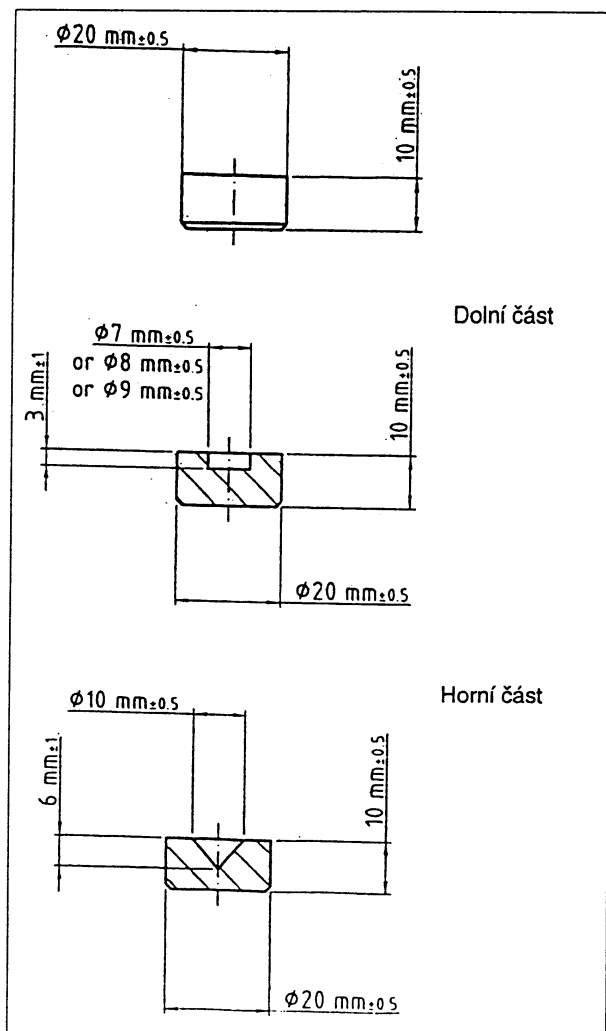
a skleněné okénko testovací komory se zavře; pro každé stanovení se čípek nebo vaginální kulička umístí stejným způsobem vzhledem ke směru působící síly.

Po 1 min se přidá první kotouč o hmotnosti 200 g. Opět se počká 1 min a přidá se další kotouč. Tento postup se opakuje, až se čípek nebo vaginální kulička poruší.

Hmotnost potřebná k mechanickému porušení čípku nebo vaginální kuličky se vypočítá jako součet hmotností závaží působících na čípek nebo vaginální kuličku v okamžiku, kdy došlo k mechanickému porušení (včetně výchozí hmotnosti zátěže), podle následujícího postupu:

- jestliže u čípku nebo vaginální kuličky došlo k porušení do 20 s po umístění posledního kotouče, nebere se jeho hmotnost v úvahu,
- jestliže u čípku nebo vaginální kuličky došlo k porušení v době od 20 s do 40 s po umístění posledního kotouče, použije se pro výpočet pouze poloviční hodnota jeho hmotnosti, tj. 100 g,
- jestliže u čípku nebo vaginální kuličky nedošlo k porušení do 40 s po umístění posledního kotouče, použije se pro výpočet celá jeho hmotnost.

Každé stanovení se provede s deseti čípkami nebo vaginálními kuličkami a před každým stanovením se odstraní zbytky.



Obr. 2.9.24-2 Vložky pro uchycení vzorku

3 Obalový materiál a obaly

3.1 Materiály používané pro výrobu obalů

3.1.10 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na neinjekční vodné roztoky



1999

Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu, které vyhovují následujícím požadavkům, jsou vhodné pro výrobu obalů na neinjekční vodné roztoky. Mohou se použít také na výrobu obalů pevných lékových forem pro perorální použití a v některých případech, kdy byly provedeny zvláštní zkoušky na kompatibilitu obalu s jeho obsahem, se tyto materiály mohou použít také pro výrobu obalů na čípky. Obsahují jednu nebo více složek [poly(vinylchlorid-co-vinylacetat) nebo směs polyvinylchloridu a polyvinylacetatu nebo polyvinylchlorid]. Obsahují nejvýše 1 µg/g vinylchloridu.

Obsah chloru vyjádřený jako polyvinylchlorid je nejméně 80 %.

Mohou obsahovat nejvýše 15 % kopolymerů na bázi akrylové kyseliny a/nebo methakrylové kyseliny a/nebo jejich esterů a/nebo styrenu a/nebo butadienu.

Výroba

Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu se vyrábějí polymerizačními metodami, které zaručují obsah zbytkového vinylchloridu menší než 1 µg/g. Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že výsledný produkt vyhovuje následující zkoušce:

Vinylchlorid. Nejvýše 1 µg/g; stanoví se head space plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *etheru R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 10 µl *etheru R* se přidá mikrostríkačkou do 20,0 ml *dimethylacetamidu R* tak, aby špička jehly byla ponořena do rozpouštědla. Těsně před použitím se roztok tisíckrát zředí *dimethylacetamidem R*.

Zkoušený roztok. 1,000 g zkoušeného materiálu se přenese do lahvičky na 50 ml a přidá se 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvička se uzavře, zátka se zajistí a protřepe se, aniž by došlo ke smočení zátky kapalinou. Lahvička se temperuje 2 h ve vodní lázni při $(60 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Základní roztok vinylchloridu. Přípravuje se v *digestoři*. 50,0 ml *dimethylacetamidu R* se přenese do lahvičky na 50 ml. Lahvička se uzavře a zátka se zajistí. Lahvička se zváží s přesností 0,1 mg. Polyethylenová nebo polypropylenová injekční stříkačka na 50 ml se naplní plynným *vinylchloridem R*. Plyn se nechá ve stříkačce asi 3 min, stříkačka se vyprázdní a opět se naplní 50 ml plynného *vinylchloridu R*. Na stříkačku se nasadí injekční jehla a objem plynu ve stříkačce se zmenší z 50 ml na 25 ml. Těchto 25 ml vinylchloridu se pomalu nastříkne do lahvičky za opatrného třepání tak, aby nedošlo ke smočení jehly kapalinou. Lahvička se opět zváží. Přírůstek hmotnosti je asi 60 mg (1 µl takto připraveného roztoku obsahuje asi 1,2 µg vinylchloridu).

Standardní roztok vinylchloridu. K 1 objemovému dílu základního roztoku vinylchloridu se přidají 3 objemové díly *dimethylacetamidu R*.

Porovnávací roztoky. Do šesti lahviček na 50 ml se přenese po 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvičky se uzavřou a zátky se zajistí. Do pěti lahviček se jednotlivě nastříkne 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl a 10 µl standardního roztoku vinylchloridu. Šest takto připravených roztoků obsahuje tedy 0 µg, asi 0,3 µg, asi 0,6 µg, asi 0,9 µg, asi 1,5 µg a asi 3 µg vinylchloridu. Lahvičky se opatrně protřepou tak, aby nedošlo ke smočení uzávěru roztokem a temperují se 2 h ve vodní lázni při $(60 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3520 Obalový materiál a obaly

Chromatografický postup se provádí obvykle za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* impregnovanou 5 % *dimethylstearamidu R* a 5 % *makrogolu 400 R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 45 °C, teplota nástřikového prostoru na 100 °C a teplota detektoru na 150 °C.

Provede se head space nástřik po 1 ml z každé lahvičky. Vypočte se obsah vinylchloridu.

V souladu s požadavky na mechanické a stabilitní vlastnosti může materiál na bázi neměkčejšího polyvinylchloridu obsahovat:

- nejvýše 8 % epoxidovaného sójového oleje s obsahem oxiranového kyslíku 6 % až 8 % a číslem jodovým nejvýše 6,
- nejvýše 1,5 % vápenatých nebo zinečnatých solí alifatických mastných kyselin obsahujících nejvýše sedm uhlíkových atomů nebo nejvýše 1,5 % jejich směsi,
- nejvýše 1,5 % tekutého parafinu,
- nejvýše 1,5 % vosků,
- nejvýše 2 % hydrogenovaných olejů nebo esterů alifatických mastných kyselin,
- nejvýše 1,5 % esterů polyethylenglykolu,
- nejvýše 1,5 % sorbitolu,
- nejvýše 1 % 2,4-dinonylfenylfosfitu nebo bis(4-nonylfenyl)fosfitu nebo tris(nonylfenyl)fosfitu.

Dále může obsahovat jednu z následujících skupin stabilizátorů:

- nejvýše 0,25 % cínu jako diisooktyl-2,2'-[(dioktylstannandiyl)bis(thio)]diacetat obsahující asi 27 % triisooktyl-2,2',2''-[(oktylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu,
- nejvýše 0,25 % cínu jako směs obsahující nejvýše 76 % diisooktyl-2,2'-[(dimethylstannandiyl)-bis(thio)]diacetatu a nejvýše 85 % triisooktyl-2,2',2''-[(methylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu, (isooktyl je např. 2-ethylhexyl),
- nejvýše 1 % fenylikosan-1,3-dionu (benzoylstearoylmethanu) nebo 2-(4-dodecylfenyl)indolu nebo didocyl-1,4-dihydropyridin-2,6-dimethyl-3,5-dikarboxylatu nebo 1% směs těchto dvou látek.

Může obsahovat barvivo nebo pigment.

Může obsahovat oxid titaničitý jako zneprůhledňující látku.

Dodavatel materiálu prokáže vyhovující kvalitativní a vyhovující kvantitativní složení typického vzorku v každé výrobní šarži.

Vlastnosti

Prášek, kuličky, granule nebo fólie různé tloušťky nebo vzorek z konečného výrobku jsou nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v tetrahydrofuranu, těžce rozpustné v dichlormethanu, nerozpustné v ethanolu. Hoří oranžově žlutým plamenem se zelenými okraji a s hustým černým kouřem.

Zkoušky totožnosti

Zbytek (A), viz Zkoušky na čistotu, Roztok S2 se rozpustí v 5 ml *tetrahydrofuranu R*. Několik kapek tohoto roztoku se nanese na destičku chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 100 °C až 105 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum vykazuje absorpční maxima při 2975 cm⁻¹, 2910 cm⁻¹, 2865 cm⁻¹, 1430 cm⁻¹, 1330 cm⁻¹, 1255 cm⁻¹, 690 cm⁻¹ a 615 cm⁻¹; získané spektrum se shoduje se spektrem materiálu zvoleného podle typu vzorku.

Zkoušky na čistotu

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu rozřezou na kousky, jejichž největší délka strany nepřevyšuje 1 cm.

Roztok S1. 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla, přidá se 500 ml vody R a hrdlo baňky se překryje hliníkovou fólií nebo kádinkou z borokřemičitého skla. Zahřívá se 20 min v autoklávu při (121 ± 2) °C. Nechá se ochladit a usadit.

Roztok S2. 5,0 g se rozpustí v 80 ml *tetrahydrofuranu* R a zředí se jím na 100 ml. Je-li třeba, zfiltruje se (roztok může opalizovat). 20 ml tohoto roztoku se zředí za opatrného míchání vkapáváním do 70 ml *lihu 96% R*. 1 h se chladí v ledu a potom se zfiltruje nebo odstředí. Zbytek (A) se promyje *lihem 96% R* a promývací tekutina se přidá k filtrátu nebo k tekutině získané odstředěním a zředí se *lihem 96% R* na 100 ml.

Roztok S3. 5 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 100 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a usadit.

Vzhled roztoku S1. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Absorbance roztoku S1 (2.2.25). 100 ml roztoku S1 se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 5 ml *hexanu R*, je-li třeba, zfiltruje se filtrem předem opláchnutým *hexanem R*. Absorbance filtrátu měřená při 250 nm až 310 nm není v žádném bodě spektra větší než 0,25.

Absorbance roztoku S2 (2.2.25). Absorbance roztoku měřená při 250 nm až 330 nm není pro cinem stabilizovaný materiál v žádném bodě spektra větší než 0,2 nebo větší než 0,4 pro jiné materiály.

Extrahovatelné baryum. Nejvýše 2 µg/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*) v argonové plazmě.

Zkoušený roztok. Použije se roztok S2.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok obsahující 0,1 µg/ml barya zředěním základního roztoku barya (50 µg Ba/ml) *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se intenzita emise při 455,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 455,30 nm.

Ověří se nepřítomnost barya v použité kyselině chlorovodíkové.

Extrahovatelné kadmium. Nejvýše 0,6 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*), ale s jedním porovnávacím roztokem.

Zkoušený roztok. Použije se roztok S2.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok obsahující 0,03 µg/ml kadmia zředěním základního roztoku kadmia (1 mg Cd/ml) *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Ověří se nepřítomnost kadmia v použité kyselině chlorovodíkové.

Změří se absorbance při 228,8 nm, absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku.

Cínem stabilizované materiály. Nejvýše 0,25 % cínu. K 0,10 ml roztoku S2 ve zkumavce se přidá 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 0,5 ml *jodidu draselného RS* a 5 ml *lihu 96% R*. Důkladně se zamíchá a nechá se 5 min stát. Potom se přidá 9 ml vody R, 0,1 ml roztoku *siřičitanu sodného R* (5 g/l) a důkladně se promíchá. Přidá se 1,5 ml *dithizonu RS* čerstvě stonásobně zředěného *dichlormethanem R*. 15 s se třepe a 2 min se nechá stát. Zároveň se stejným způsobem připraví porovnávací roztok za použití 0,1 ml porovnávacího roztoku cínu.

Fialové zbarvení spodní vrstvy získané s roztokem S3 není intenzivnější než zbarvení získané u porovnávacího roztoku.

(Zelenomodré zbarvení roztoku dithizonu přechází v přítomnosti cínu na růžové).

3522 Obalový materiál a obaly

Základní roztok cínu. 81 mg diisooktyl-2,2'-[(dioktylstannandiyl)bis(thio)]diacetatu obsahující asi 27 % triisooktyl-2,2',2''-[(oktylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu CRL se v odměrné baňce na 100 ml rozpustí v tetrahydrofuranu R a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok cínu. 20 ml základního roztoku cínu se v odměrné baňce na 100 ml zředí lihem 96% R na 100 ml.

Cínem nestabilizované materiály. Nejvýše 160 µg/g cínu. K 5 ml roztoku S2 ve zkumavce se přidá 0,05 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a 0,5 ml jodidu draselného RS. Důkladně se zamíchá a nechá se 5 min stát. Potom se přidá 9 ml vody R, 0,1 ml roztoku siřičitanu sodného R (5 g/l) a důkladně se promíchá. Jestliže získaný roztok není bezbarvý, přidává se roztok siřičitanu sodného po 0,05 ml. Přidá se 1,5 ml dithizonu RS čerstvě stonásobně zředěného dichlormethanem R. 15 s se třepe a 2 min se nechá stát. Zároveň se stejným způsobem připraví porovnávací roztok za použití 0,05 ml porovnávacího roztoku cínu.

Fialové zbarvení spodní vrstvy získané s roztokem S3 není intenzivnější než zbarvení získané u porovnávacího roztoku.

Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S3 vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Extrahovatelný zinek. Nejvýše 100 µg Zn/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I), ale s jedním porovnávacím roztokem.

Zkoušený roztok. Roztok S3 se zředí desetkrát vodou R.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok obsahující 0,50 µg/ml zinku zředěním základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS.

Ověří se nepřítomnost zinku v použité kyselině chlorovodíkové.

Změří se absorbance při 214,0 nm, absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Pokud byl materiál zneprůhledněn oxidem titaničitým, je síranový popel nejvýše 4,0 %.

Stanovení obsahu

S 50,0 mg se provede spalování organických látek v kyslíku (2.5.10). Spalné produkty jsou absorbovány do 20 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS. K získanému roztoku se přidá 2,5 ml kyseliny dusičné R, 10,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS, 5 ml síranu amonno-železitého RS2 a 1 ml dibutylftalatu R. Titruje se thiokyanatanem amonným 0,05 mol/l VS do červenožlutého zbarvení roztoku. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 6,25 mg polyvinylchloridu.

3.1.11 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na suché lékové formy k perorálnímu podání

1999

Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro pevné lékové formy pro perorální použití jsou vhodné pro výrobu fólií nebo obalů.

Obsahují jednu nebo více složek [poly(vinylchlorid-co-vinylacetat) nebo směs polyvinylchloridu a polyvinylacetatu nebo polyvinylchlorid].

Obsahují nejvýše 1 µg/g vinylchloridu.

Obsah chloru vyjádřený jako polyvinylchlorid je nejméně 80 %.

Mohou obsahovat nejvýše 15 % kopolymerů na bázi akrylové kyseliny a/nebo methakrylové kyseliny a/nebo jejich esterů a/nebo styrenu a/nebo butadienu.

Výroba

Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu se vyrábějí polymerizačními metodami, které zaručují obsah zbytkového vinylchloridu menší než 1 $\mu\text{g/g}$. Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že výsledný produkt vyhovuje následující zkoušce:

Vinylchlorid. Nejvýše 1 $\mu\text{g/g}$; stanoví se head space plynovou chromatografií (2.2.28) za použití etheru *R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 10 μl etheru *R* se přidá mikrostríkačkou do 20,0 ml dimethylacetamidu *R* tak, aby špička jehly byla ponořena do rozpouštědla. Těsně před použitím se roztok tisíckrát zředí dimethylacetamidem *R*.

Zkoušený roztok. 1,000 g zkoušeného materiálu se přenese do lahvičky na 50 ml a přidá se 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvička se uzavře, zátka se zajistí a protřepe se, aniž by došlo ke smočení zátky kapalinou. Lahvička se temperuje 2 h ve vodní lázni při $(60 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Základní roztok vinylchloridu. Přípravuje se v digestoři. 50,0 ml dimethylacetamidu *R* se přenese do lahvičky na 50 ml. Lahvička se uzavře a zátka se zajistí. Lahvička se zváží s přesností 0,1 mg. Polyethylenová nebo polypropylenová injekční stříkačka na 50 ml se naplní plynným vinylchloridem *R*. Plyn se nechá ve stříkačce asi 3 min, stříkačka se vyprázdní a opět se naplní 50 ml plynného vinylchloridu *R*. Na stříkačku se nasadí injekční jehla a objem plynu ve stříkačce se zmenší z 50 ml na 25 ml. Těchto 25 ml vinylchloridu se pomalu nastříkne do lahvičky za opatrného třepání tak, aby nedošlo ke smočení jehly kapalinou. Lahvička se opět zváží. Přírůstek hmotnosti je asi 60 mg (1 μl takto připraveného roztoku obsahuje asi 1,2 μg vinylchloridu).

Standardní roztok vinylchloridu. K 1 objemovému dílu základního roztoku vinylchloridu se přidají 3 objemové díly dimethylacetamidu *R*.

Porovnávací roztoky. Do šesti lahviček na 50 ml se přenese po 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvičky se uzavřou a zátky se zajistí. Do pěti lahviček se jednotlivě nastříkne 1 μl , 2 μl , 3 μl , 5 μl a 10 μl standardního roztoku vinylchloridu. Šest takto připravených roztoků obsahuje tedy 0 μg , asi 0,3 μg , asi 0,6 μg , asi 0,9 μg , asi 1,5 μg a asi 3 μg vinylchloridu. Lahvičky se opatrně protřepou tak, aby nedošlo ke smočení uzávěru roztokem a temperují se 2 h ve vodní lázni při $(60 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Chromatografický postup se provádí obvykle za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 3 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii *R* impregnovanou 5 % dimethylstearamidem *R* a 5 % makrogolu 400 *R*,
- dusíku pro chromatografii *R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 45°C , teplota nástřikového prostoru na 100°C a teplota detektoru na 150°C .

Provede se head space nástřik po 1 ml z každé lahvičky. Vypočte se obsah vinylchloridu.

V souladu s požadavky na mechanické a stabilitní vlastnosti může materiál na bázi neměkčeného polyvinylchloridu obsahovat:

- nejvýše 2 % epoxidovaného sójového oleje s obsahem oxiranového kyslíku 6 % až 8 % a s číslem jodovým nejvýše 6 pro cínem stabilizované materiály,
- nejvýše 3 % epoxidovaného sójového oleje s obsahem oxiranového kyslíku 6 % až 8 % a s číslem jodovým nejvýše 6 pro cínem nestabilizované materiály,

3524 Obalový materiál a obaly

- nejvýše 1,5 % vápenatých, hořečnatých nebo zinečnatých solí alifatických mastných kyselin obsahujících nejvýše sedm uhlíkových atomů nebo nejvýše 1,5 % jejich směsi,
- nejvýše 4 % vosků,
- nejvýše 1,5 % tekutého parafínu,
- nejvýše 2 % hydrogenovaných olejů nebo esterů alifatických mastných kyselin.

Procentuální obsah tří výše uvedených maziv nepřesahuje 4 %:

- nejvýše 1,5 % esterů polyethylenglykolu,
- nejvýše 1,5 % sorbitolu,
- nejvýše 1 % 2,4-dinonylfenylfosfitu nebo di(4-nonylfenyl)fosfitu nebo tris(nonylfenyl)fosfitu,
- nejvýše 1 % uhličitanu vápenatého,
- nejvýše 1 % oxidu křemičitého.

Dále může obsahovat jednu z následujících skupin stabilizátorů:

- nejvýše 0,25 % cínu jako diisooktyl-2,2'-[(dioktylstannandiyl)bis(thio)]diacetat obsahující asi 27 % triisooktyl-2,2',2''-[(oktylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu,
- nejvýše 0,25 % cínu jako směs obsahující nejvýše 76 % diisooktyl-2,2'-[(dimethylstannandiyl)-bis(thio)]diacetatu a nejvýše 85 % triisooktyl-2,2',2''-[(methylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu, (isooktyl je např. 2-ethylhexyl),
- nejvýše 1 % fenylikosan-1,3-dionu (benzoylstearylmetanu).

Může obsahovat barvivo nebo pigment.

Může obsahovat oxid titaničitý jako zneprůhledňující látku.

Dodavatel materiálu prokáže vyhovující kvalitativní a kvantitativní složení typického vzorku v každé výrobní šarži.

Vlastnosti

Prášek, kuličky, granule nebo fólie různé tloušťky nebo vzorek z konečného výrobku, jsou nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v tetrahydrofuranu, těžce rozpustné v dichlormethanu, nerozpustné v ethanolu. Hoří oranžově žlutým plamenem se zelenými okraji a hustým černým kouřem.

Zkoušky totožnosti

Zbytek (A), viz Zkoušky na čistotu, Roztok S2 se rozpustí v 5 ml *tetrahydrofuranu R*. Několik kapek tohoto roztoku se nanese na destičku chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 100 °C až 105 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum vykazuje absorpční maxima při 2975 cm⁻¹, 2910 cm⁻¹, 2865 cm⁻¹, 1430 cm⁻¹, 1330 cm⁻¹, 1255 cm⁻¹, 690 cm⁻¹ a 615 cm⁻¹; získané spektrum se shoduje se spektrem materiálu zvoleného podle typu vzorku.

Zkoušky na čistotu

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu rozřežou na kousky, jejichž největší délka strany nepřevyšuje 1 cm.

Roztok S1. 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla, přidá se 500 ml *vody R* a hrdlo baňky se překryje hliníkovou fólií nebo kádinkou z borokřemičitého skla. Zahřívá se 20 min v autoklávu při (121 ± 2) °C. Nechá se ochladit a usadit.

Roztok S2. 5,0 g se rozpustí v 80 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 100 ml. Je-li třeba, zfiltruje se (roztok může opalizovat). 20 ml tohoto roztoku se zředí za opatrného míchání vkapáváním do 70 ml *lihu 96% R*, 1 h se chladí v ledu a potom se zfiltruje nebo odstředí. Zbytek (A) se

promyje *lihem 96% R* a promývací tekutina se přidá k filtrátu nebo k tekutině získané odstředěním a zředí se *lihem 96% R* na 100 ml.

Roztok S3. 5 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 100 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a usadit.

Vzhled roztoku S1. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Absorbance roztoku S1 (2.2.25). 100 ml roztoku S1 se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 5 ml *hexanu R*, je-li třeba, zfiltruje se filtrem předem opláchnutým *hexanem R*. Absorbance filtrátu měřená při 250 nm až 310 nm není v žádném bodě spektra větší než 0,3.

Absorbance roztoku S2 (2.2.25). Absorbance roztoku měřená při 250 nm až 330 nm není v žádném bodě spektra větší než 0,5.

Cínem stabilizované materiály. Nejvýše 0,25 % cínu. K 0,10 ml roztoku S2 ve zkumavce se přidá 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 0,5 ml *jodidu draselného RS* a 5 ml *lihu 96% R*. Důkladně se zamíchá a nechá se 5 min stát. Potom se přidá 9 ml *vody R*, 0,1 ml roztoku *siřičitanu sodného R* (5 g/l) a důkladně se promíchá. Přidá se 1,5 ml *dithizonu RS* čerstvě stonásobně zředěného *dichlormethanem R*, 15 s se třepe a 2 min se nechá stát. Zároveň se stejným způsobem připraví porovnávací roztok za použití 0,1 ml porovnávacího roztoku cínu.

Fialové zbarvení spodní vrstvy získané s roztokem S3 není intenzivnější než zbarvení získané s porovnávacím roztokem.

(Zelenomodré zbarvení roztoku *dithizonu* přechází v přítomnosti cínu na růžové).

Základní roztok cínu. 81 mg *diisooktyl-2,2'-[(dioktylstannandiyl)bis(thio)]diacetatu* obsahující asi 27 % *triisooktyl-2,2',2''-[(oktylstannantriyl)tris(thio)]triacetatu CRL* se v odměrné baňce na 100 ml rozpustí v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok cínu. 20 ml základního roztoku cínu se v odměrné baňce na 100 ml zředí *lihem 96% R* na 100 ml.

Cínem nestabilizované materiály. Nejvýše 160 µg/g cínu. K 5 ml roztoku S2 ve zkumavce se přidá 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 0,5 ml *jodidu draselného RS*. Důkladně se zamíchá a nechá se 5 min stát. Potom se přidá 9 ml *vody R*, 0,1 ml roztoku *siřičitanu sodného R* (5 g/l) a důkladně se promíchá. Jestliže získaný roztok není bezbarvý, přidává se roztok *siřičitanu sodného* po 0,05 ml. Přidá se 1,5 ml *dithizonu RS* čerstvě stonásobně zředěného *dichlormethanem R*, 15 s se třepe a 2 min se nechá stát. Zároveň se stejným způsobem připraví porovnávací roztok za použití 0,05 ml porovnávacího roztoku cínu.

Fialové zbarvení spodní vrstvy získané s roztokem S3 není intenzivnější než zbarvení získané u porovnávacího roztoku.

Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S3 vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

Extrahovatelný zinek. Nejvýše 100 µg Zn/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*), ale s jedním porovnávacím roztokem.

Zkoušený roztok. Roztok S3 se zředí desetkrát *vodou R*.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok obsahující 0,50 µg/ml zinku zředěním základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS*.

Ověří se nepřítomnost zinku v použité *kyselině chlorovodíkové*.

Změří se absorbance při 214,0 nm, absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku.

3526 Obalový materiál a obaly

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Pokud byl materiál zneprůhledněn oxidem titaničitým, je síranový popel nejvýše 4,0 %.

Stanovení obsahu

S 50,0 mg se provede spalování organických látek v kyslíku (2.5.10). Spalné produkty jsou absorbovány do 20 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*. K získanému roztoku se přidá 2,5 ml *kyseliny dusičné R*, 10,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS*, 5 ml *síranu amonno-železitého RS2* a 1 ml *dibutylftalatu R*. Titruje se *thiokyanatanem amonným 0,05 mol/l VS* do červenožlutého zbarvení roztoku. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,25 mg polyvinylchloridu.

4 Zkoumadla

Názvy všech druhů zkoumadel použitých v Českém lékopise jsou psány kurzívou a obvykle označovány písmeny za názvem zkoumadla tak, aby na první pohled bylo patrné, o jaký druh zkoumadla se jedná.

Základní zkoumadla se značí písmenem R. Pokud je zkoumadlo označeno RS, znamená to, že se jedná o roztok zkoumadla a v názvu zkoumadla se již slovo roztok neuvádí.

V případě porovnávacích roztoků pro limitní zkoušky a u tlumivých roztoků se písmena za názvem neuvádějí, jejich názvy vyjadřují přesně druh zkoumadla.

Jakost základních látek pro odměrnou analýzu vyjadřují písmena VR a odměrné roztoky se označují VS.

Je-li třeba vyjádřit přípravu roztoku ze zkoumadla uvedeného ve stati (4.1), píše se kurzívou pouze název lékopisného zkoumadla. Současně se srozumitelně uvede množství a jednotky charakterizující koncentraci roztoku, např.:

„roztok hydroxidu draselného R (15 g/l)“,

„roztok kyseliny sírové R 10% (V/V) v lihu 96% R“,

„roztok kyseliny chlorovodíkové R (10 g/l HCl)“.

3528 Zkoumadla

4.1 Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky

Zkoumadla jsou chemikálie a jejich roztoky používáné ke zkoušení léčiv a pomocných látek. K jednoznačné charakterizaci zkoumadel jsou uvedena čísla CAS, viz Obecné zásady (1.2).

Zkoumadla nelze používat jako léčivé nebo pomocné látky. Pokud je léčivá nebo pomocná látka zároveň použita jako zkoumadlo, její jakost pokud je stejná, je uvedena odkazem na lékopisný článek a číslo CAS se již neuvádí.

Roztoky zkoumadel, není-li uvedeno jinak, se rozumějí roztoky vodné připravené z vody čištěné (Aqua purificata) při teplotě obvykle 20 °C. Výjimkou jsou roztoky používané k provedení limitních zkoušek na baryum, vápník a sírany, kde je nutno použít vodu destilovanou.

Při práci a zacházení se zkoumadly je nutno dodržovat bezpečnostní předpisy pro práci v chemických laboratořích (ČSN 01 8003). Pokud mají zkoumadla vlastnosti zvláště nebezpečných jedů, ostatních jedů (viz nařízení vlády č. 10/1999 Sb.), žiravin a dalších nebezpečných látek, je nutno respektovat zákon č. 157/1998 Sb., o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů. Pokud je zkoumadlo omamnou nebo psychotropní látkou, je nutno dodržovat zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů. Pokud je zkoumadlo prokazatelným karcinogenem, je nutno dodržovat Hygienické předpisy o hygienických zásadách pro práci s chemickými karcinogeny.

Zkoumadla a jejich roztoky se uchovávají zpravidla v dobře uzavřených obalech. Je-li třeba, jsou předepsány zvláštní podmínky uchovávání. Zkoumadla se uchovávají oddělené od léčivých a pomocných látek.

V označení na obalu zkoumadel (pevně lpící štítek nebo označení přímo na obalu) se uvede název zkoumadla, u roztoků také koncentrace, datum přípravy a kdo roztok připravil. Zkoumadla připravovaná a vydávaná v lékárnách nebo v laboratořích zdravotnických zařízení se označují žlutými štítky s černým nápisem, v němž je uvedeno:

- a) přesné označení lékárny (zdravotnického zařízení),
- b) datum přípravy zkoumadla a jméno (zkratka) osoby, která zkoumadlo připravila,
- c) přesný název při předpisu "Signa suo nomine" a složení při předpisu "Signa cum formula",
- d) je-li zkoumadlo omamná látka, zvláště nebezpečný jed, žiravina, hořlavina, uvede se v označení příslušný symbol.

4.1.1 Zkoumadla

Acetal R

 $C_6H_{14}O_2$ M_r 118,2

CAS 105-57-7

1,1-Diethoxyethan, diethylacetal acetaldehydu

· Čirá bezbarvá těkavá kapalina, mísitelná s vodou a lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,824. n_D^{20} : asi 1,382.

TV: asi 103 °C.

Acetaldehyd R C_2H_4O M_r 44,1

CAS 75-07-0

Ethanal

Čirá bezbarvá snadno zápalná kapalina, mísitelná s vodou a lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,788. n_D^{20} : asi 1,332.

TV: asi 21 °C.

Acetanhydrid R $C_4H_6O_3$ M_r 102,1

CAS 108-24-7

Anhydrid kyseliny octové

Obsahuje nejméně 97,0 % $C_4H_6O_3$. Čirá bezbarvá kapalina.

TV: 136 °C až 142 °C

Stanovení obsahu. 2,00 g se rozpustí v 50,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* v baňce se zabroušenou zátkou a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Potom se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS*, titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS* a vypočítá se počet ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* spotřebovaného na 1 g látky (n_1). 2,00 g se rozpustí v 20 ml *cyklohexanu R* v baňce se zabroušenou zátkou. Roztok se ochladí a za chlazení v ledové lázni se přidá chladná směs 10 ml *anilinu R* a 20 ml *cyklohexanu R*. Směs se vaří 1 h pod zpětným chladičem, přidá se 50,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* a silně se protřepe. Přidá se 0,5 ml *fenolftaleinu RS*, titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS* a vypočítá se počet ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* na 1 g látky (n_2).

Obsah $C_4H_6O_3$ v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$10,2 (n_1 - n_2).$$

Acetanhydrid v kyselině sírové RS

5 ml *acetanhydridu R* se opatrně smíchá s 5 ml *kyseliny sírové R*. Po kapkách a za stálého chlazení se přidá 50 ml *ethanolu R*.

Připravuje se v čas potřeby.

Acetanhydrid RS1

Acetylační směs

25,0 ml *acetanhydridu R* se rozpustí v *pyridinu bezvodém R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Uchovává se chráněn před světlem a vzduchem.

Aceton R

Viz článek *Acetinum*.

Acetonitril R C_2H_3N M_r 41,05

CAS 75-05-8

Methylkyanid

3530 Zkoumadla

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s acetonem, s etherem a s methanolem. d_{20}^{20} : asi 0,78.

n_D^{20} : asi 1,344.

Roztok (100 g/l) je neutrální na lakmusový papír.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 80 °C až 82 °C.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Transmitance (2.2.25): nejméně 98 % při 225 nm až 420 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Acetonitril pro chromatografii R

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro *acetonitril R* a následujícím dodatečným požadavkům:

Transmitance (2.2.25): nejméně 98 % při 240 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Stanovení obsahu (2.2.28): nejméně 99,8 %.

Acetonitril R1

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro *acetonitril R* a následujícím dodatečným požadavkům:

Obsahuje nejméně 99,9 % sloučeniny C₂H₃N.

Absorbance (2.2.25). Absorbance při 200 nm za použití vody R jako kontrolní kapaliny je nejvýše 0,10.

Acetylacetamid R

C₄H₇NO₂

M_r 101,1

CAS 5977-14-0

3-Oxobutanamid

TT: 53 °C až 56 °C.

Acetylaceton R

C₅H₈O₂

M_r 100,1

CAS 123-54-6

2,4-Pentandion

Bezbarvá nebo slabě nažloutlá, snadno zápalná kapalina, snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem, lihem 96%, s etherem a s kyselinou octovou ledovou.

n_D^{20} : 1,452 až 1,453.

TV: 138 °C až 140 °C.

Acetylaceton RS1

Ke 100 ml octanu amonného RS se přidá 0,2 ml acetylacetonu R.

***N'*-[3-acetyl-4-(3-terc.butylamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]-*N*-terc.butylmočovina R**

C₂₀H₃₃N₃O₄

M_r 379,5

Bílý krystalický prášek.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3531

Acetylugenol R $C_{12}H_{14}O_3$ M_r 206,2

CAS 93-28-7

2-Methoxy-4-(2-propenyl)fenylacetat

Žlutě zbarvená olejovitá kapalina, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru, prakticky nerozpustná ve vodě.

 n_D^{20} : asi 1,521.

TV: 281 °C až 282 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28), jak je předepsáno v článku *Caryophylli etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % z celkové plochy piků.

Acetylchlorid R C_2H_3ClO M_r 78,5

CAS 75-36-5

Čirá bezbarvá zápalná kapalina, působením vody a lihu 96% se rozkládá. Je mísitelná s dichlorethanem.

 d_{20}^{20} : asi 1,10.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 49 °C až 53 °C.

Acetylcholiniumchlorid R $C_7H_{16}ClNO_2$ M_r 181,7

CAS 60-31-1

Krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve studené vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozkládá se v horké vodě a v alkáliích.

Uchovává se při -20 °C.

N-Acetyl-ε-kaprolaktam R $C_8H_{13}NO_2$ M_r 155,2

CAS 1888-91-1

N-Acetylhexan-6-laktam

Bezbarvá kapalina, mísitelná s ethanolem.

 d_{20}^{20} : asi 1,100. n_D^{20} : asi 1,489.

TV: asi 135 °C.

N-Acetyltryptofan R $C_{13}H_{14}N_2O_3$ M_r 246,3

CAS 1218-34-4

Kyselina 2-acetylamino-3-(3-indolyl)propanová; N-acetyl-L-tryptofan

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 205 °C.

Stanovení obsahu. 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. Stanoví se, jak je uvedeno ve zkoušce 1,1'-ethyliden-

3532 Zkoumadla

bistryptofan a jiné příbuzné látky, viz článek *Tryptophanum*. Plocha hlavního píku na chromatogramu je nejméně 99,0 % plochy všech píků.

Acetyltyrosinethylester R $C_{13}H_{17}NO_4 \cdot H_2O$ M_r 269,3

CAS 36546-50-6

Monohydrát N-acetyl-L-tyrosinethylesteru; monohydrát ethyl-(S)-2-acetamido-3-(4-hydroxyfenyl)-propionátu

Bílý krystalický prášek vhodný ke stanovení obsahu chymotrypsinu.

$[\alpha]_D^{20}$: +21° až +25°; měří se roztok 10,0 g/l v lihu 96% R.

$A_{1cm}^{1\%}$: 60 až 68; měří se při 278 nm v lihu 96% R.

Acetyltyrosinethylester 0,2 mol/l RS

0,54 g acetyltyrosinethylesteru R se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10,0 ml.

Adenosin R $C_{10}H_{13}N_5O_4$ M_r 267,2

CAS 58-61-7

6-Amino-9-β-D-ribofuranosyl-9H-purin

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v lihu 96% a v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích kyselin.

TT: asi 234 °C.

Agarosa-DEAE pro výměnnou iontovou chromatografii R

CAS 57407-08-6

Sít'ovaná agarosa substituovaná dimethylaminoethylovými skupinami, ve formě kuliček.

Agarosa pro elektroforézu R

CAS 9012-36-6

Neutrální lineární polysacharid, jehož hlavní podíl je odvozen od agaru.

Bílý až téměř bílý prášek, prakticky nerozpustný ve studené vodě, velmi těžce rozpustný v horké vodě.

Agarosa pro chromatografii R

CAS 9012-36-6

Jsou to nabobtnalé kuličky o průměru 60 μm až 140 μm ve formě 4% suspenze ve vodě R. Používá se k dělení bílkovin s M_r 6 · 10⁴ až 20 · 10⁶ a k dělení polysacharidů s M_r 3 · 10³ až 5 · 10⁶ metodou vylučovací chromatografie.

Agarosa sít'ovaná pro chromatografii R

CAS 61970-08-9

Připravuje se z agarosy reakcí s 2,3-dibrompropanolem v silně alkalickém prostředí.

Je dodávána jako nabobtnalé kuličky o průměru 60 μm až 140 μm ve formě 4% suspenze ve vodě R. Používá se k dělení bílkovin s M_r 6 · 10⁴ až 20 · 10⁶ a k dělení polysacharidů s M_r 3 · 10³ až 5 · 10⁶ metodou vylučovací chromatografie.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3533

Agarosa síťovaná pro chromatografii R1

CAS 65099-79-8

Připravuje se z agarosy reakcí s 2,3-dibrompropanolem v silně alkalickém prostředí. Je dodávána jako nabobtnalé kuličky o průměru 60 μm až 140 μm ve formě 4% suspenze ve vodě R. Používá se k dělení bílkovin s M_r 7 · 10⁴ až 40 · 10⁶ a polysacharidů s M_r 1 · 10⁵ až 2 · 10⁷ metodou vylučovací chromatografie.

Agarosa síťovaná polyakrylamidem R

Je to agarosa síťovaná polyakrylamidem. Je vhodná pro dělení globulinů s M_r 2 · 10⁴ až 35 · 10⁴.

Akonitin RC₃₄H₄₇NO₁₁ M_r 645,8

CAS 302-27-2

Bezbarvé krystaly nebo bílý až slabě nažloutlý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96% a etheru.

TT: 200 °C až 205 °C, za rozkladu.

Akrylamid RC₃H₅NO M_r 71,1

CAS 79-06-1

Propenamid

Bezbarvé nebo bílé vločky nebo bílý až téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, snadno rozpustný v ethanolu.

TT: asi 84 °C.

Akrylamid-bisakrylamid (29 : 1) 30% RS

Připraví se roztok obsahující 290 g akrylamidu R a 10 g methylenbisakrylamidu R v 1 litru teplé vody R a zfiltruje se.

Akrylamid-bisakrylamid (36,5 : 1) 30% RS

Připraví se roztok obsahující 292 g akrylamidu R a 8 g methylenbisakrylamidu R v 1 litru teplé vody R a zfiltruje se.

Aktivní uhlí R

Viz článek *Carbo activatus*.

Alanin R

Viz článek *Alaninum*.

β-Alanin RC₃H₇NO₂ M_r 89,1

CAS 107-95-9

Kyselina 3-aminopropionová

3534 Zkoumadla

Obsahuje nejméně 99,0 % $C_3H_7NO_2$.

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu a v etheru.

TT: asi 200 °C, za rozkladu.

Albumin hovězí R

CAS 9048-46-8

Obsahuje asi 96 % bílkovin. Bílý až světle žlutavě hnědý prášek.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,800 g zkoušené látky.

Albumin hovězí použitý ke stanovení účinnosti tetracosaktidu je prostý pyrogenních látek, bez proteolytické aktivity přezkoušené vhodnou metodou např., za použití chromogeního substrátu a bez kortikosteroidní aktivity stanovené měřením fluorescence popsaným ve stanovení účinnosti v článku *Tetracosactidum*.

Albumin lidský RS

Viz článek *Albumini humani solutio*.

Albumin lidský RS1

Albumin lidský RS se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) na koncentraci bílkoviny 1 g/l. Hodnota pH tohoto roztoku se upraví pomocí *kyseliny octové ledové R* na 3,5 až 4,5.

Aldehyddehydrogenasa R

CAS 9028-88-0

Je to enzym získaný z pekařských kvasnic, který oxiduje acetaldehyd na kyselinu octovou za přítomnosti nikotinamid-adenin-dinukleotidu, draselných solí a thiolů při pH 8,0.

Aldehyddehydrogenasa RS

Množství *aldehyddehydrogenasy R* odpovídající 70 jednotkám se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml. Tento roztok je stabilní 8 h při 4 °C.

Alizarin S R $C_{14}H_7NaO_7S \cdot H_2O$ M_r 360,3

CAS 130-22-3

Colour Index 58005; Schultz 1145

Sodná sůl kyseliny 3,4-dihydroxy-2-antrachinonsulfonové monohydrát

Oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Alizarin S RS

Roztok 1 g/l.

Zkouška citlivosti. Zkouší se roztok za podmínek uvedených u *chloristanu barnatého 0,05 mol/l VS* (4.2.2.); žluté zbarvení se změní na oranžově červené.

Barevný přechod. pH 3,7 (žlutá) až pH 5,2 (fialová).

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3535

Allylisothiokyanat R C_4H_5NS M_r 99,2

CAS 57-06-7

Bezbarvá čirá kapalina, silně dráždicí, těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%.

 d_{20}^{20} : asi 1,015. TV : 148 °C až 154 °C.**Aloin R** $C_{21}H_{22}O_9 \cdot H_2O$ M_r 436,4

CAS 1415-73-2

Barbaloin

10-(β -D-Glukopyranosyl)-1,8-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)anthron monohydrát.

Žluté jehličky nebo žlutý až tmavě žlutý krystalický prášek, na vzduchu a na světle tmavnoucí. Je mírně rozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu, roztocích alkalických hydroxidů a amoniaku a velmi těžce rozpustný v etheru.

$A_{1cm}^{1\%}$: asi 192 při 269 nm, asi 226 při 296,5 nm, asi 259 při 354 nm, počítáno na bezvodou látku; měří se roztok v *methanolu R*.

Chromatografie: Látka se zkouší za stejných podmínek a ve stejné koncentraci jako je uvedeno v článku *Frangulae cortex*. Na chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

Amidosíran amonný R $NH_2SO_3NH_4$ M_r 114,1

CAS 7773-06-0

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

 TT : asi 130 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Aminoazobenzen R $C_{12}H_{11}N_3$ M_r 197,2

CAS 60-09-3

Colour Index 11000

4-Aminoazobenzen

Hnědožluté jehličky s modravým leskem, těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

 TT : asi 128 °C.**Aminobutanol R** $C_4H_{11}NO$ M_r 89,1

CAS 5856-63-3

(R)-2-Amino-1-butanol

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou, dobře rozpustná v lihu 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,94. n_D^{20} : asi 1,453. TV : asi 180 °C.

3536 Zkoumadla

4-Aminofenol R C_6H_7NO M_r 109,1

CAS 123-30-8

Bílý nebo slabě zbarvený krystalický prášek, vlivem světla a vzduchu tmavne. Je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu.

TT: asi 186 °C, za rozkladu.

Uchovává se chráněn před světlem.

Aminochlorbenzofenon R $C_{13}H_{10}ClNO$ M_r 231,7

CAS 719-59-5

2-Amino-5-chlorbenzofenon

Žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 97 °C.

Chromatografie: Zkouší se za podmínek popsanych v článku *Chlordiazepoxidum hydrochloridum*. Nanáší se 5 µl roztoku 0,5 g/l v *methanolu R*. Na chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna, R_F asi 0,9.

Uchovává se chráněn před světlem.

Aminonitrobenzofenon R $C_{13}H_{10}N_2O_3$ M_r 242,2

CAS 1775-95-7

2-Amino-5-nitrobenzofenon

Žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v tetrahydrofuranu, těžce rozpustný v methanolu.

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: 690 až 720 při 233 nm; měří se roztok 0,01 g/l v *methanolu R*.

TT: asi 160 °C.

Aminopolyether R $C_{18}H_{36}N_2O_6$ M_r 376,5

CAS 23978-09-8

4,7,13,16,21,24-Hexaoxa-1,10-diazabicyklo[8,8,8]hexakosan

TT: 70 °C až 73 °C.

3-Aminopropanol R C_3H_9NO M_r 75,1

CAS 156-87-6

3-Amino-1-propanol

Čirá bezbarvá viskózní kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,99.

n_D^{20} : asi 1,461.

TT: asi 11 °C.

Aminopyrazolon R $C_{11}H_{13}N_3O$ M_r 203,2

CAS 83-07-8

4-Amino-1-fenyl-2,3-dimethyl-5-pyrazolon; 4-aminoantipyrin

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3537

Světle žluté jehličky nebo prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.
TT: asi 108 °C.

Aminopyrazolon RS

Roztok 1 g/l v tlumivém roztoku o *pH* 9,0.

Amoniak 32% R

NH₃ *M_r* 17,03 CAS 7664-41-7

Obsahuje nejméně 32,0 % NH₃.

Čirá bezbarvá kapalina.

*d*₂₀²⁰: 0,883 až 0,889.

Stanovení obsahu. Skleněná baňka se zabroušenou zátkou se přesně zváží s 50,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS*, přidají se 2 ml zkoušené látky a znovu se zváží. Titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *červeně methylové směšného indikátoru RS*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 17,03 mg NH₃.

Uchovává se chráněn před atmosférickým oxidem uhličitým při teplotě pod 20 °C.

Amoniak 26% R

Viz článek *Ammoniae solutio concentrata*.

Amoniak 17,5% RS

Obsahuje 170 g/l až 180 g/l NH₃ (*M_r* 17,03).

Příprava. 67,0 g *amoniaku 26% R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

*d*₂₀²⁰: 0,931 až 0,934.

Jestliže se použije pro limitní zkoušku na železo, vyhovuje následující dodatečné zkoušce.

5 ml se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se rozpustí v 10 ml *vody R*. Po přidání 2 ml roztoku *kyseliny citronové R* (200 g/l) a 0,1 ml *kyseliny thioglykolové R* se roztok zalkalizuje *amoniakem 17,5% RS* a zředí se *vodou R* na 20 ml; nevzniká žádné růžové zbarvení.

Uchovává se chráněn před atmosférickým oxidem uhličitým a při teplotě nižší než 20 °C.

Amoniak zředěný RS1

Obsahuje 100 g/l až 104 g/l NH₃ (*M_r* 17,03).

Příprava. 41 g *amoniaku 26% R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

Amoniak zředěný RS2

Obsahuje 33 g/l až 35 g/l NH₃ (*M_r* 17,03).

Příprava. 14 g *amoniaku 26% R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

3538 Zkoumadla

(1R)-(-)-Amonium-10-kafrsulfonat R $C_{10}H_{23}NO_4S$ M_r 253,4Obsahuje nejméně 97,0 % sloučeniny $C_{10}H_{23}NO_4S$. $[\alpha]_D^{20}$: $-18^\circ \pm 2^\circ$; měří se roztok (50 g/l) ve vodě R.**Amonium-1-pyrrolidinylidithiokarbamat R**Viz odstavec *Pyrrolidinylidithiokarbamat amonný R*.**Amoxicilin trihydrát R**Viz článek *Amoxicillinum trihydricum*. **α -Amylasy R**1,4- α -D-glukan-glukanohydrolasa (EC 3.2.1.1)

Bílý až světle hnědý prášek.

 α -Amylasy RSRoztok α -amylasy R s účinností 800 FAU/g.**Amylen R** C_5H_{10} M_r 70,1 CAS 513-35-9

2-Methyl-2-buten

Velmi hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: 37,5 °C až 38,5 °C.

Anethol R $C_{10}H_{12}O$ M_r 148,2 CAS 4180-23-8

1-Methoxy-4-(1-propenyl)benzen

Bílá krystalická hmota do 20 °C až 21 °C, nad 23 °C kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu, v etheru, v ethylacetatu a etheru petrolejovém.

 n_D^{25} : asi 1,56.

TV: asi 230 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku odpovídající *trans*-anetholu, s retenčním časem asi 41 min, je nejméně 99,0 % z celkové plochy píků.

***cis*-Anethol R** $C_{10}H_{12}O$ M_r 148,2*(Z)*-1-Methoxy-4-(1-propenyl)benzen

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3539

Bílá krystalická hmota do 20 °C až 21 °C, nad 23 °C kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu, dobře rozpustný v etheru, ethylacetatu a v etheru petrolejovém.

n_D^{25} : asi 1,56.

TV: asi 230 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 92,0 % z celkové plochy píků.

Anex R

Je to iontoměnič v Cl⁻ cyklu obsahující kvartérní amoniové skupiny [-CH₂N⁺(CH₃)₃] navázané na polymerní mřížku z polystyrenu zesíťovaného s 2 % divinylbenzenu. Vyrábí se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla ve zkouškách, kde je použit.

Iontoměnič se promývá na skleněném filtru (40) *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* až do negativní reakce na chloridy v eluátu. Potom se promývá *vodou R* až do neutrální reakce.

Čerstvě suspendovaný iontoměnič ve *vodě prosté amonia R* se uchovává chráněn před atmosférickým oxidem uhličitým.

Anex pro chromatografii silně zásaditý R

Pryskyřice s kvartérními aminoskupinami připojenými k mřížce latexu síťovaného s divinylbenzenem.

Anex silně zásaditý R

Pryskyřice gelového typu v OH⁻ cyklu obsahující kvartérní amoniové skupiny [-CH₂N⁺(CH₃)₃, typ 1] navázané na polymerní mřížku z polystyrenu zesíťovaného s 8 % divinylbenzenu.

Hnědé průsvitné kuličky.

Velikost částic: 0,2 mm až 1,0 mm.

Vlhkost: asi 50 %.

Celková výměnná kapacita: nejméně 1,2 mekv/ml.

Anhydrid kyseliny maleinové R

C₄H₂O₃

M_r 98,1

CAS 108-31-6

2,5-Furandion

Bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě za tvorby kyseliny maleinové, velmi snadno rozpustné v acetonu a v ethylacetatu, snadno rozpustné v toluenu, dobře rozpustné v lihu 96% za tvorby estere, velmi těžce rozpustné v etheru petrolejovém.

TT: asi 52 °C.

Zbytky nerozpustné v toluenu. Nejvýše 5 % (kyselina maleinová).

3540 Zkoumadla**Anhydrid kyseliny maleinové RS**

5 g *anhydridu kyseliny maleinové R* se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 100 ml. Roztok je použitelný jeden měsíc. Pokud je roztok zakalen, zfiltruje se.

Anhydrid kyseliny propionové R

$C_6H_{10}O_3$ M_r 130,1 CAS 123-62-6

Čirá bezbarvá kapalina, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

d_{20}^{20} : asi 1,01.

TV: asi 167 °C.

Anilin R

C_6H_7N M_r 93,1 CAS 62-53-3

Aminobenzen

Bezbarvá až slabě nažloutlá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

d_{20}^{20} : asi 1,02.

TV: 183 °C až 186 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Anisaldehyd R

$C_8H_8O_2$ M_r 136,1 CAS 123-11-5

4-Methoxybenzaldehyd

olejovitá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: asi 248 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % z celkové plochy píků.

Anisaldehyd RS

V následujícím pořadí se smíchá 0,5 ml *anisaldehydu R*, 10 ml *kyseliny octové ledové R*, 85 ml *methanolu R* a 5 ml *kyseliny sírové R*.

Anisaldehyd RS1

K 10 ml *anisaldehydu R* se přidá 90 ml *lihu 96% R*, zamíchá se, přidá se 10 ml *kyseliny sírové R* a opět se zamíchá.

p-Anisidin R

C_7H_9NO M_r 123,2 CAS 104-94-9

4-Methoxyanilin

Bílé krystaly, mírně rozpustné ve vodě a dobře rozpustné v ethanolu.

Obsahuje nejméně 97,0 % sloučeniny C_7H_9NO .

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3541

Upozornění: dráždí pokožku, má senzibilizační účinky.

Uchovává se chráněn před světlem při teplotě 0 °C až 4 °C. Skladováním p-anisidin tmavne v důsledku oxidace. Zbarvené zkoumadlo může být redukováno a odbarveno následujícím postupem: 20 g *p-anisidinu R* se rozpustí v 500 ml *vody R* při 75 °C. Přidá se 1 g *siřičitanu sodného R* a 10 g *aktivního uhlí R* a míchá se 5 min. Zfiltruje se, filtrát se ochladí asi na 0 °C a při této teplotě se nechá stát nejméně 4 h. Krystaly se odfiltrují, promyjí se malým množstvím *vody R* při asi 0 °C a usuší se ve vakuu nad *oxidem fosforečným R*.

Analyt pro izoelektrickou fokusaci pH 3 až 5 R

14,71 g *kyseliny glutamové R* se rozpustí ve *vodě R*. Přidá se 33 ml *kyseliny fosforečné R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml (kyselina glutamová 0,1 mol/l, kyselina fosforečná 0,5 mol/l).

Anthracen R

$C_{14}H_{10}$

M_r 178,2

CAS 120-12-7

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v chloroformu.

TT: asi 218 °C.

Anthron R

$C_{14}H_{10}O$

M_r 194,2

CAS 90-44-8

9(10H)-Anthracenon

Světle žlutý krystalický prášek.

TT: asi 155 °C.

Antisérum vztekliny konjugované s fluoresceinem R

Imunoglobulinová frakce s vysokým protilátkovým titrem vztekliny připravená ze séra vhodných zvířat, která byla imunizována inaktivovaným virem vztekliny. Imunoglobulin se konjuguje s isothiokyanatofluoresceinem.

Antitrombin III R

CAS 90170-80-2

Specifická účinnost je nejméně 6 m.j. v miligramu.

Je to frakce lidské krevní plazmy přečištěná heparin-agarosovou chromatografií.

Antitrombin III RS1

Antitrombin III R se rozpustí podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem trometamolvým s chloridem sodným o pH 7,4* tak, aby 1 ml obsahoval 1 m.j.

Antitrombin III RS2

Antitrombin III R se rozpustí podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem trometamolvým s chloridem sodným o pH 7,4* tak, aby 1 ml obsahoval 0,5 m.j.

3542 Zkoumadla**Apigenin R** $C_{15}H_{10}O_5$ M_r 270,2

CAS 520-36-5

4',5,7-trihydroxyflavon

Světlý nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 310 °C, za rozkladu.

Chromatografie. Zkouší se postupem předepsaným v článku *Chamomillae romanae flos*. Nanáší se 10 µl roztoku 0,25 g/l v *methanolu R*. V horní třetině chromatogramu je hlavní skvrna se žlutozelenou fluorescencí.

Apigenin-7-glukosid R $C_{21}H_{20}O_{10}$ M_r 432,6

Světlý nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

TT: 198 °C až 201 °C.

Chromatografie. Zkouší se postupem předepsaným v článku *Chamomillae romanae flos*. Nanáší se 10 µl roztoku (0,25 g/l) v *methanolu R*. Ve střední třetině chromatogramu je hlavní skvrna se žlutou fluorescencí.

Aprotinin R

Viz článek *Aprotininum*.

Arabinosa R $C_5H_{10}O_5$ M_r 150,1

CAS 87-72-9

L-(+)-Arabinosa; β-L-arabinopyranosa

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě.

$[\alpha]_D^{20}$: +103° až +105°; měří se roztok (50 g/l) ve vodě R obsahující asi 0,05 % NH₃.

Arabská klovatina R

Viz článek *Acaciae gummi*.

Arabská klovatina RS

100 g *arabské klovatiny R* se rozpustí v 1000 ml *vody R*, míchá se pomocí mechanického míchadla 2 h a odstředí se 30 min při asi 2000 g_n, dokud roztok není čirý.

Uchovává se v polyetylenových obalech o obsahu asi 250 ml při 0 °C až -20 °C.

Arbutin R $C_{12}H_{16}O_7$ M_r 272,3

CAS 497-76-7

Arbutosid; 4-hydroxyfenyl-β-D-glukopyranosid

Jemné bílé lesklé jehličky, snadno rozpustné ve vodě, velmi dobře rozpustné v horké vodě, dobře rozpustné v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

$[\alpha]_D^{20}$: asi -64°; měří se roztok (20 g/l).

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3543

TT: asi 200 °C.

Chromatografie. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Uvae ursi folium*; na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Arginin R

Viz článek *Argininum*.

Argon R

Ar A_r 39,95 CAS 7440-37-1

Obsahuje nejméně 99,995 % (V/V) Ar.

Oxid uhelnatý. 10 l argonu R se při průtoku 4 l/h zkouší na CO za podmínek uvedených ve stati (2.5.25, *Metoda I*). Spotřebuje se nejvýše 0,05 ml *thiosíranu sodného 0,002 mol/l VS* (0,6 ml/m³).

Arsenitan sodný RS

0,50 g *oxidu arsenitého R* se rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidají se 2,0 g *hydrogenuhličitanu sodného R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Askorban sodný RS

CAS 134-03-2

3,5 g *kyseliny askorbové R* se rozpustí ve 20 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*. Připraví se v čas potřeby.

L-Aspartyl-L-fenylalanin R

$C_{13}H_{16}N_2O_5$ M_r 280,3 CAS 13433-09-5

Kyselina (S)-3-amino-N-[(S)-2-fenylethyl-1-karboxy]jantarová

Bílý prášek.

TT: asi 210 °C, za rozkladu.

Azid sodný R

NaN_3 M_r 65,0 CAS 26628-22-8

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

Azomethin H R

$C_{17}H_{12}NNaO_8S_2$ M_r 445,4 CAS 5941-07-1

Sodná sůl kyseliny 4-hydroxy-5-(2-hydroxybenzylidenamino)-2,7-naftalendisulfonové

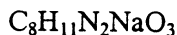
Azomethin H RS

0,45 g *azomethinu H R* a 1,0 g *kyseliny askorbové R* se rozpustí za mírného zahřívání ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

3544 Zkoumadla

Barbital R

Viz článek *Barbitalum*.

Barbital sodná sůl R M_r 206,2

CAS 144-02-5

Sodná sůl kyseliny 5,5-diethylbarbiturové

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_8H_{11}N_2NaO_3$.

Bezbarvé krystaly nebo bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, těžce rozpustná v lihu 96%, prakticky nerozpustná v etheru.

Barvicí roztok modři kyselé 83 RS

Roztok *modři kyselé 83 R* (1,25 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *metanolu R* a *vody R* (1 + 4 + 5).

Benzaldehyd R M_r 106,1

CAS 100-52-7

Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 1,05.

n_D^{20} : asi 1,545.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 177 °C až 180 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Benzen R M_r 78,1

CAS 71-43-2

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: asi 80 °C.

Benzethoniumchlorid R M_r 466,1

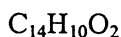
CAS 121-54-0

Benzyl-dimethyl-(2-{2-[4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)fenoxy]ethoxyethyl})amoniumchlorid monohydrát

Jemný bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.

TT: asi 163 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Benzil R M_r 210,2

CAS 134-81-6

Žlutý krystalický prášek, nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, ethylacetatu a toluenu.

TT: 95 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3545

Benzin lékařský R

Vysoce rafinovaná směs dearomatizovaných parafinických uhlovodíků vyrobená frakční destilací ropy. Čirá bezbarvá snadno zápalná kapalina s typickým pachem. Je prakticky nerozpustná ve vodě. Mísí se s ethanolem, lihem 96%, etherem, chloroformem, benzenem a s oleji, s výjimkou oleje ricinového. Snadno se odpařuje a páry, které jsou těžší než vzduch, jsou snadno zápalné, ve směsi se vzduchem jsou výbušné.

d_{20}^{20} : 0,652 až 0,691.

Obsah benzenu. Nejvýše 0,5 %.

Destilační rozmezí (2.2.11). 98 % predestiluje při 35 °C až 100 °C, do 50 °C smí predestilovat nejvýše 15 ml.

Pro farmaceutické a lékařské účely vyhovuje požadavkům ČSN 65 6544.

Benzofenon R

$C_{13}H_{10}O$

M_r 182,2

CAS 119-61-9

Difenylnmethanon

Hranolovité krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a etheru.

TT: asi 48 °C.

Benzoin R

$C_{14}H_{12}O_2$

M_r 212,3

CAS 579-44-2

2-Hydroxy-1,2-difenylethanon

Slabě nažloutlé krystaly, velmi těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v acetonu, dobře rozpustné v horkém lihu 96%, mírně rozpustné v etheru.

TT: asi 137 °C.

Benzoylargininethylesterhydrochlorid R

$C_{15}H_{23}ClN_4O_3$

M_r 342,8

CAS 2645-08-1

(S)-1-[4-(ethoxykarbonyl)-4-(benzamido)butyl]guanidiniumchlorid

Bílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě a ethanolu, prakticky nerozpustný v etheru.

$[\alpha]_D^{20}$: -15° až -18° ; měří se roztok 10,0 g/l.

$A_{1cm}^{1\%}$: 310 až 340, měří se roztok 0,010 g/l při 227 nm.

TT: asi 129 °C.

Benzoylchlorid R

C_7H_5ClO

M_r 140,6

CAS 98-88-4

Bezbarvá k slzám dráždicí kapalina, dobře rozpustná v etheru, rozkládá se vodou a lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 1,21.

TV: asi 197 °C.

3546 Zkoumadla***N-Benzoyl-L-prolyl-L-fenylalanyl-L-arginyl-N-(4-nitrofenyl)amoniumacetat R***
 $C_{35}H_{42}N_8O_8$ M_r 703***Benzylalkohol R***

Viz článek *Alcohol benzylicus*.

Benzylbenzoat R

Viz článek *Benzylis benzoas*.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek popsaných v článku *Balsmum peruvianum*. Nanáší se 20 μ l roztoku 0,3% (V/V) v *ethylacetatu R*. Po postřiku a zahřátí je na chromatogramu hlavní skvrna o R_F asi 0,8.

Benzylcinnamat R $C_{16}H_{14}O_2$ M_r 238,3

CAS 103-41-3

Benzylester kyseliny skořicové

Bezbarvé nebo nažloutlé krystaly prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 39 °C.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek popsaných v článku *Balsamum peruvianum*. Nanáší se 20 μ l roztoku (3 g/l) v *ethylacetatu R*. Po postřiku a zahřátí je na chromatogramu patrná hlavní skvrna o R_F asi 0,6.

Benzylpenicilin sodná sůl R

Viz článek *Benzylpenicillinum natricum*.

2-Benzylpyridin R $C_{12}H_{11}N$ M_r 169,2

CAS 101-82-6

Obsahuje nejméně 98,0 % sloučeniny $C_{12}H_{11}N$.

Žlutá kapalina.

TT: 13 °C až 16 °C.

Bergapten R $C_{12}H_8O_4$ M_r 216,2

CAS 484-20-8

5-Methoxypsoralen; 4-methoxyfuro[3,2-g]benzopyranon

Bezbarvé krystaly prakticky nerozpustné ve vodě, mírně rozpustné v lihu 96% a těžce rozpustné v kyselině octové ledové.

TT: asi 188 °C.

Betulin R $C_{30}H_{50}O_2$ M_r 442,7

CAS 473-98-3

Lup-20(39)-en-3 β ,28-diol

Bílý krystalický prášek.

TT: 248 °C až 251 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3547

Bibenzyl R $C_{14}H_{14}$ M_r 182,3

CAS 103-29-7

1,2-Difenylethan

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: 50 °C až 53 °C.

4-Bifenylool R $C_{12}H_{10}O$ M_r 170,2

CAS 90-43-7

4-Fenylfenol

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: 164 °C až 167 °C.

Bisbenzimid R $C_{25}H_{27}Cl_3N_6O \cdot 5H_2O$ M_r 624,0

CAS 23491-44-3

Pentahydrát 4-{5-[5-(4-methyl-1-piperazinyl)-2-benzimidazolyl]-2-benzimidazolyl}fenoltrihydrochloridu

Bisbenzimid základní RS

5 mg bisbenzimidu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Uchovává se v temnu.

Bisbenzimid pracovní RS

V čas potřeby se 100 µl bisbenzimidu základního RS zředí tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 7,4 na 100 ml.

Bis(2-ethylhexyl)ftalat R $C_{24}H_{38}O_4$ M_r 390,5

CAS 117-81-7

Bezbarvá olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v organických rozpouštědlech.

d_{20}^{20} : asi 0,98.

n_D^{20} : asi 1,486.

Viskozita (2.2.9): asi 80 mPa.s (80 cP).

Bismutičnan sodný R $NaBiO_3$ M_r 280,0

CAS 12232-99-4

Obsahuje nejméně 85,0 % $NaBiO_3$.

Žlutý až žlutavě hnědý prášek, který se za vlhka nebo při zvýšené teplotě pomalu rozkládá, prakticky nerozpustný ve studené vodě.

Stanovení obsahu. 0,200 g se suspenduje v 10 ml roztoku jodidu draselného R (200 g/l) a přidá se 20 ml kyseliny sírové zředěné RS. Titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za přítomnosti 1 ml škrobu RS až do oranžového zbarvení.

1 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 14,00 mg $NaBiO_3$.

3548 Zkoumadla

N,O-Bis(trimethylsilyl)acetamid R $C_8H_{21}NOSi_2$ M_r 203,4

CAS 10416-59-8

Bezbarvá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,83.***Biuret R*** $C_2H_5N_3O_2$ M_r 103,1

CAS 108-19-0

Karbamoylmočovina

Bílé hygroscopické krystaly, dobře rozpustné ve vodě, mírně rozpustné v lihu 96%, velmi těžce rozpustné v etheru.

TT: 188 °C až 190 °C, za rozkladu.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Borneol R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,3

CAS 507-70-0

endo-2-Bornanol, *endo*-1,7,7-trimethylbicyklo[2,2,1]heptan-2-ol

Bezbarvé krystaly, snadno sublimující. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, v etheru a etheru petrolejovém.

TT: asi 208 °C.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 μ l roztoku (1 g/l) v *toluenu R* a vyvíjí se *chloroformem R* po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* (10 ml pro desku 200 mm x 200 mm) a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

Bornylacetat R $C_{12}H_{20}O_2$ M_r 196,3

CAS 5655-61-8

endo-2-Bornylacetat

Bezbarvé krystaly nebo bezbarvá kapalina; je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 28 °C.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 μ l roztoku (2 g/l) v *toluenu R* a vyvíjí se *chloroformem R* po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* (10 ml pro desku 200 mm x 200 mm) a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

Brom R Br_2 M_r 159,8

CAS 7726-95-6

Hnědočervená dýmající kapalina, je těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 3,1.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3549

Brom RS

30 g *bromu R* a 30 g *bromidu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

Bromeliny R

CAS 37189-34-7

Koncentrát proteolytických enzymů získaný z *Ananas comosus* Merr. Nevýrazně žlutý prášek.

Účinnost. 1,0 g látky uvolní v průběhu 20 min asi 1,2 g dusíku aminoskupiny z roztoku *želatiny R* při 45 °C a pH 4,5.

Bromeliny RS

Roztok *bromelinů R* (10 g/l) ve směsi objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 5,5* a roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) (1 + 9).

Bromičnan draselný RKBrO₃ M_r 167,0

CAS 7758-01-2

Bílý zrnitý prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Bromid draselný R

Viz článek *Kalii bromidum*.

Při použití pro infračervenou absorpční spektrofotometrii (2.2.24) vyhovuje následujícímu požadavku:

2 mm silný výlisk látky sušený 1 h při 250 °C má téměř rovnou základní linii v oblasti při 4000 cm⁻¹ až 620 cm⁻¹. Nevykazuje žádné maximum absorpce vyšší než 0,02 nad touto linií s výjimkou maxim při 3440 cm⁻¹ a 1630 cm⁻¹ (voda).

Bromid jodný R

IBr

 M_r 206,8

CAS 7789-33-5

Modročerné až hnědočerné krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96%, v etheru a v kyselině octové ledové.

TV: asi 116 °C.

TT: asi 40 °C.

Uchovává se v chladu, chráněn před světlem.

Bromid jodný RS

20 g *bromidu jodného R* se rozpustí v *kyselině octové ledové R* a zředí se jí na 1000 ml.

Uchovává se chráněn před světlem.

Bromid rtuťnatý RHgBr₂ M_r 360,4

CAS 7789-47-1

Bílé nebo slabě žluté krystaly nebo krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

3550 Zkoumadla**Bromkyan RS**

CAS 506-68-3

K bromové vodě R se přidává po kapkách za chlazení roztok thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l RS, dokud nezmizí žlutá barva. Připravuje se v čas potřeby.

Bromnan sodný RS

Za chlazení v ledové lázni se smíchá 20 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS a 500 ml vody R, přidá se 5 ml bromu RS a pomalu se míchá do rozpuštění.

Připravuje se v čas potřeby.

Bromová voda R

3 ml bromu R se třepou se 100 ml vody R do nasycení.

Uchovává se nad přebytkem bromu R chráněna před světlem.

Bromová voda R1

0,5 ml bromu R se třepe se 100 ml vody R.

Uchovává se chráněna před světlem a je použitelná nejdéle 1 týden.

5-Brom-2'-deoxyuridin R $C_9H_{11}BrN_2O_5$ M_r 307,1

CAS 59-14-3

5-Brom-1-(2-deoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-1H,3H-pyrimidin-2,4-dion

TT: asi 194 °C.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Idoxuridinum*; nanáší se 5 μ l roztoku 0,25 g/l. Získaný chromatogram vykazuje jenom jednu hlavní skvrnu.

Brucin R $C_{23}H_{26}N_2O_4 \cdot 2H_2O$ M_r 430,5

CAS 357-57-3

10,11-Dimethoxystrychnin dihydrát

Bezbarvé krystaly těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 178 °C.

1-Butanol R $C_4H_{10}O$ M_r 74,1

CAS 71-36-3

Čirá bezbarvá kapalina mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 0,81.

TV: 116 °C až 119 °C.

2-Butanol R1 $C_4H_{10}O$ M_r 74,1

CAS 78-92-2

Sek.butylalkohol

Obsahuje nejméně 99,0 % $C_4H_{10}O$.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3551

Čirá bezbarvá kapalina dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,81.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 99 °C až 100 °C.

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií za podmínek popsaných v článku *Alcohol isopropylicus*.

2-Butanon R

C_4H_8O

M_r 72,1

CAS 78-93-3

Ethylmethylketon

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96 % a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,81.

TV: 79 °C až 80 °C.

Butansulfonan sodný R

$C_4H_9NaO_3S$

M_r 160,2

CAS 2386-54-1

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: vyšší než 300 °C.

Butylacetat R

$C_6H_{12}O_2$

M_r 116,2

CAS 123-86-4

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,88.

n_D^{20} : asi 1,395.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 123 °C až 126 °C.

Butylacetat R1

$C_6H_{12}O_2$

M_r 116,2

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,883.

n_D^{20} : asi 1,395.

l-Butanol. Nejvýše 0,2 %, stanoví se plynovou chromatografií.

N-butylformiat. Nejvýše 0,1 %, stanoví se plynovou chromatografií.

N-butylpropionat. Nejvýše 0,1 %, stanoví se plynovou chromatografií.

Voda. Nejvýše 0,1 %.

Stanovení obsahu. Nejméně 99,5 % $C_6H_{12}O_2$, stanoví se plynovou chromatografií.

3552 Zkoumadla

Butylamin R $C_4H_{11}N$ M_r 73,1

CAS 109-73-9

1-Aminobutan

Bezbarvá kapalina mísitelná s vodou, s lihem 96% a s etherem.

 n_D^{20} : asi 1,401.

TV: asi 78 °C.

Předestilovaný se používá nejvýše 1 měsíc.

Butylparaben RViz článek *Butylparabenum*.**Butyrolakton R** $C_4H_6O_2$ M_r 86,1

CAS 96-48-0

Dihydro-2(3H)-furanon, γ -butyrolakton

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou, dobře rozpustná v methanolu a etheru.

 n_D^{25} : asi 1,435.

TV: asi 204 °C.

Butylhydroxytoluen RViz článek *Butylhydroxytoluenum*.**Cefažlindihydrochlorid R** $C_{28}H_{40}Cl_2N_2O_4 \cdot 7H_2O$ M_r 666

CAS 5884-43-5

7',10,11-Trimethoxy-6'-emetanol-dihydrochlorid heptahydrát

Bílý až nažloutlý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v lihu 96%.

 $[\alpha]_D^{20}$: asi +25°; měří se roztok 20 g/l.**Celiprololiumchlorid nečistota B R** $C_{20}H_{33}N_3O_4$ M_r 379,5

N'-[3-acetyl-4-(3-terc.butylamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]-N-terc.butylmočovina

Obsahuje 99,86 % $C_{20}H_{33}N_3O_4$.

Bílý krystalický prášek.

Celulosa pro chromatografii R

CAS 9004-34-6

Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30 μm .

Příprava tenké vrstvy: 15 g se suspenduje ve 100 ml *vody R*, homogenizuje se 60 s v elektrickém mixéru a pečlivě a čistě se nanese vrstva o síle 0,1 mm na desky za použití nanášecího zařízení. Suší se na vzduchu.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3553

Celulosa pro chromatografii R 1

Mikrokrytalická celulosa. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30 μm .

Příprava tenké vrstvy: 25 g se suspenduje v 90 ml vody R, homogenizuje se 60 s v elektrickém mixéru a pečlivě a čistě se nanese vrstva o síle 0,1 mm na desky za použití nanášecího zařízení. Suší se na vzduchu.

Celulosa pro chromatografii F254 R

Mikrokrytalická celulosa F₂₅₄. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30 μm s fluorescenčním indikátorem pro detekce při 254 nm.

Příprava tenké vrstvy: 25 g se suspenduje ve 100 ml vody R, homogenizuje se 60 s v elektrickém mixéru a pečlivě a čistě se nanese vrstva o síle 0,1 mm na desky za použití nanášecího zařízení. Suší se na vzduchu.

Cetrimid R

Viz článek *Cetrimidum*.

Cetrimoniumbromid R

$\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{BrN}$

M_r 364,5

CAS 57-09-0

Hexadecyltrimethylamoniumbromid

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 240 °C.

Cetylstearylalkohol R

Viz článek *Alcohol cetylicus et stearylicus*.

Cetylstearylsíran sodný R

Viz článek *Natrii cetylo- et stearylosulfas*.

Cineol R

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$

M_r 154,3

CAS 470-82-6

Eukalyptol; 1,8-epoxy-*p*-menthan

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

d_{20}^{20} : 0,922 až 0,927.

n_D^{20} : 1,456 až 1,459.

Teplota tuhnutí (2.2.18): 0 °C až 1 °C.

Destilační rozmezí (2.2.11): 174 °C až 177 °C.

Fenol. 1,0 g se třepe s 20 ml vody R. Po oddělení vrstev se k 10 ml vodné vrstvy přidá 0,1 ml chloridu železitého RS1; nevznikne žádné fialové zbarvení.

3554 Zkoumadla

Terpentýnový olej. 1,0 g se rozpustí v 5 ml roztoku *lihu R 90% (V/V)* a po kapkách se přidá čerstvě připravená *bromová voda R*. Po přidání nejvýše 0,5 ml vznikne žluté zbarvení trvající 30 min.

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,05 %. K 10,0 ml se přidá 25 ml *vody R*, odpaří se na vodní lázni a zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % z celkové plochy piků.

Cinchonidin R $C_{19}H_{22}N_2O$ M_r 294,4

CAS 485-71-2

(8*S*,9*R*)-9-Cinchonanol

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě a v etheru petrolejovém, dobře rozpustný v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$: -105° až -110°; měří se roztok (50,0 g/l) v lihu 96% R.*TT*: asi 208 °C, za rozkladu.

Uchovává se chráněn před světlem.

Cinchonin R $C_{19}H_{22}N_2O$ M_r 294,4

CAS 118-10-5

(8*R*,9*S*)-9-Cinchonanol

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96% a v methanolu, těžce rozpustný v etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$: +225° až +230°; měří se roztok (50 g/l) v lihu 96% R.*TT*: asi 263 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Cinnamaldehyd R C_9H_8O M_r 132,1

CAS 104-55-2

3-Fenyl-2-propenal, skořicový aldehyd

Nažloutlá až zelenavě žlutá olejovitá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : 1,048 až 1,051. n_D^{20} : asi 1,620.

Uchovává se v chladu, chráněn před světlem.

Cín R

Sn

 A_r 118,7

CAS 7440-31-5

Stříbrobílá zrna rozpustná v kyselině chlorovodíkové za vývoje vodíku.

Arsen (2.4.2). 0,1 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (10 µg/g).

Citral R $C_{10}H_{16}O$ M_r 152,2

CAS 5392-40-5

Směs (2E)- a (2Z)-3,7-dimethyl-2,6-oktadienal

Světle žlutá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, etherem a glycerolem.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*. Na vrstvu se nanese 10 μ l roztoku (1,0 g/l) v *toluenu R*. Chromatogram se vyvíjí směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá vysušit na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Citronan draselný R

Viz článek *Kalii citras*.

Citronan měďnatý RS

25 g *síranu měďnatého R*, 50 g *kyseliny citronové R* a 144 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml.

Citronan měďnatý RS1

25 g *síranu měďnatého R*, 50 g *kyseliny citronové R* a 144 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml. Roztok se upraví tak, aby vyhověl následujícím zkouškám:

- Ke 25,0 ml se přidají 3 g *jodidu draselného R* a potom se opatrně, v malých dávkách přidá 25 ml roztoku *kyseliny sírové R* (25%). Titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *škrobu RS* jako indikátoru před koncem titrace. Při této titraci se spotřebuje 24,5 ml až 25,5 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*.
- 10,0 ml se zředí *vodou R* na 100,0 ml a promíchá se. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 25,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* a zahřívá se 1 h na vodní lázni. Ochladí se, doplní se na původní objem *vodou R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *fenolftaleinu RS1* jako indikátoru. Při této titraci se spotřebuje 5,7 ml až 6,3 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.
- 10,0 ml se zředí *vodou R* na 100,0 ml a promíchá se. 10,0 ml tohoto roztoku se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *fenolftaleinu RS1* jako indikátoru. Při této titraci se spotřebuje 6,0 ml až 7,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

Citronan sodný R

Viz článek *Natrii citras dihydricus*.

Citronellal R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,3

CAS 106-23-0

(±)-3,7-Dimethyl-6-oktenal

Velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v alkoholech.

 d_{20}^{20} : 0,848 až 0,856.

3556 Zkoumadla

 n_D^{20} : asi 1,446. $[\alpha]_D^{25}$: asi +11,50°.**Citropten R** $C_{11}H_{10}O_4$ M_r 206,2

CAS 487-06-9

Limettin; 5,7-dimethoxykumarin

Jehličkovité krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, etheru a etheru petrolejovém, snadno rozpustné v acetonu a v lihu 96%.

TT: asi 145 °C.

Chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu GF₂₅₄ R* se nanese 10 µl roztoku (1,0 g/l) v *toluenu R* a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Cyklohexan R C_6H_{12} M_r 84,2

CAS 110-82-7

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s organickými rozpouštědly.

 d_{20}^{20} : asi 0,78.

TV: asi 80,5 °C.

Při použití ve spektrofotometrii vyhovuje následujícímu dodatečnému požadavku:

Transmittance (2.2.25); nejméně 45 % při 220 nm,
nejméně 70 % při 235 nm,
nejméně 90 % při 240 nm,
nejméně 98 % při 250 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Cyklohexan RIVyhovuje požadavkům předepsaným pro *cyklohexan R* a následujícímu požadavku:*Fluorescence* měřená při 460 nm za budicího záření při 365 nm není intenzivnější než fluorescence roztoku obsahujícího *chinin R* (0,002 µg/ml) v *kyselině sírové 0,05 mol/l RS*.**Cyklohexylamin R** $C_6H_{13}N$ M_r 99,2

CAS 108-91-8

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s běžnými organickými rozpouštědly.

 n_D^{20} : asi 1,460.

TV: 134 °C až 135 °C.

p-Cymen R $C_{10}H_{14}$ M_r 134,2

CAS 99-87-6

1-Isopropyl-4-methylbenzen

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3557

 d_{20}^{20} : 0,858. n_D^{20} : asi 1,4895.

TV: 175 °C až 178 °C.

*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum*.*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 96,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

L-Cystein R $C_3H_7NO_2S$ M_r 121,1

CAS 52-90-4

Prášek, snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v kyselině octové, prakticky nerozpustný v acetonu.

Cysteiniumchlorid RViz článek *Cysteini hydrochloridum*.**L-Cystin R** $C_6H_{12}N_2O_4S_2$ M_r 240,3

CAS 56-89-3

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů. Rozkládá se při 250 °C.

 $[\alpha]_D^{20}$: -218° až -224°; měří se v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS.**Čerň amido 10B R** $C_{22}H_{14}N_6Na_2O_9S_2$ M_r 616,5

CAS 1064-48-8

Colour Index 20470, Schultz 299

Disodná sůl kyseliny 4-amino-5-hydroxy-3-(4-nitrofenylazo)-6-fenylazo-2,7-naftalendisulfonové

Tmavě hnědý až černý prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Čerň amido 10B RSRoztok *amidočerně 10B R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové R* a *methanolu R* (10 + 90).**Čerň brilantní BN R** $C_{28}H_{18}N_5Na_4O_{14}S_4$ M_r 868,7

CAS 2519-30-4

Colour Index 28 440, Čerň BN, Nigrum BN

Tetrasodná sůl kyseliny 2-[4-(4-sulfofenylazo)-7-sulfo-1-naftylazo]-1-hydroxy-7-acetamido-naftalen-3,5-disulfonové

3558 Zkoumadla

Čerň eriochromová T R $C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ M_r 461,4

CAS 1787-61-7

Colour Index 14645; Schultz 241

Sodná sůl kyseliny 1-(1-hydroxy-2-naftylazo)-6-nitro-2-naftol-4-sulfonové

Hnědočerný prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96 %.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

Čerň eriochromová T s chloridem sodným R

Smíchá se 1,0 g černě eriochromové T R s 99 g chloridu sodného R.

Zkouška citlivosti. 50 mg se rozpustí ve 100 ml vody R. Roztok je hnědofialový. Po přidání 0,3 ml amoniaku zředěného RS1 roztok zmodrá. Po následujícím přidání 0,1 ml roztoku síranu hořečnatého R (10,0 g/l) roztok zfialoví.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

Červeň bromkresolová R $C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ M_r 540,2

CAS 115-40-2

5,5'-Dibrom-*o*-kresolsulfonftalein;4,4'-(3*H*-2,1-benzoxathiol-3-yliden)bis(2-brom-6-methylfenol)-S,S-dioxid

Narůžovělý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Červeň bromkresolová RS

50 mg červeně bromkresolové R se rozpustí ve směsi 0,92 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 0,2 ml zkoušeného roztoku se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,05 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS; roztok je modrofialový. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 5,2 (žlutá) až 6,8 (modrofialová).

Červeň fenolová RViz článek *Phenolsulfonphthaleinum*.**Červeň fenolová RS**

0,1 g červeně fenolové R se rozpustí ve směsi 2,82 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 0,1 ml zkoušeného roztoku se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R. Roztok je žlutý a přidáním nejvýše 0,1 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS vznikne červenofialové zbarvení.

Barevný přechod: pH 6,8 (žlutá) až pH 8,4 (červenofialová).

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3559

Červeň fenolová RS2

Roztok I. 33 mg *červeně fenolové R* se rozpustí v 1,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se na 100 ml *vodou R*.

Roztok II. 25 mg *síranu amonného R* se rozpustí v 235 ml *vody R*, přidá se 105 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 135 ml *kyseliny octové zředěné RS*.

25 ml roztoku I se přidá k roztoku II. V případě potřeby se upraví pH na hodnotu 4,7.

Červeň fenolová RS3

Roztok I. 33 mg *červeně fenolové R* se rozpustí v 1,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se na 50 ml *vodou R*.

Roztok II. 50 mg *síranu amonného R* se rozpustí v 235 ml *vody R*; přidá se 105 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 135 ml *kyseliny octové zředěné RS*.

25 ml roztoku I se přidá k roztoku II; v případě potřeby se upraví pH směsi na 4,7.

Červeň chinaldinová R $C_{21}H_{23}IN_2$ M_r 430,3

CAS 117-92-0

2-{2-[4-(Dimethylamino)fenyl]vinyle}-1-ethylchinoliniumjodid

Tmavě modročerný prášek, mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

Červeň chinaldinová RS

0,1 g *červeně chinaldinové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Barevný přechod. pH 1,4 (bezbarvá) do pH 3,2 (červená).

Červeň Kongo R $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ M_r 697

CAS 573-58-0

Colour Index 22120, Schultz 360

Disodná sůl 3,3'-{[1,1'-bifenyl]-4,4'-diylbis(azo)}bis(4-amino-1-naftalensulfonové kyseliny)

Červenohnědý prášek, dobře rozpustný ve vodě.

Červeň Kongo-fibrin R

Promytý fibrin rozřezaný na malé kousky se dá přes noc do roztoku *červeně Kongo R* (20 g/l) v roztoku *lihu R* 90% (V/V). Filtruje se, fibrin se promyje *vodou R* a uchovává se v *etheru R*.

Červeň kresolová R $C_{21}H_{18}O_5S$ M_r 382,4

CAS 1733-12-6

o-Kresolsulfonftalein; 4,4'-(3*H*-2,1-benzoxathiol-3-yliden)bis(2-methylfenol)-*S,S*-dioxid

Červenohnědý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Červeň kresolová RS

0,1 g *červeně kresolové R* se rozpustí ve směsi 2,65 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 20 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

3560 Zkoumadla

Zkouška citlivosti. K 0,1 ml zkoušeného roztoku se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,15 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS. Zbarvení roztoku je purpurově červené a přidáním nejvýše 0,15 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS se změní na žluté.

Barevný přechod. pH 7,0 (žlutá) až pH 8,6 (červená).

Červeň methylová R $C_{15}H_{15}N_3O_2$ M_r 269,3

CAS 493-52-7

Colour Index 13020, Schultz 250

Methylčerveň, kyselina 4'-dimethylaminoazobenzen-2-karboxylová

Tmavočervený prášek nebo fialové krystaly. Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%.

Červeň methylová RS

50 mg červeně methylové R se rozpustí ve směsi 1,86 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 50 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. Směs 0,1 ml zkoušeného roztoku a 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,05 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS se zbarví červeně a přidáním nejvýše 0,1 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS zežloutne.

Barevný přechod. pH 4,4 (červená) až pH 6,0 (žlutá).

Červeň methylová směsný indikátor RS

0,1 g červeně methylové R a 50 mg modře methylenové R se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100 ml.

Barevný přechod. pH 5,2 (červenofialová) až 5,6 (zelená).

Červeň pravá B R $C_{17}H_{13}N_3O_9S_2$ M_r 467,4

CAS 56315-29-8

Colour Index 37125, Schultz 155

2-Methoxy-4-nitrobenzendiazoniová sůl kyseliny 1,5-naftalendisulfonové

Oranžovožlutý prášek, dobře rozpustný ve vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem při teplotě 2 °C až 8 °C.

Červeň rutheniová R $Cl_6H_{42}N_{14}O_2Ru_3 \cdot 4H_2O$ M_r 858

CAS 11103-72-3

. Hnědočervený prášek, dobře rozpustný ve vodě.

Červeň rutheniová RS

80 mg červeně rutheniové R se rozpustí ve 100 ml octanu olovnatého RS.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3561

Červeň sudanová G R $C_{17}H_{14}N_2O_2$ M_r 278,3

Colour Index 12150, Schultz 149

2-Hydroxy-1-[(2-methoxyfenyl)azo]naftalen

Červenohnědý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

Chromatografie (2.2.27). Provede se tenkovrstvá chromatografie za použití vrstvy *silikagelu G R*. Nanáší se 10 μ l roztoku (0,10 g/l) v *dichlormethanu R* a vyvíjí se po dráze 10 cm stejným rozpouštědlem. Chromatogram vykazuje jen jednu hlavní skvrnu.

Danthron R $C_{14}H_8O_4$ M_r 240,2 CAS 117-10-2

1,8-Dihydroxyanthrachinon

Oranžový krystalický prášek.

TT: asi 195 °C.

Dekan R $C_{10}H_{22}$ M_r 142,3 CAS 124-18-5

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě.

 n_D^{20} : asi 1,411.

TV: asi 174 °C.

Dekanol R $C_{10}H_{22}O$ M_r 158,3 CAS 112-30-1

n-Decylalkohol

Viskózní kapalina, tuhne při asi 6 °C, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a etheru.

 n_D^{20} : asi 1,436.

TV: asi 230 °C.

Dekansulfonan sodný R $C_{10}H_{21}NaO_3S$ M_r 244,3 CAS 13419-61-9

Krystalický prášek nebo bílé či téměř bílé šupinky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

2'-Deoxyuridin R $C_9H_{12}N_2O_5$ M_r 228,2 CAS 951-78-01-(2-Deoxy- β -D-erythro-pentofuranosyl)-1H,3H-pyrimidin-2,4-dion

TT: asi 165 °C.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie za podmínek uvedených v článku *Idoxuridinum*. Nanáší se 5 μ l roztoku (0,25 g/l). Získaný chromatogram vykazuje jen jednu hlavní skvrnu.

3562 Zkoumadla***Deska s vrstvou silikagelu pro TLC R***

Skleněná, kovová nebo plastová podložka, která je potažená vrstvou silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2 μm až 10 μm pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5 μm až 40 μm pro desky používané při normální tenkovrstvé chromatografii (TLC)]. V případě potřeby je velikost částic uvedena za názvem zkoumadla použitého ve Zkoušce na čistotu, kde se použije.

Deska může obsahovat organické pojivo.

Chromatografické dělení. Na vrstvu se nanese přiměřený objem (10 μl v tenkovrstvé chromatografii a 1 μl až 2 μl ve vysoce účinné tenkovrstvé chromatografii) roztoku pro test způsobilosti TLC RS. Využívá se směsí objemových dílů *methanolu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze dlouhé 2/3 výšky desky. Deska vyhovuje, jestliže na chromatogramu jsou viditelné čtyři čistě oddělené skvrny: skvrna zeleně bromkresolové s hodnotou R_F menší než 0,15; skvrna oranžové methylové s hodnotou R_F v rozmezí 0,1 až 0,25; skvrna červeně methylové s hodnotou R_F v rozmezí 0,35 až 0,55 a skvrna červeně sudanové G s hodnotou R_F v rozmezí 0,75 až 0,98.

Deska s vrstvou silikagelu F254 pro TLC R

Vyhovuje požadavkům, které jsou uvedeny v odstavci *deska s vrstvou silikagelu pro TLC R* s následující modifikací:

Obsahuje fluorescenční indikátor pro detekci při 254 nm.

Zhášení fluorescence. Odděleně se nanese na vrstvu pět bodů zvětšujících se objemů (1 μl až 10 μl pro normální TLC desky a 0,2 μl až 2 μl pro desky HPTLC) roztoku *kyseliny benzoové R* (1 g/l) ve směsí objemových dílů *ethanolu R* a *cyklohexanu R* (15 + 85). Využívá se po dráze dlouhé přes polovinu výšky desky stejnou směsí rozpouštědel. Po odpaření rozpouštědel se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na deskách pro normální TLC jsou tmavé skvrny kyseliny benzoové na fluoreskujícím pozadí přibližně ve středu chromatogramu pro množství 2 μg a větší. Na deskách pro HPTLC jsou tmavé skvrny kyseliny benzoové na fluoreskujícím pozadí přibližně ve středu chromatogramu pro množství 0,2 μg a větší.

Deska s vrstvou silikagelu GF254 pro TLC R

Vyhovuje požadavkům, které jsou uvedeny v odstavci *deska s vrstvou silikagelu pro TLC R* s následující modifikací:

Obsahuje hemihydrát síranu vápenatého jako pojivo a fluorescenční indikátor pro detekci při 254 nm.

Zhášení fluorescence. Vyhovuje zkoušce předepsané pro desku s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R.

Deska s vrstvou silikagelu G pro TLC R

Vyhovuje požadavkům, které jsou uvedeny v odstavci *deska s vrstvou silikagelu pro TLC R* s následující modifikací:

Obsahuje hemihydrát síranu vápenatého jako pojivo.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3563**

Deska s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R

Skleněná, kovová nebo plastová podložka, která je potažená vrstvou silanizovaného silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2 μm až 10 μm pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5 μm až 40 μm pro desky používané při normální tenkovrstvé chromatografii (TLC)]. V případě potřeby je velikost částic uvedena za názvem zkoumadla použitého ve Zkoušce na čistotu, kde se použije.

Deska může obsahovat organické pojivo.

Chromatografické dělení. Do 250ml kuželové baňky se převede po 0,1 g *methyllauratu R*, *methylmyristatu R*, *methylpalmitatu R* a *methylstearatu R*. Přidá se 40 ml *hydroxidu draselného v lihu RS* a zahřívá se 1 h pod zpětným chladičem na vodní lázni. Ochladí se, roztok se převede do dělicí nálevky pomocí 100 ml *vody R*, okyselí se *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* (pH 2 až 3) a třikrát se vytřepe množstvím po 10 ml *dichlormethanu R*. Spojené dichlormethanové extrakty se vysuší nad *síranem sodným bezvodým R*, zfiltrují se a odpaří se do sucha na vodní lázni. Zbytek se rozpustí v 50 ml *dichlormethanu R*. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R. Nanese se vhodné množství (asi 10 μl pro normální TLC desky a asi 1 μl až 2 μl pro HPTLC desky) dichlormethanového roztoku na každý ze tří oddělených bodů. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *dioxanu R* (10 + 25 + 65) po dráze dlouhé 2/3 výšky desky. Deska se suší 30 min při 120 °C, deska se nechá vychladnout, vrstva se postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (35 g/l) v *2-propanolu R* a zahřívá se při 150 °C do objevení skvrn. Potom se vystaví působení par amoniaku do vybělení pozadí. Na chromatogramu jsou čtyři jasně oddělené a dobře vymezené skvrny.

Deska s vrstvou silikagelu F254 silanizovaného pro TLC R

Vyhovuje požadavkům, které jsou uvedeny v odstavci *deska s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R* s následující modifikací:

Obsahuje fluorescenční indikátor pro detekci při 254 nm.

Deuteriumoxid R

$^2\text{H}_2\text{O}$ M_r 20,03 CAS 7789-20-0

Těžká voda

Stupeň deuterizace je nejméně 99,7 %.

d_{20}^{20} : asi 1,11.

n_D^{20} : asi 1,328.

TV: asi 101 °C.

Deuterizovaná kyselina octová R

$\text{C}_2^2\text{H}_4\text{O}_2$ M_r 64,1 CAS 1186-52-3

Kyselina tetradeuterooctová; kyselina-d octová-d₃

Stupeň deuterizace je nejméně 99,7 %.

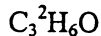
d_{20}^{20} : asi 1,12.

n_D^{20} : asi 1,368.

TV: asi 115 °C.

TT: asi 16 °C.

3564 Zkoumadla

Deuterizovaný aceton R M_r 64,1

CAS 666-52-4

 $(^2H_6)$ -Aceton; aceton- d_6

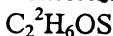
Stupeň deuterizace je nejméně 99,5 %.

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s dimethylformamidem, s ethanolem, s etherem a s methanolem.

 d_{20}^{20} : asi 0,87. n_D^{20} : asi 1,357.

TV: asi 55 °C.

Voda a deuteriumoxid. Nejvýše 0,1 %.

Deuterizovaný dimethylsulfoxid R M_r 84,2

CAS 2206-27-1

 $(^2H_6)$ -Dimethylsulfoxid; dimethylsulfoxid- d_6

Stupeň deuterizace je nejméně 99,8 %.

Velmi hygroskopická, viskózní, prakticky bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, v acetonu, v ethanolu a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 1,18.

TV: asi 20 °C.

Voda a deuteriumoxid: Nejvýše 0,1 %.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Deuterizovaný chloroform R M_r 120,4

CAS 865-49-6

 (^2H) -Chloroform; chloroform- d

Stupeň deuterizace je nejméně 99,7 %.

Čirá bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem, s lihem 96% a s etherem. Látka může být stabilizována pomocí stříbrné folie.

 d_{20}^{20} : asi 1,51. n_D^{20} : asi 1,445.

TV: asi 60 °C.

Voda a deuteriumoxid. Nejvýše 0,05 %.

Deuterizovaný methanol R M_r 36,1

CAS 811-98-3

 (^2H) -Methanol; methanol- d ; tetradeuteromethanol

Stupeň deuterizace je nejméně 99,8 %.

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, lihem 96% a dichlormethanem.

 d_{20}^{20} : asi 0,888. n_D^{20} : asi 1,326.

TV: 65,4 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3565

Dextran síťovaný pro chromatografii R2

Síťovaný dextran ve formě kuliček vhodný k dělení peptidů a bílkovin o relativní molekulové hmotnosti $15 \cdot 10^2$ až $30 \cdot 10^3$. Vysušená forma má průměr kuliček 20 μm až 80 μm .

Dextran síťovaný pro chromatografii R3

Síťovaný dextran ve formě kuliček vhodný pro dělení peptidů a bílkovin s relativní molekulovou hmotností $4 \cdot 10^3$ až $15 \cdot 10^4$. Vysušená forma má průměr kuliček 40 μm až 120 μm .

3,3'-Diamoniumbenzidiniumtetrachlorid R $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{Cl}_4\text{N}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M_r 396,1

CAS 7411-49-6

3,3',4,4'-Bifenyltetramin

Většinou bílý nebo slabě růžový prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: asi 280 °C, za rozkladu.

Dibutylether R $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{O}$ M_r 130,2

CAS 142-96-1

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,77. n_D^{20} : asi 1,399.

Jestliže látka nevyhovuje zkoušce na peroxidy, nedestiluje se.

Peroxidy. 8 ml škrubu s jodidem draselným RS se přeneso do skleněného uzavíratelného válce o objemu 12 ml a o průměru 1,5 cm. Zcela se naplní zkoušenou látkou, silně se protřepe a nechá se stát 30 min ve tmě; nevznikne žádné zbarvení.

Název a koncentrace přidané stabilizační látky se uvedou v označení.

Dibutylftalat R $\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{O}_4$ M_r 278,3

CAS 84-74-2

Dibutylbenzen-1,2-dikarboxylat

Čirá bezbarvá nebo slabě zbarvená olejovitá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : 1,043 až 1,048. n_D^{20} : 1,490 až 1,495.**Dicyklohexylamin R** $\text{C}_{12}\text{H}_{23}\text{N}$ M_r 181,3

CAS 101-83-7

N,N-Dicyklohexylamin

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou běžných organických rozpouštědel.

 n_D^{20} : asi 1,484.

TV: asi 256 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18): 0 °C až 1 °C.

3566 Zkoumadla

Dicyklohexylmočovina R $C_{13}H_{24}N_2O$ M_r 224,4

CAS 2387-23-7

1,3-Dicyklohexylmočovina

Bílý krystalický prášek.

TT: asi 232 °C.

Diethanolamin R $C_4H_{11}NO_2$ M_r 105,1

CAS 111-42-2

2,2'-Iminobisethanol

Čirá viskózní, slabě nažloutlá kapalina, nebo rozplývající se krystaly, které tají při asi 28 °C, velmi snadno rozpustná ve vodě, v acetonu a v methanolu.

Hodnota pH (2.2.3): 10,0 až 11,5; měří se roztok 50 g/l.

 d_{20}^{20} : asi 1,09.

Při použití pro stanovení alkalické fosfatasy vyhovuje následující zkoušce:

Ethanolamin. Nejvýše 1,0 %. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *propanolaminu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1,00 g *propanolaminu R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (a). 5,00 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 5,00 g se rozpustí v *acetonu R*, přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztoky. 0,50 g *ethanolaminu R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10,0 ml. K 0,5 ml, 1,0 ml a 2,0 ml tohoto roztoku se přidá po 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *acetonem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 1,0 m a vnitřního průměru 4 mm naplněná *difenyľfenylenoxid-polymerem R* o velikosti částic 180 µm až 250 µm,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosné plynu s průtokovou rychlostí 40 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje nejdříve 3 min na 125 °C, potom při nárůstu 12 °C/min na 300 °C, teplota vstřikovacího prostoru na 250 °C a detektoru na 280 °C.

Nastříkne se 1 µl každého zkoušeného roztoku a 1 µl každého porovnávacího roztoku.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Diethoxytetrahydrofuran R $C_8H_{16}O_3$ M_r 160,2

CAS 3320-90-9

2,5-Diethoxytetrahydrofuran, směs *cis* a *trans* izomerů

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%, v etheru a ve většině organických rozpouštědel.

 d_{20}^{20} : asi 0,98. n_D^{20} : asi 1,418.

Diethylamin R $C_4H_{11}N$ M_r 73,1

CAS 109-89-7

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, silně alkalická, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,71.

TV: asi 55 °C.

2-Diethylaminoethylamin R $C_6H_{16}N_2$ M_r 116,2

CAS 100-36-7

N,N-Diethylethylendiamin, N,N-diethylethan-1,2-diamin

Bezbarvá nebo světle žlutá olejovitá kapalina, silného amoniakálního pachu, dráždicí pokožku, oči a sliznice.

 d_{20}^{20} : 0,827.

TV: 145 °C až 147 °C.

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_6H_{16}N_2$.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Diethylaminoethyl-dextran R

Aniontoměničová pryskyřice ve formě hydrochloridu. Je to prášek tvořící s vodou gel.

N,N-Diethylanilin R $C_{10}H_{15}N$ M_r 149,2

CAS 91-66-7

 d_{20}^{20} : asi 0,938.

TV: asi 217 °C.

TT: asi -38 °C.

Diethyldithiokarbaminan sodný R $C_5H_{10}NNaS_2 \cdot 3H_2O$ M_r 225,3

CAS 20624-25-3

Bílé nebo bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Vodný roztok je bezbarvý.

Diethyldithiokarbaminan stříbrný R $C_5H_{10}AgNS_2$ M_r 256,1

CAS 1470-61-7

Světle žlutý až šedožlutý prášek, je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v pyridinu. Látku je možno připravit následovně: 1,70 g *dusičnanu stříbrného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R* (roztok I). 2,3 g *diethyldithiokarbaminanu sodného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R* (roztok II). Oba roztoky se ochladí na 10 °C a za míchání se smíchají. Vzniklá žlutá sraženina se převede na filtr ze slinutého skla, promyje se 200 ml *studené vody R* a 2 h až 3 h se suší ve vakuu.

Látka je použitelná, jestliže není zbarvená a nevykazuje silný pach.

Diethylenglykol R $C_4H_{10}O_3$ M_r 106,1

CAS 111-46-6

2,2'-Oxybisethanol

3568 Zkoumadla

Obsahuje nejméně 99,5 % $C_4H_{10}O_3$.

Čirá bezbarvá hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou, acetonem a lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 1,118.

n_D^{20} : asi 1,447.

TV: 244 °C až 246 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Diethylfenylendiamoniumsulfat R

$C_{10}H_{18}N_2O_4S$

M_r 262,3

CAS 6283-63-2

N,N'-Diethyl-*p*-fenylendiamoniumsulfat

Bílý nebo slabě nažloutlý prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: asi 185 °C, za rozkladu.

Uchovává se chráněn před světlem.

Diethylfenylendiamoniumsulfat RS

K 250 ml vody R se přidají 2 ml kyseliny sírové R a 25 ml edetanu disodného 0,02 mol/l RS. V tomto roztoku se rozpustí 1,1 g diethylfenylendiamoniumsulfatu R a zředí se vodou R na 1000 ml.

Uchovává se chráněn před světlem a teplem a je použitelný 1 měsíc. Může se použít jen bezbarvý roztok.

Difenylamin R

$C_{12}H_{11}N$

M_r 169,2

CAS 122-39-4

Bílé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 55 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Difenylamin RS

1,0 g/l v kyselině sírové R.

Uchovává se chráněn před světlem.

Difenylamin RS1

10 g/l v kyselině sírové R. Roztok je bezbarvý.

Difenylamin RS2

1,0 g difenylaminu R se rozpustí ve 100 ml kyseliny octové ledové R a přidá se 2,75 ml kyseliny sírové R. Připravuje se v čas potřeby.

Difenylnanthracen R

$C_{26}H_{18}$

M_r 330,4

CAS 1499-10-1

9,10-Difenylnanthracen

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3569

Nažloutlý až žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v etheru.

TT: asi 248 °C.

Difenylbenzidin R $C_{24}H_{20}N_2$ M_r 336,4

CAS 531-91-9

N,N'-Difenylbenzidin; N,N'-difenylbifenyl-4,4'-diamin

Bílý nebo světle šedý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v acetonu a v lihu 96%.

TT: asi 248 °C.

Dusičnany. 8 mg se rozpustí v chlazené směsi 45 ml *kyseliny sírové prosté dusičnanů R* a 5 ml *vody R*. Roztok je bezbarvý nebo velmi slabě modrý.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %.

Uchovává se chráněn před světlem.

Difenylboryloxyethylamin R $C_{14}H_{16}BNO$ M_r 225,1

CAS 524-95-8

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, dobře rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: asi 193 °C.

Difenylfenylenoxid-polymer R

Poly(2,6-difenyl-*p*-fenyloxid)

Bílé nebo téměř bílé porézní kuličky. Velikost kuliček je uvedena za názvem zkoumadla v příslušné zkoušce.

Difenylkarbazid R $C_{13}H_{14}N_4O$ M_r 242,3

CAS 140-22-7

1,5-Difenylkarbonohydrazid

Bílý krystalický prášek, který na vzduchu postupně růžoví. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v kyselině octové ledové.

TT: asi 170 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %.

Uchovává se chráněn před světlem.

Difenylkarbazid RS

0,20 g *difenylkarbazidu R* se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *ethanolem R* na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Difenylkarbazon R $C_{13}H_{12}N_4O$ M_r 240,3

CAS 538-62-5

1,5-Difenylkarbazon

3570 Zkoumadla

Oranžově žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 157 °C, za rozkladu.

Difenyloxazol R $C_{15}H_{11}NO$ M_r 221,3

CAS 92-71-7

2,5-Difenyloxazol

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v dioxanu a v kyselině octové ledové.

$A_{1\text{cm}}^{1\%}$: asi 1260; měří se roztok v *methanolu R* při 305 nm.

TT: asi 70 °C.

Při použití pro měření kapalinové scintilace má vhodnou analytickou jakost.

Difosforečnan sodný R $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$ M_r 446,1

CAS 13472-36-1

Dekahydrát difosforečnanu sodného; pyrofosforečnan sodný dekahydrát

Bezbarvé slabě zvětrávající krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Digitonin R $C_{56}H_{92}O_{29}$ M_r 1229

CAS 11024-24-1

3β-[O-β-D-glukopyranosyl-(1→3)-O-β-D-galaktopyranosyl-(1→2)-O-[β-D-xylopyranosyl-(1→3)]-O-β-D-galaktopyranosyl-(1→4)-O-β-D-galaktopyranosyloxy]-(25*R*)-5α-spirostan-2α,15β-diol

Krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, mírně rozpustné v ethanolu, těžce rozpustné v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

Digitoxin R

Viz článek *Digitoxinum*.

Dihydrogenfosforečnan amonný R $(NH_4)_2H_2PO_4$ M_r 115,0

CAS 7722-76-1

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Hodnota pH (2.2.3). 4,2; měří se roztok (23 g/l).

Dihydrogenfosforečnan draselný R

Viz článek *Kalii dihydrogenophosphas*.

Dihydrogenfosforečnan draselný 0,2 mol/l RS

Roztok obsahující 27,22 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* v 1000,0 ml.

Dihydrogenfosforečnan sodný R

Viz článek *Natrii dihydrogenophosphas dihydricus*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3571

Dihydrogenfosforečnan sodný bezvodý R

NaH_2PO_4 M_r 120,0 CAS 7558-80-7

Bílý hygroskopický prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dihydrogenfosforečnan sodný monohdrát R

$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ M_r 138,0 CAS 10049-21-5

Bílé slabě zvětrávající krystaly nebo zrna. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

10,11-Dihydrokarbamazepin R

$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}$ M_r 238,3 CAS 3564-73-6

10,11-Dihydro-5H-dibenz[*b,f*]azepin-5-karboxamid

TT: 205 °C až 210 °C.

1,3-Dihydroxynaftalen R

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$ M_r 160,2 CAS 132-86-5

1,3-Naftalendiol

Krystalický obvykle hnědě fialový prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

TT: asi 125 °C.

2,7-Dihydroxynaftalen R

$\text{C}_{10}\text{H}_8\text{O}_2$ M_r 160,2 CAS 582-17-2

2,7-Naftalendiol

Jehličky, dobře rozpustné ve vodě, lihu 96% a etheru.

TT: asi 190 °C.

2,7-Dihydroxynaftalen RS

10 mg 2,7-dihydroxynaftalenu R se rozpustí ve 100 ml kyseliny sírové R. Roztok se nechá stát do odbarvení a je použitelný 2 dny.

Dichlorbenzen R

$\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_2$ M_r 147,0 CAS 95-50-1

1,2-Dichlorbenzen

Bezbarvá olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu a v etheru.

d_{20}^{20} : asi 1,31.

TV: asi 180 °C.

Dichlorethan R

$\text{C}_2\text{H}_4\text{Cl}_2$ M_r 99,0 CAS 107-06-2

3572 Zkoumadla**1,2-Dichlorethan; ethylenchlorid**

Čirá bezbarvá kapalina, rozpustná asi ve 120 dílech vody a ve 2 dílech lihu 96%, mísitelná s etherem.

d_{20}^{20} : asi 1,25.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 82 °C až 84 °C.

Dichlorfenolindofenolat sodný R

$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2 \cdot 2H_2O$

M_r 326,1

CAS 620-45-1

Dihydrát sodné soli 2,6-dichlor-N-(4-hydroxyfenyl)-1,4-benzochinonmonoiminu

Tmavě zelený prášek, snadno rozpustný ve vodě a v ethanolu. Vodný roztok je tmavě modrý, okyselením se mění na růžový.

Dichlorfenolindofenolat sodný RS

50,0 mg dichlorfenolindofenolatu sodného R se rozpustí ve 100,0 ml vody R a zfiltruje se.

Standardizace: 20,0 mg kyseliny askorbové R se rozpustí v 10 ml čerstvě připraveného roztoku kyseliny metafosforečné R (200 g/l) a zředí se vodou R na 250,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se rychle titruje zkoušeným roztokem, který se přidává z mikrobyrety dělené po 0,01 ml, dokud přetrvává 10 s růžová barva; titrace nesmí trvat déle než 2 min. Roztok dichlorfenolindofenolatu sodného se zředí vodou R tak, aby 1 ml roztoku odpovídal 0,1 mg kyseliny askorbové ($C_6H_8O_6$).

Použije se do tří dnů po přípravě. Standardizuje se bezprostředně před použitím.

Dichlorfluorescein R

$C_{20}H_{10}Cl_2O_5$

M_r 401,2

CAS 76-54-0

2',7'-Dichlorfluorescein

Žlutohnědý až žlutooranžový prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%. Se zředěnými roztoky alkalických hydroxidů dává roztok, který žlutozeleně fluoreskuje. Je prakticky nerozpustný v etheru.

Dichlorchinonchlorimid R

$C_6H_2Cl_3NO$

M_r 210,4

CAS 101-38-2

N,2,6-trichlor-1,4-benzochinonmonoimin

Světle žlutý nebo nazelenale žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkálií.

TT: asi 66 °C.

Dichlormethan R

CH_2Cl_2

M_r 84,9

CAS 75-09-2

Methylenchlorid

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: 39 °C až 42 °C.

Při použití pro fluorimetrii vyhovuje následující zkoušce.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3573

Fluorescence (2.2.21): Fluorescence látky při budicím záření 365 nm měřená při 460 nm v 10mm vrstvě není vyšší než fluorescence roztoku *chininu* (0,002 µg/ml) v *kyselině sírové 0,05 mol/l RS*.

Dichlormethan okyselený R

K 100 ml *dichlormethanu R* se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, protřepe se, nechá se stát a oddělí se obě vrstvy. Použije se spodní vrstva.

Dichlorvos R $C_4H_7Cl_2O_4P$ M_r 221

CAS 62-73-7

2,2-Dichlorvinyl dimethylfosfat

Bezbarvá až hnědožlutá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou organických rozpouštědel.

 n_D^{25} : 1,452.***Dichroman draselný R*** $K_2Cr_2O_7$ M_r 294,2

CAS 7778-50-9

Oranžově červené krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Dichroman draselný používaný ke kalibraci spektrofotometrů (2.2.25) obsahuje nejméně 99,9 % $K_2Cr_2O_7$, počítáno na látku vysušenou při 130 °C.

Stanovení obsahu. 1,000 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 250,0 ml. Do baňky o objemu 500 ml se převede 50,0 ml tohoto roztoku a přidá se čerstvě připravený roztok obsahující 4 g *jodidu draselného R*, 2,0 g *hydrogenuhličitanu sodného R* a 6 ml *kyseliny chlorovodíkové R* ve 100 ml *vody R*. Baňka se uzavře a nechá se stát 5 min chráněná před světlem. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu prostého jodidu RS* jako indikátoru.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 4,903 mg $K_2Cr_2O_7$.

Dichroman draselný RS

Roztok 106,0 g/l.

Dichroman draselný RS1

Roztok 5,0 g/l.

Dichroman draselný v kyselině dusičné RS

0,7 g *dichromanu draselného R* se rozpustí v *kyselině dusičné R* a zředí se jí na 100 ml.

Diisobutylketon R $C_9H_{18}O$ M_r 142,2

CAS 108-83-8

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou organických rozpouštědel.

 n_D^{20} : asi 1,414. TV : asi 168 °C.

3574 Zkoumadla

Diisopropylether R $C_6H_{14}O$ M_r 102,2

CAS 108-20-3

Čirá bezbarvá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

 d_{20}^{20} : 0,723 až 0,728.

TV: 67 °C až 69 °C.

Jestliže zkoušená látka nevyhoví zkoušce na peroxidy, nedediluje se.

Peroxidy. 8 ml škrobu s jodidem draselným RS se přenese do 12ml skleněného uzavíratelného válce o průměru 1,5 cm. Zcela se naplní zkoušenou kapalinou, silně protřepe a nechá se stát ve tmě 30 min. Nevznikne žádné zbarvení.

Uchovává se chráněn před světlem.

Název a koncentrace přidané stabilizační látky jsou uvedeny v označení na obalu.

Dikarboxidiniumchlorid R $C_{20}H_{26}Cl_2N_2O_6$ M_r 461,3

CAS 56455-90-4

Dichlorid kyseliny 4,4'-[(4,4'-diamoniobifenyl-3,3'-diyl)dioxy]dibutanové

Dimetikon R

Viz článek *Dimeticonum*.

Dimethoxypropan R $C_5H_{12}O_2$ M_r 104,1

CAS 77-76-9

2,2-Dimethoxypropan

Bezbarvá kapalina, která se rozkládá působením vlhkého vzduchu nebo vodou.

 d_{20}^{20} : asi 0,847. n_D^{20} : asi 1,378.

TV: asi 83 °C.

Dimethylacetamid R C_4H_9NO M_r 87,1

CAS 127-19-5

N,N-Dimethylacetamid

Obsahuje nejméně 99,5 % C_4H_9NO .

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s většinou organických rozpouštědel.

 d_{20}^{20} : asi 0,94. n_D^{20} : asi 1,437.

TV: asi 165 °C.

Dimethylaminobenzaldehyd R $C_9H_{11}NO$ M_r 149,2

CAS 100-10-7

4-Dimethylaminobenzaldehyd

Bílé nebo žlutobílé krystaly. Je dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných kyselinách.

TT: asi 74 °C.

Dimethylaminobenzaldehyd RS1

0,20 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí ve 20 ml lihu 96% R a přidá se 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové R. Roztok se třepe s aktivním uhlím R a zfiltruje se. Intenzita zbarvení roztoku není větší než intenzita zbarvení jodu RS3.

Připravuje se v čas potřeby.

Dimethylaminobenzaldehyd RS2

0,20 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí bez zahřívání ve směsi 5,5 ml kyseliny chlorovodíkové R a 4,5 ml vody R.

Připravuje se v čas potřeby.

Dimethylaminobenzaldehyd RS3

0,25 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí ve směsi 45,0 ml kyseliny octové ledové R, 5,0 ml kyseliny fosforečné R a 45,0 ml vody R.

Dimethylaminobenzaldehyd RS6

0,125 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí v chlazené směsi 65 ml kyseliny sírové R a 35 ml vody R. Přidá se 0,1 ml roztoku chloridu železitého R (50 g/l). Před použitím se nechá stát 24 hodin, chráněn před světlem.

Při uchovávání při pokojové teplotě je použitelný jeden týden, při uchovávání v chladničce je možné jej používat po dobu několika měsíců.

Dimethylaminobenzaldehyd RS7

1,0 g dimethylaminobenzaldehydu R se rozpustí v 50 ml kyseliny chlorovodíkové R. K roztoku se přidá 50 ml lihu 96% R. Roztok se uchovává chráněn před světlem a je použitelný 4 týdny.

Dimethylaminobenzaldehyd RS8

Rozpustí se 0,25 g dimethylaminobenzaldehydu R ve směsi 5 g kyseliny fosforečné R, 45 g vody R a 50 g kyseliny octové bezvodé R. Připravuje se v čas potřeby.

4-Dimethylaminocinnamaldehyd R

$C_{11}H_{13}NO$

M_r 175,2

CAS 6203-18-5

3-(4-Dimethylamino)fenyl)-2-propenal

Oranžové nebo oranžově hnědé krystaly nebo prášek. Je citlivý na světlo.
TT: asi 138 °C.

4-Dimethylaminocinnamaldehyd RS

2 g 4-dimethylaminocinnamaldehydu R se rozpustí ve směsi 100 ml kyseliny chlorovodíkové RS a 100 ml ethanolu R. Uchovává se v chladu. Bezprostředně před použitím se tento roztok zředí na čtyřnásobný objem ethanolem R.

Uchovává se v chladu.

3576 Zkoumadla**Dimethylaminonaftalensulfonylchlorid R** $C_{12}H_{12}ClNO_2S$ M_r 269,8

CAS 605-65-2

5-Dimethylaminonaftalen-1-sulfonylchlorid

Žlutý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

TT: asi 70 °C.

Uchovává se v chladu.

N,N-Dimethylanilin R $C_8H_{11}N$ M_r 121,2

CAS 121-69-7

Čirá olejovitá kapalina, čerstvě destilovaná téměř bezbarvá, prakticky nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru. Při skladování vzniká červenohnědé zbarvení.

n_D^{20} : asi 1,558.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 192 °C až 194 °C.

2,3-Dimethylanilin R $C_8H_{11}N$ M_r 121,2

CAS 87-59-2

2,3-Xylidin

Nažloutlá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%.

d_{20}^{20} : 0,993 až 0,995.

n_D^{20} : asi 1,569.

TV: asi 224 °C.

2,6-Dimethylanilin R $C_8H_{11}N$ M_r 121,2

CAS 87-62-7

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, rozpustná v lihu 96 %.

d_{20}^{20} : asi 0,98.

Dimethyldecylamin R $C_{12}H_{27}N$ M_r 185,4

CAS 1120-24-7

N,N-Dimethyldecylamin

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{12}H_{27}N$.

TV: asi 234 °C.

2,6-Dimethylfenol R $C_8H_{10}O$ M_r 122,2

CAS 576-26-1

Bezbarvé jehlice, těžce rozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

TV: asi 203 °C.

TT: 46 °C až 48 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3577

3,4-Dimethylfenol R $C_8H_{10}O$ M_r 122,2

CAS 95-65-8

Bílé nebo téměř bílé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.

TV: asi 226 °C.

TT: 25 °C až 27 °C.

Dimethylformamid R C_3H_7NO M_r 73,1

CAS 68-12-2

Čirá bezbarvá neutrální kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

d_{20}^{20} : 0,949 až 0,952.

TV: asi 153 °C.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %.

Dimethylformamiddiethylacetal R $C_7H_{17}NO_2$ M_r 147,2

CAS 1188-33-6

N,N-Dimethylformamiddiethylacetal

n_D^{20} : asi 1,40.

TV: 128 °C až 130 °C.

Dimethylglyoxim R $C_4H_8N_2O_2$ M_r 116,1

CAS 95-45-4

Diacetyldioxim

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve studené vodě, velmi těžce rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 240 °C, za rozkladu.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,05 %.

1,3-Dimethyl-2-imidazolidinon R $C_5H_{10}N_2O$ M_r 114,2

CAS 80-73-9

Rozpouštědlo pro různé použití.

n_D^{20} : 1,4720

d_{20}^{20} : 1,044

TV_{17 mm}: 106 °C až 108 °C.

N,N-Dimethyloktylamin R $C_{10}H_{23}N$ M_r 157,3

CAS 7378-99-6

Oktyldimethylamin

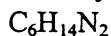
Bezbarvá kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,765.

n_D^{20} : asi 1,424.

TV: asi 195 °C.

3578 Zkoumadla

Dimethylpiperazin R M_r 114,2

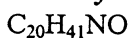
CAS 106-58-1

1,4-Dimethylpiperazin

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,85. n_D^{20} : asi 1,446.

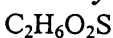
TV: asi 131 °C.

Dimethylstearamid R M_r 311,6

N,N-Dimethyloktadekanamid

Bílá nebo téměř bílá tuhá hmota, dobře rozpustná ve většině organických rozpouštědel, včetně acetonu.

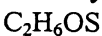
TT: asi 51 °C.

Dimethylsulfon R M_r 94,1

CAS 67-71-0

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a lihu 96%.

TT: 108 °C až 110 °C.

Dimethylsulfoxid R M_r 78,1

CAS 67-68-5

DMSO

Čirá bezbarvá olejovitá hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 1,10.

TV: asi 189 °C.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 10 g/l.

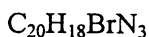
Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícím požadavkům:

Transmittance (2.2.25): nejméně 10 % při 262 nm,
nejméně 35 % při 270 nm,
nejméně 70 % při 290 nm,
nejméně 98 % při 340 nm a výše;

měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,2 %.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dimidiumbromid R M_r 380,3

CAS 518-67-2

3,8-Diamino-5-methyl-6-fenylfenanthridiniumbromid

Tmavě červené krystaly, těžce rozpustné ve vodě při 20 °C, mírně rozpustné ve vodě při 60 °C a v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3579

Dimidiumbromid se sulfanovou modří RS

Zvlášť se rozpustí 0,5 g *dimidiumbromidu R* a 0,25 g *modře sulfanové R* ve 30 ml horké směsi objemových dílů *ethanolu R* a *vody R* (1 + 9). Po zamíchání se oba roztoky smíchají a zředí se stejnou směsí na 250 ml. 20 ml tohoto roztoku se smíchá s 20 ml roztoku *kyseliny sírové R* (14% (V/V)) předem zředěné s asi 250 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 500 ml.

Uchovává se chráněn před světlem.

Dinitrobenzen R $C_6H_4N_2O_4$ M_r 168,1

CAS 528-29-0

1,3-Dinitrobenzen

Slabě žluté krystaly nebo krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96 %.

TT: asi 90 °C.

Dinitrobenzen RS

10 g/l v lihu 96% R.

Dinitrobenzoylchlorid R $C_7H_3ClN_2O_5$ M_r 230,6

CAS 99-33-2

3,5-Dinitrobenzoylchlorid

Světle žlutý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly.

TT: asi 68 °C.

Dinitrofenylhydrazin R $C_6H_6N_4O_4$ M_r 198,1

CAS 119-26-6

2,4-Dinitrofenylhydrazin

Červenooranžové krystaly, velmi těžce rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 203 °C (2.2.16).

Dinitrofenylhydraziniumchlorid RS

0,50 g *dinitrofenylhydrazinu R* se zahřátím rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a doplní se jí na 100 ml. Nechá se vychladnout a zfiltruje se. Připraví se v čas potřeby.

Dinonylftalat R $C_{26}H_{42}O_4$ M_r 418,6

CAS 28553-12-0

Bis(3,5,5-trimethylhexyl)ftalat

Bezbarvá až světle žlutá, viskózní kapalina.

d_{20}^{20} : 0,97 až 0,98.

n_D^{20} : 1,482 až 1,489.

Kyselé reagující látky. 5,0 g se třepe 1 min s 25 ml *vody R*. Po oddělení se vodná vrstva zfiltruje a přidá se k ní 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,3 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* (0,05 %, počítáno jako kyselina ftalová).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %.

3580 Zkoumadla**Dioktadecylsulfid R** $C_{36}H_{74}S_2$ M_r 571,1

CAS 1844-09-3

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: 53 °C až 58 °C.

Dioxan R $C_4H_8O_2$ M_r 88,1

CAS 123-91-1

1,4-Dioxan

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s většinou organických rozpouštědel.

 d_{20}^{20} : asi 1,03.

Teplota tuhnutí (2.2.18). 9 °C až 11 °C.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %.

Jestliže nevyhovuje zkoušce na peroxidy, nedestiluje se.

Peroxidy. 8 ml škrobu s jodidem draselným RS se převede do 12ml skleněného uzavíratelného válce o průměru 1,5 cm. Naplní se zkoušenou látkou, silně se protřepe a nechá se stát ve tmě 30 min. Nevznikne žádné zbarvení.

Při použití pro měření kapalinové scintilace má vhodnou analytickou jakost.

Dioxan RS50,0 ml dioxanu základního RS se zředí vodou R na 100,0 ml (0,5 mg $C_4H_8O_2$ /ml).**Dioxan RS1**10,0 ml dioxanu RS se zředí vodou R na 50,0 ml (0,1 mg $C_4H_8O_2$ /ml).**Dioxan základní RS**1,00 g dioxanu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml (1,0 mg $C_4H_8O_2$ /ml).**Disiřičitan sodný R**Viz článek *Natrii disulfis*.**Dithiol R** $C_7H_8S_2$ M_r 156,3

CAS 496-74-2

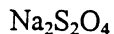
4-Methyl-1,2-benzendithiol, 3,4-Dimerkaptotoluen

Bílé hygroskopické krystaly, dobře rozpustné v methanolu a roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 30 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3581

Dithioničitan sodný R M_r 174,1

CAS 7775-14-6

Bílý až šedobílý krystalický prášek, na vzduchu oxiduje, je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%. Uchovává se ve vzduchotěsných nádobách.

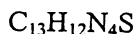
Dithiothreitol R M_r 154,2

CAS 27565-41-9

threo-1,4-Dimerkapto-2,3-butandiol

Slabě hygroskopické jehlice, snadno rozpustné ve vodě, v acetonu a v ethanolu.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dithizon R M_r 256,3

CAS 60-10-6

1,5-Difenylthiokarbazon

Modročerný, hnědočerný nebo černý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

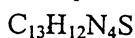
Dithizon RS

Roztok v *chloroformu R* (0,5 g/l). Připravuje se v čas potřeby.

Dithizon RS2

40,0 mg *dithizonu R* se rozpustí v *chloroformu R* a zředí se jím na 1000,0 ml. 30,0 ml tohoto roztoku se zředí *chloroformem R* na 100,0 ml.

Standardizace. Množství *chloridu rtuťnatého R* odpovídající 0,1354 g HgCl_2 se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny sírové zředěné RS* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se stejnou směsí zředí na 100,0 ml (tento roztok obsahuje 20 μg Hg/ml). 1,0 ml tohoto roztoku se smíchá v dělicí nálevce s 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 140 ml *vody R* a 10 ml roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (200 g/l). Směs se titruje zkoušeným roztokem, přičemž po každém přidání se dvacetkrát protřepe. Před koncem titrace se vrstvy nechají oddělit a sleduje se chloroformová vrstva. Titruje se do modrozeleného zbarvení chloroformové vrstvy. Množství rtuti odpovídající zkoušenému roztoku (mg/ml) se vypočítá ze vztahu $20/V$, v němž V značí při titraci spotřebovaný objem zkoušeného roztoku v ml.

Dithizon R1 M_r 256,3

CAS 60-10-6

1,5-Difenylthiokarbazon

Obsahuje nejméně 98,0 % $\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{S}$.

Modročerný, hnědočerný nebo černý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

3582 Zkoumadla**Dodecylsírán sodný R**

Viz článek *Natrii laurilsulfas* s výjimkou obsahu, který je nejméně 99,0 %.

Dotriakontan R $C_{32}H_{66}$ M_r 450,9

CAS 544-85-4

n-Dotriakontan

Bílé plátky. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v hexanu, těžce rozpustný v etheru.

TT: asi 69 °C.

Nečistoty. Nejvýše 0,1 % nečistot se stejnou hodnotou t_R jako α -tokoferolacetat stanovených plynovou chromatografií za podmínek předepsaných v článku *Tocoferoli alfa acetatas*.

Doxazosiniummesilat nečistota C R $C_{10}H_{10}N_3O_2Cl$ M_r 239,55

2-chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinamin

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{10}H_{10}N_3O_2Cl$.

Bílý až světle žlutý prášek.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; suší se 3 h při 60 °C ve vakuu.

Dusičnan amonný R NH_4NO_3 M_r 80,0

CAS 6484-52-2

Bílý krystalický prášek nebo průhledné krystaly. Je hygroskopický, větrající, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dusičnan amonný R1 NH_4NO_3 M_r 80,0

CAS 6484-52-2

Vyhovuje požadavkům uvedeným pro *Dusičnan amonný R* a následujícím dodatečným požadavkům:

Kysele reagující látky. Roztok látky je nepatrně kyselý (2.2.4).

Chloridy (2.4.4). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 mg/g).

Sírany (2.4.13). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce na sírany (150 mg/g).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,05 %, stanoví se s 1,0 g.

Dusičnan ceritý R $Ce(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ M_r 434,3

CAS 10294-41-4

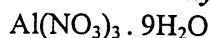
Bezbarvý až slabě žlutý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě a lihu 96%.

Dusičnan draselný R KNO_3 M_r 101,1

CAS 7757-79-1

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

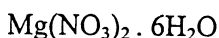
Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3583

Dusičnan hlinitý R M_r 375,1

CAS 7784-27-2

Rozpadající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě a v lihu 96%, velmi těžce rozpustné v acetonu.

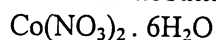
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dusičnan hořečnatý R M_r 256,4

CAS 13446-18-9

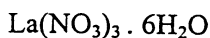
Bezbarvé průsvitné, rozpadající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dusičnan kobaltnatý R M_r 291,0

CAS 10026-22-9

Malé červené krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

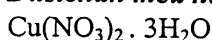
Dusičnan lanthanitý R M_r 433,0

CAS 10277-43-7

Bezbarvé rozpadající se krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Dusičnan lanthanitý RS

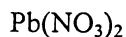
Roztok 50 g/l.

Dusičnan měďnatý R M_r 241,6

CAS 10031-43-3

Tmavě modré krystaly, hygroskopické, velmi snadno rozpustné ve vodě, kde dávají silně kyselou reakci, snadno rozpustné v lihu 96% a ve zředěné kyselině dusičné.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

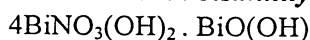
Dusičnan olovnatý R M_r 331,2

CAS 10099-74-8

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

Dusičnan olovnatý RS

Roztok 33 g/l.

Dusičnan-oxid bismutitý R M_r 1462

CAS 1304-85-4

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

3584 Zkoumadla

Dusičnan-oxid bismutitý R1

Obsahuje nejméně 71,5 % až 74,0 % bismutu (Bi) a nejméně 14,5 % až 16,5 % dusičnanů, počítáno jako oxid dusičný (N_2O_5).

Dusičnan-oxid bismutitý RS

5 g *dusičnan-oxidu bismutitého R1* se rozpustí ve směsi 8,4 ml *kyseliny dusičné R* a 50 ml *vody R* a zředí se jí na 250 ml. V případě nutnosti se zfiltruje.

Kysele reagující látky. K 10 ml se přidá 0,05 ml *oranže methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje 5,0 ml až 6,25 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*.

Dusičnan-oxid zirkoničitý R

CAS 14985-18-3

Dusičnan-oxid zirkoničitý je bazická sůl odpovídající přibližnému vzorci $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$.

Bílý prášek nebo krystaly. Je hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě. Vodný roztok je čirý nebo slabě opalizující.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dusičnan-oxid zirkoničitý RS

Roztok *dusičnan-oxidu zirkoničitého R* (1,0 g/l) ve směsi 40 ml *vody R* a 60 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

Dusičnan rtuťnatý R $Hg(NO_3)_2 \cdot H_2O$ M_r 342,6

CAS 7782-86-7

Bezbarvé nebo slabě zbarvené krystaly, hygroskopické, dobře rozpustné ve vodě za přítomnosti malého množství *kyseliny dusičné R*.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Dusičnan sodný R $NaNO_3$ M_r 85,0

CAS 7631-99-4

Bílý prášek, zrna nebo bezbarvé průsvitné krystaly roztékající se vzdušnou vlhkostí. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Dusičnan stříbrný R

Viz článek *Argenti nitras*.

Dusičnan stříbrný RS1

Roztok 42,5 g/l.

Uchovává se chráněn před světlem.

Dusičnan stříbrný RS2

Roztok 17 g/l.

Uchovává se chráněn před světlem.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3585

Dusičnan stříbrný amoniakální RS

2,5 g *dusičnanu stříbrného R* se rozpustí v 80 ml *vody R*. K tomuto roztoku se za třepání po kapkách přidává *amoniak RS1*, až se vzniklá sraženina opět rozpustí. Potom se zředí *vodou R* na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Dusičnan stříbrný v pyridinu RS

Roztok 85 g/l v *pyridinu R*.

Uchovává se chráněn před světlem.

Dusičnan železitý R

$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$

M_r 404

CAS 7782-61-8

Obsahuje nejméně 99,0 % $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.

Světle purpurově červené krystaly nebo krystalická hmota. Je velmi dobře rozpustný ve vodě.

Volná kyselina: nejvýše 0,3 % (jako HNO_3).

Dusík R

N_2

M_r 28,01

CAS 7727-37-9

Promytý a vysušený dusík.

Dusík R1

Nejméně 99,999 % N_2 (V/V).

Kyslík. Méně než 5 ml/m³.

Oxid uhelnatý. Méně než 5 ml/m³.

Dusík pro chromatografii R

Nejméně 99,95 % N_2 (V/V).

Dusík prostý kyslíku R

Je to *dusík R* zbavený kyslíku probubláním přes *pyrogallol zásaditý RS*.

Dusitan sodný R

NaNO_2

M_r 69,0

CAS 7632-00-0

Obsahuje nejméně 97,0 % NaNO_2 .

Bílý prášek, zrna nebo slabě světle žlutý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě.

Dusitan sodný RS

Roztok 100 g/l.

Připravuje se v čas potřeby.

3586 Zkoumadla**Edetan disodný R**

Chelaton 3

Viz článek *Dinatrii edetas dihydricus*.**Edetan měďnatý RS**

Ke 2 ml roztoku *octanu měďnatého R* (20 g/l) se přidají 2 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 50 ml.

Elektrolytové zkoumadlo pro mikrostanovení vody R

Komerčně dostupné bezvodé zkoumadlo nebo kombinace bezvodých zkoumadel pro coulometrickou titraci vody, které obsahuje vhodné organické báze, oxid siřičitý a jodid rozpuštěný ve vhodném rozpouštědle.

Emetiniumdichlorid RViz článek *Emetini dihydrochloridum pentahydricum*.**Emodin R** $C_{15}H_{10}O_5$ M_r 270,2

CAS 518-82-1

1,3,8-Trihydroxy-6-methylantrachinon

Oranžově červené jehličky, prakticky nerozpustné ve vodě, těžce rozpustné v etheru, dobře rozpustné v lihu 96% a v roztocích alkalických hydroxidů.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Rhei radix*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Erukamid R $C_{22}H_{43}NO$ M_r 337,6

CAS 112-84-5

(Z)-13-Dokosenamid

Nažloutlý nebo bílý prášek nebo zrna. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v ethanolu.

TT: asi 70 °C.**Erytritol R** $C_4H_{10}O_4$ M_r 122,1

CAS 149-32-6

(R*,S*)-Butan-1,2,3,4-tetrol; *meso*-erytritol

Tetragonální hranoly, velmi dobře rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v pyridinu, těžce rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 121,5 °C.**Erythrocyty králičí suspenze R**

Připraví se suspenze králičích erythrocytů 1,6% (V/V) následujícím postupem: 15 ml čerstvě odebrané králičí krve se třepáním se skleněnými kuličkami defibrinuje a odstředí se 10 min při 2000 g_n. Erythrocyty se třikrát promyjí 30 ml roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l). 1,6 ml této sus-

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3587

penze se zředí směsí objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,2* a roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) (1 + 9) na 100 ml.

Escin R

CAS 11072-93-8

β-Aescin

Směs příbuzných saponinů ze semen *Aesculus hippocastanum L.* Jemný téměř bílý nebo slabě načervenalý či nažloutlý amorfni prášek.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek popsanych v článku *Polygalae radix*; nanáší se 20 μl roztoku. Po postřiku chromatogramu *anisaldehydem RS* a zahřátí je na chromatogramu hlavní skvrna o R_F asi 0,4.

17α-Estradiol R $C_{18}H_{24}O_2$ M_r 272,4

CAS 57-91-0

1,3,5-Estratrien-3,17α-diol

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly.

TT: 178 °C až 179 °C.

Estragol R $C_{10}H_{12}O$ M_r 148,2

CAS 140-67-0

4-Allylanisol; 1-methoxy-4-(2-propenyl)benzen

Kapalina, mísitelná s lihem 96%.

n_D^{20} : asi 1,52.

TT: asi 216 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Ethanolamin R C_2H_7NO M_r 61,1

CAS 141-43-5

2-Aminoethanol

Čirá bezbarvá viskózní hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou a s methanolem, mírně rozpustná v etheru.

d_{20}^{20} : asi 1,04.

n_D^{20} : asi 1,454.

TT: asi 11 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

3588 Zkoumadla

Ethanol RC₂H₆OM_r 46,07

CAS 64-17-5

Obsahuje nejméně 99,5 % C₂H₆O (V/V).

Čirá bezbarvá, hořlavá, velmi těkává kapalina, mísitelná s vodou, s acetonem, s etherem a s glycerolem.

d_{20}^{20} : 0,791 až 0,794.

TV: 78 °C až 79 °C.

Uchovává se chráněn před světlem a při teplotě nepřevyšující 30 °C.

Ethanol R1

Vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci *Ethanol R* a následující zkoušce:

Methanol. Nejvýše 0,005 % (V/V); stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok: 0,50 ml *methanolu bezvodého R* se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony 2 m dlouhé a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R* (75 μm až 100 μm),
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 130 °C, vstřikovacího prostoru na 150 °C a detektoru na 200 °C. Vstřikuje se třikrát střídavě po 1 μl zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku. Před každým dalším nástřikem se kolona zahřívá 8 min při 230 °C. Obsah *methanolu* v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{a \cdot b}{c - b},$$

v němž značí:

- a* - množství *methanolu* v procentech (V/V) v porovnávacím roztoku,
- b* - plochu píku odpovídajícího *methanolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- c* - plochu píku odpovídajícího *methanolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Ether R

Vyhovuje požadavkům předepsaným v článku *Ether solvens* a následujícímu dodatečnému požadavku:

d_{20}^{20} : 0,713 až 0,715.

Ether prostý peroxidických látek R

Viz článek *Ether anestheticus*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3589

Ether petrolejový R

CAS 8032-32-4

Čirá bezbarvá hořlavá nefluoreskující kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : 0,661 až 0,664.*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 50 °C až 70 °C.***Ether petrolejový R1***

Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícím dodatečným požadavkům:

 d_{20}^{20} : 0,630 až 0,656.*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 40 °C až 60 °C.

Kapalina se nekalí při 0 °C.

Ether petrolejový R2

Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícím požadavkům:

 d_{20}^{20} : 0,620 až 0,630.*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 30 °C až 40 °C.

Kapalina se nekalí při 0 °C.

Ether petrolejový R3

Ether petrolejový 40 °C až 80 °C. Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícím požadavkům:

 d_{20}^{20} : 0,659 až 0,671.*Destilační rozmezí (2.2.11)*: 40 °C až 80 °C.***Ethoxychrysoidiniumchlorid R*** $C_{14}H_{17}ClN_4O$ M_r 292,8

CAS 2313-87-3

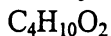
4-[(4-ethoxy)fenylazo]-1,3-benzendiylidiaminmonohydrochlorid

Načervenálý prášek, dobře rozpustný v lihu 96%.

Ethoxychrysoidiniumchlorid RS

1,0 g/l v lihu 96% R.

Zkouška citlivosti. Ke směsi 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 0,05 ml ethoxychrysoidiniumchloridu RS se přidá 0,05 ml bromičnanu draselného 0,0167 mol/l s bromidem draselným VS. Během 2 min se červené zbarvení změní na světle žluté.

3590 Zkoumadla**Ethoxyethanol R** M_r 90,1

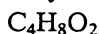
CAS 110-80-5

2-Ethoxyethanol; ethylenglykolmonoethylether

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s acetonem, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,93. n_D^{20} : asi 1,406.

TV: asi 135 °C.

Ethylacetat R M_r 88,1

CAS 141-78-6

Čirá bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : 0,901 až 0,904.

TV: 76 °C až 78 °C.

Ethylacetat upravený RS

200 g kyseliny amidosírové R se disperguje v ethylacetatu R a zředí se jím na 1000 ml. Suspenze se míchá tři dny a zfiltruje se přes papírový filtr.

Použitelnost je jeden měsíc od přípravy.

Ethylakrylat R M_r 100,1

CAS 140-88-5

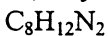
Ethyl-2-propenoat

Bezbarvá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,924. n_D^{20} : asi 1,406.

TV: asi 99 °C.

TT: asi -71 °C.

4-(Ethylaminomethyl)pyridin R M_r 136,2

CAS 33403-97-3

Světle žlutá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,98. n_D^{20} : asi 1,516.

TV: asi 98 °C.

Ethylbenzen R M_r 106,2

CAS 100-41-4

Obsahuje nejméně 99,5 % C_8H_{10} ; stanoví se plynovou chromatografií.

Čirá bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v acetonu a v lihu 96%.

d_{20}^{20} : asi 0,87.

n_D^{20} : asi 1,496.

TV: asi 135 °C.

Ethylenchlorid R

Viz odstavec *Dichlorethan R*.

Ethylendiamin R

$C_2H_8N_2$

M_r 60,1

CAS 107-15-3

1,2-Diaminoethan

Čirá bezbarvá dýmající kapalina, silně alkalická, mísitelná s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustná v etheru.

TV: asi 116 °C.

Ethylenglykol R

$C_2H_6O_2$

M_r 62,1

CAS 107-21-1

1,2-Ethandiol

Bezbarvá viskózní hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustná v etheru.

d_{20}^{20} : 1,113 až 1,115.

n_D^{20} : asi 1,432.

TT: asi -12 °C.

TV: asi 198 °C.

Kysele reagující látky. K 10 ml se přidá 20 ml *vody R* a 1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke vzniku růžového zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,15 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12): nejvýše 0,2 %.

Ethylenglykolmonoethylether R

Viz odstavec *Ethoxyethanol R*.

Ethylenglykolmonomethylether R

Viz odstavec *Methoxyethanol R*.

Ethylenoxid R

C_2H_4O

M_r 44,05

CAS 75-21-8

Oxiran

Bezbarvý hořlavý plyn, velmi dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Teplota zkapanění: asi 12 °C.

3592 Zkoumadla

Ethylenoxid základní RS

Všechny operace prováděné při přípravě těchto roztoků musí být prováděny v digestoři. Pracovník musí chránit obě ruce a obličej nošením polyethylenových ochranných rukavic a vhodné obličejové ochranné masky.

Všechny roztoky se uchovávají ve vzduchotěsných obalech v chladničce při 4 °C až 8 °C. Všechna stanovení se provádějí třikrát.

Do suché čisté zkumavky chlazené ve směsi 1 dílu chloridu sodného R a 3 dílů rozdrceného ledu se zavádí pomalý proud plynného ethylenoxidu R a nechá se kondenzovat na vnitřní stěně zkumavky. Za použití skleněné injekční stříkačky, předtím zchlazené na -10 °C, se vstříkne asi 300 µl (odpovídá asi 0,25 g) kapalného ethylenoxidu R do 50 ml makrogolu 200 R1. Absorbované množství ethylenoxidu se stanoví vážením před a po absorpci (M_{EO}). Zředí se makrogolem 200 R1 na 100,0 ml. Před použitím se dobře promíchá.

Stanovení obsahu. K 10 ml suspenze chloridu hořečnatého R (500 g/l) v ethanolu R v baňce se přidá 20,0 ml kyseliny chlorovodíkové v lihu 0,1 mol/l VS. Zazátkuje se a protřepe se k získání nasyceného roztoku a nechá se stát přes noc k ustavení rovnováhy. 5,00 g ethylenoxidu základního RS (2,5 g/l) se odváží do baňky a nechá se 30 min stát. Titruje se hydroxidem draselným v lihu 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

Provede se slepá zkouška, při níž se zkoušená látka nahradí stejným množstvím makrogolu 200 R1.

Obsah ethylenoxidu v mg/g se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{(V_0 - V_1) \cdot f \cdot 4,404}{m}$$

v němž značí:

V_0 a V_1 - objemy spotřeby hydroxidu draselného v lihu 0,1 mol/l VS při slepé zkoušce a titraci v mililitrech,

f - faktor hydroxidu draselného v lihu 0,1 mol/l VS,

m - hmotnost vzorku v gramech.

Ethylenoxid RS

Množství vychlazeného ethylenoxidu základního RS odpovídající 2,5 mg ethylenoxidu se naváží do vychlazené baňky a zředí se makrogolem 200 R1 na 50,0 g. Dobře se promíchá a 2,5 g tohoto roztoku se zředí makrogolem 200 R1 na 25,0 ml (5 µg ethylenoxidu v gramu roztoku). Připravuje se v čas potřeby.

Ethylenoxid RS1

1,0 ml vychlazeného ethylenoxidu základního RS (přesný objem se zjistí vážením) se zředí makrogolem 200 R1 na 50,0 ml. Dobře se promíchá a 2,5 g tohoto roztoku se zředí makrogolem 200 R1 na 25,0 ml. Vypočítá se přesně množství ethylenoxidu v µg/ml z objemu stanoveného při vážení a za použití hustoty makrogolu 200 R1 1,127. Připravuje se v čas potřeby.

Ethylenoxid RS2

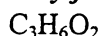
Do vychlazené baňky obsahující 40,0 g ochlazeného makrogolu 200 R1 se odváží 1,00 g vychlazeného ethylenoxidu základního RS (odpovídajícího 2,5 mg ethylenoxidu). Promíchá se a skutečná navážka se zředí s ohledem na vypočítanou hmotnost tak, aby byl získán roztok

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3593

obsahující 50 µg ethylenoxidu v gramu roztoku. Naváží se 10,00 g do baňky obsahující asi 30 ml vody *R*, promíchá se a zředí se vodou *R* na 50,0 ml (10 µg/ml). Připravuje se v čas potřeby.

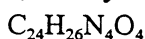
Ethylenoxid RS3

10,0 ml ethylenoxidu *RS2* se zředí vodou *R* na 50,0 ml (2 µg/ml). Připraví se v čas potřeby.

Ethylformiat R M_r 74,1

CAS 109-94-4

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,919. n_D^{20} : asi 1,36.*TV*: asi 54 °C.**1,1'-Ethyldenbistryptofan R** M_r 434,5

CAS 132685-02-0

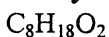
Kyselina 3,3'-[ethyldenbis(1*H*-indol-1,3-diyl)]bis[(2*S*)-2-aminopropanová, kyselina 1,1'-ethyldenbistryptofanová

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{24}H_{26}N_4O_4$.

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

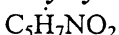
TT: asi 223 °C, za rozkladu.

Stanovení obsahu. Postupuje se, jak je uvedeno v článku *Tryptophanum* ve zkoušce 1,1'-ethyldenbistryptofan a jiné příbuzné látky. Plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je nejméně 98,0 % plochy všech píků.

2-Ethyl-1,3-hexandiol R M_r 146,2

CAS 94-96-2

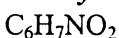
Lehce olejovitá kapalina, dobře rozpustná v ethanolu, 2-propanolu, propylenglykolu a ricinovém oleji.

 d_{20}^{20} : asi 0,942. n_D^{20} : asi 1,451.*TV*: asi 244 °C.**Ethylkyanoacetat R** M_r 113,1

CAS 105-56-6

Bezbarvá až světle žlutá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: 205 °C až 209 °C, za rozkladu.

N-Ethylmaleinimid R M_r 125,1

CAS 128-53-0

1-Ethyl-1*H*-pyrrol-2,5-dion

3594 Zkoumadla

Bezbarvé krystaly, mírně rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.
TT: 41 °C až 45 °C.

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C.

Ethylparaben R

Viz článek *Ethylparabenum*.

Ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymer R

Porézní pevné kuličky ze síťovaného polymeru. Je dodáván v různých druzích o rozdílných velikostech kuliček. Velikost kuliček je uvedena u názvu zkoumadla v příslušné zkoušce.

Ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymer R1

Porézní pevné kuličky ze síťovaného polymeru se specifickým povrchem 500 m²/g až 600 m²/g a s póry o středním průměru 7,5 nm. Jsou dodávány v různých druzích a rozdílných velikostech kuliček. Velikost kuliček je uvedena u názvu zkoumadla v příslušné zkoušce.

Eugenol R

C₁₀H₁₂O₂

M_r 164,2

CAS 97-53-0

4-Allyl-2-methoxyfenol

Bezbarvá nebo slabě žlutá olejovitá kapalina, na vzduchu a světle tmavne a stává se viskóznější, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, s etherem, mastnými oleji a silicemi.

d_{20}^{20} : asi 1,07.

TV: asi 250 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek předepsaných v článku *Caryophylli etheroleum*; jako zkoušený roztok se použije zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Uchovává se chráněn před světlem.

Euglobuliny hovězí R

Pro přípravu se použije čerstvá hovězí krev odebraná do protisrážlivého roztoku (např. roztoku citronanu sodného). Nepoužije se hemolyzovaná krev. Odstředuje se při nejméně 1500 g_n až 1800 g_n při 15 °C až 20 °C do získání supernatantní plazmy chudé na krevní destičky.

K 1 l hovězí plazmy se přidá 75 g *síranu barnatého R*, 30 min se třepe a odstředuje se při 1500 g_n až 1800 g_n při 15 °C až 20 °C. Čirá supernatantní tekutina se oddělí, přidá se 10 ml roztoku *aprotininu R* (0,2 mg/ml) a dobře se protřepe. Do nádoby o objemu nejméně 30 l v místnosti vychlazené na 4 °C se převede 25 l *vody destilované R* o teplotě 4 °C a přidá se 500 g pevného oxidu uhličitého. Ihned za míchání se přidá supernatantní tekutina získaná z plazmy. Vznikne bílá sraženina, která se nechá stát 10 h až 15 h při 4 °C. Čirá supernatantní tekutina se odstraní odsáním, sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C a mechanicky se disperguje v 500 ml *vody destilované R* při 4 °C. Směs se 5 min protřepává a sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C. Sraženina se mechanicky disperguje v 60 ml roztoku obsahujícího *chlorid sodný R* (9 g/l) a *citronan sodný R* (0,9 g/l) a pH směsi se upraví roztokem *hydroxidu sodného R* (10 g/l) na

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3595

hodnotu 7,2 až 7,4. K usnadnění rozpouštění sraženiny se její částice rozmělní vhodným nástrojem a směs se filtruje přes filtr ze slinutého skla. Filtr a nástroj se promyjí 40 ml stejného roztoku chloridu sodného a citronanu sodného a zředí se jím na 100 ml. Tento roztok se lyofilizuje. Výtěžky jsou obvykle 6 g až 8 g euglobulinů z litru hovězí plazmy.

Zkouška způsobilosti. Roztoky použité v této zkoušce se připraví za pomoci tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,4 obsahujícího albumin hovězí R (30 g/l).

Do zkumavky o průměru 8 mm umístěné ve vodní lázni zahřáté na 37 °C se převede 0,2 ml referenčního přípravku urokinasy 100 m.j./ml a 0,1 ml roztoku *trombinu lidského R* 20 m.j./ml. Směs se rychle smíchá s 0,5 ml roztoku obsahujícího 10 mg hovězích euglobulinů v 1 ml. Do 10 s se vytvoří vlákna. Zaznamená se čas mezi přidáním roztoku hovězích euglobulinů a rozpuštěním vlákn. Tento čas nepřevyšuje 15 min.

Uchovávají se chráněny před vlhkostí při 4 °C a jsou použitelné 1 rok.

Euglobuliny lidské R

Pro přípravu se použije čerstvá lidská krev odebraná do protisrážlivého roztoku (např. roztok citronanu sodného) nebo lidská krev pro transfuzi, která právě dosáhla konce doby použitelnosti a uchovává se v plastových krevních obalech. Nepoužije se hemolyzovaná krev. Odstředí se při 1500 g_n až 1800 g_n při 15 °C do získání supernatantní plazmy chudé na krevní destičky. Izo skupiny plazmy mohou být smíchány.

K 1 litru plazmy se přidá 75 g *siranu barnatého R* a třepe se 30 min. Odstředí se při nejméně 15 000 g_n při 15 °C, čirá supernatantní tekutina se oddělí, přidá se k ní 10 ml roztoku *aprotininu R* (0,2 mg/ml) a dobře se protřepe. Do nádoby o objemu nejméně 30 l v místnosti vychlazené na 4 °C se převede 25 l *vody destilované R* o teplotě 4 °C a přidá se 500 g pevného oxidu uhličitého. Ihned se za míchání přidá supernatantní tekutina získaná z plazmy. Vznikne bílá sraženina, která se nechá stát 10 h až 15 h při 4 °C. Čirá supernatantní tekutina se odstraní odsátím, sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C a mechanicky se disperguje v 500 ml *vody destilované R* při 4 °C. Směs se 5 min protřepává a sraženina se oddělí odstředováním při 4 °C. Sraženina se mechanicky disperguje v 60 ml roztoku obsahujícího *chlorid sodný R* (9 g/l) a *citronan sodný R* (0,9 g/l) a pH směsi se upraví roztokem *hydroxidu sodného R* (10 g/l) na hodnotu 7,2 až 7,4. K usnadnění rozpouštění sraženiny se její částice rozmělní vhodným nástrojem a směs se filtruje přes filtr ze slinutého skla. Filtr i nástroj se promyjí 40 ml stejného roztoku chloridu sodného a citronanu sodného a zředí se jím na 100 ml. Tento roztok se lyofilizuje. Výtěžky jsou obvykle 6 g až 8 g euglobulinů z litru lidské plazmy.

Zkouška způsobilosti. Roztoky použité v této zkoušce se připraví za pomoci tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,4 obsahujícího albumin hovězí R (30 g/l).

Do zkumavky o průměru 8 mm umístěné ve vodní lázni zahřáté na 37 °C se převede 0,1 ml referenčního přípravku streptokinasy 10 m.j./ml a 0,1 ml roztoku *trombinu lidského R* 20 m.j./ml. Přidá se rychle 1 ml roztoku obsahujícího 10 mg lidských euglobulinů v 1 ml. Do 10 s se vytvoří vlákna. Zaznamená se čas mezi přidáním roztoku lidských euglobulinů a rozpuštěním vlákn. Tento čas nepřevyšuje 15 min.

Uchovávají se ve vzduchotěsných obalech při 4 °C a jsou použitelné 1 rok.

Faktor koagulační V RS

Faktor koagulační V se může připravit následujícím postupem nebo jiným postupem, který vylučuje faktor VIII. Připraví se z čerstvé šřavelanové hovězí plazmy frakcionací při 4 °C

3596 Zkoumadla

s nasyceným roztokem *síranu amonného R*. Oddělí se frakce, která precipituje při nasycení 38 % až 50 %, obsahující faktor V bez významného znečištění faktorem VIII. Síran amonný se odstraní dialýzou a roztok se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9,0 g/l) tak, aby vznikl roztok obsahující 10 % až 20 % množství faktoru V přítomného v normální čerstvé lidské plazmě.

Stanovení obsahu. Připraví se dvě ředění koagulačního faktoru V v *tlumivém roztoku imidazolovém o pH 7,3*. První ředění v poměru objemových dílů 1 : 10 a druhé ředění v poměru objemových dílů 1 : 20. Obě ředění se zkouší takto: 0,1 ml *plazmy substrátu prosté faktoru V RS*, 0,1 ml zkoušeného roztoku, 0,1 ml *zkoumadla tromboplastinového R* a 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (3,5 g/l) se smíchají a měří se koagulační čas, tj. čas mezi přidáním roztoku chloridu vápenatého a první známkou tvorby fibrinu, kterou lze pozorovat vizuálně nebo pomocí vhodného přístroje.

Stejným způsobem se stanoví koagulační čas (dvojmo) čtyř ředění (*V/V*) normální lidské plazmy v *tlumivém roztoku imidazolovém o pH 7,3* obsahující: 1 : 10 objemových dílů (odpovídá 100 % faktoru V), 1 : 50 objemových dílů (odpovídá 20 % faktoru V), 1 : 100 objemových dílů (odpovídá 10 % faktoru V) a 1 : 1000 objemových dílů (odpovídá 1 % faktoru V). Průměrné koagulační časy každého ředění lidské plazmy se vyznačí na logaritmickém papíru proti odpovídajícímu procentu faktoru V a interpolací se zjistí procenta koagulačního faktoru V pro dvě ředění sledovaného roztoku. Průměrná hodnota z těchto dvou výsledků udává procenta faktoru V ve zkoušeném roztoku.

Roztok se uchovává ve zmrzlém stavu při teplotě, která není vyšší než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Faktor koagulační Xa hovězí R

CAS 9002-05-5

Je to enzym, který přeměňuje protrombin na trombin. Částečně přečištěný přípravek se získává z tekuté hovězí plazmy a může se připravit aktivací inaktivního enzymu faktoru X vhodným aktivátorem, jako je jed Russelovy zmije.

Lyofylizovaný přípravek se uchovává při $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zmrazený roztok při teplotě nižší než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Faktor koagulační Xa hovězí RS

Rozpustí se podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,4*. Jakákoliv změna absorbance roztoku, měřená při 405 nm (2.2.25) proti stejnému tlumivému roztoku jako kontrolní kapalině, je nejvýše 0,15 až 0,20 za min.

Fehlingův roztok R

Viz odstavec *Vínan měďnatý RS*.

Fenanthren R $\text{C}_{14}\text{H}_{10}$ M_r 178,2

CAS 85-01-8

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v etheru, mírně rozpustné v lihu 96%.

TT: asi $100\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3597

Fenanthroliniumchlorid R $C_{12}H_9ClN_2 \cdot H_2O$ M_r 234,7

CAS 3829-86-5

Monohydrát 1,10-fenanthroliniumchloridu

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 215 °C, za rozkladu.

Fenazon RViz článek *Phenazonum*.**Fenchon R** $C_{10}H_{16}O$ M_r 152,2

CAS 7787-20-4

1,3,3-Trimethylbicyklo[2,2,1]heptan-2-on

Olejovitá kapalina, mísitelná s lihem 96% a s etherem, prakticky nerozpustná ve vodě.

 n_D^{20} : asi 1,46.TV_{15 mm}: asi 66 °C.*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Foeniculi amari fructus* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy piků.

Fenolftalein R $C_{20}H_{14}O_4$ M_r 318,3

CAS 77-09-8

3,3'-Bis(4-hydroxyfenyl)ftalid

Bílý nebo nažloutle bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Fenolftalein RS0,1 g *fenolftaleinu R* se rozpustí v 80 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.*Zkouška citlivosti.* K 0,1 ml *fenolftaleinu RS* se přidá 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Roztok je bezbarvý a přidáním nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* vznikne růžové zbarvení.*Barevný přechod:* pH 8,2 (bezbarvá) až pH 10,0 (červená).**Fenolftalein RS1**Roztok 10 g/l v *lihu 96% R*.**Fenol R**Viz článek *Phenolum*.

3598 Zkoumadla

Fenoxybenzamoniumchlorid R $C_{18}H_{23}Cl_2NO$ M_r 340,3

N-(2-chlorethyl)-N-(1-methyl-2-fenoxyethyl)benzylamoniumchlorid

Obsahuje 97,0 % až 103,0 % $C_{18}H_{23}Cl_2NO$, počítáno na vysušenou látku.

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 138 °C.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; stanoví se sušením 24 h nad oxidem fosforečným R, při tlaku nepřevyšujícím 670 Pa.

Stanovení obsahu. 0,500 g se rozpustí v 50,0 ml chloroformu prostého ethanolu R a třikrát se protřepe s 20 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS. Vodná vrstva se odstraní, chloroformová vrstva se zfiltruje přes vat. 5,0 ml filtrátu se zředí chloroformem prostým ethanolu R na 500,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximu při 272 nm v uzavřené kyvetě.

Obsah $C_{18}H_{23}Cl_2NO$ se vypočítá za použití specifické absorbance, jejíž hodnota je 56,3.

Uchovává se chráněn před světlem.

Fenoxyethanol R $C_8H_{10}O_2$ M_r 138,2

CAS 122-99-6

2-Fenoxyethanol

Čirá bezbarvá olejovitá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 1,11. n_D^{20} : asi 1,537.

Teplota tuhnutí (2.2.18): Nejméně 12 °C.

Fenylalanin R

Viz článek Phenylalaninum.

p-Fenylendiamoniumdichlorid R $C_6H_{10}Cl_2N_2$ M_r 181,1

CAS 615-28-1

Krystalický prášek nebo bílé nebo slabě zbarvené krystaly, červenající působením vzduchu, snadno rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96% a v etheru.

 α -Fenylglycin R $C_8H_9NO_2$ M_r 151,2

CAS 2835-06-5

Kyselina (RS)-2-amino-2-fenylactová

Fenylhydrazin v kyselině sírové RS

65 mg fenylhydraziniumchloridu R předem překrystalizovaného v roztoku lihu R 85% (V/V) se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a kyseliny sírové R (80 + 170) a zředí se stejnou směsí na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Fenylhydraziniumchlorid R $C_6H_9ClN_2$ M_r 144,6

CAS 59-88-1

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, na vzduchu hnědne, dobře rozpustný ve vodě a lihu 96%.

TT: asi 245 °C, za rozkladu.

Uchovává se chráněn před světlem.

Fenylhydraziniumchlorid RS

0,9 g *fenylhydraziniumchloridu R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Roztok se odbarví *aktivním uhlím R* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 30 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou R* na 250 ml.

Ferocypfen R $C_{26}H_{16}FeN_6$ M_r 468,3

CAS 14768-11-7

Železnatý komplex dikyanobis(1,10-fenanthrolinu)

Fialově bronzový krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem a vlhkostí.

Feroin RS

CAS 14634-91-4

0,7 g *síranu železnatého R* a 1,76 g *fenanthroliniumchloridu R* se rozpustí v 70 ml *vody R* a zředí se jí na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS* se přidá 0,15 ml *oxidu osmičelého RS* a 0,1 ml roztoku *feroinu*. Po přidání 0,1 ml *hexanitratoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS* se změni barva z červené na světle modrou.

Fibrinogen R

Viz článek *Fibrinogenum humanum cryodesiccatum*.

Floroglucinol R $C_6H_6O_3 \cdot 2H_2O$ M_r 162,1

CAS 6099-90-7

Dihydrát 1,3,5-benzentriolu

Bílé nebo nažloutlé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%.

TT (2.2.16): asi 223 °C.

Floroglucin R

Viz *Floroglucinol R*.

Floroglucinol RS

Synonymum. Floroglucin

K 1 ml roztoku *floroglucinolu R* (100 g/l) v *lihu 96% R* se přidá 9 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

Uchovává se chráněn před světlem.

3600 Zkoumadla

Fluoranthen R $C_{16}H_{10}$ M_r 202,3

CAS 206-44-0

Benzo[*j,k*]fluoren

Žluté nebo žlutohnědé krystaly.

TT: 105 °C až 110 °C.

TV: asi 384 °C.

Fluordinitrobenzen R $C_6H_3FN_2O_4$ M_r 186,1

CAS 70-34-8

1-Fluor-2,4-dinitrobenzen

Světle žluté krystaly, dobře rozpustné v etheru a v propylenglykolu.

TT: asi 29 °C.

Fluorescein R $C_{20}H_{12}O_5$ M_r 332,3

CAS 2321-07-5

3',6'-Dihydroxyspiro[isobenzofuran-1(3*H*),9'-[9*H*]xanthen]-3-on

Oranžově červený prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v teplém lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru, dobře rozpustný v alkalických roztocích. V roztoku vykazuje zelenou fluorescenci.

TT: asi 315 °C.

Fluorescein sodná sůl R $C_{20}H_{10}Na_2O_5$ M_r 376,3

CAS 518-47-8

Colour Index 45350, Schultz 880

Dinatrium-2-(6-oxido-3-oxo-3*H*-xanthen-9-yl)benzoat

Prášek červenooranžový, snadno rozpustný ve vodě, vodné roztoky intenzivně žlutozeleně fluoreskují.

Fluorid boritý R BF_3 M_r 67,8

CAS 7637-07-2

Bezbarvý plyn.

Fluorid sodný RViz článek *Natrii fluoridum*.**2-Fluor-2-deoxy-D-glukosa R** $C_6H_{11}OF$ M_r 182,2

CAS 86783-82-6

Bílý krystalický prášek.

TT: 174 °C až 176 °C.

1-Fluor-2-nitro-4-trifluormethylbenzen R $C_7H_3F_4NO_2$ M_r 209,1

CAS 367-86-2

TT: asi 197 °C.

Formaldehyd RViz článek *Formaldehydi solutio 35%*.**Formaldehyd v kyselině sírové RS**2 ml *formaldehydu R* se smíchají se 100 ml *kyseliny sírové R*.**Formamid R** CH_3NO M_r 45,0

CAS 75-12-7

Čirá bezbarvá olejovitá hygroskopická kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%. Je hydrolyzován vodou.

TV: asi 103 °C; stanoví se při tlaku 2 kPa.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Formamid upravený RS

1,0 g *kyseliny amidosírové R* se disperguje ve 20,0 ml *formamidu R* obsahujícího 5% (V/V) *vody R*.

Fosfolipidy R

Lidský nebo hovězí mozek se promyje, zbaví se blan a cév a ve vhodném přístroji se homogenizuje. Z homogenizátu se odváží 1000 g až 1300 g a stanoví se objem (V) v ml. Třikrát se extrahuje se čtyřnásobným objemem *acetonu R*. Po odfiltrování ve vakuu se zbytek suší po dobu 18 h při 37 °C. Zbytek se extrahuje dvakrát s 2 objemy směsi dvou objemových dílů *etheru petrolejového R2* a třech objemových dílů *etheru petrolejového R1*. Každý podíl se filtruje přes papírový filtr navlhčený směsí rozpouštědel. Spojené podíly se odpaří do sucha při 45 °C a tlaku nepřekračujícím 670 Pa. Zbytek se rozpustí v 0,2 objemu (V) *etheru R* a roztok se nechá stát při 4 °C až vznikne sraženina. Po odstředování se čirá supernatantní kapalina odpaří ve vakuu až na objem 100 ml z každého původně naváženého kilogramu homogenizátu a zváží se. Roztok se nechá stát při 4 °C (12 h až 24 h), až vznikne sraženina. Po odstředování se čirá supernatantní kapalina smíchá s pětinasobným množstvím *acetonu R*, odstředuje se, supernatantní kapalina se odstraní a sraženina se vysuší.

Uchovává se ve vakuu v exsikátoru, chráněn před světlem.

Fosforečnan sodný dodekahydrát R $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ M_r 380,1

CAS 10101-89-0

Tetraoxofosforečnan sodný dodekahydrát

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

3602 Zkoumadla**Fosforan sodný R** $\text{NaH}_2\text{PO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ M_r 106,0

CAS 10039-56-2

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly, hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Fruktosa R

Viz článek *Fructosum*.

Ftalanhydrid R $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$ M_r 148,1

CAS 85-44-9

Isobenzofuran-1,3-dion

Obsahuje nejméně 99,0 % $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$.

Bílé lístky.

TT: 130 °C až 132 °C.

Stanovení obsahu. 2,000 g se rozpustí ve 100 ml vody R a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Ochladí se a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 74,05 mg $\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_3$.

Ftalanhydrid RS

42 g *ftalanhydridu R* se rozpustí ve 300 ml *pyridinu bezvodého R*. Nechá se 16 h stát.

Uchovává se chráněn před světlem a je použitelný 1 týden.

Ftalazin R $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2$ M_r 130,1

CAS 253-52-1

Slabě žluté krystaly, snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%, ethylacetatu a v methanolu, mírně rozpustné v etheru.

TT: 89 °C až 92 °C.

Ftaldialdehyd R $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_2$ M_r 134,1

CAS 643-79-8

1,2-Benzendikarbaldehyd

Žlutý krystalický prášek.

TT: asi 55 °C.

· Uchovává se chráněn před světlem a vzduchem.

Ftaleinpurpur R $\text{C}_{32}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_{12} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ M_r bezvodého 637

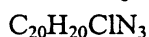
CAS 2411-89-4

Kyselina *o*-kresolftalein- 3',3"-bis(methyleniminodioctová) hydrát

Žlutobílý až nahnědlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Vyrábí se také ve formě sodné soli: žlutobílý až růžový prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3603

Zkouška citlivosti. 10 mg látky se rozpustí v 1 ml *amoniaku 26% R* a zředí se *vodou R* na 100 ml. K 5 ml roztoku se přidá 95 ml *vody R*, 4 ml *amoniaku 26% R*, 50 ml *lihu 96% R* a 0,1 ml *chloridu barnatého 0,1 mol/l VS*. Roztok je modrofialový. Přidáním 0,15 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* se roztok odbarví.

Fuchsin zásaditý R M_r 323,8

CAS 569-61-9

Fuchsin, Colour Index 42510; Schultz 780 (rosaniliniumchlorid)

 M_r 329,9

Parafuchsin, Colour Index 42500; Schultz 779 (pararosaniliniumchlorid)

Je to směs rosaniliniumchloridu {(4-amino-3-methylfenyl) bis (4-aminofenyl) methylumchlorid} a pararosaniliniumchloridu {tri (4-aminofenyl) methylumchloridu}.

Krystaly se zelenobronzovým leskem, dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%.

V případě nutnosti se čistí tímto způsobem: 1,0 g se rozpustí v 250 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Roztok se nechá stát 2 h při pokojové teplotě, poté se zfiltruje, neutralizuje se *hydroxidem sodným zředěným RS* a navíc se přidá 1 ml až 2 ml stejného roztoku. Sraženina se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (40), promyje se *vodou R*, rozpustí se v 70 ml *methanolu R* přehřátého k varu, přidá se 300 ml *vody R* 80 °C teplé a ochladí se na pokojovou teplotu. Krystaly se zfiltrují a vysuší se ve vakuu.

Uchovává se chráněn před světlem.

Fuchsin RS

Schiffův roztok

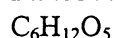
0,10 g *fuchsinu zásaditého R* se rozpustí v 60 ml *vody R*. Přidá se roztok obsahující 1,0 g *siřičitanu sodného bezvodého R* nebo 2,0 g *siřičitanu sodného R* v 10 ml *vody R*. Pomalu se za třepání přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou R* se na 100 ml. Nejméně 12 h se nechá stát chráněn před světlem. Roztok se odbarví přidáním *aktivního uhlí R* a zfiltruje. Jestliže je roztok zakalený, před použitím se zfiltruje. V případě, že se při skladování roztok fialově zbarví, odstraní se toto zbarvení *aktivním uhlím R*.

Zkouška citlivosti. K 1,0 ml se přidá 1,0 ml *vody R* a 0,1 ml *lihu 96% prostého aldehydů R*. Přidají se 0,2 ml roztoku obsahujícího 0,1 g/l formaldehydu (CH_2O ; M_r 30,02). Během 5 min se ve směsi objeví slabě růžové zbarvení.

Uchovává se chráněn před světlem.

Fuchsin RS1

K 1,0 g *fuchsinu zásaditého R* se přidá 100 ml *vody R*. Zahřeje se na 50 °C, pak při chladnutí se občas protřepe. Před použitím se nechá stát 48 h, protřepe se a pak se zfiltruje. Ke 4,0 ml filtrátu se přidá 6 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, smíchá se a zředí se *vodou R* na 100 ml. Před použitím se nechá nejméně 1 h stát.

Fukosa R M_r 164,2

CAS 6696-41-9

6-Deoxy-L-galaktosa

3604 Zkoumadla

Bílý prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: asi -76° ; měří se roztok (90,0 g/l) 24 h po přípravě.

TT: asi 140°C .

Furfural R

$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_2$

M_r 96,1

CAS 98-01-1

2-Furaldehyd

Čirá bezbarvá až nahnědle žlutá olejovitá kapalina, mísitelná s 11 díly vody, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : 1,155 až 1,161.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 159°C až 163°C .

Uchovává se chráněn před světlem.

Galaktosa R

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

M_r 180,2

CAS 59-23-4

D-(+)-Galaktosa

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: $+79^{\circ}$ až $+81^{\circ}$; měří se roztok (100 g/l) ve vodě *R* obsahující asi 0,05 % NH_3 .

Geraniol R

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$

M_r 154,3

CAS 106-24-1

trans-3,7-Dimethyl-2,6-oktadien-1-ol

Bezbarvá čirá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,889.

n_{D}^{20} : asi 1,477.

TV: 231°C až 232°C .

Geranylacetat R

$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{O}_2$

M_r 196,3

CAS 105-87-3

(*E*)-3,7-Dimethylokta-2,6-dien-1-ylacetat

Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, slabě páchne po růži a levanduli.

d_{25}^{25} : 0,896 až 0,913.

n_{D}^{15} : asi 1,463.

*TV*₂₅: asi 138°C .

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3605**

Gitoxin RC₄₁H₆₄O₁₄M_r 781

CAS 4562-36-1

3β-(O-2,6-Dideoxy-β-D-ribo-hexopyranosyl-(1→4)-O-2,6-dideoxy-β-D-ribo-hexopyranosyl-(1→4)-2,6-dideoxy-β-D-ribo-hexopyranosyloxy)-14,16β-dihydroxy-5β,14β-kard-20(22)-enolid.
Glykosid *Digitalis purpurea* L.

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a ve většině běžných organických rozpouštědel, dobře rozpustný v pyridinu.

$[\alpha]_D^{20}$: +20° až +24°; měří se roztok (5 g/l) ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R*.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Digitalis purpurea folium*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Glukosamoniumchlorid RC₆H₁₄ClNO₅M_r 215,6

CAS 66-84-2

D-Glukosamoniumchlorid

Krystaly, dobře rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v etheru.

$[\alpha]_D^{20}$: +100°, po 30 min se snižuje na +47,5°; měří se roztok (100 g/l) ve *vodě R*.

Glukosa R

Viz článek *Glucosum*.

Glutaraldehyd RC₅H₈O₂M_r 100,1

CAS 111-30-8

Olejovitá kapalina, dobře rozpustná ve vodě.

n_D^{25} : asi 1,434.

TV: asi 188 °C.

Glycerol 85% R

Viz článek *Glycerolum 85%*.

Glycerol R

Viz článek *Glycerolum*.

Glycin R

Viz článek *Glycinum*.

Glyoxal RS

CAS 107-22-2

Obsahuje asi 40 % glyoxalu.

3606 Zkoumadla

Stanovení obsahu. Do kulaté skleněné baňky se zabroušenou zátkou se převede 1,000 g zkoušeného roztoku, 20 ml roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (70 g/l) a 50 ml *vody R*. Směs se nechá stát 30 min a přidá se 1 ml *červeně methylové směsného indikátoru RS* a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* do změny červeného zbarvení na zelené. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 29,02 mg glyoxalu (C₂H₂O₂).

Glyoxalbishydroxyanil RC₁₄H₁₂N₂O₂*M_r* 240,3

CAS 1149-16-2

Glyoxal-bis(2-hydroxyanil)

Bílé krystaly, dobře rozpustné v horkém lihu 96%.

TT: asi 200 °C.**Gonadotropin choriový R**Viz článek *Gonadotropinum chorionicum*.**Gonadotropin sérum R**Viz článek *Gonadotropinum sericum equinum a.u.v.***Guajakolová pryskyřice R**Pryskyřice se získává ze dřeva *Guajacum officinale L.* a *Guajacum sanctum L.*

Načervenalé hnědé nebo nazelenalé hnědé těžké křehké úlomky, na lomu lesklé.

Guajazulen RC₁₅H₁₈*M_r* 198,3

CAS 489-84-9

1,4-Dimethyl-7-isopropylazulen

Tmavě modré krystaly nebo modrá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s mastnými oleji, silicemi a s tekutým parafinem, mírně rozpustná v lihu 96%, dobře rozpustná v kyselině sírové (500 g/l) a 80% kyselině fosforečné, přičemž vzniká bezbarvý roztok.

TT: asi 30 °C.

Uchovává se chráněn před světlem a vzduchem.

Guanidiniumchlorid RCH₆CIN₃*M_r* 95,5

CAS 50-01-1

Krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Guanin RC₅H₅N₅O*M_r* 151,1

CAS 73-40-5

2-Amino-1,7-dihydro-6*H*-purin-6-on

Bílý amorfní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se v roztocích amoniaku a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3607

Harpagosid R $C_{24}H_{30}O_{11}$ M_r 494,5

Bílý krystalický prášek, velmi hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě a lihu 96%.

TT: 117 °C až 121 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

Helium pro chromatografii R

He

 A_r 4,003

CAS 7440-59-7

Obsahuje nejméně 99,995 % (V/V) He.

Hemoglobin R

CAS 9008-02-0

Dusík. 15 % až 16 %.

Železo. 0,2 % až 0,3 %.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2 %.

Síranový popel (2.4.14.). Nejvýše 1,5 %.

Hemoglobin RS

2,0 g hemoglobinu R se převedou do 250ml baňky, přidá se 75 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2 a míchá se do rozpuštění. pH roztoku se upraví pomocí kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS na $1,6 \pm 0,1$ (2.2.3). Roztok se kvantitativně převede do odměrné baňky na 100 ml pomocí kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2. Přidá se 25 mg thiomersalu R. Připravuje se denně, uchovává se při 5 ± 3 °C a před použitím se znovu upraví pH na 1,6.

Uchovává se při 2 °C až 8 °C.

Heparin R

Viz článek *Heparinum natricum*.

HEPES R $C_8H_{18}N_2O_4S$ M_r 238,3

CAS 7365-45-9

Kyselina 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethansulfonová

Bílý prášek.

TT: asi 236 °C, za rozkladu.

Heptan R C_7H_{16} M_r 100,2

CAS 142-82-5

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

d_{20}^{20} : 0,683 až 0,686.

n_D^{20} : 1,387 až 1,388.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 97 °C až 98 °C.

3608 Zkoumadla

Heptansulfonan sodný R $C_7H_{15}NaO_3S$ M_r 202,3

CAS 22767-50-6

Bílá nebo téměř bílá krystalická hmota, snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v methanolu.

Heptansulfonan sodný monohdrát R $C_7H_{15}NaO_3S \cdot H_2O$ M_r 220,3

Počítáno na bezvodou látku, obsahuje nejméně 96 % sloučeniny $C_7H_{15}NaO_3S$.

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v etheru.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 8,0 %, stanoví se s 0,300 g.

Stanovení obsahu. 0,150 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,22 mg $C_7H_{15}NaO_3S$.

Hexadimethriniumdibromid R $(C_{13}H_{30}Br_2N_2)_n$

CAS 28728-55-4

1,5-Dimethyl-1,5-diazaundekamethylenpolymethobromid, poly(N,N,N',N'-tetramethyl-N-trimethylen-hexamethyldiamoniumdibromid)

Bílý amorfní prášek hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Hexahydroxoantimoničnan draselný R $K[Sb(OH)_6]$ M_r 262,9

CAS 12208-13-8

Bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly, je mírně rozpustný ve vodě.

Hexahydroxoantimoničnan draselný RS

2,0 g *hexahydroxoantimoničnanu draselného R* se rozpustí v 95 ml horké *vody R*. Rychle se ochladí a přidá se roztok obsahující 2,5 g *hydroxidu draselného R* v 50 ml *vody R* a 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*. Nechá se stát 24 h. Přefiltruje se a zředí se *vodou R* na 150 ml.

Hexakosan R $C_{26}H_{54}$ M_r 366,7

CAS 630-01-3

Bezbarvé nebo bílé destičky.

TT: asi 57 °C.

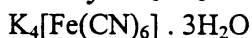
Hexakynoželezitan draselný R $K_3[Fe(CN)_6]$ M_r 329,3

CAS 13746-66-2

Červené krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Hexakynoželezitan draselný RS

5 g hexakynoželezitanu draselného R se propláchne malým množstvím vody R, potom se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Hexakynoželeznatan draselný R M_r 422,4

CAS 14459-95-1

Žluté průhledné krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Hexakynoželeznatan draselný RS

Roztok 53 g/l.

Hexamethyldisilazan R M_r 161,4

CAS 999-97-3

Čirá bezbarvá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,78. n_D^{20} : asi 1,408. TV : asi 125 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

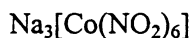
Hexamethylenetetramin R

Viz odstavec Methenamin R.

Hexanitratoceričitan amonný R M_r 548,2

CAS 16774-21-3

Oranžově žlutý krystalický prášek nebo oranžové průsvitné krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

Hexanitrokobaltitan sodný R M_r 403,9

CAS 13600-98-1

Oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Hexanitrokobaltitan sodný RS

Roztok 100 g/l. Připravuje se v čas potřeby.

Hexan R M_r 86,2

CAS 110-54-3

n-Hexan

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

 d_{20}^{20} : 0,659 až 0,663. n_D^{20} : 1,375 až 1,376.

3610 Zkoumadla

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 67 °C až 69 °C.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícímu požadavku:

Transmittance (2.2.25): nejméně 97 % při 260 nm až 420 nm; měří se proti *vodě R* jako kontrolní kapalině.

Hexansulfonan sodný R $C_6H_{13}NaO_3S$ M_r 188,2

CAS 2832-45-3

Bílý nebo téměř bílý prášek, snadno rozpustný ve vodě.

Hexylamin R $C_6H_{15}N$ M_r 101,2

CAS 111-26-2

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : 0,766. n_D^{20} : 1,418.

TV: 127 °C až 131 °C.

Histaminiumdichlorid R

Viz článek *Histamini dihydrochloridum*.

Histaminiumfosfat R

Viz článek *Histamini phosphas*.

Histamin RS

Roztok *chloridu sodného R* (9 g/l) obsahující 0,1 µg/1 ml báze histaminu ve formě fosfatu nebo dichloridu.

Histidiniumchlorid R $C_6H_{10}ClN_3O_2 \cdot H_2O$ M_r 209,6

CAS 123333-71-1

(*RS*)-[1-karboxyl-2-(4-imidazolyl)ethyl]amoniumchlorid monohydrát

Krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě.

TT: asi 250 °C, za rozkladu.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie za podmínek uvedených v článku *Histamini dihydrochloridum*. Na získaném chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

Hořčík R

Mg

 A_r 24,30

CAS 7439-95-4

Stříbrobílá páska, třísky, drát nebo šedý prášek.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3611

Hovězí mozek sušený R

Čerstvý hovězí mozek zbavený cév a odblaněný se nařeže na malé kousky a odvodní se v *acetonu R*. 30 g hmoty se opakovaně roztírá v třence vždy se 75 ml *acetonu R*, až se po filtraci získá suchý prášek. Potom se suší 2 h při 37 °C až do vymizení pachu acetonu.

Hydraziniumsulfat R $\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_4\text{S}$ M_r 130,1

CAS 10034-93-2

Bezbarvé krystaly, mírně rozpustné ve studené vodě, dobře rozpustné ve vodě teplé 50 °C, snadno rozpustné ve vroucí vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Arsen (2.4.2). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce a pro arsen (1 µg/g).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %.

Hydrogenarseničnan sodný R $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ M_r 312,0

CAS 10048-95-0

Heptahydrát hydrogenarseničnanu sodného

Krystaly zvětrávající na teplém vzduchu, snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v glycerolu, těžce rozpustné v lihu 96%. Vodný roztok je alkalický na lakmus.

d_{20}^{20} : asi 1,87.

TT: asi 57 °C, při rychlém zahřívání.

Hydrogencitronan amonný R $\text{C}_6\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7$ M_r 226,2

CAS 3012-65-5

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 4,3; měří se roztok (22,6 g/l).

Hydrogencitronan sodný R $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ M_r 263,1

CAS 144-33-4

Seskvihydrát disodné soli kyseliny 2-hydroxy-1,2,3-propan-trikarboxylové

Bílý prášek, rozpustný v méně než 2 dílech vody, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Hydrogenfosforečnan amonný R $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ M_r 132,1

CAS 7783-28-0

Bílé krystaly nebo zrna. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 8; měří se roztok (200 g/l).

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

3612 Zkoumadla

Hydrogenfosforečnan draselný R K_2HPO_4 M_r 174,2

CAS 7758-11-4

Bílý krystalický hygroskopický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Hydrogenfosforečnan sodný bezvodý R Na_2HPO_4 M_r 142,0

CAS 7558-79-4

Bílý hygroskopický prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Hydrogenfosforečnan sodný dihydrát R

Viz článek *Natrii hydrogenophosphas dihydricus*.

Hydrogenfosforečnan sodný R

Viz článek *Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus*.

Hydrogenfosforečnan sodný RS

Roztok 90 g/l.

Hydrogenftalan draselný R $C_8H_5KO_4$ M_r 204,2

CAS 877-24-7

Draselná sůl kyseliny 1,2-benzendikarboxylové

Bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96%.

Hydrogenftalan draselný 0,2 mol/l RS

Množství *hydrogenftalanu draselného R* odpovídající 40,84 g $C_8H_5KO_4$ se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Hydrogensíran draselný R $KHSO_4$ M_r 136,2

CAS 7646-93-7

Bezbarvé průsvitné hygroskopické krystaly, snadno rozpustné ve vodě na roztok se silně kyselou reakcí.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Hydrogensířičitan sodný R $NaHO_3S$ M_r 104,1

CAS 7631-90-5

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%. Působením vzduchu se část oxidu siřičitého uvolňuje a látka se postupně oxiduje na síran.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3613

Hydrogenuhlíčitan amonný R NH_4HCO_3 M_r 79,1

CAS 1066-33-7

Obsahuje nejméně 99 % NH_4HCO_3 .**Hydrogenuhlíčitan draselný R** KHCO_3 M_r 100,1

CAS 298-14-6

Průsvitné bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Hydrogenuhlíčitan draselný nasycený v methanolu RS

0,10 g hydrogenuhlíčitanu draselného R se rozpustí zahříváním na vodní lázni v 0,4 ml vody R. Přidá se 25 ml methanolu R a míchá se na vodní lázni do úplného rozpuštění látky.

Používá se čerstvě připravený roztok.

Hydrogenuhlíčitan sodný RViz článek *Natrii hydrogenocarbonas*.**Hydrogenuhlíčitan sodný RS**

Roztok 42 g/l.

Hydrogenvínan draselný R $\text{C}_4\text{H}_5\text{KO}_6$ M_r 188,2

CAS 868-14-4

Draselná sůl kyseliny (2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxy-1,4-butandiové

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé neprůhledné krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucí vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Hydrochinon R $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_2$ M_r 110,1

CAS 123-31-9

Benzen-1,4-diol

Drobné bezbarvé nebo bílé jehličky, tmavnoucí na vzduchu a na světle, dobře rozpustné ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 173 °C.

Uchovává se chráněn před světlem a vzduchem.

Hydrokortisonacetat RViz článek *Hydrocortisoni acetat*.**Hydroxid barnatý R** $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ M_r 315,5

CAS 12230-71-6

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

3614 Zkoumadla

Hydroxid barnatý RS

Roztok 47,3 g/l (asi 0,15 mol/l).

Hydroxid di(ethylendiamin)měďnatý 1 mol/l RS

Molární poměr ethylendiaminu k mědi je $(2,00 \pm 0,04)$.

Hydroxid draselný R

Viz článek *Kalii hydroxidum*.

Hydroxid draselný v lihu 2 mol/l RS

12 g hydroxidu draselného R se rozpustí v 10 ml vody R a zředí se lihem 96% R na 100 ml.

Hydroxid draselný v lihu RS

3 g hydroxidu draselného R se rozpustí v 5 ml vody R a zředí se lihem 96% prostým aldehydů R na 100 ml. Dekantuje se čirý roztok. Roztok je téměř bezbarvý.

Hydroxid draselný v lihu RS1

6,6 g hydroxidu draselného R se rozpustí v 50 ml vody R a zředí se lihem 96% R na 1000,0 ml.

Hydroxid draselný v lihu 0,5 mol/l RS

28 g hydroxidu draselného R se rozpustí ve 100 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 1000 ml.

Hydroxid lithný R

LiOH · H₂O

M_r 41,96

CAS 1310-66-3

Bílý zrnitý prášek silně alkalické reakce, absorbuje snadno vodu a oxid uhličitý, dobře rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Hydroxid sodný R

Viz článek *Natrii hydroxidum*.

Hydroxid sodný koncentrovaný RS

42 g hydroxidu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

Hydroxid sodný RS

20,0 g hydroxidu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. Obsah se ověří titrací kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS za použití oranže methylové RS jako indikátoru a v případě potřeby se upraví na 200 g/l (m/V).

Hydroxid sodný zředěný RS

8,5 g hydroxidu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

Hydroxid sodný 4 mol/l RS

16,0 g hydroxidu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Hydroxid sodný v methanolu RS

40 mg hydroxidu sodného R se rozpustí v 50 ml vody R. Ochladí se a přidá se 50 ml methanolu R.

Hydroxid tetraaminměďnatý RS

34,5 g síranu měďnatého R se rozpustí ve 100 ml vody R a za míchání se přidává po kapkách amoniak 26% R, dokud se vzniklá sraženina opět nerozpustí. Teplota se udržuje pod 20 °C a po kapkách se přidává za stálého míchání 30 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS. Sraženina se filtruje přes filtr ze slinutého skla (40), promývá se vodou R, až je filtrát čirý, a potom se ke sraženině přidá 200 ml amoniaku 26% R. Znovu vzniklá sraženina se filtruje přes filtr ze slinutého skla a filtrace se opakuje pokud možno do rozpuštění.

Hydroxid vápenatý R

Ca(OH)₂

M_r 74,1

CAS 1305-62-0

Bílý prášek, téměř zcela rozpustný v 600 dílech vody.

Hydroxid vápenatý RS

Čerstvě připravený nasycený roztok.

Hydroxychinolin R

C₉H₇NO

M_r 145,2

CAS 148-24-3

8-Hydroxychinolin

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a ve zředěných minerálních kyselinách.

TT: asi 75 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,05 %.

Hydroxylamoniumchlorid R

H₄CINO

M_r 69,5

CAS 5470-11-1

Bílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Hydroxylamoniumchlorid RS2

2,5 g hydroxylamoniumchloridu R se rozpustí ve 4,5 ml horké vody R a přidá se 40 ml lihu 96% R a 0,4 ml modře bromfenolové RS2. Přidává se hydroxid draselný v lihu 0,5 mol/l RS do vzniku zelenavě žlutého zbarvení a zředí se lihem 96% R na 50,0 ml.

3616 Zkoumadla

Hydroxylamoniumchlorid alkalický RS

Stejně objemové díly roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (139 g/l) a roztoku *hydroxidu sodného R* (150 g/l) se smíchají bezprostředně před použitím.

Hydroxylamoniumchlorid alkalický RS1

Roztok A. 12,5 g *hydroxylamoniumchloridu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml.

Roztok B. 12,5 g *hydroxidu sodného R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. V čas potřeby se smíchají stejné díly roztoku A a roztoku B.

Hydroxylamoniumchlorid v lihu RS

3,5 g *hydroxylamoniumchloridu R* se rozpustí v 95 ml roztoku *lihu R* 60% (V/V), přidá se 0,5 ml roztoku *oranže methylové sodné soli R* (2 g/l) v *lihu R* 60% (V/V) a dostatečné množství *hydroxidu draselného 0,5 mol/l v lihu 60% (V/V) RS*, aby vzniklo čistě žluté zbarvení. Zředí se roztokem *lihu R* 60% (V/V) na 100 ml.

Hydroxylamoniumchlorid v lihu RS1

5,0 g *hydroxylamoniumchloridu R* se rozpustí ve 100ml odměrné baňce v 10,0 ml *vody R* a přidá se 70,0 ml *lihu 96% R*, 10,0 ml *modře bromfenolové RS* a po kapkách se přidává *hydroxid draselný 0,5 mol/l v lihu RS* do olivově zeleného zbarvení (asi 0,25 ml) a doplní se *lihem 96% R* na 100,0 ml. Roztok je stálý asi 1 týden.

Hydroxymethylfurfural R $C_6H_6O_3$ M_r 126,1

CAS 67-47-0

5-Hydroxymethylfurfural; 5-hydroxymethyl-2-furalaldehyd

Jehličkovité krystaly, snadno rozpustné ve vodě, v acetonu a v lihu 96%, dobře rozpustné v etheru.

TT: asi 32 °C.

Hyoscyaminiumsulfat R

Viz článek *Hyoscyamini sulfas*.

Hyperosid R $C_{21}H_{20}O_{12}$ M_r 464,4

2-(3,4-Dihydroxyfenyl)-3-β-D-galaktopyranosyloxy-5,7-dihydroxychromen-4-on

Slabě žluté jehličky, dobře rozpustné v methanolu.

$[\alpha]_D^{20}$: -8,3°; měří se roztok (2 g/l) v *pyridinu R*.

TT: asi 240 °C, za rozkladu.

Roztok v *methanolu R* vykazuje dvě absorpční maxima (2.2.25), při 259 nm a 364 nm.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3617

Hypoxanthin RC₅H₄N₄OM_r 136,1

CAS 68-94-0

1H-Purin-6-on

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný ve zředěných kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů. Rozkládá se bez tání při asi 150 °C.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Mercaptopurinum*. Na získaném chromatogramu je pouze jedna hlavní skvrna.

Chinhydron RC₁₂H₁₀O₄M_r 218,2

CAS 106-34-3

Je to ekvimolární sloučenina 1,4-benzochinonu a 1,4-hydrochinonu.

Tmavě zelené lesklé krystaly nebo krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v horké vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, v amoniaku 26% a v etheru.

TT: asi 170 °C.

Chinidin RC₂₀H₂₄N₂O₂M_r 324,4

CAS 56-54-2

(*S*)-(6-Methoxy-4-chinoly)[(2*R*,4*S*,5*R*)-5-vinyl-2-chinuklidinyl]methanol

Bílé krystaly, velmi těžce rozpustné ve vodě, mírně rozpustné v lihu 96%, těžce rozpustné v etheru a v methanolu.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: asi +260°; měří se roztok (10 g/l) v *ethanolu R*.

TT: asi 172 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Chinidiniumsulfat R

Viz článek *Quinidini sulfas dihydricus*.

Chininiumchlorid R

Viz článek *Quinini hydrochloridum dihydricum*.

Chininiumsulfat R

Viz článek *Quinini sulfas dihydricus*.

Chinin RC₂₀H₂₄N₂O₂M_r 324,4

CAS 130-95-0

(*R*)-(6-Methoxy-4-chinoly)[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinyl-2-chinuklidinyl]methanol

Bílý mikrokrytalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný ve vroucí vodě, velmi snadno rozpustný v ethanolu, dobře rozpustný v etheru.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: asi -167°; měří se roztok (10 g/l) v *ethanolu R*.

TT: asi 175 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

3618 Zkoumadla

Chloracetanilid R C_8H_8ClNO M_r 169,6

CAS 539-03-7

4'-Chloracetanilid

Krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.
TT: asi 178 °C.

Chloralhydrát R

Viz článek *Chlorali hydras*.

Chloralhydrát RS

80 g se rozpustí ve 20 ml vody R.

Chloramin T R

Viz článek *Tosylchloramidum natricum*.

Chloramin T RS

Roztok 20 g/l. Připravuje se v čas potřeby.

Chloramin T RS1

Roztok 0,1 g/l. Připravuje se v čas potřeby.

Chloramin T RS2

Roztok 0,2 g/l. Připravuje se v čas potřeby.

Chloranilin R C_6H_6ClN M_r 127,6

CAS 106-47-8

4-Chloranilin

Krystaly, dobře rozpustné v horké vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.
TT: asi 71 °C.

4-Chlorbenzensulfonamid R $C_6H_6ClNO_2S$ M_r 191,6

CAS 98-64-6

Bílý prášek.
TT: asi 145 °C.

Chlorbutanol R

Viz článek *Chlorobutanolum*.

Chlordiazepoxid R

Viz článek *Chlordiazepoxidum*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3619

2-chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinyamin R $C_{10}H_{10}ClN_3O_2$ M_r 239,7

Bílá až nažloutlá krystalická látka.

Chlorečnan draselný R $KClO_3$ M_r 122,6 CAS 3811-04-9

Bílý prášek, krystaly nebo zrna. Je dobře rozpustný ve vodě.

2-Chlorethanol R C_2H_5ClO M_r 80,5 CAS 107-07-3

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96%.

 d_{20}^{20} : asi 1,197. n_D^{20} : asi 1,442.

TV: asi 130 °C.

TT: asi -89 °C.

2-Chlorethanol RS

125 mg 2-chlorethanolu R se rozpustí v 2-propanolu R a zředí se jím na 50,0 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí 2-propanolem R na 50,0 ml.

(2-Chlorethyl)diethylamoniumchlorid R $C_6H_{15}Cl_2N$ M_r 172,1 CAS 869-24-9

Bílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, snadno rozpustný v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v hexanu.

TT: asi 211 °C.

Chlorfenol R C_6H_5ClO M_r 128,6 CAS 106-48-9**4-Chlorfenol**

Bezbarvé nebo téměř bezbarvé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96%, v etheru a v roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 42 °C.

Chlorid amonný RViz článek *Ammonii chloridum*.**Chlorid amonný RS**

Roztok 107 g/l.

3620 Zkoumadla**Chlorid antimonitý R**SbCl₃M_r 228,1

CAS 10025-91-9

Bezbarvé krystaly nebo průsvitná krystalická hmota. Je hygroskopický, snadno rozpustný v ethanolu. Látka je vodou hydrolyzována.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.

Chlorid antimonitý RS

30 g chloridu antimonitého R se rychle dvakrát opláchne 15 ml chloroformu prostého ethanolu R, promývací kapalina se dekantuje a promyté krystaly se ihned rozpustí za mírného zahřátí ve 100 ml chloroformu prostého ethanolu R.

Uchovává se nad několika gramy síranu sodného bezvodého R.

Chlorid antimonitý RS1

Roztok I. 110 g chloridu antimonitého RS se rozpustí ve 400 ml dichlorethanu R. Přidají se 2,0 g oxidu hlinitého bezvodého R, promíchá se a filtruje se přes filtr ze slinutého skla (40). Zředí se dichlorethanem R na 500,0 ml a promíchá se. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 500 nm v 20mm vrstvě není větší než 0,07.

Roztok II. Za odtahu se smíchá 100 ml čerstvě předestilovaného acetylchloridu R a 400 ml dichlorethanu R. Uchovává se v chladu.

90 ml roztoku I a 10 ml roztoku II se smíchá.

Uchovává se v hnědých skleněných lahvích se zabroušenou zátkou a je použitelný 7 dní. Zbarvené zkoumadlo se nepoužije.

Chlorid barnatý RBaCl₂ · 2H₂OM_r 244,3

CAS 10326-27-9

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96%.

Chlorid barnatý RS1

Roztok 61,0 g/l.

Chlorid barnatý RS2

Roztok 36,5 g/l.

Chlorid boritý RBCl₃M_r 117,2

CAS 10294-34-5

Bezbarvý plyn. Reaguje bouřlivě s vodou. Použitelný je ve formě roztoků ve vhodných rozpouštědlech (2-chlorethanol, dichlormethan, hexan, heptan, methanol).

Varování: jed, žiravina.

TV: asi 12,6 °C.

n_D²⁰: asi 1,420.

Chlorid boritý v methanolu RS

Roztok BCl_3 (120 g/l) v *methanolu R*.

Uchovává se chráněn před světlem při $-20\text{ }^\circ\text{C}$, nejlépe v zatavených trubičkách.

Chlorid cesný R

CsCl

M_r 168,4

CAS 7647-17-8

Bílý prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

Chlorid cínatý R

$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

M_r 225,6

CAS 10025-69-1

Obsahuje nejméně 97,0 % $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%, v kyselině octové ledové, kyselině chlorovodíkové a kyselině chlorovodíkové zředěné.

Stanovení obsahu. Do baňky se zabroušenou zátkou se naváží 0,500 g, rozpustí se v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a přidá se 10 ml *vody R* a 5 ml *chloroformu R*. Okamžitě se titruje *jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS* až do odbarvení chloroformové vrstvy.

1 ml *jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS* odpovídá 22,56 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Chlorid cínatý RS

20 g *cínu R* se zahřívá s 85 ml *kyseliny chlorovodíkové R* až do skončení vyvíjení vodíku a nechá se vychladnout.

Uchovává se nad *cínem R*, chráněný před vzduchem.

Chlorid cínatý RS1

V čas potřeby se smíchá 1 objemový díl *chloridu cínatého RS* s 10 objemovými díly *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*.

Chlorid cínatý RS2

K 8 g *chloridu cínatého R* se přidá 100 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (200 ml/l) a třepe se do rozpuštění, v případě potřeby se zahřívá na vodní lázni při $50\text{ }^\circ\text{C}$. 15 min se probublává proudem *dusíku R*. Připravuje se v čas potřeby.

Chlorid draselný R

Viz článek *Kalii chloridum*.

Při použití v infračervené spektrofotometrii (2.2.24) vyhovuje následující zkoušce:

2 mm silný výlisek (tableta) látky sušený 1 h při $250\text{ }^\circ\text{C}$ má prakticky rovnou základní linii v oblasti 4000 cm^{-1} až 620 cm^{-1} . Nad touto linií nejsou žádná maxima s absorbcí vyšší než 0,02, s výjimkou maxim vody při 3440 cm^{-1} a 1630 cm^{-1} .

Chlorid draselný 0,1 mol/l RS

Roztok obsahuje *chlorid draselný R* v množství odpovídajícím 7,46 g KCl v 1000,0 ml.

3622 Zkoumadla

Chlorid hlinitý R $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ M_r 241,4

CAS 7784-13-6

Chlorid hlinitý hexahydrátObsahuje nejméně 98,0 % $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek, hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Chlorid hlinitý RS

65,0 g chloridu hlinitého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Po přidání 0,5 g aktivního uhlí R se 10 min míchá, potom se filtruje a pH filtrátu se za stálého míchání upraví roztokem hydroxidu sodného R (10 g/l) (asi 60 ml) na hodnotu 1,5.

Chlorid hlinitý RS1

2,0 g chloridu hlinitého R se rozpustí ve 100 ml roztoku kyseliny octové ledové R 5% (V/V) v methanolu R.

Chlorid hořečnatý RViz článek *Magnesii chloridum*.**Chlorid chromitý hexahydrát R** $[\text{Cr}(\text{H}_2\text{O})_4\text{Cl}_2]\text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M_r 266,5

CAS 10060-12-5

Tmavě zelený krystalický prášek, hygroskopický, velmi toxický.

Uchovává se chráněn před vlhkostí a oxidačními činidly.

Chlorid kobaltnatý R $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ M_r 237,9

CAS 7791-13-1

Červený krystalický prášek nebo tmavě červené krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Chlorid lanthanitý RS

K 58,65 g oxidu lanthanitého R se pomalu přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové R. Zahřeje se k varu. Nechá se ochladit a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Chlorid lithný R

LiCl

 M_r 42,39

CAS 7447-41-8

Krystalický prášek, zrna nebo krychlové rozplývavé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v lihu 96%. Vodný roztok je neutrální nebo slabě alkalický.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3623**

Chlorid měďnatý RCuCl₂ · 2H₂O*M_r* 170,5

CAS 10125-13-0

Zelenomodrý prášek nebo krystaly, rozpadající se ve vlhkém vzduchu, zvětrávající v suchém vzduchu. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v methanolu, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Chlorid nikelnatý RNiCl₂*M_r* 129,6

CAS 7718-54-9

Bezvodý chlorid nikelnatý

Žlutý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%. Sublimuje za nepřítomnosti vzduchu a ochotně absorbuje amoniak. Vodný roztok je kyselý.

Chlorid palladnatý RPdCl₂*M_r* 177,3

CAS 7647-10-1

Červené krystaly.

TT: 678 °C až 680 °C.

Chlorid palladnatý RS

1,0 g chloridu palladnatého R se rozpustí v 10,0 ml teplé kyseliny chlorovodíkové R. Roztok se zředí směsí stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vody R na 250,0 ml. Tento roztok se v čas potřeby zředí dvěma objemovými díly vody R.

Chlorid rtuťnatý R

Viz článek *Hydrargyri dichloridum*.

Chlorid rtuťnatý RS

Roztok 54,0 g/l.

Chlorid sodný R

Viz článek *Natrii chloridum*.

Chlorid sodný RS

Roztok 200 g/l.

Chlorid sodný nasycený RS

1 díl chloridu sodného R se smíchá se 2 díly vody R, občas se protřepe a nechá se stát. Před použitím se roztok dekantuje od nerozpuštěné látky a v případě potřeby se zfiltruje.

3624 Zkoumadla**Chlorid titanitý R**TiCl₃ M_r 154,3

CAS 7705-07-9

Červenofialové rozpadající se krystaly, dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

TT: asi 440 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Chlorid titanitý RS

150 g/l v roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (100 g/l HCl).

d_{20}^{20} : asi 1,19.

Chlorid uhličitý RCCl₄ M_r 153,8

CAS 56-23-5

Tetrachlormethan

Čirá bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : 1,595 až 1,598.

TV: 76 °C až 77 °C.

Chlorid vápenatý R

Viz článek *Calcii chloridum dihydricum*.

Chlorid vápenatý bezvodý RCaCl₂ M_r 111,0

CAS 10043-52-4

Obsahuje nejméně 98,0 % CaCl₂, počítáno na vysušenou látku.

Bílá rozpadávající se zrna, velmi snadno rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a methanolu.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %, suší se při 200 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.

Chlorid vápenatý R1CaCl₂ · 4H₂O M_r 183,1

Obsahuje nejvýše 0,05 µg Fe/g.

Chlorid vápenatý RS

Roztok 73,5 g/l.

Chlorid vápenatý 0,01 mol/l RS

0,147 g *chloridu vápenatého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Chlorid vápenatý 0,02 mol/l RS

2,94 g chloridu vápenatého R se rozpustí v 900 ml vody R, pH roztoku se upraví na hodnotu 6,0 až 6,2 a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Uchovává se při 2 °C až 8 °C.

Chlorid zinečnatý R

Viz článek *Zinci chloridum*.

Chlorid zinečnatý v kyselině mravenčí RS

20 g chloridu zinečnatého R se rozpustí v 80 g roztoku kyseliny mravenčí bezvodé R (850 g/l).

Chlorid zinečnatý s jodem RS

20 g chloridu zinečnatého R a 6,5 g jodidu draselného R se rozpustí v 10,5 ml vody R, přidá se 0,5 g jodu R a míchá se 15 min. V případě potřeby se filtruje.

Uchovává se chráněn před světlem.

Chlorid železitý R

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

M_r 270,3

CAS 10025-77-1

Žlutooranžová nebo nahnědlá krystalická rozplývající se hmota, velmi snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru. Na světle jsou chlorid železitý a jeho roztoky částečně redukovány.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Chlorid železitý RS1

Roztok 105 g/l.

Chlorid železitý RS2

Roztok 13 g/l.

Chlorid železitý RS3

2,0 g chloridu železitého R se rozpustí v ethanolu R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Chlorid-oxid zirkoničitý R

CAS 15461-27-5

Je to zásaditá sůl odpovídající přibližně vzorci $\text{ZrCl}_2\text{O} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.

Obsahuje nejméně 96,0 % $\text{ZrCl}_2\text{O} \cdot 8\text{H}_2\text{O}$.

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Stanovení obsahu. 0,600 g se rozpustí ve směsi 5 ml kyseliny dusičné R a 50 ml vody R, přidá se 50,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS a 3 ml dibutylftalatu R a zamíchá se. Titruje se

3626 Zkoumadla

thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS za použití 2 ml síranu amonno-železitého RS2 jako indikátoru do červenožlutého zbarvení.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,11 mg $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$.

Chloristan holmitý RS

Roztok oxidu holmitého R (40 g/l) v roztoku kyseliny chloristé R (141 g/l $HClO_4$).

Chloristan sodný R

$NaClO_4 \cdot H_2O$

M_r 140,5

CAS 7791-07-3

Obsahuje nejméně 99,0 % $NaClO_4 \cdot H_2O$

Bílé rozpadající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se v dobře uzavřených obalech.

Chlornan sodný RS

Obsahuje 25 g/l až 30 g/l aktivního chloru. Nažloutlá kapalina alkalické reakce.

Stanovení obsahu. 10,0 ml se zředí vodou R na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se přeneso do kuželové baňky obsahující 50 ml vody R, 1,0 g jodidu draselného R a 12,5 ml kyseliny octové zředěné RS. Uvolněný jod se titruje thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,546 mg aktivního chloru.

Uchovává se chráněn před světlem.

Chlornitroanilin R

$C_6H_5ClN_2O_2$

M_r 172,6

CAS 121-87-9

2-Chlor-4-nitroanilin

Žlutý krystalický prášek, snadno rozpustný v methanolu.

TT: asi 107 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Chloroform R

$CHCl_3$

M_r 119,4

CAS 67-66-3

Trichlormethan

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : 1,475 až 1,481.

TV: asi 60 °C.

· Obsahuje 0,4 % až 1,0 % ethanolu.

Ethanol. K 1,00 g (m) v kuželové baňce se zabroušenou zátkou se přidá 15,0 ml *dichromanu draselného v kyselině dusičné RS*, nádoba se uzavře, 2 min se silně třepe a 15 min se nechá stát. Přidá se 100 ml vody R a 5 ml roztoku *jodidu draselného R (200 g/l)*. Po 2 min se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru do vzniku světle zelené barvy (n_1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*). Současně se provede slepá zkouška (n_2 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*). Obsah ethanolu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{(n_2 - n_1) \cdot 0,115}{m}$$

Chloroform okyselený R

K 100 ml *chloroformu R* se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Protřepe se, nechá se stát, až se oddělí dvě vrstvy. Použije se spodní vrstva.

Chloroform prostý ethanolu R

200 ml *chloroformu R* se třepe čtyřikrát se 100 ml *vody R*. Suší se 24 h nad 20 g *síranu sodného bezvodého R* a zfiltruje se. Filtrát se destiluje nad 10 g *síranu sodného bezvodého R*. Prvních 20 ml destilátu se odstraní. Připravuje se v čas potřeby.

Chloroform stabilizovaný amylenem R

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

Voda. Nejvýše 0,05 %.

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,001 %.

Transmittance (2.2.25): nejméně 50 % při 255 nm,
nejméně 80 % při 260 nm,
nejméně 98 % při 300 nm,

měří se proti *vodě R* jako kontrolní kapalině.

Stanovení obsahu. Nejméně 99,8 % CHCl_3 ; stanoví se plynovou chromatografií.

3-Chlorpropan-1,2-diol R

$\text{C}_3\text{H}_7\text{ClO}_2$

M_r 110,5

CAS 96-24-2

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, lihu 96% a v etheru.

d_{20}^{20} : asi 1,322.

n_D^{20} : asi 1,480.

TV: asi 213 °C.

Chlorthiazid R

Viz článek *Chlorothiazidum*.

Chlortrimethylsilan R

$\text{C}_3\text{H}_9\text{ClSi}$

M_r 108,6

CAS 75-77-4

Čirá bezbarvá, na vzduchu dýmající kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,86.

n_D^{20} : asi 1,388.

TV: asi 57 °C.

3628 Zkoumadla

Cholesterol R

Viz článek *Cholesterolum*.

Choliniumchlorid R $C_5H_{14}ClNO$ M_r 139,6

CAS 67-48-1

(2-Hydroxyethyl)trimethylamoniumchlorid

Rozpadající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě a v lihu 96%.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Suxamethonii chloridum*, nanáší se 5 μ l roztoku (0,2 g/l) v *methanolu R*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Choliniumjodid R $C_5H_{14}INO$ M_r 231,1

CAS 17773-10-3

(2-Hydroxyethyl)trimethylamoniumiodid

TT: asi 273 °C.

Jakost p.a.

Chroman draselný R K_2CrO_4 M_r 194,2

CAS 7789-00-6

Žluté krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Chroman draselný RS

Roztok 50 g/l.

Chromazurol s R $C_{23}H_{13}Cl_2Na_3O_9S$ M_r 605

CAS 1667-99-8

Colour Index 43825, Schultz 841

Trisodná sůl kyseliny 5-[(3-karboxy-5-methyl-4-oxo-2,5-cyklohexadien-1-yliden)-(2,6-dichlor-3-sulfofenyl)methyl]-2-hydroxy-3-methylbenzoové

Hnědočerný prášek, dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Chromoforový substrát R1

N- α -Benzoylkarbonyl-D-arginyl-L-glycyl-L-arginin-4-nitroanilid dihydrochlorid se rozpustí ve vodě R na roztok o koncentraci 0,003 mol/l. Před použitím se zředí *tlumivým roztokem trometamolovým s edetanem disodným o pH 8,4* na koncentraci 0,0005 mol/l.

Chromoforový substrát R2

D-Fenylalanyl-piperazin-arginin-4-nitroanilid dihydrochlorid se rozpustí ve vodě na roztok o koncentraci 0,003 mol/l. Před použitím se zředí *tlumivým roztokem trometamolovým s edetanem disodným o pH 8,4* na koncentraci 0,0005 mol/l.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3629

Chromotropin 2 B R $C_{16}H_9N_3Na_2O_{10}S_2$ M_r 513,4

CAS 548-80-1

Colour Index 16575, Schultz 67

Disodná sůl kyseliny 4,5-dihydroxy-3-(4-nitrofenylazo)-2,7-naftalendisulfonové

Červenohnědý prášek, dobře rozpustný se ve vodě za vzniku žlutočerveného roztoku, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Chromotropin 2 B RSRoztok (0,05 g/l) v *kyselině sírové R*.**Imidazol R** $C_3H_4N_2$ M_r 68,1

CAS 288-32-4

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

TT: asi 90 °C.

Iminodibenzyl R $C_{14}H_{13}N$ M_r 195,3

CAS 494-19-9

10,11-Dihydrodibenz[*b,f*]azepin

Slabě žlutý krystalický prášek, snadno rozpustný v acetonu, prakticky nerozpustný ve vodě.

TT: asi 106 °C.

Indigokarmín R $C_{16}H_8N_2Na_2O_8S_2$ M_r 466,3

CAS 860-22-0

Colour Index 73015, Schultz 1309

Disodná sůl kyseliny 3,3'-dioxo-2,2'-bisindolinylden-5,5'-disulfonové; disodná sůl kyseliny 5,5'-indigodisulfonové

Obsahuje obvykle chlorid sodný.

Modrý nebo fialově modrý prášek nebo modrá zrna s měděným leskem. Je mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Z vodných roztoků se indigokarmín vylučuje přidávkem chloridu sodného.

Indigokarmín RSKe směsi 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 990 ml roztoku *kyseliny sírové prosté dusičnanů R* (200 g/l) se přidá 0,20 g *indigokarmínu R*.Roztok vyhovuje následující zkoušce. K 10 ml roztoku se přidá roztok 1,0 mg *dusičnanu draselného R* v 10 ml *vody R* a rychle se přidá 20 ml *kyseliny sírové prosté dusičnanů R* a zahřeje se k varu. Modré zbarvení v průběhu 1 min zmizí.**Indigokarmín RSI**4 g *indigokarmínu R* se rozpustí v asi 900 ml *vody R* přidávané po částech, přidají se 2 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

3630 Zkoumadla

Standardizace: Do 100ml kuželové baňky se širokým hrdlem se převede 10,0 ml základního roztoku dusičnanů (100 $\mu\text{g NO}_3/\text{ml}$), 10 ml vody R, 0,05 ml indigokarmínu RSI a potom se opatrně najednou přidá 30 ml kyseliny sírové R. Roztok se ihned titruje indigokarmínem RSI do vzniku stálého modrého zbarvení.

Spotřebovaný počet mililitrů (n) odpovídá 1 mg NO_3 .

Indikátor směsný BMF RS

0,10 g modři bromthymolové R, 0,020 g červeně methylové R a 0,20 g fenolftaleinu R se rozpustí v lihu 96% R, zředí se jím na 100 ml a zfiltruje se.

Indometacin R

Viz článek *Indometacinum*.

Isatin R

$\text{C}_8\text{H}_5\text{NO}_2$

M_r 147,1

CAS 91-56-5

Indolin-2,3-dion

Malé žlutočervené krystaly, těžce rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v horké vodě, v lihu 96% a v etheru, dobře rozpustné v roztocích alkalických hydroxidů za vzniku fialového zbarvení, které se stáním mění na žluté.

TT: asi 200 °C, s částečnou sublimací.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %.

Isoamylalkohol R

$\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$

M_r 88,1

CAS 123-51-3

3-Methyl-1-butanol

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

TV: asi 130 °C.

Isoandrosteron R

$\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{O}_2$

M_r 290,4

CAS 481-29-8

Epiandrosteron, 3 β -hydroxy-5 α -androstan-17-on

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

TT: 172 °C až 174 °C.

$[\alpha]_D^{20}$: +88°; měří se roztok (20 g/l) v methanolu R.

ΔA (2.2.41): 14,24 $\cdot 10^3$; měří se roztok (1,25 g/l) při 304 nm.

Isobutanol R

$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$

M_r 74,1

CAS 78-83-1

2-Methyl-1-propanol

Čirá bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,80.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3631

 n_D^{15} : 1,397 až 1,399.

TV: asi 107 °C.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 96 % předestiluje při 107 °C až 109 °C.**Isobutylmethylketon R** $C_6H_{12}O$ M_r 100,2

CAS 108-10-1

4-Methyl-2-pentanon

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou organických rozpouštědel.

 d_{20}^{20} : asi 0,80.

TV: asi 115 °C.

Destilační rozmezí (2.2.11). Destiluje se 100 ml. Rozmezí teploty destilace od 1 ml do 95 ml destilátu nepřesahuje 4,0 °C.*Zbytek po odpaření*. Nejvýše 0,01 %; stanoví se odpařováním na vodní lázni a sušením při 100 °C až 105 °C.**Isobutylmethylketon R1**50 ml čerstvě předestilovaného *isobutylmethylketonu R* se 1 min třepe s 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Fáze se nechají oddělit a spodní fáze se odstraní. Připravuje se v čas potřeby.**Isokvercitrin R** $C_{21}H_{20}O_{12}$ M_r 464,4

CAS 21637-25-2

Kvercetin-3-glukosid

Žluté jehličkovité krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v methanolu a ethanolu.

TT: 225 °C až 227 °C.

Absorbance. Roztok (40 mg/l) v *methanolu R* vykazuje maxima při 257 nm a 369 nm.**Isomenthol R** $C_{10}H_{20}O$ M_r 156,3

CAS 23283-97-8

(+)-Isomenthol: (1*S*,2*R*,5*R*)-2-isopropyl-5-methylcyklohexanol

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96 % a etheru.

 $[\alpha]_D^{20}$: asi +24°; měří se roztok (100 g/l) v *lihu 96% R*.

TT: asi 80 °C.

TV: asi 218 °C.

(±)-Isomenthol: směs stejných dílů (1*S*,2*R*,5*R*)- a (1*R*,2*S*,5*S*)-2-isopropyl-5-methylcyklohexanolu.

TT: asi 53 °C.

TV: asi 218 °C.

3632 Zkoumadla**Isomenthon R** $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,2(1*R*)-*cis*-*p*-Menthan-3-on; (1*R*)-*cis*-2-isopropyl-5-methylcyklohexanon

Obsahuje proměnlivá množství menthonu.

Bezbarvá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,904. n_D^{20} : asi 1,453. $[\alpha]_D^{20}$: +93,2°.*Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Zkouší se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 80,0 % celkové plochy píků.

4-Isopropylfenol R $C_9H_{12}O$ M_r 136,2

CAS 99-89-8

Obsahuje nejméně 98 % $C_9H_{12}O$.

TV: asi 212 °C.

TT: 59 °C až 61 °C.

Isopropylmyristat RViz článek *Isopropylis myristas*.**Jod R**Viz článek *Iodum*.**Jod RS**

2 g jodu R a 4 g jodidu draselného R se rozpustí v 10,0 ml vody R. Po úplném rozpuštění se zředí vodou R na 100 ml.

Jod RS1

K 10,0 ml jodu 0,05 mol/l RS se přidá 0,6 g jodidu draselného R a zředí se vodou R na 100,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Jod RS2

K 10,0 ml jodu 0,05 mol/l RS se přidá 0,6 g jodidu draselného R a zředí se vodou R na 1000,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Jod RS3

2,0 ml jodu RS1 se zředí vodou R na 100,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3633

Jod RS4

14 g jodu R se rozpustí ve 100 ml roztoku jodidu draselného R (400 g/l), přidá se 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jod v chloroformu RS

Roztok 5,0 g/l v chloroformu R.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jod v lihu RS

Roztok 10,0 g/l v lihu 96% R.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jodethan R

C_2H_5I

M_r 155,9

CAS 75-03-6

Bezbarvá až slabě nažloutlá kapalina, tmavnoucí působením vzduchu a světla, mísitelná s lihem 96% a většinou organických rozpouštědel.

d_{20}^{20} : asi 1,95.

n_D^{20} : asi 1,513.

TV: asi 72 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Jodičnan draselný R

KIO_3

M_r 214,0

CAS 7758-05-6

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

Jodid draselný R

Viz článek *Kalii iodidum*.

Jodid draselný RS

Roztok 166,0 g/l.

Jodid draselný 0,001 mol/l RS

10,0 ml roztoku jodidu draselného R (166 g/l) se zředí vodou R na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 500,0 ml.

Jodid draselný nasycený RS

Nasycený roztok jodidu draselného R ve vodě prosté oxidu uhličitého R. Obsahuje nerozpuštěné krystaly.

3634 Zkoumadla

Zkouška způsobilosti. 0,5 ml se přidá ke 30 ml směsi objemových dílů *chloroformu R* a *kyseliny octové R* (2 + 3) a dále se přidá 0,1 ml *škrobu RS*. K odstranění případného vzniklého modrého zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,05 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jodid rtuťnatodraselný RS

Viz odstavec *Tetraiodortuťnatan draselný RS*.

Jodid rtuťnatodraselný zásaditý RS

Viz odstavec *Tetraiodortuťnatan draselný zásaditý RS*.

Jodid rtuťnatý R

HgI₂

M_r 454,4

CAS 7774-29-0

Červený těžký krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, acetonu a etheru, dobře rozpustný v přebytku *jodidu draselného RS*.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jodid sodný R

Viz článek *Natrii iodidum*.

Jodistan draselný R

KIO₄

M_r 230,0

CAS 7790-21-8

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustý ve vodě.

Jodistan draselný s chloridem železitým RS

1 g *jodistanu draselného R* se rozpustí v 5 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (120 g/l). Po přidání 20 ml *vody R* a 1,5 ml *chloridu železitého RS1* se zředí stejným roztokem *hydroxidu draselného* na 50 ml.

Jodistan sodný R

NaIO₄

M_r 213,9

CAS 7790-28-5

Obsahuje nejméně 99,0 % NaIO₄.

Bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě a v minerálních kyselinách.

Jodistan sodný RS

1,07 g *jodistanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Jodobismutitan draselný RS

K 0,85 g *dusičnan-oxidu bismutitého R* se přidá 40 ml *vody R*, 10 ml *kyseliny octové ledové R* a 20 ml roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l).

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3635

Jodobismutitan draselný RS1

100 g *kyseliny vinné R* se rozpustí ve 400 ml *vody R*, přidá se 8,5 g *dusičnan-oxidu bismutitého R* a 1 h se mechanicky třepe. Přidá se 200 ml roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l) a protřepe se. Nechá se stát 24 h a přefiltruje se.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jodobismutitan draselný RS2

Základní roztok. 1,7 g *dusičnan-oxidu bismutitého R* a 20 g *kyseliny vinné R* se suspenduje ve 40 ml *vody R*. K suspenzi se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l), 1 h se míchá a zfiltruje se. Roztok se může uchovávat několik dní chráněn před světlem.

Detekční roztok. V čas potřeby se smíchá 5 ml základního roztoku s 15 ml *vody R*.

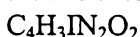
Jodobismutitan draselný zředěný RS

100 g *kyseliny vinné R* se rozpustí v 500 ml *vody R* a přidá se 50 ml *jodobismutitanu draselného RS1*.

Uchovává se chráněn před světlem.

Jodobismutitan draselný zředěný RS1

K 0,85 g *dusičnan-oxidu bismutitého R* se přidá 40 ml *vody R*, 10 ml *kyseliny octové ledové R* a 50 ml roztoku *jodidu draselného R* (500 g/l) a třepe se do rozpuštění. V čas potřeby se k 1 ml tohoto roztoku přidají 2 ml *kyseliny octové ledové R* a 10 ml *vody R*.

5-Jodouracil R M_r 238,0

CAS 696-07-1

5-Jod-1*H*,3*H*-pyrimidin-2,4-dion

TT: asi 276 °C, za rozkladu.

Chromatografie. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Idoxuridinum*, nanáší se 5 µl roztoku (0,25 g/l). Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

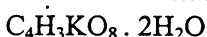
Kadmium R

Cd

 A_r 112,4

CAS 10108-64-2

Stříbrobílý lesklý kov, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v kyselině dusičné a horké kyselině chlorovodíkové.

Kalium tetraoxalat R M_r 254,2

CAS 6100-20-5

Trihydrogenbisšřavelan draselný dihydrát.

Bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucí vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

3636 Zkoumadla

Kaolin lehký R

CAS 1332-58-7

Čištěný přírodní hydratovaný křemičitan hlinitý. Obsahuje vhodnou disperzní látku.

Světlý bílý prášek bez částic písku, mazlavý na dotek, prakticky nerozpustný ve vodě a v minerálních kyselinách.

Hrubé částice. 5,0 g se umístí do skleněného válce se zabroušenou zátkou asi 160 mm dlouhého a asi 35 mm v průměru a přidá se 60 ml roztoku *difosforečnanu sodného R* (10 g/l). Důkladně se protřepe a nechá se 5 min stát. Pipetou se odstraní 50 ml kapaliny z bodu asi 5 cm pod povrchem. Ke zbývající kapalině se přidá 50 ml *vody R*, třepe se, nechá se ustát a odstraní se 50 ml kapaliny stejným způsobem. Postup se opakuje, dokud není odstraněno celkem 400 ml. Zbývající suspenze se přenesení do odpařovací misky, odpaří se do sucha na vodní lázni a zbytek se vysuší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 25 mg (0,5 %).

Jemné částice. 5,0 g se rozptýlí ve 250 ml *vody R* silným třepáním 2 min. Směs se ihned vyleje do skleněného válce o průměru 50 mm a pomocí pipety se 20 ml kvantitativně převede do skleněné misky, odpaří se do sucha na vodní lázni a suší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek suspenze se nechá stát 4 h při 20 °C a pipetou se 5 cm pod povrchem odebere dalších 20 ml bez rozčeření sedimentu, převede se do skleněné misky, odpaří se do sucha a suší do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Hmotnost druhého zbytku není menší než 70 % hmotnosti prvního zbytku.

 ε -Kapolaktam RC₆H₁₁NO M_r 113,2

CAS 105-60-2

6-Hexanlaktam

Hygroskopické šupinky, snadno rozpustné ve vodě, v methanolu a v ethanolu.

TT: asi 70 °C.

Karbazol RC₁₂H₉N M_r 167,2

CAS 86-74-8

Dibenzopyrrol

Krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v acetonu, těžce rozpustné v ethanolu.

TV: asi 245 °C.

Karbethopendeciniumbromid R

Viz článek *Carbethopendecinii bromidum*.

Karbofenothion RC₁₁H₁₆ClO₂PS₃ M_r 342,9

CAS 786-19-6

O,O-Diethyl-S-[[[4-chlorfenyl]thio]methyl]dithiofosfat

Nažloutlá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s organickými rozpouštědly.

d_4^{25} : asi 1,27.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3637

Karbomer R

CAS 9007-20-9

Síťovaný polymer kyseliny akrylové. Obsahuje vysoký podíl (56 % až 68 %) karboxylových skupin, počítáno na látku sušenou 1 h při 80 °C. Střední relativní molekulová hmotnost je asi $3 \cdot 10^6$.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 3; měří se suspenze 10 g/l.

Karvakrol R $C_{10}H_{14}O$ M_r 150,2

CAS 499-75-2

5-Isopropyl-2-methylfenol

Hnědavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,975. n_D^{20} : asi 1,523.*TV*: asi 237 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum*.

Zkoušená látka. 0,1 g se rozpustí v asi 10 ml *acetonu R*.

Na získaném chromatogramu je plocha hlavního píku nejméně 95,0 % celkové plochy piků, nepřihlíží se k píku acetonu.

Karvon R $C_{10}H_{14}O$ M_r 150,2

CAS 2244-16-8

(S)-*p*-Mentha-6,8-dien-2-on; (+)-2-methyl-5-(1-methylethylenyl)-2-cyklohexenon

Kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,965. n_D^{20} : asi 1,500. $[\alpha]_D^{20}$: asi +61°.*TV*: asi 230 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy piků.

 β -Karyofylen R $C_{15}H_{24}$ M_r 204,4

CAS 87-44-5

(E)-(1*R*,9*S*)-4,11,11-Trimethyl-8-methylenbicyklo[7,2,0]undec-4-en

Olejevité kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

3638 Zkoumadla d_4^{17} : asi 0,905. n_D^{20} : asi 1,492. $[\alpha]_D^{15}$: asi $-5,2^\circ$. TV_{14} : 129 °C až 130 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28), postupem uvedeným v článku *Caryophylli etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,5 % celkové plochy píků.

Kasein R

CAS 9000-71-9

Směs příbuzných fosfoproteinů z mléka.

Bílý amorfní prášek nebo bílá zrna. Je velmi těžce rozpustný ve vodě a v nepolárních organických rozpouštědlech. Rozpouští se v kyselině chlorovodíkové na roztok slabě fialového zbarvení. Tvoří soli s kyselinami a zásadami. Izoelektrický bod leží při asi pH 4,7. Alkalické roztoky jsou levotočivé.

Katechin R $C_{15}H_{14}O_6 \cdot nH_2O$ M_r 290,3 (bezvodého)

CAS 154-23-4

(2*R*,3*S*)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-3,5,7-chromantriol

Synonyma. D-Katechin; (+)-katechin hydrát; (+)-3-cianidanol

Bezbarvé jehličkovité krystaly, dobře rozpustné v horké vodě, v acetonu, v kyselině octové a v ethanolu, mírně rozpustné ve vodě a v etheru, prakticky nerozpustné v etheru petrolejovém a v toluenu. Při uchovávání ztrácí vodu.

TT : asi 214 °C, za rozkladu.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se postupem uvedeným v článku *Tormentillae radix*. Nanáší se 20 μ l zkoušeného roztoku (1 mg/ml) v *methanolu R*. Na získaném chromatogramu je po postřiku jen jedna hlavní skvma o R_F asi 0,7.

Katex R

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 8 % divinylbenzenu. Dodává se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla u příslušných zkoušek.

Katex silně kyselý R

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 8 % divinylbenzenu. Dodává se ve formě kuliček o průměru 0,3 mm až 1,2 mm, pokud není uvedeno jinak.

Kapacita. 4,5 mmol/g až 5 mmol/g při obsahu vody 50 % až 60 %.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3639

Příprava sloupce. Pokud není uvedeno jinak, použije se skleněná trubice o délce 400 mm a o vnitřním průměru 20 mm se zatavenou skleněnou fritou. Plní se do výšky 200 mm měničem iontů smíchaným s vodou R. Při plnění se odstraňují vzduchové bubliny. Hladina kapaliny nesmí klesnout pod hladinu měniče iontů.

Jestliže se měnič iontů nachází v protonové formě, promývá se tak dlouho vodou R, až se na neutralizaci 50 ml eluátu za použití 0,1 ml oranže methylové RS spotřebuje nejvýše 0,05 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS. Jestliže se měnič iontů nachází ve formě Na⁺ nebo je požadována regenerace, promývá se pomalu 100 ml směsí stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové RS a vody R a potom vodou R, jak je uvedeno výše.

Katex silně kyselý (vápníková forma) R

Pryskyřice ve vápníkové formě se sulfonovými kyselými skupinami připojenými k polymerní mřížce obsahující polystyren příčně vázaný s 8 % divinylbenzenu. Velikost částic je označena podle názvu zkoumadla používaného u příslušných zkoušek.

Katex slabě kyselý R

Měnič iontů v protonové formě. Obsahuje polymetakrylat s karboxylovými skupinami. Dodává se ve formě kuliček o průměru 75 μm až 160 μm.

Rozmezí pH pro použití. 5 až 14.

Nejvyšší pracovní teplota. 120 °C.

Katolyt pro izoelektrickou fokusaci pH 3 až 5 R

8,9 g β-alaninu R se rozpustí ve vodě R a doplní se jí na 1000 ml (β-alanin 0,1 mol/l).

Klobetasolpropionat R

C₂₅H₃₂ClFO₅

M_r 467,0

CAS 25122-46-7

9-fluor-11β-hydroxy-21-chlor-16β-methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-17-ylpropionat

Bílý krystalický prášek, nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v acetonu.

[α]_D²⁰: asi +104° (v dioxanu).

TT: asi 196 °C.

Kodein R

Viz článek *Codeinum*.

Kodeiniumfosfat R

Viz článek *Codeini phosphas hemihydricus*.

Kofein R

Viz článek *Coffeinum*.

3640 Zkoumadla**Kortisonacetat R**

Viz článek *Cortisoni acetat*.

Kresol R

C₇H₈O

M_r 108,1

CAS 95-48-7

o-Kresol, 2-methylfenol

Krystaly nebo podchlazená kapalina tmavnoucí na světle a na vzduchu. Je mísitelný s ethanolem a s etherem, dobře se rozpouští v asi 50 dílech vody a v roztocích alkalických hydroxidů.

d_{20}^{20} : asi 1,05.

n_D^{20} : 1,540 až 1,550.

TV: asi 190 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18). Nejméně 30,5 °C.

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,1 %; stanoví se odpařováním na vodní lázni a sušením v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Před použitím se destiluje.

Uchovává se chráněn před světlem, vlhkostí a kyslíkem.

Krevní destičky náhrada R

K 0,5 g až 1 g fosfolipidu R se přidá 20 ml acetonu R a nechá se 2 h stát za častého protřepávání. Odstředí se 2 min a supernatantní kapalina se odstraní. Zbytek se vysuší za použití vývěvy, přidá se 20 ml chloroformu R a 2 h se protřepává. Zfiltruje se pomocí vakua a získaný zbytek se suspenduje v 5 ml až 10 ml roztoku chloridu sodného R (9 g/l).

Pro použití ve stanovení účinnosti faktoru IX se připraví ředění v roztoku chloridu sodného R (9 g/l) tak, aby rozdíl v době srážení mezi postupnými ředěními porovnávací látky byl asi 10 s.

Zředěné suspenze se uchovávají při teplotě -30 °C a použijí se v průběhu 6 týdnů.

Křemelina R

CAS 91053-39-3

Bílý nebo téměř bílý jemně zrnitý prášek, tvořený křemíkovými schránkami fosilních mořských rozsivek nebo jejich úlomků, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru. Látka může být identifikována mikroskopicky při pětisetnásobném zvětšení.

Křemelina G R

Je to křemelina propaná kyselinou chlorovodíkovou a vyžíhaná; obsahuje 15 % síranu vápenatého hemihydrátu.

Jemný šedobílý prášek; šedá barva se stane zřetelnější při navlhčení vodou. Průměrná velikost částic je 10 μm až 40 μm.

Obsah síranu vápenatého. Stanoví se postupem uvedeným v odstavci silikagel G R.

Hodnota pH (2.2.3). 7 až 8; měří se suspenze připravená třepáním 1,0 g s 10 ml vody prosté oxidu uhličitého R po dobu 5 min.

Dělicí schopnost. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Připraví se vrstva křemelinu G za použití roztoku *octanu sodného R* (2,7 g/l). Nanese se 5 µl roztoku laktosy, sacharosy, glukosy a fruktosy v *pyridinu R* obsahující 0,10 g/l jednotlivých složek. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *2-propanolu R* a *ethylacetatu R* (12 + 23 + 65) po dráze 14 cm. Vyvíjí se asi 40 min. Po vysušení se vrstva postříká *anisaldehydem RS* (asi 10 ml) a zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu jsou přítomny 4 zřetelně oddělené nerozplývavé skvrny.

Křemelina pro chromatografii R

Bílý nebo nažloutlý lehký prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, ve zředěných kyselinách a v organických rozpouštědlech.

Rychlost filtrace. Použije se chromatografická kolona dlouhá 0,25 m o vnitřním průměru 10 mm s filtrem ze slinutého skla (100) a dvěma značkami v 0,10 m a 0,20 m nad filtrem. Do kolony se umístí dostatečné množství zkoušené látky tak, aby dosahovalo k první značce, a kolona se doplní *vodou R* k druhé značce. Když první kapky začnou vytékat z kolony, doplní se opět *vodou R* k druhé značce a měří se čas potřebný k vytečení prvních 5 ml z kolony. Půtoková rychlost není menší než 1 ml/min.

Vzhled eluátu. Eluát získaný při zkoušce na rychlost filtrace je bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*).

Kyselce nebo zásaditě reagující látky. K 1,00 g se přidá 10 ml *vody R*, silně se protřepe a nechá se 5 min stát. Suspenze se zfiltruje přes filtr předem promytý horkou *vodou R* do neutrální reakce. K 2,0 ml filtrátu se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*; roztok je žlutý. K 2,0 ml filtrátu se přidá 0,05 ml *fenolftaleinu RS1*; roztok je nejvýše slabě růžový.

Látky rozpustné ve vodě. 10,0 g se převede do chromatografické kolony 0,25 m dlouhé o vnitřním průměru 10 mm a promývá se *vodou R*. Zachytí se prvních 20 ml eluátu, odpaří se k suchu a odparek se suší při 100 °C až 105 °C. Hmotnost odparku není větší než 10 mg.

Železo (2.4.9). K 0,50 g se přidá 10 ml směsi stejných dílů *kyseliny chlorovodíkové RS* a *vody R*, silně se protřepe, nechá se 5 min stát a filtruje se. 1,0 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na železo (200 µg/g).

Ztráta žiháním. Nejvýše 0,5 %. Během žihání v červeném žáru (600 °C) látka nezhnědne ani nezčerná.

Křemelina pro plynovou chromatografii R

Bílý nebo téměř bílý jemně zrnitý prášek, tvořený křemíkovými schránkami fosilních mořských rozsivek nebo jejich úlomků, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru. Látka může být identifikována mikroskopicky při pětisetnásobném zvětšení. Látka je čištěná *kyselinou chlorovodíkovou R* a potom promývána *vodou R*.

Velikost částic. Nejvýše 5 % křemeliny zůstane na sítu č. 180. Nejvýše 10 % křemeliny přejde přes síto č. 125.

Křemelina pro plynovou chromatografii R1

Bílý nebo téměř bílý prášek jemně zrnitý, tvořený křemíkovými schránkami fosilních mořských rozsivek nebo jejich úlomků, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru. Látka může být identifikována mikroskopicky při pětisetnásobném zvětšení. Látka je čištěná *kyselinou chlorovodíkovou R* a potom promývána *vodou R*.

3642 Zkoumadla

Velikost částic. Nejvýše 5 % křemeliny zůstane na sítu č. 250. Nejvýše 10 % křemeliny přejde přes síto č. 180.

Křemelina pro plynovou chromatografii R2

Bílý až téměř bílý jemně zrnitý prášek, tvořený křemíkovými schránkami fosilních mořských rozsivek nebo jejich úlomků se specifickým povrchem 0,5 m²/g, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru. Látka může být identifikována mikroskopicky při 500násobném zvětšení. Přečišťuje se *kyselinou chlorovodíkovou R* a potom promýváním *vodou R*.

Velikost částic. Nejvýše 5 % křemeliny zůstane na sítu č. 180. Nejvýše 10 % křemeliny projde přes síto č. 125.

Křemelina silanizovaná pro plynovou chromatografii R

Křemelina pro plynovou chromatografii R silanizovaná dimethyldichlorsilanem nebo jiným vhodným silanizačním činidlem.

Křemelina silanizovaná pro plynovou chromatografii R1

Připravená z rozdrcených růžových křemelinových žáruvzdorných cihel silanizací dimethyldichlorsilanem nebo jiným vhodným silanizačním činidlem. Látka je čištěná *kyselinou chlorovodíkovou R* a promytá *vodou R*.

Kurkumin R

C₂₁H₂₀O₆

M_r 368,4

CAS 458-37-7

1,7-Bis(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-1,6-heptadien-3,5-dion

Oranžověhnědý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v kyselině octové ledové a prakticky nerozpustný v etheru.

TT: asi 183 °C.

Kyanguanidin R

C₂H₄N₄

M_r 84,1

CAS 461-58-5

Dikyandiamid; 1-kyanguanidin

Bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru a v dichlormethanu.

TT: asi 210 °C.

Kyanid draselný R

KCN

M_r 65,1

CAS 151-50-8

Bílý krystalický prášek, bílá hmota nebo bílá zrna. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Kyanid draselný RS

Roztok 100 g/l.

Kyanokobalamin R

Viz článek *Cyanocobalaminum*.

Kyselina N-acetylneuraminová R $C_{11}H_{19}NO_9$ M_r 309,3

CAS 131-48-6

Kyselina 5-acetamido-3,5-deoxy- α -D-glycero-D-galacto-2-nonulopyranosonová; kyselina O-sialová

Bílé jehličkovité krystaly, dobře rozpustné ve vodě a methanolu, těžce rozpustné v ethanolu, prakticky nerozpustné v acetonu a etheru.

$[\alpha]_D^{20}$: asi -36° , měří se roztok (10 g/l).

TT: Asi 186°C , za rozkladu.

Kyselina 2-aminobenzoová R

Viz odstavec *Kyselina anthranilová R*.

Kyselina 4-aminobenzoová R $C_7H_7NO_2$ M_r 137,1

CAS 150-13-0

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru petrolejovém.

TT: asi 187°C .

Chromatografie. Zkouší se za podmínek popsaných v článku *Procaini hydrochloridum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Uchovává se chráněna před světlem.

Kyselina 4-aminobenzoová RS

1 g kyseliny 4-aminobenzoové R se rozpustí ve směsi 18 ml kyseliny octové bezvodé R, 20 ml vody R a 1 ml kyseliny fosforečné R. V čas potřeby se smíchají 2 objemové díly roztoku se 3 objemovými díly acetonu R.

Kyselina adipová R $C_6H_{10}O_4$ M_r 146,1

CAS 124-04-9

Hranoly, snadno rozpustné v methanolu, dobře rozpustné v acetonu, prakticky nerozpustné v etheru petrolejovém.

TT: asi 152°C .

Kyselina aleuritová R $C_{16}H_{32}O_5$ M_r 304,4

CAS 533-87-9

Kyselina (9RS,10SR)-9,10,16-trihydroxyhexadekanová

Bílý prášek, mastný na omak, dobře rozpustný v methanolu.

TT: asi 101°C .

3644 *Zkoumadla***Kyselina amidosírová R** $\text{H}_3\text{NO}_3\text{S}$ M_r 97,1

CAS 5329-14-6

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v acetonu, v lihu 96%, v methanolu, prakticky nerozpustná v etheru.

TT: asi 205 °C, za rozkladu.

Kyselina 6-aminohexanová R $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$ M_r 131,2

CAS 60-32-2

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, mírně rozpustné v methanolu, prakticky nerozpustné v ethanolu.

TT: asi 205 °C.

Kyselina aminohippurová R $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$ M_r 194,2

CAS 61-78-9

Kyselina N-(4-aminobenzoyl)aminoctová

Bílý až téměř bílý prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v etheru.

TT: asi 200 °C.

Kyselina aminohydroxynaftalensulfonová R $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{NO}_4\text{S}$ M_r 239,3

CAS 116-63-2

Kyselina 4-amino-3-hydroxy-1-naftalensulfonová

Bílé nebo šedé jehličky, barví se působením světla na růžovo, zejména jsou-li vlhké. Prakticky jsou nerozpustné ve vodě, v lihu 96% a v etheru, dobře se rozpouští v roztocích alkalických hydroxidů a horkých roztocích disiřičitanu sodného.

Uchovává se chráněna před světlem.

Kyselina aminohydroxynaftalensulfonová RS

5,0 g siřičitanu sodného bezvodého R se smíchá s 94,3 g hydrogensiřičitanu sodného R a 0,7 g kyseliny aminohydroxynaftalensulfonové R. 1,5 g směsi se rozpustí ve vodě R a doplní se jí na 10,0 ml. Roztok se připravuje denně.

Kyselina aminomethylizarindioctová R $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{NO}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M_r 421,4

CAS 3952-78-1

Kyselina N-(3,4-dihydroxy -2-antrachinonylmethyl)iminodioctová dihydrát

Jemný světle hnědožlutý až oranžově hnědý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 185 °C.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; stanoví se s 1,000 g látky.

Kyselina aminomethylizarindioctová RS

0,192 g kyseliny aminomethylizarindioctové R se rozpustí v 6 ml čerstvě připraveného hydroxidu sodného 1 mol/l RS. Přidá se 750 ml vody R, 25 ml tlumivého roztoku jantaranového o pH 4,6

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3645

a po kapkách *kyselina chlorovodíková 0,5 mol/l RS* do změny zbarvení z fialově červeného na žluté (pH 4,5 až 5). Přidá se 100 ml *acetonu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

Kyselina antranilová R $C_7H_7NO_2$ M_r 137,1

CAS 118-92-3

Kyselina 2-aminobenzoová

Bílý až slabě žlutý krystalický prášek, mírně rozpustný ve studené vodě, snadno rozpustný v horké vodě, v lihu 96%, v etheru a v glycerolu. Roztoky v lihu 96% nebo v etheru, zvláště v glycerolu, fialově fluoreskují.

TT: asi 145 °C.

Kyselina askorbová R

Viz článek *Acidum ascorbicum*.

Kyselina askorbová RS

50 mg se rozpustí v 0,5 ml *vody R* a zředí se *dimethylformamidem R* na 50,0 ml.

Kyselina barbiturová R $C_4H_4N_2O_3$ M_r 128,1

CAS 67-52-7

1H,3H,5H-Pyrimidin-2,4,6-trion

Bílý nebo téměř bílý prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve vroucí vodě a ve zředěných kyselinách.

TT: asi 253 °C.

Kyselina benzoová R

Viz článek *Acidum benzoicum*.

Kyselina boritá R

Viz článek *Acidum boricum*.

Kyselina bromovodíková 30% R

CAS 10035-10-6

30% roztok kyseliny bromovodíkové v *kyselině octové ledové R*. Před otevřením obsahu se opatrně odplyní.

Kyselina bromovodíková zředěná RS

5,0 ml *kyseliny bromovodíkové 30% R* se umístí do hnědožlutých lahvíček opatřených polyethylenovými zátkami. Hermeticky se uzavřou pod *argonem R* a uchovávají se v temnu. Bezprostředně před použitím se přidá 5,0 ml *kyseliny octové ledové R* a protřepe se.

Uchovává se v temnu.

3646 Zkoumadla

Kyselina butylboritá R $C_4H_{11}BO_2$ M_r 101,9

CAS 4426-47-5

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_4H_{11}BO_2$.
TT: 90 °C až 92 °C.

Kyselina citronová bezvodá R

Viz článek *Acidum citricum*.

Kyselina citronová R

Viz článek *Acidum citricum monohydricum*.

Při použití pro limitní zkoušku na železo vyhovuje následujícímu dodatečnému požadavku:

0,50 g se rozpustí v 10 ml vody R, přidá se 0,1 ml kyseliny thioglykolové R, promíchá se a zalkalizuje amoniakem 17,5% RS. Zředí se vodou R na 20 ml. Nevznikne žádné růžové zbarvení.

Kyselina cyklohexylendinitrilotetraoctová R $C_{14}H_{22}N_2O_8 \cdot H_2O$ M_r 364,4

CAS 13291-61-7

CDTA; monohydrát kyseliny *trans*-cyklohexylen-1,2-dinitrilo-*N,N,N',N'*-tetraoctové

Bílý krystalický prášek.

TT: asi 204 °C.

Kyselina deoxyribonukleová sodná sůl R

CAS 73049-39-5

Asi 85 % látky má M_r 2 · 10⁷ nebo vyšší.

Bílá vláknitá hmota získaná z telecích brzlíků.

Zkouška způsobilosti. 10 mg se rozpustí v tlumivém roztoku imidazolovém o pH 6,5 a zředí se jím na 10,0 ml (roztok a). 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným tlumivým roztokem na 50,0 ml. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 260 nm je v rozmezí 0,4 až 0,8.

K 0,5 ml roztoku (a) se přidá 0,5 ml tlumivého roztoku imidazolového o pH 6,5 a 3 ml roztoku kyseliny chloristé R (25 g/l HClO₄); vznikne sraženina. Po odstředování se měří absorbance supernatantní kapaliny při 260 nm proti směsi 1 ml stejného tlumivého roztoku a 3 ml stejného roztoku kyseliny chloristé. Absorbance není vyšší než 0,3.

Do každé ze dvou zkumavek se převede po 0,5 ml roztoku (a) a 0,5 ml porovnávacího roztoku streptodornasy s obsahem 10 m.j. v 1 ml tlumivého roztoku imidazolového o pH 6,5. Do jedné zkumavky se rychle přidají 3 ml roztoku kyseliny chloristé R (25 g/l HClO₄); vznikne sraženina. Směs se odstředí a získá se supernatantní kapalina (a). Druhá zkumavka se zahřívá 15 min při 37 °C. Po přidání 3 ml stejného roztoku kyseliny chloristé se směs odstředí. Získá se supernatantní kapalina (b). Absorbance supernatantní kapaliny (b) měřené při 260 nm proti supernatantní kapalině (a) není menší než 0,15.

Kyselina diazobenzensulfonová RS1

0,90 g kyseliny sulfanilové R se rozpustí ve směsi 30 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 70 ml vody R. Ke 3 ml tohoto roztoku se přidají 3 ml roztoku dusitanu sodného R (50 g/l). 5 min

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3647

se chladí v ledové lázni, přidá se 12 ml roztoku dusitanu sodného a opět se ochladí. Zředí se vodou R na 100 ml a nechá se v ledové lázni.

Připravuje se v čas potřeby, ale před použitím se roztok 15 min nechá stát.

Kyselina dichloroctová R M_r 128,9

CAS 79-43-6

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,566. n_D^{20} : asi 1,466.

TV: asi 193 °C.

Kyselina dichloroctová RS

67,0 ml kyseliny dichloroctové R se zředí vodou R na 300,0 ml a neutralizuje se amoniakem 17,5% RS za použití papíru lakmusového modrého R. Ochladí se, přidá se 33,0 ml kyseliny dichloroctové R a zředí se vodou R na 600,0 ml.

Kyselina dinitrobenzoová R M_r 212,1

CAS 99-34-3

Kyselina 3,5-dinitrobenzoová

Téměř bezbarvé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96 %.

TT: asi 206 °C.

Kyselina dinitrobenzoová RS

Roztok 20 g/l v lihu 96% R.

Kyselina 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoová) R M_r 396,4

CAS 69-78-3

Bis(3-karboxy-4-nitrofenyl)disulfid; Ellmanovo činidlo; DTNB

Žlutý prášek, mírně rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 242 °C.

Kyselina dusičná dýmavá R

CAS 52583-42-3

Čirá nebo nažloutlá kapalina, na vzduchu dýmavá.

 d_{20}^{20} : asi 1,5.**Kyselina dusičná R** M_r 63,0

CAS 7697-37-2

Obsahuje 63,0 % až 70,0 % HNO_3 .

Čirá nebo téměř bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou.

3648 Zkoumadla

d_{20}^{20} : 1,384 až 1,416.

Roztok 10 g/l je silně kyselý a vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1.).

Vzhled. Čirá kapalina (2.2.1), není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, Metoda II).

Chloridy (2.4.4). K 5 g se přidá 10 ml vody R a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2. Roztok se nechá 2 min stát chráněn před světlem. Opalescence tohoto roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného za stejných podmínek smícháním 13 ml vody R, 0,5 ml kyseliny dusičné R, 0,5 ml základního roztoku chloridů (5 µg Cl/ml) a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5 µg/g).

Síraný (2.4.13). K 10 g se přidá 0,20 g uhličitany sodného R. Odpaří se do sucha a zbytek se rozpustí v 15 ml vody destilované R. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na síraný (2 µg/g). Připraví se porovnávací roztok smícháním 2 ml základního roztoku síranů (10 µg SO₄/ml) a 13 ml vody destilované R.

Arsen (2.4.2). 50 g se opatrně zahřívá s 0,5 ml kyseliny sírové R do vzniku bílých par. Ke zbytku se přidá 1 ml roztoku hydroxylamoniumchloridu R (100 g/l) a zředí se vodou R na 2 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na arsen (0,02 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku arsenu (1 µg As/ml).

Těžké kovy (2.4.8). 10 ml roztoku připraveného ve zkoušce na železo se zředí vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce a na těžké kovy (2 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). Zbytek ze zkoušky Síranový popel se rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (1 µg/g).

Síranový popel. Nejvýše 0,001 %. 100 g se opatrně odpaří do sucha. Zbytek se navlhčí několika kapkami kyseliny sírové R a žihá se v tmavočerveném žáru.

Stanovení obsahu. K 1,50 g se přidá 50,0 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 1 mol/l VS za použití 0,10 ml červeně methylové RS jako indikátoru 1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 63,0 mg HNO₃.

Uchovává se chráněna před světlem.

Kyselina dusičná zředěná RS

Obsahuje asi 125 g/l HNO₃ (M_r 63,0).

20 g kyseliny dusičné R se zředí vodou R na 100 ml.

Kyselina dusičná prostá olova a kadmia R

Kyselina dusičná R, která vyhovuje následujícím zkouškám:

Zkoušený roztok. Ke 100 g se přidá 0,1 g uhličitany sodného bezvodého R a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí slabým zahřátím ve vodě R a po ochlazení se zředí vodou R na 50,0 ml.

Kadmium. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II). Měří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou a plamene vzduch-acetylen nebo vzduch-propan. Obsahuje nejvýše 0,1 µg/g kadmia (Cd).

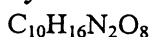
Olovo. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II). Měří se absorbance při 283,3 nm nebo 217,0 nm za použití olověné lampy s dutou katodou a plamene vzduch-acetylen. Obsahuje nejvýše 0,1 µg/g olova (Pb).

Kyselina dusičná prostá olova R

Kyselina dusičná R, která vyhovuje následující zkoušce:

Ke 100 g se přidá 0,1 g *uhlíčitánu sodného bezvodého R* a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí slabým zahřátím ve *vodě R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml. Stanoví se obsah olova atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II). Měří se absorbance při 283,3 nm nebo 217,0 nm za použití olověné lampy s dutou katodou a plamene vzduch-acetylen. Obsahuje nejvýše 0,1 µg/g olova (Pb).

Kyselina edetová R

 M_r 292,2

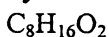
CAS 60-00-4

Kyselina ethylendinitrilotetraoctová, EDTA

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě.

TT: asi 250 °C, za rozkladu.

Kyselina 2-ethylhexanová R

 M_r 144,2

CAS 149-57-5

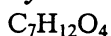
Bezbarvá kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,91.

n_D^{20} : asi 1,425.

Příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28). Nastříkne se 1 µl roztoku připraveného následovně: 0,2 g se suspenduje v 5 ml *vody R*, přidají se 3 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, 5 ml *hexanu R* a 1 min se třepe. Vrstvy se nechají oddělit a použije se horní vrstva. Použije se chromatografický postup uvedený ve zkoušce Kyselina 2-ethylhexanová v článku *Amoxicillinum natricum*. Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku rozpouštědla, není větší než 2,5 % plochy hlavního píku.

Kyselina 2-ethyl-2-methyljantarová R

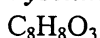
 M_r 160,2

CAS 631-31-2

Kyselina 2-ethyl-2-methylbutandiová

TT: 104 °C až 107 °C.

Kyselina fenoxyoctová R

 M_r 152,1

CAS 122-59-8

Kyselina 2-fenoxyethanová

Téměř bílé krystaly, mírně rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%, v etheru a v kyselině octové ledové.

TT: asi 98 °C.

3650 Zkoumadla

Chromatografie. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Phenoxymethylpenicillinum*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Kyselina flufenamová R $C_{14}H_{10}F_3NO_2$ M_r 281,2

CAS 530-78-9

Kyselina 2-[[3-trifluormethyl]fenyl]amino}benzoová

Světle žlutý krystalický prášek nebo jehličky. Je prakticky nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%.

TT: 132 °C až 135 °C.

Kyselina fluorovodíková R

HF

 M_r 20,01

CAS 7664-39-3

Obsahuje nejméně 40,0 % HF. Čirá bezbarvá kapalina.

Zbytek po žihání. Nejvýše 0,05 %. Kyselina fluorovodíková se odpaří v platinovém kelímku a zbytek se opatrně žihá do konstantní hmotnosti.

Stanovení obsahu. Kuželová baňka se zabroušenou zátkou obsahující 50,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* se zváží. Přidají se 2 g kyseliny fluorovodíkové a opět se zváží. Titruje se *kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 20,01 mg HF.

Uchovává se v polyethylenových obalech.

Kyselina fosfomolybdenová R $12 MoO_3 \cdot H_3PO_4 \cdot nH_2O$

CAS 51429-74-4

Oranžovožluté jemné krystaly, snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

Kyselina fosfomolybdenová RS

4,0 g *kyseliny fosfomolybdenové R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 40 ml, potom se opatrně přidá za chlazení 60 ml *kyseliny sírové R*.

Připravuje se v čas potřeby.

Kyselina fosforečná R

Viz článek *Acidum phosphoricum 85%*.

Kyselina fosforečná zředěná RS

Viz článek *Acidum phosphoricum 10%*.

Kyselina fosfowolframová RS

10 g *wolframanu sodného R* se vaří 3 h pod zpětným chladičem s 8 ml *kyseliny fosforečné R* a 75 ml *vody R*. Po ochlazení se zředí *vodou R* na 100 ml.

Kyselina ftalová R $C_8H_6O_4$ M_r 166,1

CAS 88-99-3

Kyselina 1,2-benzendikarboxylová

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný v horké vodě a lihu 96%.

Kyselina gallová R $C_7H_6O_5 \cdot H_2O$ M_r 188,1

CAS 5995-86-8

Monohydrát kyseliny 3,4,5-trihydroxybenzoové

Dlouhé lesklé jehlice nebo krystalický prášek, bezbarvý nebo slabě žlutý. Je dobře rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v horké vodě, v lihu 96% a v glycerolu, těžce rozpustná v etheru. Rozpouští se ve své krystalové vodě při 120 °C a taje při asi 260 °C, za rozkladu.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek uvedených v článku *Uvae ursi folium*; chromatogram vykazuje jen jednu hlavní skvrnu.

Kyselina glutamová RViz článek *Acidum glutamicum*.**Kyselina glycyrrhetinová R** $C_{30}H_{46}O_4$ M_r 470,7

CAS 471-53-4

Enoxolon

Směs α - a β -glycyrrhetinových kyselin, kde převládá β -izomer. Kyselina 12,13-didehydro-3 β -hydroxy-11-oxo-30-oleanová.

Bílý nebo nažloutle hnědý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu a kyselině octové ledové.

$[\alpha]_D^{20}$: +145° až +155°; měří se roztok (10,0 g/l) v *ethanolu R*.

Chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu GF₂₅₄ R* připravené za použití roztoku *kyseliny fosforečné R* 0,25% (V/V) se nanese 5 μ l roztoku zkoušené látky (5 g/l) ve směsi stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R*. Vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *chloroformu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Chromatogram se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je patrná tmavá skvrna o R_F asi 0,3 odpovídající kyselině β -glycyrrhetinové a menší skvrna o R_F asi 0,5 odpovídající kyselině α -glycyrrhetinové. Po postříkání *anisaldehydem RS* a zahřívání 10 min při 100 °C až 105 °C se zbarví obě skvrny modrofialově. Mezi nimi může být přítomna menší modrofialová skvrna.

Kyselina glykolová R $C_2H_4O_3$ M_r 76,0

CAS 79-14-1

Kyselina 2-hydroxyoctová

Krystaly, dobře rozpustné ve vodě, v acetonu, v lihu 96%, v etheru a v methanolu.

TT: asi 80 °C.

3652 Zkoumadla**Kyselina hexachloroplaticitá R** $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ M_r 517,9

CAS 18497-13-7

Hexahydrát kyseliny chloroplaticité

Obsahuje nejméně 37,0 % platiny (A_r 195,1).

Hnědočervené krystaly nebo krystalická hmota. Je velmi snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%.

Stanovení obsahu. Spálí se 0,200 g, vyžihá se při 900 °C do konstantní hmotnosti a zbytek (platina) se zvaží.

Uchovává se chráněna před světlem.

Kyselina 4-hydroxybenzoová R $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ M_r 138,1

CAS 99-96-7

Krystaly, těžce rozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96%, dobře rozpustné v acetonu a v etheru.

TT: 214 °C až 215 °C.**Kyselina 4-hydroxyisofthalová R** $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_5$ M_r 182,1

CAS 636-46-4

Kyselina 4-hydroxybenzen-1,3-dikarboxylová

Jehličky nebo destičky, velmi těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 314 °C, za rozkladu.**Kyselina 12-hydroxystearová R** $\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_3$ M_r 300,5

CAS 106-14-9

Kyselina 12-hydroxyoktadekanová

Bílý prášek.

TT: 71 °C až 74 °C.**Kyselina chloristá R** HClO_4 M_r 100,5

CAS 7601-90-3

Obsahuje 70,0 % až 73,0 % HClO_4 .

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou.

 d_{20}^{20} : asi 1,7.*Stanovení obsahu.* K 2,50 g se přidá 50 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 1 mol/l VS za použití 0,1 ml červeně methylové RS jako indikátoru.1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 100,5 mg HClO_4 .**Kyselina chloristá RS**

8,5 ml kyseliny chloristé R se zředí vodou R na 100 ml.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3653

Kyselina chloroctová R $C_2H_3ClO_2$ M_r 94,5

CAS 79-11-8

Kyselina monochloroctová

Bezbarvé nebo bílé rozplývavé krystaly, velmi dobře rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina (1S)-(+)-10-kafrsulfonová R $C_{10}H_{16}O_4S$ M_r 232,3

CAS 3144-16-9

Kyselina (1S,4R)-(+)-2-oxo-10-bornensulfonová, kyselina Reychlerova, kyselina [(1S)-7,7-dimethyl-2-oxobicyclo[2,2,1]heptan-1-yl]methansulfonová

Hranolovité krystaly, hygroskopické a velmi dobře rozpustné ve vodě.

Obsahuje nejméně 99,0 % kyseliny (1S)-(+)-10-kafrsulfonové.

TT: asi 194 °C, za rozkladu.

$[\alpha]_D^{20}$: $+(20 \pm 1^\circ)$ [roztok ve vodě R (43 g/l)].

ΔA (2.2.41): $10,2 \cdot 10^3$; stanoví se při 290,5 nm v roztoku 1,0 g/l.

Kyselina chlorogenová R $C_{16}H_{18}O_9$ M_r 354,3

CAS 327-97-9

Kyselina (1S,3R,4R,5R)-3-[(3,4-dihydroxycinnamoyl)oxy]-1,4,5-trihydroxycyklohexankarboxylová

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vroucí vodě, v acetonu a v ethanolu.

$[\alpha]_D^{26}$: asi $-35,2^\circ$.

TT: asi 208 °C.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se postupem popsaným ve zkoušce totožnosti a uvedeným v článku *Belladonnae follii extractum siccum normatum*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Kyselina chlorovodíková R

Viz článek *Acidum hydrochloricum* 35%.

Kyselina chlorovodíková RS

Obsahuje 250 g/l HCl. 70 g kyseliny chlorovodíkové R se zředí vodou R na 100 ml.

Kyselina chlorovodíková 10% RS

Obsahuje 10,9 % HCl (asi 3 mol/l).

Příprava: 44 ml kyseliny chlorovodíkové RS se zředí vodou R na 100 ml.

Kyselina chlorovodíková zředěná RS

Obsahuje 73 g/l HCl. 20 g kyseliny chlorovodíkové R se zředí vodou R na 100 ml.

3654 Zkoumadla**Kyselina chlorovodíková zředěná RS1**

Obsahuje 0,37 g/l HCl. 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* se zředí vodou R na 200,0 ml.

Kyselina chlorovodíková zředěná RS2

30 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* se zředí vodou R na 1000 ml a upraví se pH na $(1,6 \pm 0,1)$.

Kyselina chlorovodíková 2 mol/l RS

206,0 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí vodou R na 1000,0 ml.

Kyselina chlorovodíková 3 mol/l RS

309,0 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí vodou R na 1000,0 ml.

Kyselina chlorovodíková 6 mol/l RS

618,0 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí vodou R na 1000,0 ml.

Kyselina chlorovodíková s bromem RS

K 1 ml *bromové vody R* se přidá 100 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

Kyselina chlorovodíková v lihu RS

5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* se zředí lihem 96% R na 500,0 ml.

Kyselina chlorovodíková v lihu 0,1 mol/l RS

9,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí lihem 96% prostým aldehydů R na 1000,0 ml.

Kyselina chlorovodíková v methanolu RS

1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* se zředí methanolem R na 100,0 ml.

Kyselina 5-chlorsalicylová R

$C_7H_5ClO_3$

M_r 172,6

CAS 321-14-2

Kyselina 5-chlor-2-hydroxybenzoová

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, dobře rozpustný v methanolu.
TT: asi 173 °C.

Kyselina chromotropová sodná sůl R

$C_{10}H_6Na_2O_8S_2 \cdot 2H_2O$

M_r 400,3

CAS 5808-22-0

Schultz 1136

Dihydrát disodné soli kyseliny 4,5-dihydroxy-2,7-naftalendisulfonové

Nažloutlý bílý prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3655

Kyselina chromsírová

Nasycený roztok oxidu chromového *R* v kyselině sírové *R*.

Kyselina isobarbiturová *R*

$C_4H_4N_2O_3$

M_r 128,1

CAS 496-76-4

5-Hydroxyuracil; pyrimidin-2,4,5-triol

Bílý krystalický prášek.

TT: asi 310 °C, za rozkladu.

Chromatografie. Zkouší se postupem uvedeným v článku *Fluorouracilum*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna o R_F asi 0,3.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina jantarová *R*

$C_4H_6O_4$

M_r 118,1

CAS 110-15-6

Kyselina butandiová

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

TT: 184 °C až 187 °C.

Kyselina 2-jodbenzoová *R*

$C_7H_5IO_2$

M_r 248,0

CAS 88-67-5

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 160 °C.

Chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *celulosa pro chromatografii F₂₅₄ R* se nanese 20 μ l roztoku připraveného rozpuštěním 40 mg zkoušené látky ve 4 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředěného *vodou R* na 10 ml. Vyvíjí se horní vrstvou získanou třepáním směsi objemových dílů *toluenu R*, *kyseliny octové ledové R* a *vody R* (40 + 40 + 20) po dráze 12 cm.

Po vysušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Kyselina 2-jodhippurová *R*

$C_9H_8INO_3 \cdot 2H_2O$

M_r 341,1

CAS 147-58-0

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě.

TT: asi 170 °C.

Voda (2.5.12). 9 % až 13 %, stanoví se s 1,000 g.

Chromatografie (2.2.27). Na tenkou vrstvu *celulosa pro chromatografii F₂₅₄ R* se nanese 20 μ l roztoku připraveného rozpuštěním 40 mg zkoušené látky ve 4 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředěného *vodou R* na 10 ml. Vyvíjí se horní vrstvou získanou třepáním směsí objemových dílů *toluenu R*, *kyseliny octové ledové R* a *vody R* (40 + 40 + 20) po dráze 12 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

3656 Zkoumadla

Kyselina jodistá R H_5IO_6 M_r 227,9

CAS 10450-60-9

Krystaly snadno rozpustné ve vodě a dobře rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 122 °C.

Kyselina jodoctová R $\text{C}_2\text{H}_3\text{IO}_2$ M_r 185,9

CAS 64-69-7

Bezbarvé nebo bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě nebo v lihu 96%.

TT: 82 °C až 83 °C.

Kyselina jodovodíková R

HI

 M_r 127,9

CAS 10034-85-2

Připravuje se destilací kyseliny jodovodíkové nad červeným fosforem v proudě *oxidu uhličitého R* nebo *dusíku R*. Použije se bezbarvá nebo většinou bezbarvá konstantně vroucí směs (55 % až 58 % HI) destilující mezi 126 °C až 127 °C.

Uchovává se na tmavém místě v malých, hnědožlutých lahvích předem vypláchnutých *oxidem uhličitým R* nebo *dusíkem R* se skleněnými zabroušenými zátkami zalitými parafinem.

Kyselina kalkonkarboxylová R $\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_7\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ M_r 492,5

CAS 3737-95-9

Trihydrát kyseliny 2-hydroxy-1-(2-hydroxy-4-sulfo-1-naftylazo)naftalen-3-karboxylové

Hnědočerný prášek, těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v acetonu a v lihu 96%, mírně rozpustný ve zředěném roztoku hydroxidu sodného.

Kyselina kalkonkarboxylová s chloridem sodným R

1 díl *kyseliny kalkonkarboxylové R* se smíchá s 99 díly *chloridu sodného R*.

Zkouška citlivosti. 50 mg směsi se rozpustí ve směsi 2 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a 100 ml *vody R*; roztok je zbarven modře. Po přidání 1 ml roztoku *síranu hořečnatého R* (10,0 g/l) a 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (1,5 g/l) je roztok fialový a po přidání 0,15 ml roztoku *edetanu disodného 0,01 mol/l VS* se roztok zbarví čistě modře.

Kyselina kávová R $\text{C}_9\text{H}_8\text{O}_4$ M_r 180,2

CAS 331-39-5

Kyselina 3,4-dihydroxyskořicová, kyselina (*E*)-3-(3,4-dihydroxyfenyl)propenová

Bílé nebo téměř bílé krystaly nebo plátky. Je snadno rozpustná v horké vodě a v lihu 96%, mírně rozpustná ve studené vodě.

TT: asi 225 °C, za rozkladu.

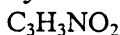
Čerstvě připravený roztok při pH 7,6 vykazuje absorpční maximum (2.2.25) při 293 nm a 329 nm.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3657

Kyselina křemičitowolframová R

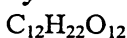
CAS 11130-20-4

Bílé až slabě nažloutlé rozplývavé krystaly, velmi dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%.
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina kyanoctová R M_r 85,1

CAS 372-09-8

Bílé až nažloutlé hygroskopické krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.
Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

Kyselina laktobionová R M_r 358,3

CAS 96-82-2

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.
TT: asi 115 °C.

Kyselina listová R

Viz článek *Acidum folicum*.

Kyselina maleinová R

Viz článek *Acidum maleicum*.

Kyselina máselná R M_r 88,1

CAS 107-92-6

Kyselina butanová

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou, lihem 96% a etherem.

Kyselina metafosforečná R

CAS 37267-86-0

Sklovité chuchvalce nebo tyčinky obsahující část metafosforečnanu sodného, hygroskopické, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Dusičnany. 1,0 g se vaří s 10 ml vody R, ochladí se, přidá se 1 ml indigokarmínu RS, 10 ml kyseliny sírové prosté dusičnanů R a zahřívá se k varu. Slabé modré zbarvení zůstává.

Redukující látky. Nejvýše 0,01 % redukujících látek, počítaných jako H_3PO_3 . 35,0 g, se rozpustí v 50 ml vody R. Přidá se 5 ml roztoku kyseliny sírové R (200 g/l), 50 mg bromidu draselného R a 5,0 ml bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Nechá se ochladit a přidá se 0,50 g jodidu draselného R. Uvolněný jod se titruje thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS odpovídá 4,10 mg H_3PO_3 .

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina methakrylová R M_r 86,1

CAS 79-41-4

Kyselina 2-methyl-2-propenová; kyselina metakrylová

3658 Zkoumadla

Bezbarvá kapalina.

n_D^{20} : asi 1,431.

TV: asi 160 °C.

TT: asi 16 °C.

Kyselina methansulfonová R

CH₄O₃S

M_r 96,1

CAS 75-75-2

Čirá bezbarvá kapalina mísitelná s vodou, těžce rozpustná v toluenu, prakticky nerozpustná v hexanu. Látka tuhne při teplotě nižší než 20 °C.

d_{20}^{20} : asi 1,48.

n_D^{20} : asi 1,430.

Kyselina methoxyfenoctová R

C₉H₁₀O₃

M_r 166,2

CAS 7021-09-2

Kyselina (*RS*)-2-methoxy-2-fenoctová

Bílý krystalický prášek nebo bílé nebo téměř bílé krystaly. Je mírně rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 70 °C.

Uchovává se v chladu.

Kyselina mléčná R

Viz článek *Acidum lacticum*.

Kyselina mravenčí bezvodá R

CH₂O₂

M_r 46,03

CAS 64-18-6

Obsahuje nejméně 98,0 % CH₂O₂.

Bezbarvá kapalina, žíravina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 1,22.

Stanovení obsahu. Do zvážené kuželové baňky obsahující 10 ml vody R se rychle přidá asi 1 ml zkoušené látky a opět se zváží. Přidá se 50 ml vody R a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 46,03 mg CH₂O₂.

Kyselina octová bezvodá R

C₂H₄O₂

M_r 60,1

CAS 64-19-7

Obsahuje nejméně 99,6 % C₂H₄O₂.

Bezbarvá kapalina nebo bílé, lesklé, kaprad'ovité krystaly. Je mísitelná (nebo velmi snadno rozpustná) s vodou, s lihem 96%, s etherem, glycerolem 85% a s většinou silic a mastných olejů.

Roztok 100 g/l je silně kyselý (2.2.4). Roztok 5 g/l neutralizovaný *amoniakem zředěným RS2* vyhovuje zkoušce (b) na octany (2.3.1).

d_{20}^{20} : 1,052 až 1,053.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3659

TV: 117 °C až 119 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18). Nejméně 15,8 °C.

Voda (2.5.12). Nejvýše 0,4 %. Jestliže je obsah vody větší než 0,4 %, upraví se přidáním vypočítaného množství *acetanhydridu R*.

Uchovává se chráněna před světlem.

Kyselina octová ledová R

$C_2H_4O_2$

M_r 60,1

CAS 64-19-7

Kyselina octová koncentrovaná

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_2H_4O_2$.

Roztok 100 g/l je silně kyselý (2.2.4). Roztok 5 g/l neutralizovaný *amoniakem zředěným RS2* vyhovuje zkoušce (b) na octany (2.3.1).

d_{20}^{20} : 1,052 až 1,053.

TV: 117 °C až 119 °C.

Stanovení obsahu. 5,00 g se v odměrné baňce zředí *vodou R* na 100,0 ml. 25,0 ml se titruje *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 60,1 mg $C_2H_4O_2$.

Kyselina octová RS

Obsahuje 290 g/l až 310 g/l $C_2H_4O_2$ (M_r 60,1).

30 g *kyseliny octové ledové R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

Kyselina octová zředěná RS

Obsahuje 115 g/l až 125 g/l $C_2H_4O_2$ (M_r 60,1).

12 g *kyseliny octové ledové R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

Kyselina palmitová R

$C_{16}H_{32}O_2$

M_r 256,4

CAS 57-10-3

Kyselina hexadekanová

Bílé krystalické šupiny, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v horkém lihu 96% a v etheru.

TT: asi 63 °C.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Chloramphenicoli palmitas*. Na chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Kyselina pikrová R

Viz *Trinitrofenol R*.

Kyselina propionová R

$C_3H_6O_2$

M_r 74,1

CAS 79-09-4

Olejovitá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru, mísitelná s vodou.

3660 Zkoumadla d_{20}^{20} : asi 0,993. n_D^{20} : asi 1,387.

TV: asi 141 °C.

TT: asi -21 °C.

Kyselina pyrohroznová R $C_3H_4O_3$ M_r 88,1

CAS 127-17-3

Kyselina 2-oxopropanová

Nažloutlá kapalina mísitelná s vodou, ethanolem a etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,267. n_D^{20} : asi 1,413.

TV: asi 165 °C.

Kyselina rozmarýnová R $C_{18}H_{16}O_8$ M_r 360,34

CAS 20283-92-5

Kyselina R(+)-2-[[3-(3,4-dihydroxyfenyl)-1-oxo-2-propenyl]oxy]-3,4-dihydroxybenzenpropanová
Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě a v ethanolu. $[\alpha]_D^{20}$: asi +145°; měří se roztok (14 g/l) v lihu 96% R.

TT: 174 °C až 177 °C.

Kyselina ricinolejová R $C_{18}H_{34}O_3$ M_r 298,5

CAS 141-22-0

Kyselina 12-hydroxyolejová

Žlutá nebo žlutohnědá viskózní kapalina, obsahující směs mastných kyselin získaných hydrolyzou ricinového oleje, prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v ethanolu, dobře rozpustná v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,942. n_D^{20} : asi 1,472.

TT: asi 285 °C, za rozkladu.

Kyselina salicylová RViz článek *Acidum salicylicum*.**Kyselina seleničitá R** H_2SeO_3 M_r 129,0

CAS 7783-00-8

Rozplývavé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina sialová RViz odstavec kyselina *N-acetylneuraminová R*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3661**Kyselina sírová R** H_2SO_4 M_r 98,1

CAS 7664-93-9

Obsahuje 95,0 % až 97,0 % H_2SO_4 .

Bezbarvá olejovitá žíravá kapalina, silně hygroskopická, mísí se s vodou a s lihem 96% za silného uvolňování tepla.

 d_{20}^{20} : 1,834 až 1,837.

Roztok 10 g/l reaguje silně kyselé a vyhovuje zkoušce na sírany (2.3.1).

Vzhled. Je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*).

Oxidovatelné látky. 20 g se za chlazení opatrně vleje do 40 ml vody R a přidá se 0,5 ml manganistanu draselného 0,002 mol/l VS. Do 5 min fialové zbarvení nezmizí.

Chloridy. 10 g se za silného chlazení naleje do 10 ml vody R. Po ochlazení se zředí vodou R na 20 ml. Přidá se 0,5 ml dusičnanu stříbrného RS2 a 2 min se uchovává chráněn před světlem. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok připravený za použití 1 ml základního roztoku chloridů (5 $\mu\text{g Cl/ml}$), 19 ml vody R a 0,5 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5 $\mu\text{g/g}$).

Dusičnany. 50 g nebo 27,2 ml se opatrně a za chlazení naleje do 15 ml vody R. Přidá se 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku brucinu R (50 g/l) v kyselině octové ledové R. Vzniklé červené zbarvení není po 5 min silnější než zbarvení porovnávacího roztoku, který byl současně připraven z 12,5 ml vody R, 50 g kyseliny sírové prosté dusičnanů R, 2,5 ml základního roztoku dusičnanů (10 $\mu\text{g NO}_3/\text{ml}$) a 0,2 ml roztoku brucinu R (50 g/l) v kyselině octové ledové R (0,5 $\mu\text{g/g}$).

Amonium. 2,5 g se opatrně a za chlazení rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. Po ochlazení se po kapkách přidá 10 ml hydroxidu sodného R (200 g/l) a 1 ml tetrajodortuňnanu draselného zásaditého RS. Roztok není zbarven silněji než směs 5 ml základního roztoku amoniaku (1 $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$), 15 ml vody R, 10 ml hydroxidu sodného R (200 g/l) a 1 ml tetrajodortuňnanu draselného zásaditého RS (2 $\mu\text{g/g}$).

Arsen (2.4.2). K 50 g se přidají 3 ml kyseliny dusičné R, opatrně se odpaří asi na 10 ml. Po ochlazení se ke zbytku po odpaření přidá 20 ml vody R a zahustí se na 5 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce a na arsen (0,02 $\mu\text{g As/ml}$). Na přípravu porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku arsenu (1 $\mu\text{g As/ml}$).

Těžké kovy (2.4.8). 10 ml roztoku z limitní zkoušky na železo se zředí vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce a na těžké kovy (2 $\mu\text{g/g}$). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Železo (2.4.9). Popel ze zkoušky Zbytek po spálení se za mírného zahřátí rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 50,0 ml. 5 ml tohoto roztoku zředěného vodou R na 10 ml vyhovuje limitní zkoušce na železo (1 $\mu\text{g/g}$).

Zbytek po spálení. Nejvýše 0,001 %. 100 g se opatrně odpaří v malém kelímku nad plamenem a zbytek se žihá v červeného žáru.

Stanovení obsahu. Baňka se zabroušenou zátkou obsahující 30 ml vody R se přesně zváží. Přidá se 0,8 ml zkoušené látky a po ochlazení se znovu přesně zváží. Po přidání 0,1 ml červené methylové RS se titruje hydroxidem sodným 1 mol/l VS.

1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 49,04 mg H_2SO_4 .

Uchovává se ve skleněných obalech se zabroušenou zátkou nebo v jiných nádobách z materiálů odolných vůči kyselině sírové.

3662 Zkoumadla**Kyselina sírová zředěná RS**

Obsahuje 98 g/l H₂SO₄.

K 60 ml vody R se přidá 5,5 ml kyseliny sírové R. Po ochlazení se zředí vodou R na 100 ml.

Stanovení obsahu. K 30 ml vody R v baňce se zabroušenou zátkou se přidá 10,0 ml zkoušené látky. Po přidání 0,1 ml červeně methylové RS jako indikátoru se titruje hydroxidem sodným 1 mol/l VS. 1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 49,04 mg H₂SO₄.

Kyselina sírová prostá dusíku R

Vyhovuje požadavkům odstavce Kyselina sírová R a následující dodatečné zkoušce:

Dusičnany. K 5 ml vody R se opatrně přidá 45 ml zkoušené látky. Po ochlazení na 40 °C se přidá 8,0 mg difenylbenzidinu R. Roztok se zbarví jen slabě růžově nebo velmi slabě světle modře.

Kyselina sírová v lihu RS

K 60 ml lihu 96% R se opatrně a za stálého chlazení a míchání přidá 20 ml kyseliny sírové R. Po ochlazení se zředí lihem 96% R na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Kyselina sírová v lihu 2,5 mol/l RS

K 60 ml ethanolu R se opatrně a za stálého chlazení přidá 14 ml kyseliny sírové R. Po ochlazení se zředí ethanolem R na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Kyselina sírová v lihu 0,25 mol/l RS

10 ml kyseliny sírové v lihu 2,5 mol/l RS se zředí ethanolem R na 100 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Kyselina stearová R

C₁₈H₃₆O₂

M_r 284,5

CAS 57-11-4

Kyselina oktadekanová

Bílý prášek nebo šupinky, na omak mastné. Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v horkém lihu 96% a v etheru.

TT: asi 70 °C.

Kyselina sulfanilová R

C₆H₇NO₃S

M_r 173,2

CAS 121-57-3

Kyselina 4-aminobenzensulfonová

Bezbarvé krystaly, mírně rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Kyselina sulfosalicylová R

C₇H₆O₆S · 2H₂O

M_r 254,2

CAS 5965-83-3

Kyselina 2-hydroxy-5-sulfobenzoová

Bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je velmi snadno rozpustná ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustná v etheru.

TT: asi 109 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3663

Kyselina šťavelová R $C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$ M_r 126,1

CAS 6153-56-6

Bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.

Kyselina šťavelová v kyselině sírové RS

Roztok *kyseliny šťavelové R* (50 g/l) v ochlazené směsi stejných objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R*.

Kyselina 2-thienyloctová R $C_6H_6O_2S$ M_r 142,1

CAS 1918-77-0

Kyselina 2-(2-thienyl)octová

Hnědý prášek.

TT: asi 65 °C.

Kyselina thiobarbiturová R $C_4H_4N_2O_2S$ M_r 144,2

CAS 504-17-6

4,6-Dihydroxy-2-merkaptopyrimidin, kyselina 2-thiobarbiturová

Kyselina thioglykolová R $C_2H_4O_2S$ M_r 92,1

CAS 68-11-1

Kyselina 2-merkaptooctová

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, dobře rozpustná v lihu 96%.

Kyselina 4-toluensulfonová R $C_7H_8O_3S \cdot H_2O$ M_r 190,2

CAS 6192-52-5

Monohdrát kyseliny 4-methylbenzensulfonové

Obsahuje nejméně 87,0 % $C_7H_8O_3S$.

Bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

Kyselina 2-(4-tolylthiomethyl)benzoová R $C_{15}H_{14}O_2S$ M_r 258,338

Nažloutlá nebo narůžovělá látka, rozpustná v ethanolu a nerozpustná ve vodě.

TT: 127 °C až 134 °C.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1 %, suší se při 105 °C v sušárně s odtažením.

Provedou se další zkoušky dle PNY-CH 81-28-96.

Obsah. 98 % až 101,5 % $C_{15}H_{14}O_2S$.

p-Thiokresol. Nejvýše 0,4 %.

Príbuzné látky. Nejvýše 1 %.

Uchovává se v dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Je použitelná do 1 roku.

3664 Zkoumadla

Kyselina trifluoroctová R $C_2HF_3O_2$ M_r 114,0

CAS 76-05-1

Obsahuje nejméně 99 % $C_2HF_3O_2$.

Kapalina, mísitelná s acetonem, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,53.

TV: asi 72 °C.

Použije se jakost vhodná pro dělení proteinů.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina trichloroctová R $C_2HCl_3O_2$ M_r 163,4

CAS 76-03-9

Bezbarvé krystaly nebo velmi rozplývavá krystalická hmota. Je velmi snadno rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Kyselina trichloroctová RS

40,0 g *kyseliny trichloroctové R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Koncentrace se ověří titrací *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* a upraví se podle potřeby na (40 ± 1) g/l.

Kyselina 2,4,6-trinitrobenzensulfonová R $C_6H_3N_3O_9S \cdot 3H_2O$ M_r 347,2

CAS 2508-19-2

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: 190 °C až 195 °C.

Kyselina valerová R $C_5H_{10}O_2$ M_r 102,1

CAS 109-52-4

Kyselina pentanová

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,94. n_D^{20} : asi 1,409.

TV: asi 186 °C.

Kyselina vinná R

Viz článek *Acidum tartaricum*.

Kyslík R O_2 M_r 32,00

CAS 7782-44-7

Obsahuje nejméně 99,99 % (V/V) O_2 .

Dusík a argon. Méně než 100 ml/m³.

Oxid uhličitý. Méně než 10 ml/m³.

Oxid uhelnatý. Méně než 5 ml/m³.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3665

Lakmus R

CAS 1393-92-6

Schultz 1386

Indigově modrá barviva získaná z různých druhů lišejníků, např. *Rocella*, *Lecanora* aj. Jsou dobře rozpustná ve vodě a prakticky nerozpustná v lihu 96%.

Barevný přechod. pH 5 (červená) až 8 (modrá).

Laktosa R

Viz článek *Lactosum*.

Laurylsíran sodný R

Viz článek *Natrii laurilsulfas*.

Lavandulol R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,2

CAS 6544-40-7

2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-ol

Olejovitá kapalina s charakteristickým pachem.

 d_{20}^{20} : asi 0,875. n_D^{20} : asi 1,407. $[\alpha]_D^{20}$: asi $-10,2^\circ$. TV_{13} : asi $94^\circ C$.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

Lavandulylacetat R $C_{12}H_{20}O_2$ M_r 196,3

CAS 50373-59-6

(±)-2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-ylacetat

Bezbarvá kapalina s charakteristickým pachem.

 d_{20}^{20} : asi 0,911. n_D^{20} : asi 1,454. TV : $106^\circ C$ až $107^\circ C$.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 93,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

3666 Zkoumadla**Leucin R**

Viz článek *Leucinum*.

Lih 96% R C_2H_6O M_r 46,07

CAS 64-17-5

Obsahuje 95,1 % (V/V) až 96,9 % (V/V) C_2H_6O .

Čirá bezbarvá hořlavá těkavá kapalina, mísitelná s vodou, s acetonem, s etherem a s glycerolem.

 d_{20}^{20} : 0,805 až 0,812.

TV: 78 °C až 79 °C.

Lih 96% prostý aldehydů R

1200 ml *lihu 96% R* se smíchá s 5 ml roztoku *dusičnanu stříbrného R* (400 g/l), 10 ml ochlazeného roztoku *hydroxidu draselného R* (500 g/l), protřepe se a nechá se stát několik dnů a zfiltruje se. Bezprostředně před použitím se filtrát destiluje.

Lih R x% (V/V)

Smíchají se vhodné objemové díly *vody R* a *lihu 96% R*, vezme se v úvahu zahřátí a objemová kontrakce provázející přípravu takové směsi k získání roztoku, jehož konečný obsah ethanolu odpovídá hodnotě x.

Limonen R $C_{10}H_{16}$ M_r 136,2

CAS 5989-27-5

D-Limonen; (+)-*p*-mentha-1,8-dien, (*R*)-4-isopropenyl-1-methyl-1-cyklohexen

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,84. n_D^{20} : 1,471 až 1,474. $[\alpha]_D^{20}$: +96° až +106°.

TV: 175 °C až 177 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

Linalol R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,2

CAS 78-70-6

(*RS*)-3,7-Dimethyl-1,6-oktadien-3-ol

Směs dvou stereoizomerů (likareol a koriandrol).

Kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,860.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3667

 n_D^{20} : asi 1,462.

TV: asi 200 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % z celkové plochy píků.

Linalylacetat R $C_{12}H_{20}O_2$ M_r 196,3

CAS 115-95-7

(RS)-1,5-Dimethyl-1-vinyl-4-hexenylacetat; bergamol

Bezbarvá nebo slabě žlutá čirá kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a etherem. Silně páchne po bergamotové silici a levanduli.

 d_{25}^{25} : 0,895 až 0,912. n_D^{20} : 1,448 až 1,451.

TV: asi 215 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku odpovídající linalylacetatu je nejméně 95,0 % celkové plochy píků.

Lithium R

Li

 A_r 6,94

CAS 7439-93-2

Měkký kov, na povrchu čerstvého řezu je stříbrošedý. Na vzduchu rychle ztrácí lesk. Reaguje bouřlivě s vodou za uvolnění vodíku a tvorby roztoku hydroxidu lithného. Dobře se rozpouští v methanolu za tvorby vodíku a roztoku methanolatu lithného. Lithium je prakticky nerozpustné v etheru a v etheru petrolejovém.

Uchovává se pod etherem petrolejovým nebo tekutým parafinem.

Makrogol 200 R

CAS 25322-68-3

Polyethylenglykol 200

Čirá bezbarvá nebo téměř bezbarvá viskózní kapalina, velmi snadno rozpustná v acetonu a v ethanolu, prakticky nerozpustná v etheru a v mastných olejích.

 d_{20}^{20} : asi 1,127. n_D^{20} : asi 1,450.**Makrogol 200 R1**

500 ml *makrogolu 200 R* se přemístí do 1000ml baňky s kulatým dnem. Za použití rotačního odpařovacího přístroje se odstraní případné těkavé složky během 6 h při teplotě 60 °C a vakuu s tlakem 1,5 kPa až 2,5 kPa.

3668 Zkoumadla

Makrogol 300 R

Viz článek *Macrogolum 300*.

Makrogol 400 R

Viz článek *Macrogolum 400*.

Makrogol 1000 R

Viz článek *Macrogolum 1000*.

Makrogol 1500 R

Viz článek *Macrogolum 1500*.

Makrogol 6000 R

Viz článek *Macrogolum 6000*.

Makrogol 20 000 R

Viz článek *Macrogolum 20 000*.

Makrogol 20 000 2-nitrotereftalat R

Polyethylenglykol 20 000 2-nitrotereftalat

Je to *makrogol 20 000 R* modifikovaný působením kyseliny 2-nitrotereftalové.

Tvrdá bílá nebo většinou bílá voskovitá pevná látka, dobře rozpustná v acetonu.

Makrogoladipat R

$(C_8H_{12}O_4)_n$

$M_r (172,2)_n$

Bílá voskovitá hmota, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v chloroformu.
TT: asi 43 °C.

Makrogolsukcinat R

$(C_6H_8O_4)_n$

$M_r (144,1)_n$

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v chloroformu.
TT: asi 102 °C.

Manganistan draselný R

Viz článek *Kalii permanganas*.

Manganistan draselný RS

Roztok 30 g/l.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3669

Manganistan draselný v kyselině fosforečné R

3,0 g manganistanu draselného R se rozpustí ve směsi 15 ml kyseliny fosforečné R a 70 ml vody R a zředí se vodou R na 100 ml.

Mannitol R

Viz článek *Mannitolum*.

Mannosa R

$C_6H_{12}O_6$

M_r 180,2

CAS 3458-28-4

D-(+)-Mannosa

Bílý krystalický prášek nebo malé bílé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

$[\alpha]_D^{20}$: +13,7° až +14,7°, stanoví se roztok (200 g/l) ve vodě R obsahující asi 0,05 % NH_3 .

TT: asi 132 °C, za rozkladu.

Mastek R

Viz článek *Talcum*.

Měď R

Cu

A_r 63,55

CAS 7440-50-8

Čištěná fólie, hobliny, drát nebo prášek ryzího kovu elektrolytické čistoty.

Mekloziniumdichlorid R

Viz článek *Meclozini dihydrochloridum*.

Melamin R

$C_3H_6N_6$

M_r 126,1

CAS 108-78-1

1,3,5-Triazin-2,4,6-triamin; *sym*-triaminotriazin

Bílý amorfni prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Menadion R

Viz článek *Menadionum*.

Menthofuran R

$C_{10}H_{14}O$

M_r 150,2

CAS 17957-94-7

3,9-Epoxy-*p*-mentha-3,8-dien; 3,6-dimethyl-4,5,6,7-tetrahydrobenzofuran

Slabě namodralá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96%.

d_{15}^{20} : asi 0,965.

n_D^{20} : asi 1,480.

3670 Zkoumadla $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$: asi +93°.

TV: 196 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 97,0 % celkové plochy píků.

Menthol R

Viz článek *Levomentholum a Mentholum racemicum*.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Menthon R $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$ M_r 154,2

CAS 14073-97-3

(-)-*trans-p*-Menthan-3-on; (2*S*,5*R*)-2-isopropyl-5-methylcyklohexanon

Obsahuje proměnlivé množství isomenthonu.

Bezbarvá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,897. n_{D}^{20} : asi 1,450.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku. Plocha hlavního píku je nejméně 90,0 % celkové plochy píků.

Menthylacet R $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_2$ M_r 198,3

CAS 16409-45-3

(*RS*)-2-Isopropyl-5-methylcyklohexylacetat

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,92. n_{D}^{20} : asi 1,447.

TV: asi 225 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3671

2-Merkaptoethanol RC₂H₆OS*M_r* 78,1

CAS 60-24-2

Kapalina mísitelná s vodou.

 d_{20}^{20} : asi 1,116.

TV: asi 157 °C.

Merkaptopurin RViz článek *Mercaptopurinum*.**Methanol R**CH₄O*M_r* 32,04

CAS 67-56-1

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : 0,791 až 0,793.

TV: 64 °C až 65 °C.

Methanol R1Vyhovuje požadavkům odstavce *Methanol R* a následujícímu dodatečnému požadavku:

Transmittance (2.2.25): nejméně 20 % při 210 nm,
nejméně 50 % při 220 nm,
nejméně 75 % při 230 nm,
nejméně 95 % při 250 nm,
nejméně 98 % při 260 nm a výše,
měří se proti vodě R jako porovnávací kapalině.

Methanol R2

Při použití pro kapalinovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Obsahuje nejméně 99,8 % sloučeniny CH₄O (*M_r* 32,04).*Absorbance* (2.2.25) měřená při 225 nm za použití vody R jako porovnávací kapaliny je nejvýše 0,17.**Methanol bezvodý R**

CAS 67-56-1

K 1000 ml *methanolu R* se přidá 5,0 g *hořčičku R*. Je-li potřeba, reakce se vyvolá přidáním 0,1 ml *chloridu rtuťnatého RS*. Když přestane vyvíjení plynu, kapalina se destiluje a destilát se shromažďuje v suchém obalu chráněném před vlhkem.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,3 g/l.**Methanol prostý aldehydů R**

Obsahuje nejvýše 0,001 % aldehydů a ketonů.

Příprava. 25 g *jodu R* se rozpustí v 1 litru *methanolu R* a roztok se za stálého míchání naleje do 400 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*. Přidá se 150 ml *vody R* a roztok se nechá stát 16 h. Zfiltruje

3672 Zkoumadla

se a vaří pod zpětným chladičem do vymizení pachu jodoformu. Roztok se destiluje frakční destilací.

Methanol s kyselinou chlorovodíkovou RS

1,0 ml kyseliny chlorovodíkové RS se zředí methanolem R na 100,0 ml.

Methansulfonan sodný R

$\text{CH}_3\text{SO}_3\text{Na}$

M_r 118,1

CAS 2386-57-4

Bílý krystalický hygroskopický prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Methenamin R

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_4$

M_r 140,2

CAS 100-97-0

Hexamin; hexamethylentetramin

Bezbarvý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě.

L-Methionin R

Viz článek *Methioninum*.

Methoxyethanol R

$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$

M_r 76,1

CAS 109-86-4

2-Methoxyethanol; ethylenglykolmonomethylether

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s lihem 96%, s etherem a s acetonem.

d_{20}^{20} : asi 0,97.

n_D^{20} : asi 1,403.

TV : asi 125 °C.

Methylacetat R

$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$

M_r 74,1

CAS 79-20-9

Čirá bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 0,933.

n_D^{20} : asi 1,361.

TV : asi 56 °C až 58 °C.

Methylantranilat R

$\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$

M_r 151,2

CAS 134-20-3

Methylester kyseliny 2-aminobenzoové

Bezbarvé krystaly nebo bezbarvá nebo nažloutlá kapalina. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v etheru.

TT : 24 °C až 25 °C.

TV : 134 °C až 136 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3673

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 95,0 % celkové plochy píků.

Methylarachidat R $C_{21}H_{42}O_2$ M_r 326,6

CAS 1120-28-1

Methylkosoanoat

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{21}H_{42}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22).

Bílá nebo žlutá krystalická hmota, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

TT: asi 46 °C.

Methylbehenat R $C_{23}H_{46}O_2$ M_r 354,6

CAS 929-77-1

Methyldokosoanoat

TT: 54 °C až 55 °C.

Methylbenzothiazolinonhydrazonhydrochlorid R $C_8H_{10}ClN_3S \cdot H_2O$ M_r 233,7

CAS 149022-15-1

Monohydrát 3-methyl-2(3H)-benzothiazolinon-hydrazonhydrochloridu

Téměř bílý nebo nažloutlý krystalický prášek.

TT: asi 270 °C.

Test způsobilosti pro stanovení aldehydů. Ke 2 ml methanolu prostého aldehydu R se přidá 60 μ l roztoku propionaldehydu R (1,0 g/l) v methanolu prostém aldehydu R a 5 ml roztoku methylbenzothiazolinonhydrazonhydrochloridu (4,0 g/l). Po promíchání se nechá 30 min stát. Současně se připraví slepá zkouška bez roztoku propionaldehydu. Přidá se 25,0 ml roztoku chloridu železitého R (2,0 g/l) ke zkoušenému roztoku i ke slepé zkoušce, zředí se acetonem R na 100,0 ml a promíchá se. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 660 nm za použití roztoku získaného při slepé zkoušce jako porovnávací kapaliny není menší než 0,62.

2-Methyl-2-buten R

Viz odstavec *Amylen R*.

2-Methylbutan R C_5H_{12} M_r 72,2

CAS 78-78-4

Isopentan

Obsahuje nejméně 99,5 % C_5H_{12} .

Velmi hořlavá bezbarvá kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,621.

n_D^{20} : asi 1,354.

TV: asi 29 °C.

Voda (2.5.12). Nejvýše 0,02 %.

3674 Zkoumadla

Zbytek po odpaření. Nejvýše 0,0003 %.

Transmittance (2.2.25): nejméně 50 % při 210 nm,
nejméně 85 % při 220 nm,
nejméně 98 % při 240 nm a výše,
měří se proti *vodě R* jako kontrolní kapalině.

Methylcelulosa 450 R

Viz článek *Methylcellulosum*.
Jmenovitá viskozita je 450 mPa.s.

Methylcinnamat R

$C_{10}H_{10}O_2$ M_r 162,2 CAS 103-26-4

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

n_D^{20} : asi 1,56.

TV: asi 260 °C.

TT: 34 °C až 36 °C.

Methyldekanoat R

$C_{11}H_{22}O_2$ M_r 186,3 CAS 110-42-9

Methylester kyseliny n-dekanové

Obsahuje nejméně 99,0 % $C_{11}H_{22}O_2$.

Čirá bezbarvá nebo žlutá kapalina, dobře rozpustná v etheru petrolejovém.

d_{20}^{20} : 0,871 až 0,876.

n_D^{20} : 1,425 až 1,426.

Cizí látky. Zkouší se plynovou chromatografií (2.2.28). Nastříkují se stejné objemy následujících roztoků:

Zkoušený roztok (a). Roztok (0,02 g/l) v sirouhlíku R.

Zkoušený roztok (b). Roztok (2 g/l) v sirouhlíku R.

Porovnávací roztok. *Sirouhlík R.*

Chromatografický postup se provede za podmínek uvedených v článku *Adeps lanae* ve zkoušce Butylhydroxytoluen. Celková plocha dalších píků, kromě píku rozpouštědla a hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (b), je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

4-O-Methyldopaminiumchlorid R

$C_9H_{14}ClNO_2$ M_r 203,7 CAS 645-33-0

2-(3-Hydroxy-4-methoxyfenyl)ethylamoniumchlorid

TT: 207 °C až 208 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3675

Chromatografie (2.2.27). Chromatografický postup se provede za podmínek uvedených v článku *Dopamini hydrochloridum*. Nanáší se 10 µl roztoku (0,075 g/l) v *methanolu R*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

3-O-Methyldopaminiumchlorid R $C_9H_{14}ClNO_2$ M_r 203,7

CAS 1477-68-5

2-(4-Hydroxy-3-methoxyfenyl)ethylamoniumchlorid

TT: 213 °C až 215 °C.

Chromatografie (2.2.27). Chromatografický postup se provede za podmínek uvedených v článku *Dopamini hydrochloridum*. Nanáší se 10 µl roztoku (0,075 g/l) v *methanolu R*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Methylenbisakrylamid R $C_7H_{10}N_2O_2$ M_r 154,2

CAS 110-26-9

N,N'-Methylenbispropenamid

Jemný bílý nebo téměř bílý prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96 %.

TT: nad 300 °C, za rozkladu.

Methylenchlorid RViz odstavec *Dichlormethan R*.**Methylfenyloxazolylbenzen R** $C_{26}H_{20}N_2O_2$ M_r 392,5

CAS 3073-87-8

1,4-Bis(5-fenyl-4-methyl-2-oxazolyl)benzen

Jemný zelenožlutý prášek s modrou fluorescencí nebo malé krystaly. Je dobře rozpustný v lihu 96%, mírně rozpustný v xylenu.

TT: asi 233 °C.

*Při použití pro kapalinnou scintilaci má odpovídající analytickou jakost.***Methylaurat R** $C_{13}H_{26}O_2$ M_r 214,4

CAS 111-82-0

Methyldodekanoat

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{13}H_{26}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22). Bezbarvá nebo žlutá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém. d_{20}^{20} : asi 0,87. n_D^{20} : asi 1,431.

TT: asi 5 °C.

Methylmetakrylat R $C_5H_8O_2$ M_r 100,1

CAS 80-62-6

Methylester kyseliny 2-methyl-2-propenové; methylmetakrylat

Bezbarvá kapalina.

3676 Zkoumadla n_D^{20} : asi 1,414.

TV: asi 100 °C.

TT: asi -48 °C.

Obsahuje vhodnou stabilizační přísadu.

Methylmyristat R $C_{15}H_{30}O_2$ M_r 242,4

CAS 124-10-7

MethyltetradekanoatObsahuje nejméně 98,0 % $C_{15}H_{30}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22).

Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

 d_{20}^{20} : asi 0,87. n_D^{20} : asi 1,437.

TT: asi 20 °C.

4-Methylpentan-2-ol R $C_6H_{14}O$ M_r 102,2

CAS 108-11-2

Čirá bezbarvá těkavá kapalina.

 d_4^{20} : asi 0,802. n_D^{20} : asi 1,411.

TT: asi 132 °C.

4-(4-Methylpiperidino)pyridin R $C_{11}H_{16}N_2$ M_r 176,3

CAS 80965-30-6

Čirá kapalina.

 n_D^{20} : asi 1,565.**2-Methyl-5-nitroimidazol R** $C_4H_5N_3O_2$ M_r 127,1

CAS 88054-22-2

Bílý až světle žlutý prášek.

TT: 252 °C až 254 °C.

Methyloleat R $C_{19}H_{36}O_2$ M_r 296,4

CAS 112-62-9

(Z)-Methyl-9-oktadekanoatObsahuje nejméně 98,0 % $C_{19}H_{36}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22). Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém. d_{20}^{20} : asi 0,88. n_D^{20} : asi 1,452.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3677

Methylpalmitat R $C_{17}H_{34}O_2$ M_r 270,5

CAS 112-39-0

Methylhexadekanoat

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{17}H_{34}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22).

Bílá nebo žlutá krystalická hmota, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

TT: asi 30 °C.

Methylparaben RViz článek *Methylparabenum*.**Methylpiperazin R** $C_5H_{12}N_2$ M_r 100,2

CAS 74879-18-8

1-Methylpiperazin

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,90. n_D^{20} : asi 1,466.

TV: asi 138 °C.

Methylstearat R $C_{19}H_{38}O_2$ M_r 298,5

CAS 112-61-8

Methyloktadekanoat

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{19}H_{38}O_2$; stanoví se plynovou chromatografií (2.4.22). Bílá nebo žlutá krystalická hmota, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

TT: asi 38 °C.

2-MethylpropanolViz odstavec *Isobutylalkohol R*.**2-Methyl -2-propanol**Viz odstavec *Terc.butylalkohol R*.**Methyltrikosanoat R** $C_{24}H_{48}O_2$ M_r 368,6

CAS 2433-97-8

Methylester kyseliny trikosanové

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny $C_{24}H_{48}O_2$.

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v hexanu.

TT: 55 °C až 56 °C.

Metol R $C_{14}H_{20}N_2O_6S$ M_r 344,4

CAS 55-55-0

Bis(4-hydroxyfenylmethylamonium)sulfat

3678 Zkoumadla

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96%, prakticky nerozpustné v etheru.

TT: asi 260 °C.

Mléčnan vápenatý R

Viz článek *Calcii lactas pentahydricus*.

Močovina R

Viz článek *Urea*.

Modř bromfenolová R

$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$

M_r 670

CAS 115-39-9

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden-)bis(2,6-dibromfenol)-S,S-dioxid; 3',3'',5',5''-tetrabromfenol-sulfonftalein

Světle oranžově žlutý prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, snadno rozpustný v roztocích alkalických hydroxidů.

Modř bromfenolová RS

0,10 g modři bromfenolové R se rozpustí v 1,5 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 0,05 ml modři bromfenolové RS se přidá 20 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,05 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS; roztok je žlutý. Ke změně zbarvení na modrofialové se spotřebuje nejvýše 0,1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 2,8 (žlutá) až 4,4 (modrofialová).

Modř bromfenolová RS1

50 mg modři bromfenolové R se slabým zahřátím rozpustí v 3,73 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l RS a zředí se vodou R na 100 ml.

Modř bromfenolová RS2

0,20 g modři bromfenolové R se rozpustí zahřátím ve směsi 3 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 10 ml lihu 96% R. Po ochlazení se zředí lihem 96% R na 100 ml.

Modř bromfenolová v lihu RS

Roztok modři bromfenolové R (0,4 g/l) v lihu 96% R.

Modř bromthymolová R

$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$

M_r 624,4

CAS 76-59-5

4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(2-brom-6-isopropyl-3-methylfenol)-S,S-dioxid;
3',3''-dibromthymolsulfonftalein

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3679

Červenavě růžový nebo nahnědlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Modř bromthymolová RS1

50 mg modři bromthymolové R se rozpustí ve směsi 4 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 0,3 ml modři bromthymolové RS1 se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R; roztok je žlutý. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 0,1 ml roztoku hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 5,8 (žlutá) až 7,4 (modrá).

Modř bromthymolová RS2

Roztok 10 g/l v dimethylformamidu R.

Modř bromthymolová RS3

0,10 g modři bromthymolové R se rozpustí zahřátím ve směsi 3,2 ml hydroxidu sodného 0,05 mol/l RS a 5 ml roztoku lihu R 90% (V/V) a zředí se roztokem lihu R 90% (V/V) na 250 ml.

Modř dextranová 2000 R

Připravuje se z dextransu o průměrné relativní molekulové hmotnosti $2 \cdot 10^6$ zavedením polycyklického chromoforu, který zbarví látku modře. Stupeň substituce je 0,017. Lyofilizuje se a rozpouští se rychle a úplně ve vodě R a vodných roztocích solí.

Roztok (1 g/l) v tlumivém fosforečnanovém roztoku o pH 7 má absorpční maximum (2.2.25) při 280 nm.

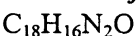
Modř fibrinová RS

1,5 g fibrinu se smíchá s 30 ml roztoku indigokarminu R (5 g/l) v roztoku kyseliny chlorovodíkové zředěné RS 1% (V/V). Směs se zahřeje na 80 °C a udržuje se při této teplotě za míchání asi 30 min. Nechá se vychladnout a zfiltruje se. Důkladně se promyje opakovaným suspendováním v roztoku kyseliny chlorovodíkové zředěné RS 1% (V/V) a míchá se asi 30 min a zfiltruje se. Promývání se opakuje třikrát. Suší se při 50 °C. Rozmělní se.

Modř hydroxynaftolová sodná sůl R M_r 620

CAS 63451-35-4

Trisodná sůl kyseliny 2,2'-dihydroxy-1,1'-azonaftalen-3',4,6'-trisulfonové

Modř indofenolová R M_r 276,3

CAS 132-31-0

Colour Index 49700, Schultz 939

N-(4-Dimethylaminofenyl)-1,4-naftochinonmonoimin

Fialovočervený prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v chloroformu.

3680 Zkoumadla

Chromatografie (2.2.27). Provede se tenkovrstvá chromatografie. Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 µl roztoku (0,10 g/l) v *dichlormethanu R* a chromatogram se vyvíjí stejným rozpouštědlem po dráze 10 cm. Na získaném chromatogramu je jen hlavní skvrna a na startu zůstává další viditelná skvrna.

Modř kyselá 83 RC₄₅H₄₄N₃NaO₇S₂M_r 826,0

CAS 6104-59-2

Colour Index 42660

Modř brilantní; Coomassie brilantní modř R 250

Hnědý prášek, nerozpustný ve studené vodě, těžce rozpustný ve vroucí vodě a v ethanolu, dobře rozpustný v kyselině sírové, kyselině octové ledové a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Modř kyselá 90 RC₄₇H₄₈N₃NaO₇S₂M_r 854

CAS 6104-58-1

Colour Index 42655

Sodná sůl vnitřní soli kyseliny 4- {[4-(4-ethoxyanilino)fenyl][4-(N-ethyl-3-sulfobenzylamino)-*o*-tolyl]methyl}-N-ethyl-3-methylfenylaminomethyl-3-benzensulfonové

Tmavě hnědý prášek s fialovým leskem, některé částice mají kovový lesk. Rozpouští se dobře ve vodě a ethanolu.

A_{1cm}^{1%}: větší než 500, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok (0,01 g/l) v tlumivém roztoku o pH 7,0.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Modř kyselá 92 RC₂₆H₁₆N₃Na₃O₁₀S₃M_r 695,6

CAS 3861-73-2

Colour Index 13390

Modř Coomassie; sodná sůl anazolenu; trisodná sůl kyseliny 8-hydroxy-4'fenylaminoazonaftalen-3,5',6-trisulfonové

Tmavě modré krystaly, těžce rozpustné v lihu 96%, dobře rozpustné ve vodě, v acetonu a v ethoxyethanolu.

Modř kyselá 92 RS

0,5 g *modři kyselé 92 R* se rozpustí ve směsi 10,0 ml *kyseliny octové ledové R*, 45 ml *lihu 96% R* a 45,0 ml *vody R*.

Modř methylenová RC₁₆H₁₈ClN₃S · nH₂OM_r bezvodé 319,9

CAS 7220-79-3

Colour Index 52015, Schultz 1038

Methylthioniumchlorid, tj. n-hydrát 3,7-bis(dimethylamino)fenazathioniumchloridu

Látka je dodávána v různé hydratované formě a může obsahovat až 22 % vody.

Tmavě zelený nebo bronzově zbarvený krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3681**

Modř nilská A R $C_{20}H_{21}N_3O_5S$ M_r 415,5

CAS 3625-57-8

Colour Index 51180, Schultz 1029

5-Amino-9-diethylaminobenzo[*a*]fenoxazinyliumhydrogensulfat

Zelený bronzově lesklý krystalický prášek, mírně rozpustný v kyselině octové ledové, lihu 96% a pyridinu. Absorpční maximum (2.2.25) roztoku (0,005 g/l) v lihu R 50% (V/V) je při 640 nm.

Modř nilská A RS

Roztok 10 g/l v kyselině octové bezvodé R.

Zkouška citlivosti. 50 ml kyseliny octové bezvodé R se smíchá s 0,25 ml roztoku modři nilské A; roztok je modrý. Přidáním nejvýše 0,1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS se zbarvení změní na modrozelené.

Barevný přechod. pH 9,0 (modrá) až 13,0 (červená).

Modř nitrotetrazoliová R $C_{40}H_{30}Cl_2N_{10}O_6$ M_r 818

CAS 298-83-9

3,3'-(3,3'-Dimethoxybifenyl-4,4'-diyl)bis[2-(4-nitrofenyl)-5-fenyl-2*H*-tetrazolium]dichlorid, modř *p*-nitrotetrazoliová

Krystaly, dobře rozpustné v methanolu na čirý žlutý roztok.

TT: asi 189 °C, za rozkladu.

Modř oracetová 2R R $C_{20}H_{14}N_2O_2$ M_r 314,3

CAS 4395-65-7

Colour Index 61110

1-Amino-4-(fenylamino)anthrachinon

TT: asi 194 °C.

Modř pravá B R $C_{14}H_{12}Cl_2N_4O_2$ M_r 339,2

CAS 84633-94-3

Colour Index 37235; Schultz 490

3,3'-dimethoxydifenyl-4,4'-bis(diazonium)dichlorid

Tmavě zelený prášek, dobře rozpustný ve vodě. Je stabilizován přidáním chloridu zinečnatého.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Modř sulfanová R $C_{27}H_{31}N_2NaO_6S_2$ M_r 566,6

CAS 129-17-9

Colour Index 42045, Schultz 769

Sodná sůl vnitřní soli 4-[bis(4-diethylaminofenyl)methyl]-3-sulfobenzensulfonové kyseliny

Fialový prášek, dobře rozpustný ve vodě. Zředěné roztoky jsou zbarveny modře a po přidání kyseliny chlorovodíkové R se zbarvení změní na žluté.

3682 Zkoumadla**Modř tetrazoliová R** $C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ M_r 728

CAS 1871-22-3

3,3'-(3,3'-Dimethoxy[1,1'-bifenyl]-4,4'-diyl)bis(2,5-difenyyl-2*H*-tetrazolium)dichlorid

Žluté krystaly těžce rozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a methanolu, prakticky nerozpustné v acetonu a etheru.

TT: asi 245 °C, za rozkladu.

Modř thymolová R $C_{27}H_{30}O_5S$ M_r 466,6

CAS 76-61-9

Thymolsulfonftalein

4,4'-(3*H*-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(2-isopropyl-5-methylfenol)-*S,S*-dioxid

Hnědozelený až zelenomodrý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Modř thymolová RS

0,10 g modři thymolové R se rozpustí ve směsi 2,15 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 0,1 ml roztoku modři thymolové se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,2 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS; roztok je modrý. Přidáním nejvýše 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS se zbarvení roztoku změní na žluté.

Barevný přechod. pH 1,2 (červená) až 2,8 (žlutá);
pH 8,0 (olivově zelená) až 9,6 (modrá).**Modř toluidinová R** $C_{15}H_{16}ClN_3S$ M_r 305,8

CAS 92-31-9

Colour Index 52040, Schultz 1041

3-Amino-7-dimethylamino-2-methyl-5-fenothiazinyliumchlorid

Tmavě zelený prášek, dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Molekulární síto R

Kuličky křemičitanu sodno-hlinitého o průměru 2 mm a velikosti pórů 0,4 nm.

Molybdenan hexaamonný R $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$ M_r 1236

CAS 12054-85-2

Tetrahydrát heptamolybdenanu hexaamonného

Bezbarvé nebo slabě žluté nebo nazelenalé krystaly, dobře rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Molybdenan hexaamonný RS

Roztok 100 g/l.

Molybdenan hexaamonný RS2

5,0 g molybdenanu hexaamonného R se zahřátím rozpustí ve 30 ml vody R. Roztok se ochladí a pH se upraví amoniakem zředěným RS2 na hodnotu 7,0 a zředí se vodou R na 50 ml.

Molybdenan hexaamonný RS3

Roztok I. 5,0 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí zahřátím ve 20 ml vody R.

Roztok II. 150 ml lihu 96% R se smíchá se 150 ml vody R. Za chlazení se přidá 100 ml kyseliny sírové R.

V čas potřeby se smíchají objemové díly roztoku II a roztoku I (80 + 20).

Molybdenan hexaamonný RS4

1,0 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí ve vodě R a zředí se vodou R na 40 ml. Přidají se 3 ml kyseliny chlorovodíkové R a 5 ml kyseliny chloristé R a zředí se acetonem R na 100 ml.

Uchovává se chráněn před světlem, použitelný je 1 měsíc.

Molybdenan-kyselina sírová RS2

Asi 50 mg molybdenanu hexaamonného R se rozpustí v 10 ml kyseliny sírové R.

Molybdenan-kyselina sírová RS3

2,5 g molybdenanu hexaamonného R se zahřátím rozpustí v 20 ml vody R. Odděleně se za chlazení smíchá 28 ml kyseliny sírové R s 50 ml vody R. Po ochlazení se oba roztoky smíchají a zředí vodou R na 100 ml.

Uchovává se v nádobách z polyethylenu.

Molybdenan - kyselina sírová RS5

1,0 g molybdenanu hexaamonného R se rozpustí v 40,0 ml roztoku kyseliny sírové R 15% (V/V).

Roztok se připravuje denně.

Molybdenan sodný R

$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

M_r 242,0

CAS 10102-40-6

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

Morfiniumchlorid R

·Viz článek *Morphini hydrochloridum*.

Morfolin R

$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$

M_r 87,1

CAS 110-91-8

Tetrahydro-1,4-oxazin

Bezbarvá hygroskopická hořlavá kapalina, dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

d_{20}^{20} : asi 1,01.

3684 Zkoumadla

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 126 °C až 130 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

Mravenčan amonný R CH_5NO_2 M_r 63,1

CAS 540-69-2

Rozplývavé krystaly nebo zrna, velmi snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%.

TT: 119 °C až 121 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

 β -Myrcen R $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ M_r 136,2

CAS 123-35-3

7-Methyl-3-methylen-1,6-oktadien

Olejovitá kapalina s příjemnou vůní, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, dobře rozpustná v etheru a v kyselině octové ledové. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů.

d_4^{20} : asi 0,794.

n_D^{20} : asi 1,470.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 90,0 % plochy všech piků získaných na chromatogramu.

Myristicin R $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_3$ M_r 192,2

CAS 607-91-0

5-Allyl-1-methoxy-2,3-methylenedioxybenzen; 4-methoxy-6-(2-propenyl)-1,3-benzodioxol

Bezbarvá olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, těžce rozpustná v ethanolu, dobře rozpustná v etheru, mísitelná s toluenem a xylenem.

d_{20}^{20} : asi 1,144.

n_D^{20} : asi 1,540.

TV: 276 °C až 277 °C.

TT: asi 173 °C.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Anisi stellati fructus*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Uchovává se v chladu a chráněn před světlem.

Nikotinamid-adenin-dinukleotid R $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_7\text{O}_{14}\text{P}_2$ M_r 663,4

CAS 53-84-9

 NAD^+

Bílý prášek, velmi hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3685

Nikotinamid-adenin-dinukleotid RS

40 mg nikotinamid-adenin-dinukleotidu R se rozpustí ve vodě R a doplní se jí na 10 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Naftalen R

$C_{10}H_8$ M_r 128,2 CAS 91-20-3

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v etheru, dobře rozpustné v lihu 96%.

TT: asi 80 °C.

Při použití pro kapalinovou scintilaci má odpovídající analytickou jakost.

Naftochinonsulfonan sodný R

$C_{10}H_5NaO_5S$ M_r 260,2 CAS 521-24-4

Sodná sůl kyseliny 1,2-naftochinon-4-sulfonové

Žlutý až oranžovožlutý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Naftolbenzein R

$C_{27}H_{20}O_3$ M_r 392,5 CAS 6948-88-5

α,α -Bis(4-hydroxy-1-naftyl)benzylalkohol; α -naftolbenzein

Hnědočervený prášek nebo hnědočerné lesklé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v kyselině octové ledové a v lihu 96%.

Naftolbenzein RS

Roztok naftolbenzeinu R (2,0 g/l) v kyselině octové ledové R

Zkouška citlivosti. K 50 ml kyseliny octové ledové R se přidá 0,25 ml roztoku naftolbenzeinu. Roztok je zbarven hnědožlutě. Ke vzniku zeleného zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,05 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS.

1-Naftol R

$C_{10}H_8O$ M_r 144,2 CAS 90-15-3

α -Naftol

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé až bílé krystaly tmavnoucí vlivem světla. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 95 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

1-Naftol RS

0,10 g 1-naftolu R se rozpustí ve 3 ml roztoku hydroxidu sodného R (150 g/l) a zředí se vodou R na 100 ml.

Připravuje se v čas potřeby.

3686 Zkoumadla

2-Naftol R $C_{10}H_8O$ M_r 144,2

CAS 135-19-3

 β -Naftol

Bílé nebo slabě růžově zbarvené krystaly nebo plátky. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 122 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

2-Naftol RS

5,0 g čerstvě překrystalizovaného 2-naftolu R se rozpustí ve 40 ml hydroxidu sodného zředěného RS a zředí se vodou R na 100 ml.

Připravuje se v čas potřeby.

2-Naftol RS1

3,0 mg 2-naftolu R se rozpustí v 50 ml kyseliny sírové R a zředí se jí na 100,0 ml. Použije se čerstvě připravený roztok.

Naftylamin R $C_{10}H_9N$ M_r 143,2

CAS 134-32-7

1-Naftylamin

Bílý krystalický prášek měnící se na růžový působením světla a vzduchu. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 51 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Naftylethylendiamoniumdichlorid R $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$ M_r 259,2

CAS 1465-25-4

N-(1-Naftyl)ethylendiamoniumdichlorid

Může obsahovat krystalový methanol.

Bílý až nažloutle bílý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Natriumdokusat R $C_{20}H_{37}NaO_7S$ M_r 444,6

CAS 577-11-7

Sodná sůl kyseliny dioktylsulfojantarové, dioktylsulfojantaran sodný

Voskovitá průhledná hmota nebo šupinky. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

trans-Nerolidol R $C_{15}H_{26}O$ M_r 222,4

CAS 40716-66-3

trans-3,7,11-Trimethyldodeka-1,6,10-trien-3-ol

Světle žlutá kapalina, páchne slabě po lilíích a konvalinkách. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v glycerolu, mísitelný s lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 0,876.

n_D^{20} : asi 1,479.

TV_{12} : 145 °C až 146 °C.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 90,0 % celkové plochy píků.

Nerylacetat R

$C_{12}H_{20}O_2$

M_r 196,3

CAS 141-12-8

(Z)-3,7-Dimethylokta-2,6-dienylacetat

Bezbarvá olejovitá kapalina.

d_{20}^{20} : asi 0,907.

n_D^{20} : asi 1,460.

TV_{25} : asi 134 °C.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 93,0 % celkové plochy píků.

Nikl Raneyův R

Obsahuje 48,0 % až 52,0 % hliníku (Al, A_r 26,98) a 48,0 % až 52,0 % niklu (Ni, A_r 58,70).

Před použitím se upráškuje (180).

Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v minerálních kyselinách.

Ninhydrin R

$C_9H_6O_4$

M_r 178,1

CAS 485-47-2

2,2-Dihydroxy-1,3-indandion

Bílý nebo velmi slabě žlutý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.

Uchovává se chráněn před světlem.

Ninhydrin RS

Roztok *ninhydrinu R* (2,0 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *1-butanolu R* (5 + 95).

Ninhydrin RS1

1,0 g *ninhydrinu R* se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* a přidá se 10 ml *kyseliny octové ledové R*.

Ninhydrin RS2

3,0 g *ninhydrinu R* se rozpustí ve 100 ml roztoku *disiřičitanu sodného R* (45,50 g/l).

3688 Zkoumadla**Ninhydrin RS3**

Roztok *ninhydrinu R* (4,0 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *1-butanolu R* (5 + 95).

Nitroanilin R $C_6H_6N_2O_2$ M_r 138,1

CAS 100-01-6

4-Nitroanilin

Jasně žlutý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru. Se silnými minerálními kyselinami tvoří soli rozpustné ve vodě.

TT: asi 147 °C.

Nitrobenzaldehyd R $C_7H_5NO_3$ M_r 151,1

CAS 552-89-6

2-Nitrobenzaldehyd

Žluté jehličky. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a dobře rozpustný v etheru, téká s vodní párou.

TT: asi 42 °C.

Nitrobenzaldehyd RS

K 10 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* se přidá 0,12 g upráškovaného *nitrobenzaldehydu R*. 10 min se nechá stát za občasného protřepání, potom se zfiltruje.

Připravuje se v čas potřeby.

Nitrobenzen R $C_6H_5NO_2$ M_r 123,1

CAS 98-95-3

Bezbarvá nebo velmi slabě žlutá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a etherem.

TV: asi 211 °C.

Dinitrobenzen. K 0,1 ml se přidá 5 ml *acetonu R*, 5 ml *vody R* a 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*. Protřepe se a nechá se stát. Horní vrstva je prakticky bezbarvá.

Nitrobenzoylchlorid R $C_7H_4ClNO_3$ M_r 185,6

CAS 122-04-3

4-Nitrobenzoylchlorid

Žluté krystaly nebo krystalická hmota, rozpadávající se vlivem vlhkého vzduchu. Úplně se rozpouští v roztoku hydroxidu sodného za tvorby roztoku žlutooranžové barvy.

TT: asi 72 °C.

Nitrobenzylchlorid R $C_7H_6ClNO_2$ M_r 171,6

CAS 100-14-1

4-Nitrobenzylchlorid

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3689**

Světle žluté krystaly, slzotvorné, prakticky nerozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

4-(4-Nitrobenzyl)pyridin RC₁₂H₁₀N₂O₂*M_r* 214,2

CAS 1083-48-3

Žlutý prášek.

TT: asi 70 °C.

Nitroethan RC₂H₅NO₂*M_r* 75,1

CAS 79-24-3

Čirá olejovitá bezbarvá kapalina.

TV: asi 114 °C.

Nitrofurantoin RViz článek *Nitrofurantoinum*.**(5-Nitro-2-furyl)methylendiacetat R**C₉H₉NO₇*M_r* 243,2

CAS 92-55-7

Nitrofururaldiacetat; 5-nitrofurfulidendiacetat

Žluté krystaly.

TT: asi 90 °C.

Nitromethan RCH₃NO₂*M_r* 61,0

CAS 75-52-5

Čirá bezbarvá olejovitá kapalina. Je těžce rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s etherem.

*d*₂₀²⁰: 1,132 až 1,134.*n*_D²⁰: 1,381 až 1,383.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 100 °C až 103 °C.

Nitroprussid sodný RNa₂[Fe(CN)₅NO] · 2H₂O*M_r* 298,0

CAS 13755-38-9

Pentakyano-nitrosylželezitan sodný dihydrát

Červenohnědý prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Nitrosodipropylamin RC₆H₁₄N₂O*M_r* 130,2

CAS 621-64-7

Dipropylnitrosamin

Kapalina dobře rozpustná v ethanolu, v etheru a v silných kyselinách.

*d*₂₀²⁰: asi 0,915.

3690 Zkoumadla

TV: asi 78 °C.

Pro chemiluminiscenční stanovení se použije vhodná jakost.

Nitrosodipropylamin RS

78,62 g *ethanolu R* se vstříkne přes zátku zapertlované lahvičky obsahující *nitrosodipropylamin R*. Zředí se 1 : 100 *ethanolem R* a dá se po 0,5 ml do uzavřených zapertlovaných lahviček.

Uchovává se v temnu při 5 °C.

Nonan R

C₉H₂₀

M_r 128,3

CAS 111-84-2

Bezbarvá čirá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s ethanolem a etherem.

*d*₂₀²⁰ : asi 0,718.

*n*_D²⁰ : 1,405 až 1,417.

TV: 150 °C až 151 °C.

Nordazepam R

C₁₅H₁₁ClN₂O

M_r 270,7

CAS 340-57-8

Demetyldiazepam; 7-chlor-5-fenyl-2,3-dihydro-1*H*-1,4-benzodiazepin-2-on

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 216 °C

Norleucin R

C₆H₁₃NO₂

M_r 131,2

CAS 616-06-8

Kyselina (*RS*)-2-aminohexanová

Lesklé krystaly. Je mírně rozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v kyselinách.

Norpseudoefedriniumchlorid R

C₉H₁₄ClNO

M_r 187,7

CAS 53643-20-2

(1*R*,2*R*)- nebo (1*S*,2*S*)-(1-fenyl-1-hydroxy-2-propyl)amoniumchlorid

Krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě.

TT: 180 °C až 181 °C.

Noscapiniumchlorid R

Viz článek *Noscapini hydrochloridum*.

Octan amonný R

C₂H₇NO₂

M_r 77,1

CAS 631-61-8

Bezbarvé velmi rozplývavé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

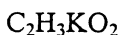
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3691

Octan amonný RS

150 g octanu amonného R se rozpustí ve vodě R, přidají se 3 ml kyseliny octové ledové R a zředí se vodou R na 1000 ml.

Roztok je použitelný 1 týden.

Octan draselný R M_r 98,1

CAS 127-08-2

Bezbarvé rozplývavé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a snadno rozpustný v lihu 96%.

Vhodná jakost p.a.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

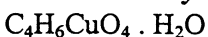
Octan hořečnatý R M_r 214,5

CAS 16674-78-5

Octan hořečnatý tetrahydrát

Bezbarvé rozplývavé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

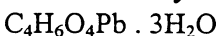
Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Octan měďnatý R M_r 199,7

CAS 142-71-2

Octan měďnatý monohydrát

Modrozelené krystaly nebo prášek. Je snadno rozpustný ve vroucí vodě, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru a v glycerolu (85 %).

Octan olovnatý R M_r 379,3

CAS 6080-56-4

Octan olovnatý trihydrát

Bezbarvé na vzduchu zvětrávající krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Octan olovnatý RS

Roztok octanu olovnatého R (95 g/l) ve vodě prosté oxidu uhličitého R.

Octan olovnatý zásaditý RS

CAS 1335-32-6

Roztok obsahuje 16,7 % až 17,4 % Pb (A_r 207,2). Olovo je přítomné ve formě octanu odpovídajícímu přibližně vzorci $C_8H_{14}O_{10}Pb_3$.

40,0 g octanu olovnatého R se rozpustí v 90 ml vody prosté oxidu uhličitého R. pH se upraví hydroxidem sodným koncentrovaným RS na hodnotu 7,5. Roztok se odstředí a použije se čirá bezbarvá supernatantní kapalina.

Roztok zůstane čirý, je-li uchováván v dobře uzavřeném obalu.

3692 Zkoumadla**Octan rtuťnatý R** $C_4H_6HgO_4$ M_r 318,7

CAS 1600-27-7

Bílé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Octan rtuťnatý RS

3,19 g octanu rtuťnatého R se rozpustí v kyselině octové bezvodé R a zředí se jí na 100 ml. Je-li třeba, roztok se neutralizuje kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za použití 0,05 ml violeti krystalové RS jako indikátoru.

Octan sodný bezvodý R $C_2H_3NaO_2$ M_r 82,0

CAS 127-09-3

Bezbarvé krystaly nebo zrna, velmi dobře rozpustné ve vodě, mírně rozpustné v lihu 96%.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2,0 %, suší se v sušárně při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti.

Octan sodný R

Viz článek *Natrii acetat*.

Octan zinečnatý R $(C_2H_3O_2)_2Zn \cdot 2H_2O$ M_r 219,5

CAS 5970-45-6

Octan zinečnatý dihydrát

Lesklé bílé krystaly, slabě zvětrávající. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Krystalovou vodu ztrácí při 100 °C.

d_{20}^{20} : asi 1,735.

TT: asi 237 °C.

Octan zinečnatý RS

600 ml vody R se smíchá se 150 ml kyseliny octové ledové R, 54,9 g octanu zinečnatého R a míchá se do rozpuštění. Pokračuje se v míchání až do přidání 150 ml amoniaku 26% R. Ochladí se na pokojovou teplotu a pH se upraví amoniakem 17,5% RS na hodnotu 6,4. Směs se zředí vodou R na 1000 ml.

Odbarvovací roztok RS

Směs objemových dílů kyseliny octové R, methanolu R a vody R (1 + 4 + 5).

Oktanol R $C_8H_{18}O$ M_r 130,2

CAS 111-87-5

1-Oktanol; n-kaprylalkohol

Bezbarvá kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3693**

 d_{20}^{20} : asi 0,828.

TV: asi 195 °C.

3-Oktanon R $C_8H_{16}O$ M_r 128,2

CAS 106-68-3

Ethylpentylketon

Bezbarvá kapalina s charakteristickým pachem.

 d_{20}^{20} : asi 0,822. n_D^{20} : asi 1,415.

TV: asi 167 °C.

*Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:**Stanovení obsahu.* Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech píků získaných na chromatogramu.

Oktansulfonan sodný R $C_8H_{17}NaO_3S$ M_r 216,3

CAS 5324-84-5

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_8H_{17}NaO_3S$.

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo vločky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

Absorbance (2.2.25). Měří se roztok (54 g/l); absorbance při 200 nm není větší než 0,10 a při 250 nm není větší než 0,01.**Oktoxinol 10 R** $C_{34}H_{62}O_{11}$ (průměrné složení) M_r 647

CAS 9002-93-1

 α -[4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)fenyl]- ω -hydroxypoly(oxyethylen)

Čirá světle žlutá viskózní kapalina, mísitelná s vodou, s acetonem a s lihem 96%, dobře rozpustná v toluenu.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Oktylhydrogensíran sodný R $C_8H_{17}NaO_4S$ M_r 232,3

CAS 142-31-4

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo vločky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

Oleamid R $C_{18}H_{35}NO$ M_r 281,5

CAS 301-02-0

(Z)-9-Oktadecenamid

Nažloutlý nebo bílý prášek nebo zrna. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v ethanolu.

TT: asi 80 °C.

3694 Zkoumadla**Olej kukuřičný R**

Mastný olej získaný z klíčků semen *Zea mays* L. lisováním nebo extrakcí.

Čirá světle žlutá až zlatožlutá kapalina, prakticky nerozpustná v lihu 96%, mísitelná s etherem a s etherem petrolejovým.

Číslo jodové (2.5.4). 103 až 128.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 5.

Číslo zmydelnění (2.5.6). 187 až 195.

Totožnost. Zkouší se postupem uvedeným ve stati (2.3.2) Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií. Získaný chromatogram odpovídá chromatogramu pro kukuřičný olej na obrázku (2.3.2-1).

Olej olivový R

Viz článek *Olivae oleum*.

Olej řepkový R

Mastný olej získaný lisováním ze semen různých druhů *Brassica napus* L. Podíl mastných kyselin obsahuje 40 % až 55 % kyseliny erukové.

Čirá žlutá až tmavě žlutá kapalina, prakticky nerozpustná v lihu 96%, mísitelná s etherem a s etherem petrolejovým.

Číslo jodové (2.5.4). 94 až 120.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 5.

Číslo zmydelnění (2.5.6). 168 až 181.

Kyselina eruková. Zkouší se postupem uvedeným ve zkoušce Cizí oleje v mastných olejích tenkovrstvou chromatografií (2.4.21) za použití následujících roztoků:

Roztok (a). 20 mg směsi mastných kyselin se rozpustí ve 4 ml *chloroformu R*.

Roztok (b). 2,0 ml roztoku (a) se zředí *chloroformem R* na 50,0 ml.

Na chromatogramu roztoku (a) je pět zřetelných skvrn. Skvrna s nejnižší hodnotou R_F (asi 0,25) je nejintenzivnější nebo jedna z nejintenzivnějších a odpovídá kyselině erukové. Skvrna odpovídající kyselině erukové je také zřetelně viditelná na chromatogramu roztoku (b).

Olej slunečnicový R

Viz článek *Helianthi oleum*.

Olovnatan draselný RS

1,7 g *octanu olovnatého R*, 3,4 g *citronanu draselného R* a 50 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

Oranž methylová sodná sůl R

$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$

M_r 327,3

CAS 547-58-0

Colour Index 13025; Schultz 176

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3695

Methyloranž, sodná sůl kyseliny 4'-dimethylaminoazobenzen-4-sulfonové

Oranžově žlutý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Oranž methylová RS

0,1 g oranže methylové sodné soli R se rozpustí v 80 ml vody R a zředí se lihem 96% R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. Směs 0,1 ml roztoku oranže methylové a 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R je žlutá. Ke změně zbarvení na červené se spotřebuje nejvýše 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 3,0 (červená) až pH 4,4 (žlutá).

Oranž methylová směsný indikátor RS

20 mg oranže methylové sodné soli R a 0,1 g zeleně bromkresolové R se rozpustí v 1 ml hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS a zředí se vodou R na 100 ml.

Barevný přechod. pH 3,0 (oranžová) až pH 4,4 (olivově zelená).

Oranž xylenolová R

$C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$

M_r 761

CAS 3618-43-7

Tetrasodná sůl S,S-dioxidu kyseliny 3,3'-(3H-2,1-benzoxanthiol-3-yliden)bis[(6-hydroxy-5-methyl-1,3-fenylen)methyleniminobis(octové

Červenohnědý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

Oranž xylenolová s dusičnanem draselným R

1 díl oranže xylenolové R se rozetře s 99 díly dusičnanu draselného R.

Zkouška citlivosti. K 50 ml vody R se přidá 1 ml kyseliny octové zředěné RS, 50 mg oranže xylenolové s dusičnanem draselným a 0,05 ml dusičnanu olovnatého RS. Ke směsi se přidá tolik methenaminu R, až se žluté zbarvení změní na fialově červené. Po přidání 0,1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS se zbarvení změní na žluté.

Orcinol R

$C_7H_8O_2 \cdot H_2O$

M_r 142,2

CAS 6153-39-5

Monohydrát 5-methylbenzen-1,3-diolu, orcin

Krystalický prášek, citlivý na světlo.

TV: asi 290 °C.

TT: 58 °C až 61 °C.

Oxid arsenitý R

As_2O_3

M_r 197,8

CAS 1327-53-3

Krystalický prášek nebo bílá hmota. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucí vodě.

3696 Zkoumadla**Oxid dusný R**

N_2O M_r 44,01 CAS 10024-97-2

Obsahuje nejméně 99,99 % (V/V) N_2O .

Oxid dusnatý. Méně než 1 ml/m³.

Oxid uhelnatý. Méně než 1 ml/m³.

Oxid dusnatý R

NO M_r 30,01 CAS 10102-43-9

Obsahuje nejméně 98,0 % (V/V) NO.

Oxid fosforečný R

P_2O_5 M_r 141,9 CAS 1314-56-3

Bílý amorfni rozplývající se prášek. Hydratuje s vodou za uvolnění tepla.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Oxid hlinitý aktivovaný R

CAS 1344-28-1

Oxid hlinitý, obsahující $\gamma-Al_2O_3$, který se zahřátím dehydratuje a aktivuje.

Velikost částic 75 μm až 150 μm .

Oxid holmitý R

Ho_2O_3 M_r 377,9 CAS 12055-62-8

Nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

Oxid hořečnatý těžký R

Viz článek *Magnesii oxidum ponderosum*.

Oxid hořečnatý R

Viz článek *Magnesii oxidum leve*.

Oxid hořečnatý R1

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro *oxid hořečnatý R* s následujícími modifikacemi:

Arsen (2.4.2). 0,5 g se rozpustí ve směsi 5 ml *vody R* a 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 $\mu g/g$).

Těžké kovy (2.4.8). 0,75 g se rozpustí ve směsi 3 ml *vody R* a 7 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Přidá se 0,05 ml *fenolftaleinu RS* a tolik *amoniaku 26% R*, dokud se tvoří růžové zbarvení. Přebytek amoniaku se neutralizuje přidáním *kyseliny octové ledové R*, přidá se 0,5 ml jejího nadbytku a zředí se *vodou R* na 15 ml. Je-li třeba, filtruje se. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 $\mu g/g$). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 5 ml základního roztoku *olova (1 $\mu g Pb/ml$)* a 5 ml *vody R*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3697

Železo (2.4.9). 0,2 g se rozpustí v 6 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (50 µg/g).

Oxid chromový R

CrO₃ M_r 100,0 CAS 1333-82-0

Tmavě hnědočervené jehličky nebo zrna, rozplývající se. Je velmi snadno rozpustný ve vodě. Uchovává se ve vzduchotěsných skleněných obalech.

Oxid jodičný rekrystalizovaný R

I₂O₅ M_r 333,8 CAS 12029-98-0

Obsahuje nejméně 99,5 % I₂O₅.

Bílý krystalický prášek nebo bílá až šedobílá zrna. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě za tvorby HIO₃.

Stálost při zahřívání. 2,0 g látky předem 1 h zahřívané při 200 °C se rozpustí v 50 ml *vody R*; roztok je bezbarvý.

Stanovení obsahu. 0,100 g se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidají se 3,0 g *jodidu draselného R* a 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,782 mg I₂O₅.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Oxid lanthanitý R

La₂O₃ M_r 325,8 CAS 1312-81-8

Většinou bílý amorfni prášek, prakticky nerozpustný ve *vodě R*. Rozpouští se ve zředěných roztocích minerálních kyselin a absorbuje atmosférický oxid uhličitý.

Vápník. Nejvýše 5 µg/g.

Oxid olovičitý R

PbO₂ M_r 239,2 CAS 1309-60-0

Tmavě hnědý prášek, který po zahřátí uvolňuje kyslík. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v kyselině chlorovodíkové za vzniku chloru, rozpustný ve zředěné kyselině dusičné za přítomnosti peroxidu vodíku, kyseliny šřavelové nebo jiných redukujících látek, dobře rozpustný za tepla v koncentrovaných roztocích alkalických hydroxidů.

Oxid osmičelý R

OsO₄ M_r 254,2 CAS 20816-12-0

Žlutá krystalická hmota nebo jasně žluté jehličkovité krystaly. Je hygroskopický, citlivý na světlo, dobře rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Oxid osmičelý RS

Roztok (2,5 g/l) v *kyselině sírové 0,05 mol/l RS*.

3698 Zkoumadla

Oxid rtuťnatý R

HgO M_r 216,6 CAS 21908-53-2

Žlutý až oranžovožlutý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.
Uchovává se chráněn před světlem.

Oxid siřičitý R

SO₂ M_r 64,1 CAS 7446-09-5

Bezbarvý plyn, který stlačením tvoří bezbarvou kapalinu.

Oxid siřičitý R1

SO₂ M_r 64,1 CAS 7446-09-5

Obsahuje nejméně 99,9 % (V/V) SO₂.

Oxid stříbrný R

Ag₂O M_r 231,7 CAS 20667-12-3

Hnědočerný prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, snadno rozpustný v kyselině dusičné zředěné a v roztoku amoniaku.

Uchovává se chráněn před světlem.

Oxid titaničitý R

Viz článek Titanii dioxidum.

Oxid uhelnatý R

CO M_r 28,01 CAS 630-08-0

Obsahuje nejméně 99,97 % (V/V) CO.

Oxid uhličitý R

Viz článek *Carbonei dioxidum*.

Oxid uhličitý R1

Obsahuje nejméně 99,995 % (V/V) CO₂.

Oxid uhelnatý. Méně než 5 ml/m³.

Kyslík. Méně než 25 ml/m³.

Oxid vanadičný R

V₂O₅ M_r 181,9 CAS 1314-62-1

Obsahuje nejméně 98,5 % V₂O₅.

Žlutohnědý až zrzavohnědý prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v silných minerálních kyselinách a v roztocích alkalických hydroxidů za tvorby solí.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3699

Vzhled roztoku. 1,0 g se zahřívá 30 min s 10 ml *kyseliny sírové R*. Po ochlazení se zředí stejnou kyselinou na 10 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1).

Zkouška citlivosti s peroxidem vodíku. 1,0 ml roztoku ze zkoušky Vzhled roztoku se opatrně zředí vodou *R* na 50,0 ml (zkoušený roztok). K 0,5 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml roztoku *peroxidu vodíku R* (0,1 g/l H_2O_2). Tento roztok je zřetelně oranžově zbarven v porovnání s kontrolním roztokem připraveným z 0,5 ml zkoušeného roztoku a 0,1 ml *vody R*. Po přidání 0,4 ml roztoku *peroxidu vodíku R* (0,1 g/l H_2O_2) se změni zbarvení na oranžově žluté.

Ztráta žiháním. Nejvýše 1 %; 1,00 g se žihá při 700 °C.

Stanovení obsahu. 0,200 g se rozpustí zahřátím ve 20 ml roztoku *kyseliny sírové R* (70%). Po přidání 100 ml *vody R* se přidává *manganistan draselný 0,02 mol/l VS* do vzniku načervenalého zbarvení. Nadbytek manganistanu draselného se odstraní pomocí roztoku *dusitanu sodného R* (30 g/l). Přidá se 5,0 g *močoviny R* a 80 ml roztoku *kyseliny sírové R* (70%) a roztok se ochladí. Přidá se 0,1 ml *feroinu RS* jako indikátor a ihned se titruje *síranem železnatým 0,1 mol/l VS* do vzniku zelenočerveného zbarvení.

1 ml *síranu železnatého 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,095 mg V_2O_5 .

Oxid vanadičný v kyselině sírové RS

0,20 g *oxidu vanadičného R* se rozpustí ve 4 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

Oxid zinečnatý R

Viz článek *Zinci oxidum*.

Palladium R

Pd

A, 106,4

CAS 7440-05-3

Šedobílý kov, dobře rozpustný v kyselině chlorovodíkové.

Pankreatinový prášek R

Viz článek *Pancreatis pulvis*.

Papaveriniumchlorid R

Viz článek *Papaverini hydrochloridum*.

Papír lakmusový modrý R

10 dílů hrubě práškovaného *lakmusu R* se vaří 1 h se 100 díly *lihu 96% R*. Líh se dekantuje a ke zbytku se přidá směs objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* (45 + 55). Nechá se stát 2 dny a potom se dekantuje čirá kapalina. Pásky filtračního papíru se impregnují tímto výluhem a nechají se vysušit.

Zkouška citlivosti. Páska o rozměru 10 mm x 60 mm se ponoří do směsi 10 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l RS* a 90 ml *vody R*. Za stálého míchání během 45 s papír zčervená.

3700 Zkoumadla**Papír lakmusový červený R**

K výluhu získanému v odstavci *Papír lakmusový modrý R* se přidává po kapkách *kyselina chlorovodíková zředěná RS* do vzniku červeného zbarvení. Pásky filtračního papíru se impregnují tímto roztokem a nechají se vysušit.

Zkouška citlivosti. Páska o rozměru 10 mm x 60 mm se ponoří do směsi 10 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l RS* a 90 ml *vody R*. Za stálého míchání během 45 s papír zmodrá.

Papír nitrobenzaldehydový R

0,20 g *nitrobenzaldehydu R* se rozpustí v 10 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l). Tento roztok je použitelný 1 h.

Spodní polovina pásku z pomalého filtračního papíru o rozměru 10 cm x 0,8 cm až 1 cm se ponoří do roztoku a jeho přebytek se odstraní mezi dvěma filtračními papíry.

Nitrobenzaldehydový papír je použitelný několik minut po přípravě.

Papír s bromidem rtuťnatým R

Do pravouhlé misky obsahující roztok *bromidu rtuťnatého R* (50 g/l) v *ethanolu R* se ponoří páska bílého filtračního papíru (hustota 80 g/m², filtrační rychlost 40 s až 60 s¹⁾) rozměr 1,5 x 20 cm (dvakrát složená). Páska se nechá okapat a vysušit ve tmě zavěšená na nekovovém vlákně. Odstříhne se 1 cm z každého přeloženého a protilehlého konce papíru, zbytek se stříhá na čtvercové (1,5 cm x 1,5 cm) nebo kruhové (průměr 1,5 cm) kousky.

Uchovává se v láhvích se skleněným uzávěrem, obalené černým papírem.

¹⁾ Filtrační rychlost je vyjádřena dobou, ve které se přefiltruje 100 ml vody při 20 °C přes filtrační plochu 10 cm² za konstantního tlaku 6,7 kPa.

Papír se zelení methylovou R

Úzké pásky vhodného filtračního papíru se ponoří do roztoku *zeleně methylové R* (40 g/l) a potom se vysuší volně na vzduchu. Pak se impregnují 1 h roztokem obsahujícím *jodid draselný R* (140 g/l) a *jodid rtuťnatý R* (200 g/l). Pásky se promývají *vodou destilovanou R*, až je lázeň prakticky bezbarvá, a vysuší se volně na vzduchu.

Uchovává se chráněn před světlem, je použitelný 48 h.

Papír se síranem manganatým a dusičnanem stříbrným R

Pruh pomalého filtračního papíru se smočí v roztoku *síranu manganatého R* (8,5 g/l) a *dusičnanu stříbrného R* (8,5 g/l). Podrží se několik min a nechá se sušit nad *oxidem fosforečným R* za ochrany před kyselými a alkalickými parami.

Papír se žlutí titanovou R

Proužky filtračního papíru se ponoří na několik minut do *žlutí titanové RS*. Potom se vysuší při pokojové teplotě.

Papír s octanem olovnatým R

Bílý filtrační papír (80 g/m²) se ponoří do směsi objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *octanu olovnatého RS* (1 + 10). Po vysušení se papír rozstříhá na malé pásky o rozměru 15 mm x 40 mm.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3701

Papír škrobový s jodičnanem draselným R

Pásy filtračního papíru se ponoří do 100 ml *škrobu prostého jodidu RS* obsahujícího 0,1 g *jodičnanu draselného R*. Nechá se okapat, pak se vysuší ve tmě.

Paracetamol R

Viz článek *Paracetamololum*.

Paracetamol prostý 4-aminofenolu R

Paracetamol R se nechá rekrystalizovat z *vody R* a vysuší se ve vakuu při 70 °C. Postup se opakuje, až látka vyhoví následující zkoušce: 5,0 g vysušené látky se rozpustí ve směsi složené ze stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*, potom se stejnou směsí zředí na 100 ml. Přidá se 1 ml čerstvě připraveného roztoku obsahujícího *nitroprussid sodný R* (10 g/l) a *uhlíčitan sodný bezvodý R* (10 g/l). Směs se promíchá a nechá se stát 30 min chráněna před světlem. Nevznikne žádné modré nebo zelené zbarvení.

Parafin bílý měkký R

Polotuhá směs uhlovodíků získaná z nafty, bělená, prakticky nerozpustná ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustná v etheru a v *etheru petrolejovém R1*. Roztoky někdy vykazují mírnou opalescenci.

Parafin tekutý R

Viz článek *Paraffinum liquidum*.

Pararosaniliniumchlorid R

$C_{19}H_{18}ClN_3$

M_r 323,8

CAS 569-61-9

Colour Index 42500, Schultz 779

4-[Bis(4-aminofenyl)methylen]-2,5-cyklohexadieniminiumchlorid

Modravě červený krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v etheru. Roztoky ve vodě a v ethanolu jsou tmavočerveně zbarvené. Roztoky v kyselině chlorovodíkové a kyselině sírové jsou zbarvené žlutě.

TT: asi 270 °C, za rozkladu.

Pararosanilin odbarvený roztok RS

0,10 g *pararosaniliniumchloridu R* se přenese do kuželové baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 60 ml *vody R* a roztok 1,0 g *siřičitanu sodného bezvodého R* nebo 2,0 g *siřičitanu sodného R* nebo 0,75 g *disiřičitanu sodného R* v 10 ml *vody R*. Za míchání se pomalu přidá 6 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Baňka se uzavře a míchá se až do úplného rozpuštění. Roztok se zředí *vodou R* na 100 ml a nechá se 12 h před použitím stát.

Uchovává se chráněn před světlem.

Penicilinaso RS

10 g hydrolyzátu kaseinu, 2,72 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 5,88 g *citronanu sodného R* se rozpustí ve 200 ml *vody R*, pH se upraví na hodnotu 7,2 roztokem *hydroxidu sodného*

3702 Zkoumadla

ho R (200 g/l) a zředí se vodou R na 1000 ml. 0,41 g síranu hořečnatého R se rozpustí v 5 ml vody R, přidá se 1 ml roztoku síranu amonno-železnatého R (1,6 g/l), potom se zředí vodou R na 10 ml. Oba roztoky se sterilizují v autoklávu, ochladí se a smíchají. Směs se rozdělí do kuželových baněk v dostatečné vrstvě a naočkuje se *Bacillus cereus* (NCTC 9946). Baňky se nechají v klidu při 18 °C až 37 °C až do prvních známek růstu a udržují se 16 h při 35 °C až 37 °C za neustálého protřepávání a provzdušňování. Směs se odstředí a supernatantní kapalina se sterilizuje membránovou filtrací. 1,0 ml roztoku peniciliny obsahuje při 30 °C a pH 7,0 nejméně 0,4 mikrokatalu (což odpovídá hydrolyze 500 mg benzylpenicilinu na kyselinu benzylpenicilovou za hodinu) za předpokladu, že koncentrace benzylpenicilinu neklesne pod úroveň potřebného enzymatického nasycení. Michaelisova konstanta peniciliny v roztoku pro benzylpenicilin je asi 12 µg/ml.

Sterilita (2.6.1). Roztok peniciliny vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Uchovává se při teplotě 0 °C až 2 °C. Použije se během 2 až 3 dnů. V lyofilizovaném stavu v zatavených ampulích může být látka uchovávána několik měsíců.

Pentan R C_5H_{12} M_r 72,2

CAS 109-66-0

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem, s ethanolem a etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,63. n_D^{20} : asi 1,359.

TV: asi 36 °C.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícímu dodatečnému požadavku:

Transmittance (2.2.25): nejméně 20 % při 200 nm,
nejméně 50 % při 210 nm,
nejméně 85 % při 220 nm,
nejméně 93 % při 230 nm,
nejméně 98 % při 240 nm,

měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Pentanol R $C_5H_{12}O$ M_r 88,1

CAS 71-41-0

1-Pentanol

Bezbarvá kapalina, mírně rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 n_D^{20} : asi 1,410.

TV: asi 137 °C.

Pentansulfonan sodný R $C_5H_{11}NaO_3S$ M_r 174,2

CAS 22767-49-3

Bílá krystalická pevná látka, dobře rozpustná ve vodě.

Pepsin práškový R

Viz článek *Pepsini pulvis*.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3703**

Peroxid vodíku koncentrovaný R

Viz článek *Hydrogenii peroxidum* 30%.

Peroxid vodíku zředěný RS

Viz článek *Hydrogenii peroxidum* 3%.

Peroxodisíran diamonný R

$(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$

M_r 228,2

CAS 7727-54-0

Bílý krystalický prášek nebo zmité krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

Peroxodisíran didraselný R

$\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

M_r 270,3

CAS 7727-21-1

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Vodné roztoky se rozkládají při pokojové teplotě a rychleji se rozkládají při zahřívání.

Uchovává se v chladu.

Petrolether R

Viz odstavec *Ether petrolejový R*.

 α -Pinen R

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$

M_r 136,2

CAS 80-56-8

2,6,6-Trimethylbicyklo[3,1,1]-hept-2-en

Bezbarvá čirá kapalina, dobře rozpustná v mastných olejích.

d_{20}^{20} : 0,854 až 0,860.

n_D^{20} : 1,466 až 1,467.

TV: 155 °C až 156 °C.

 β -Pinen R

$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$

M_r 136,2

CAS 19902-08-0

6,6-Dimethyl-2-methylenbicyklo[3,1,1]heptan

Bezbarvá olejovitá kapalina, páchnoucí po terpentýnu, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

d_{20}^{20} : asi 0,867.

n_D^{20} : asi 1,474.

TV: 155 °C až 156 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

3704 Zkoumadla**Piperazin hexahydrát R**

Viz článek *Piperazinum hexahydricum*.

Piperidin R

C₅H₁₁N

M_r 85,2

CAS 110-89-4

Hexahydropyridin

Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, alkalické reakce, mísitelná s vodou, s lihem 96%, s etherem a s etherem petrolejovým.

TV: asi 106 °C.

Písek R

Bílá nebo slabě naředlá zrna křemene o velikosti částic 150 μm až 300 μm.

Plasminogen lidský R

CAS 9001-91-6

Látka přítomná v krvi, která může být aktivována na enzym plasmin, který štěpí fibrin v krevních sraženinách.

Plazma substrát R

Ze směsi roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l) a lidské nebo hovězí krve v objemovém poměru 1 : 9 nebo ze směsi obsahující roztok *hydrogencitronanu sodného R* (20 g/l) a roztok *glukosy R* (25 g/l) a krve v objemovém poměru 2 : 7 se oddělí plazma. V prvním případě se může substrát plazmy připravit v den odběru, v druhém případě se může substrát plazmy připravit do 2 dní po odběru.

Uchovává se při -20 °C.

Plazma substrát R1

Na odběr krve a její zpracování se použije zařízení z plastu nebo silikonem potaženého skla (nesmáčivé vodou).

Odebere se vhodný objem krve od každé z nejméně pěti ovcí; je vhodné odebrat 285 ml do 15 ml antikoagulačního roztoku, ale může se odebrat i menší objem. Odebírá se ze živých zvířat nebo v okamžiku jejich porážení pomocí jehly připojené ke kanyle tak dlouhé, aby dosahovala na dno odběrové láhve. Odstraní se několik prvních mililitrů a odebere se pouze volně tekoucí krev. Odebraná krev se smíchá s dostatečným množstvím antikoagulačního roztoku obsahujícího 8,7 g *citronanu sodného R* a 4 mg *aprotininu R* ve 100 ml *vody R* v poměru 19 objemových dílů krve na 1 objemový díl antikoagulačního roztoku. V době odběru a bezprostředně po něm se láhev míchá krouživým pohybem tak, aby vznikla homogenní směs bez vytvoření pěny. Po ukončení odběru se láhev uzavře a ochladí na 10 °C až 15 °C. Po ochlazení se krev ze všech láhví smíchá, s výjimkou krve, která projevuje zjevnou hemolýzu nebo sraženinu. Smíchaná krev se uchovává při teplotě 10 °C až 15 °C.

Tak brzo, jak je to možné, a do 4 h po odběru se smíchaná krev odstředí 30 min při 10 °C až 15 °C při 1000 *g_n* až 2000 *g_n*. Supernatantní kapalina se oddělí a odstředí se 30 min při 5000 *g_n*. (Na vyčerení plazmy se může použít rychlejší odstředování, např. při 20 000 *g_n* 30 min, a již se

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3705

nefiltruje). Supernatantní kapalina se oddělí, ihned se opatrně promíchá a rozdělí do malých láhví s uzávěrem. Velikost láhví musí stačit na kompletní stanovení heparinu (např. 10 ml až 30 ml). Uzavřené láhve s plazmou se ihned zmrazí při teplotě nižší než $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (např. ponořením do tekutého dusíku) a uchovávají se při teplotě nižší než $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Plazma připravená za těchto podmínek se může použít jako substrát plazmy na stanovení heparinu tehdy, když se za podmínek stanovení u použité metody naměří vhodný čas srážení a jestliže dává reprodukovatelnou strmou křivku - odpověď/log dávky.

V čas potřeby se určité množství substrátu plazmy rozmrazí ve vodní lázni při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ za pomalého míchání až do úplného rozmrazení. Jednou rozmrazená plazma se udržuje při $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a ihned se použije. Je-li to nutné, může se rozmrazený substrát plazmy mírně odstředit a filtrace se nepoužije.

Plazma substrát RS2

Oddělená plazma z lidské krve, která byla odebrána a smíchána s roztokem *citronanu sodného R* (38 g/l) v objemovém poměru 9 : 1 a u které je hodnota faktoru IX nižší než 1 % normální hodnoty.

Uchovává se v malých množstvích ve zkumavkách z plastů při teplotě $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší.

Plazma chudá na krevní destičky R

Odebere se 45 ml lidské krve 50ml injekční stříkačkou z plastů do 5,0 ml sterilního roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l). Ihned se odstředuje 30 min při $1550\text{ }g_n$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny a ihned se odstředuje 30 min při $3500\text{ }g_n$ a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny, která se rychle zmrazí ve vhodném množství ve zkumavkách z plastů na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší teplotu. Při přípravě se používají pomůcky z plastů nebo potažené silikonem.

Plazma králičí R

Krev se odebere intrakardiální punkcí z králíka hladovějícího 12 h za použití injekční stříkačky z plastů s kanylou č. 1 obsahující takové množství roztoku *citronanu sodného R* (38 g/l), aby konečný poměr objemů roztoku citronanu a krve byl 1 : 9. Plazma se oddělí při $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ odstředováním 30 min při $1500\text{ }g_n$ až $1800\text{ }g_n$.

Uchovává se při $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $6\text{ }^{\circ}\text{C}$. Použije se během 4 h po přípravě.

Plazma substrát prostá faktorů V R

Upřednostňuje se plazma s vrozeným deficitem faktorů V, nebo se připraví následovně: Směs objemových dílů roztoku *šťavelanu sodného R* (13,4 g/l) a lidské krve (1 + 10) se odstředí, plazma se oddělí a inkubuje se 24 h až 36 h při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Doba srážení plazmy, stanovená předepsanou metodou v odstavci *Faktor koagulační V R*, má být 70 s až 100 s. Pokud je menší než 70 s, potom se plazma inkubuje znovu 12 h až 24 h.

Uchovává se v malých množstvích, při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší.

Poly(difenyl)(dimethyl)(divinyl)siloxan R

Obsahuje 94 % methylových skupin, 5 % fenylových skupin a 1 % vinylových skupin (SE54). Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

3706 Zkoumadla

Poly(difenyl)(dimethyl)siloxan R

Obsahuje 95 % methylových skupin a 5 % fenylových skupin (DB-5, SE52).
Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

Polydimethylsiloxan R

Poly[oxy(dimethylsilandiyl)]; dimeticon

Bezbarvý organokřemičitý polymer konzistence polotekuté pryže.

Vnitřní viskozita. Asi 115 ml/g; stanoví se následovně:

S přesností 0,1 mg se naváží do 100ml odměrných baněk 1,5 g, 1,0 g a 0,3 g zkoušené látky. Přidá se 40 ml až 50 ml *toluenu R* a třepe se až do úplného rozpuštění. Potom se zředí na 100 ml stejným rozpouštědlem. Stanoví se viskozita (2.2.9) každého roztoku. Viskozita *toluenu R* se stanoví za stejných podmínek. Koncentrace každého roztoku se zředí na polovinu *toluenem R*. Stanoví se viskozita těchto zředěných roztoků, přičemž:

c = koncentrace zkoušené látky v g/100 ml,

t_1 = doba průtoku zkoušeného roztoku v s,

t_2 = doba průtoku toluenu v s,

η_1 = viskozita zkoušeného roztoku v mPa.s,

η_2 = viskozita toluenu v mPa.s,

d_1 = relativní hustota zkoušeného roztoku,

d_2 = relativní hustota toluenu.

Pro zjištění relativní hustoty se použijí následující hodnoty:

Koncentrace (g/100 ml)	Relativní hustota (d_1)
0 - 0,5	1,000
0,5 - 1,25	1,001
1,25 - 2,20	1,002
2,20 - 2,75	1,003
2,75 - 3,20	1,004
3,20 - 3,75	1,005
3,75 - 4,50	1,006

Specifická viskozita se vypočítá podle vztahu:

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_1 - \eta_2}{\eta_2} = \frac{t_1 \cdot d_1}{t_2 \cdot d_2} - 1.$$

Redukovaná viskozita se vypočítá podle vztahu:

$$\eta_{red} = \frac{\eta_{sp}}{c}.$$

Vnitřní viskozita (η) se vypočítá extrapolací předcházející rovnice pro $c = 0$. K tomu se sestrojí křivka $\eta_{sp} = f(c)$ nebo $\log \eta_{sp} = f(c)$.

Vnitřní viskozita (η) vyjádřená v ml/g je hodnota získaná extrapolací $c = 0$ a vynásobená 100.

Infračervené spektrum (2.2.24) látky, je-li třeba dispergované v několika kapkách *chloridu uhličitého R* a nanesené mezi destičky chloridu sodného, nevykazuje při 3053 cm⁻¹ absorpci odpovídající vinylovým skupinám.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3707

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší 15 min ve vakuu při 350 °C. Nejvýše 0,8 %; 2,000 g se suší 2 h při 200 °C.

Polyetherhydroxylovaný gel pro chromatografii R

Gel s malou velikostí částic a hydrofilním povrchem s hydroxylovými skupinami. Hranice vyloučení pro dextran je relativní molekulová hmotnost 2×10^5 až $2,5 \times 10^6$.

Polyethylenglykol 1500 R

Viz *Makrogol 1500 R*.

Poly[(fenyl)(kyanpropyl)][dimethyl]siloxan R

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii. Obsahuje 6 % (kyanpropylových)(fenylových) skupin a 94 % methylových skupin.

Poly(fenyl)(7)(kyanpropyl)(7)(methyl)(86)siloxan R

Polysiloxan substituovaný 7 % fenylových skupin, 7 % kyanpropylových skupin a 86 % methylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

Poly[fenyl(5)methyl(94)vinyl(1)]siloxan R

Polysiloxan obsahující 5 % fenylových skupin, 94 % methylových skupin a 1 % vinylových skupin.

Poly[fenyl(5)methyl(95)]siloxan R

Polysiloxan obsahující 5 % fenylových skupin a 95 % methylových skupin.

Poly(fenylmethyl)(kyanpropyl)siloxan R

90 % kyanpropylových a 10 % fenylmethylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

Polyfenylmethylsiloxan R

Střední M_r 4000. Obsahuje 50 % methylových skupin, 50 % fenylových skupin. Velmi viskózní kapalina (viskozita asi 1300 mPa.s). Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

d_{25}^{25} : asi 1,09.

n_D^{25} : asi 1,540.

Poly(kyanethyl)(methyl)siloxan R

Polysiloxan obsahující 25 % kyanethylových skupin a 75 % methylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii (např. XE 60). Náhradní fáze může být např. OV-225 [poly(kyanpropylmethyl)(fenyl)(methyl)siloxan].

3708 Zkoumadla***Poly[(kyanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxan R***

Střední M_r 8000. Obsahuje 25 % kyanpropylových, 25 % fenylových a 50 % methylových skupin.

Je to velmi viskózní kapalina (viskozita asi 9000 mPa.s).

d_{25}^{25} : asi 1,10.

n_D^{25} : asi 1,502.

Poly(kyanpropyl)(methyلفenylmethyl)siloxan R

Viz *poly[(kyanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxan R*.

Poly(kyanpropyl)siloxan R

Obsahuje 100 % kyanpropylových skupin.

Polysorbát 20 R

Viz článek *Polysorbatum 20*.

Polysorbát 80 R

Viz článek *Polysorbatum 80*.

Polystyren 900 -1000 R

Organický standard používaný pro kalibraci v plynové chromatografii.

M_w : asi 950.

M_w/M_n : 1,10.

CAS 9003-53-6

Ponceau 4R R

$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

M_r 604,5

CAS 2611-82-7

Colour Index 16 255, Červen košenilová A, Rubor ponceau 4R

Trisodná sůl kyseliny 2-hydroxy-1-(4-sulfonaftylazo)naftalen-6,8-disulfonové
Červené barvivo.

Povidon R

Viz článek *Povidonum*.

Prokainiumchlorid R

Viz článek *Procaini hydrochloridum*.

D-Prolyl-L-fenylalanyl-L-arginin-4-nitroanilid dihydrochlorid R

$C_{26}H_{36}Cl_2N_8O_5$

M_r 612

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3709**

Propanolamin R C_3H_9NO M_r 75,1

CAS 156-87-6

3-Amino-1-propanol

Čirá bezbarvá viskózní kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,99. n_D^{20} : asi 1,461.

TT: asi 11 °C.

1-Propanol R C_3H_8O M_r 60,1

CAS 71-23-8

Čirá bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

 d_{20}^{20} : 0,802 až 0,806.

TV: asi 97,2 °C

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95,0 % predestiluje při 96 °C až 99 °C.

2-Propanol R C_3H_8O M_r 60,1

CAS 67-63-0

Isopropylalkohol

Čirá bezbarvá kapalina, snadno zápalná, mísitelná s vodou a lihem 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,785.

TV: 81 °C až 83 °C.

2-Propanol R1

Vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci 2-Propanol R a následujícím požadavkům:

 n_D^{20} : asi 1,378.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,05 %; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Transmitance (2.2.25): nejméně 25 % při 210 nm,
nejméně 55 % při 220 nm,
nejméně 75 % při 230 nm,
nejméně 95 % při 250 nm,
nejméně 98 % při 260 nm,

měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Propionaldehyd R C_3H_6O M_r 58,1

CAS 123-38-6

Propanal

Kapalina snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,81. n_D^{20} : asi 1,365.

TT: asi -81 °C.

TV: asi 49 °C.

3710 Zkoumadla**Propylacetat R** $C_5H_{10}O_2$ M_r 102,1

CAS 109-60-4

 d_{20}^{20} : asi 0,888.

TT: asi -95 °C.

TV: asi 102 °C.

Propylenglykol RViz článek *Propylenglycolum*.**Propylparaben R**Viz článek *Propylparabenum*.**Protaminiumsulfat R**Viz článek *Protamini sulfas*.**Proteasa kmene V8 zlatého stafylokoka R**

Typ XVII-B

CAS 66676-43-5

Mikrobiální extracelulární proteolytický enzym. Lyofilizovaný prášek obsahující 500 jednotek až 1000 jednotek na miligram sušiny.

Pulegon R $C_{10}H_{16}O$ M_r 152,2

CAS 89-82-7

(+)-*p*-Menth-4-en-3-on; (*R*)-2-isopropyliden-5-methylcyklohexanon

Olejovitá bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

 d_{15}^{20} : asi 0,936. n_D^{20} : 1,485 až 1,489. $[\alpha]_D^{20}$: +19,5° až +22,5°.

TV: 222 °C až 224 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků.

Pyridin bezvodý R

CAS 110-86-1

Pyridin R se vysuší nad *uhličitanem sodným bezvodým R*, filtruje se a destiluje.

Voda (2.5.12). Nejvýše 0,01 %.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3711

Pyridin R C_5H_5N M_r 79,1

CAS 110-86-1

Čirá bezbarvá kapalina, hygroskopická, mísitelná s vodou a lihem 96%.

TV: asi 115 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

2-Pyridylamin R $C_5H_6N_2$ M_r 94,1

CAS 504-29-0

2-Aminopyridin

Velké krystaly, dobře rozpustné ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

TT: asi 58 °C.

TV: asi 210 °C.

Pyridylazonaftol R $C_{15}H_{11}N_3O$ M_r 249,3

CAS 85-85-8

1-(2-Pyridylazo)-2-naftol

Cihlově červený prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, v methanolu a zředěných horkých roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 138 °C.

Pyridylazonaftol RS

Roztok 1,0 g/l v *ethanolu R*.

Zkouška citlivosti. K 50 ml *vody R* se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 4,4*, 0,10 ml *edetanu disodného 0,02 mol/l VS* a 0,25 ml roztoku pyridylazonaftolu. Po přidání 0,15 ml roztoku *síranu měďnatého R* (5 g/l) se světle žluté zbarvení změní na fialové.

Pyrogallol R $C_6H_6O_3$ M_r 126,1

CAS 87-66-1

1,2,3-Benzentriol; 1,2,3-trihydroxybenzen

Bílé krystaly hnědnoucí na vzduchu a na světle, velmi snadno rozpustné ve vodě, v lihu 96% a etheru, těžce rozpustné v sirouhlíku. Vodné roztoky na vzduchu a rychleji alkalické roztoky hnědnou absorpcí kyslíku.

TT: asi 131 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Pyrogallol zásaditý RS

0,50 g *pyrogallolu R* se rozpustí ve 2 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. 12 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí v 8 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Tyto dva roztoky se smíchají těsně před použitím.

Pyrokatechol R $C_6H_6O_2$ M_r 110,1

CAS 120-80-9

1,2-Benzendiol; 1,2-dihydroxybenzen

Bezbarvé nebo slabě žluté krystaly, dobře rozpustné ve vodě, v lihu 96%, v acetonu a v etheru.

3712 Zkoumadla

TT: asi 102 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Pyrrolidinyldithiokarbamat amonný R

$C_5H_{12}N_2S_2$

M_r 164,3

CAS 5108-96-3

Amonium-1-pyrrolidinyldithioformiat

Bílý až slabě žlutý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se v láhvích obsahujících bavlněný sáček s uhličitanem amonným.

Reineckova sůl R

$NH_4[Cr(NH_3)_2(NCS)_4] \cdot H_2O$

M_r 354,4

CAS 13573-16-5

Diammin-tetrakis(isothiokyanatano)chromitan amonný monohydrát

Červený prášek nebo krystaly. Je mírně rozpustný ve studené vodě, dobře rozpustný v horké vodě a v lihu 96%.

Reineckova sůl RS

Roztok 10 g/l. Přípravuje se v čas potřeby.

Resorcinol R

Viz článek *Resorcinolum*.

Resorcinol v benzenu RS

Za studena nasycený roztok *resorcinolu R* (asi 1,5 g/l) v *benzenu R*.

Rhamnosa R

$C_6H_{12}O_5 \cdot H_2O$

M_r 182,2

CAS 6155-35-7

L-(+)-Rhamnosa; α -L-Rhamnopyranosa monohydrát; 6-deoxy-L-mannosa

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě.

$[\alpha]_D^{20}$: +7,8° až +8,3°; měří se roztok (50 g/l) ve *vodě R* obsahující asi 0,05 % amoniaku (NH_3).

Rhaponticin R

$C_{21}H_{24}O_9$

M_r 420,4

CAS 155-58-8

3',5'-Dihydroxy-(4'-methoxy-3-stilbenyl)- β -D-glukopyranosid

Nažloutle šedý krystalický prášek, dobře rozpustný v lihu 96% a methanolu.

Chromatografie. Zkouší se postupem předepsaným v článku *Rhei radix*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3713

Rhenistan draselný RKReO₄*M*_r 289,3

CAS 10466-65-6

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, v methanolu a v propylenglykolu.

Rhodamin B RC₂₈H₃₁ClN₂O₃*M*_r 479,0

CAS 81-88-9

Colour Index 45170, Schultz 864

[6-diethylamino-9-(2-karboxyfenyl)-3H-xanthen-3-yliden]diethylamoniumchlorid

Zelené krystaly nebo červenofialový prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Ribosa RC₅H₁₀O₅*M*_r 150,1

CAS 50-69-1

D-Ribosa

Je dobře rozpustná ve vodě, těžce rozpustná v lihu 96%.

TT: 88 °C až 92 °C.

Ricinový olej polyoxyethylenovaný R

Světle žlutá kapalina. Stává se čirou asi při 26 °C.

Rohovníková moučka R

Je to mletý endosperm semen plodu *Ceratonia siliqua* L. TAUB.

Bílý prášek obsahující 70 % až 80 % vodou dobře rozpustné klovatiny, která obsahuje většinou galaktomannoglykon.

Rozpouštědlo hyaluronidasy R

100 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 6,4* se smíchá se 100 ml *vody R*. V tomto roztoku se rozpustí při 37 °C 0,140 g *želatiny hydrolyzované R*. Roztok je použitelný 2 h.

Roztok pro test způsobilosti pro TLC RS

Připraví se směs po 1,0 ml od každého z následujících roztoků a doplní se *acetonem R* na 10,0 ml: roztok *červeně sudanové G R* (0,5 g/l) v *toluenu R*, roztok *oranže methylové sodné soli R* (0,5 g/l) v *ethanolu R* připravený v čas potřeby, roztok *zeleně bromkresolové R* (0,5 g/l) v *acetonu R* a roztok *červeně methylové R* (0,25 g/l) v *acetonu R*.

Rtut' R

Hg

*A*_r 200,6

CAS 7439-97-6

Stříbrobílá kapalina, která při rozetření na papír tvoří kuličky nezanechávající kovovou stopu.

*d*₂₀²⁰: asi 13,5.

TV: asi 357 °C.

3714 Zkoumadla

Rutin R $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ M_r 665

CAS 153-18-4

Rutosid; 3-(O-6-deoxy- α -L-mannopyranosyl-(1 \rightarrow 6)- β -D-glukopyranosyloxy)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4*H*-chromen-4-on

Žlutý krystalický prášek, na světle tmavnoucí, je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný asi ve 400 dílech vroucí vody, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru, dobře rozpustný v roztocích alkalických hydroxidů a v amoniaku.

TT: asi 210 °C, za rozkladu.

Roztok v lihu 96% R má dvě absorpční maxima (2.2.25) při 259 nm a 362 nm.

Uchovává se chráněn před světlem.

Sabinen R $C_{10}H_{16}$ M_r 136,2

CAS 2009-00-9

1-Isopropyl-4-methylenbicyklo[3,1,0]hexan; 4(10)-thujen

Bezbarvá olejovitá kapalina.

d_{25}^{25} : asi 0,843.

n_D^{20} : asi 1,468.

TV: 163 °C až 165 °C.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Aurantii amari floris etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

Sacharosa R

Viz článek *Saccharosum*.

Při použití ke kontrole polarimetrů se použije látka uchovávaná v zatavené ampulce.

Salicyldazin R $C_{14}H_{12}N_2O_2$ M_r 240,3

2,2'-Azinodimethyldifenol

Příprava. Rozpustí se 0,30 g *hydraziniumsulfatu R* v 5 ml *vody R*, přidá se 1 ml *kyseliny octové ledové R* a 2 ml čerstvě připraveného roztoku *salicylaldehydu R* 20% (V/V) ve *2-propanolu R*. Smíchá se a nechá se stát, dokud se nevytvoří žlutá sraženina. Směs se dvakrát vytřepe s 15 ml *dichlormethanu R*. Organické fáze se spojí a vysuší nad *síranem sodným bezvodým R*. Roztok se dekantuje nebo filtruje a odpaří se do sucha. Rekrystalizuje se ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *toluenu R* (40 + 60) za chlazení. Krystaly se vysuší ve vakuu.

TT: asi 213 °C.

Chromatografie. Zkouší se postupem předepsaným ve zkoušce pro hydrazin v článku *Povidonum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvma.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3715

Salicylaldehyd RC₇H₆O₂M_r 122,1

CAS 90-02-8

2-Hydroxybenzaldehyd

Čirá bezbarvá olejovitá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 1,167. n_D^{20} : asi 1,574.

TT: asi -7 °C.

TV: asi 196 °C.

Salicylan sodný RViz článek *Natrii salicylas*.**Salicylan železitý RS**

0,10 g *síranu amonno-železitého R* se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 48 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 100 ml. K tomuto roztoku se přidá 50 ml roztoku *salicylanu sodného R* (11,5 g/l), 10 ml *kyseliny octové zředěné RS* a 80 ml roztoku *octanu sodného R* (136 g/l) a zředí se *vodou R* na 500 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

SDS-PAGE elektrodoový roztok RS

151,4 g *trometamolu R*, 721,0 g *glycinu R* a 50,0 g *laurylsíranu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5000 ml. V čas potřeby se potřebný objem roztoku zředí *vodou R* desetkrát a promíchá se. Změří se pH (2.2.3) zředěného roztoku. pH má hodnotu mezi 8,1 až 8,8.

SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro vzorek RS

1,89 g *trometamolu R*, 5,0 g *laurylsíranu sodného R*, 50 mg *modři bromfenolové R* a 25,0 ml *glycerolu R* se rozpustí ve 100 ml *vody R*. pH roztoku se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 6,8 a směs se zředí *vodou R* na 125 ml.

Selen R

Se

A_r 79,0

CAS 7782-49-2

Hnědočervený až černý prášek nebo zrna. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v kyselině dusičné.

TT: asi 220 °C.

Serin RViz článek *Serinum*.**Silice citronová R**Viz článek *Citri etheroleum*.

3716 Zkoumadla***Silikagel aminopropylmethylsilanizovaný pro chromatografii R***

Je to silikagel s jemnými částicemi (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním aminopropylmethylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel aminopropylsilanizovaný pro chromatografii R

Silikagel s jemnými částicemi (3 μm až 10 μm) chemicky upravený navázáním aminopropylsilanových skupin na povrchu. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Bílý jemný homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel bezvodý R

CAS 112926-00-8

Je to částečně dehydratovaná amorfnní zpolymerovaná kyselina křemičitá. Má schopnost absorbovat při 20 °C vodu asi 30 % své hmotnosti. Jako indikátor obsahuje chlorid kobaltnatý. Je prakticky nerozpustný ve vodě, částečně je rozpustný v roztoku hydroxidu sodného.

Silikagel butylsilanizovaný R

Je to velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním butylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Bílý jemný homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Kuličky oxidu křemičitého: 30 nm.

Objem pórů: 0,6 cm³/g.

Specifický povrch: 80 m²/g.

Silikagel dimethyloktadecylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním dimethyloktadecylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Nepravidelná velikost částic.

Specifický povrch: 300 m²/g.

Silikagel fenylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (5 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním fenylových skupin.

Silikagel fenylsilanizovaný pro chromatografii R1

Velmi jemný silikagel (5 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním fenylových skupin. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3717

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu.

Kuličky oxidu křemičitého: 8 nm.

Specifický povrch: 180 m²/g.

Obsah uhlíku: 5,5 %.

Silikagel GF254 R

CAS 112926-00-8

Obsahuje asi 13 % síranu vápenatého hemihydrátu a asi 1,5 % fluorescenčního indikátoru pro detekci při 254 nm.

Bílý jemný homogenní prášek. Průměrná velikost částic je asi 15 μm.

Obsah síranu vápenatého. Stanoví se postupem uvedeným v odstavci *Silikagel G R*.

Hodnota pH (2.2.3). Stanoví se postupem uvedeným v odstavci *Silikagel G R*.

Zkouška fluorescence. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu GF₂₅₄ R* se na 10 bodů startu nanese 1 μl až 10 μl roztoku *kyseliny benzoové R* (1,0 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *2-propanolu R* (10 + 90). Vyvíjí se po dráze 10 cm stejnou směsí. Po odpaření rozpouštědel se chromatogram pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Tmavé skvrny na fluoreskujícím pozadí v horní třetině chromatogramu odpovídají kyselině benzoové o obsahu od 2 μg a výše.

Silikagel G R

CAS 112926-00-8

Obsahuje asi 13 % síranu vápenatého hemihydrátu (CaSO₄ · 0,5 H₂O).

Bílý jemný homogenní prášek. Průměrná velikost částic je asi 15 μm.

Stanovení obsahu síranu vápenatého. 0,25 g se naváží do kuželové baňky se zabroušenou zátkou, přidají se 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 100 ml *vody R*. Intenzivně se třepe 30 min, potom se filtruje přes filtr ze slinutého skla a zbytek se promyje. Filtrát a promývací voda se spojí a stanoví se vápník komplexometricky (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,51 mg CaSO₄ · 0,5H₂O.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 7,0; měří se suspenze připravená třepáním 1,0 g s 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* po dobu 5 min.

Silikagel H silanizovaný R

Bílý jemný homogenní prášek, který po roztřepání s vodou plave na povrchu z důvodu svého hydrofobního charakteru.

Příprava vrstvy. Viz odstavec *Silikagel HF₂₅₄ silanizovaný R*.

Dělicí schopnost. Vyhovuje zkoušce předepsané v odstavci *Silikagel HF₂₅₄ silanizovaný R*.

Silikagel hexylsilanizovaný pro chromatografii R

Je to velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním hexylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Bílý jemný homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

3718 Zkoumadla**Silikagel HF254 silanizovaný R**

Obsahuje asi 1,5 % fluorescenčního indikátoru pro detekci při 254 nm.

Bílý jemný homogenní prášek, který po roztřepání s vodou plave na povrchu z důvodu svého hydrofobního charakteru.

Příprava tenké vrstvy. 30 g silikagelu silanizovaného HF₂₅₄ se intenzivně 2 min třepe se 60 ml směsí složené z objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (1 + 2). Nanese se opatrně na vyčištěné desky pomocí nanášecího zařízení, přičemž výška vrstvy je 0,25 mm. Suší se na vzduchu a potom 30 min v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Dělicí schopnost. Do 250ml kuželové baňky se zábrusem se naváží po 0,10 g *methyllauratu R*, *methylmyristatu R*, *methylpalmitatu R* a *methylstearatu R*. Přidá se 40 ml *hydroxidu draselného* v *lihu RS* a zahřívá se 1 h pod zpětným chladičem na vodní lázni. Po ochlazení se obsah baňky převede pomocí 100 ml *vody R* do dělicí nálevky, okyselí se (pH 2 až 3) *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* a směs se vytřepe třikrát s 10 ml *chloroformu R*. Chloroformové vrstvy se spojí, vysuší se *síranem sodným bezvodým R*, zfiltrují se a odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek po odpaření se rozpustí v 50 ml *chloroformu R*. Z tohoto roztoku se nanese po 10 µl na tři body startu připravené vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R* a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové R*, *vody R* a *dioxanu R* (10 + 25 + 65) po dráze 14 cm (2.2.27). Vrstva se suší 30 min při 120 °C a po ochlazení se postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (35 g/l) v *2-propanolu R* a zahřívá se při 150 °C do objevení skvrn. Potom se vrstva ponechá v parách *amoniaku 17,5% RS* tak dlouho, až je pozadí bílé. Na chromatogramu jsou čtyři zřetelně oddělené dobře definovatelné skvrny.

Silikagel HF254 R

Obsahuje asi 1,5 % fluorescenčního indikátoru pro detekci při 254 nm.

Bílý jemný homogenní prášek, průměrná velikost částic je asi 15 µm.

Hodnota pH (2.2.3). Stanoví se postupem uvedeným v odstavci *Silikagel G R*.

Fluorescence. Vyhovuje zkoušce předepsané v odstavci *Silikagel GF₂₅₄*.

Silikagel H R

Bílý jemný homogenní prášek, průměrná velikost částic je asi 15 µm.

Hodnota pH (2.2.3). Stanoví se postupem uvedeným v odstavci *Silikagel G R*.

Silikagel hydrofilní pro chromatografii R

Je to velmi jemný silikagel s částicemi (3 µm až 10 µm) na povrchu upravený k získání hydrofilních vlastností. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Silikagel kyansilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním kyansilanových skupin. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel nitrilovaný pro chromatografii R

Je to velmi jemný silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním kyanpropylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

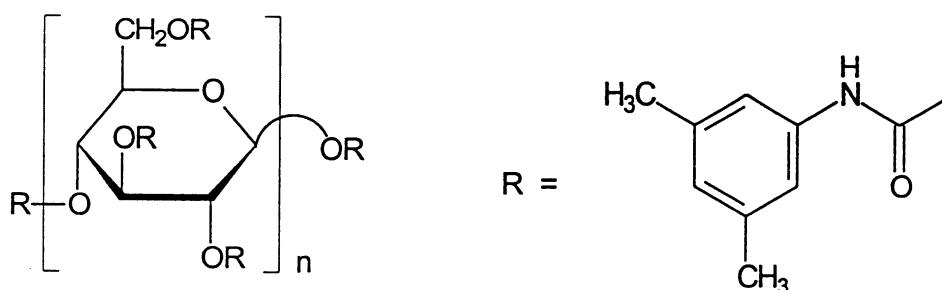
Silikagel nitrilovaný pro chromatografii R1

Velmi jemný silikagel obsahující porézní kulovité částice s chemicky vázanými nitrilovými skupinami. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

Silikagel OD pro chirální separace R

Velmi jemný silikagel pro chromatografii (5 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním následujících skupin:

**Silikagel oktadecylsilanizovaný deaktivovaný pro chromatografii bazických látek R**

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) upravený před zavedením oktadecylsilanových skupin opatrným vymytím a hydrolýzou většiny povrchových siloxanových můstků minimalizujících interakci s bazickými složkami. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním oktadecylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R1

Velmi jemný (velikost pórů 10 nm) ultračistý silikagel, na povrchu chemicky upravený navázáním oktadecylsilanových skupin (obsah uhlíku 19 %). Obsah kovů méně než 20 $\mu\text{g/g}$.

3720 Zkoumadla***Silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R2***

Velmi jemný (velikost pórů 15 nm) ultračistý silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním oktadecylsilanových skupin (obsah uhlíku 20 %), vhodný pro analýzy polycyklických aromatických uhlovodíků. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktadekanoylaminopropylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním aminopropylsilanových skupin, které jsou acylovány oktadekanoylovými skupinami. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktadecylsilanizovaný deaktivovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii bazických látek R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) o velikosti pórů 10 nm a obsahu uhlíku 16 % předem upravený před navázáním oktadecylsilanových skupin vymytím a hydrolyzou většiny povrchových siloxanových můstků. K další minimalizaci interakce s bazickými sloučeninami je odstíněna většina zbývajících silanolových skupin opatrným uzavřením jejich konců. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktadecylsilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním oktadecylsilanových skupin. K minimalizaci interakce s bazickými sloučeninami je odstíněna většina zbývajících silanolových skupin opatrným uzavřením jejich konců. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktylsilanizovaný pro chromatografii R1

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových a methylových skupin (dvojitě navázaná fáze). Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel oktylsilanizovaný pro chromatografii R2

Velmi jemný (velikost pórů 10 nm) ultračistý silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových skupin (obsah uhlíku 19 %). Obsah kovů méně než 20 $\mu\text{g/g}$.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3721

Silikagel pro chromatografii, aniontový měnič R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený zavedením kvartérních amoniových skupin. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Rozmezí hodnoty pH pro použití: 2 až 8.

Silikagel pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm). Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel pro vylučovací chromatografii R

Velmi jemný silikagel (10 μm) s velmi hydrofilním povrchem. Střední velikost pórů je 30 nm. Je kompatibilní s vodnými roztoky s hodnotou pH 2 až 8 a s organickými rozpouštědly. Je vhodný k dělení proteinů s relativní molekulovou hmotností $1 \cdot 10^3$ až $3 \cdot 10^5$.

Silikagel pro chromatografii, diol R

Kulovité částice oxidu křemičitého s navázanými dihydroxypropylovými skupinami. Velikost pórů 10 nm.

Silikagel s navázaným derivátem amylosy pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním derivátu amylosy. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Bílý jemný homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Silikagel trimethylsilanizovaný pro chromatografii R

Velmi jemný silikagel (3 μm až 10 μm) na povrchu chemicky upravený navázáním trimethylsilanových skupin. Velikost částic je uvedena za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Sinensetin R

$C_{20}H_{20}O_7$

M_r 372,37

CAS 2306-27-6

3',4',5,6,7-Pentamethoxyflavon

Síra R

Viz článek *Sulfur ad usum externum*.

Síran amonno-železitý R

$FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$

M_r 482,2

CAS 7783-83-7

Síran amonno-železitý dodekahydrát

3722 Zkoumadla

Světle fialové krystaly, zvětrávající, velmi snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Síran amonno-železitý RS2

Roztok síranu amonno-železitého R (100 g/l). V případě potřeby se před použitím filtruje.

Síran amonno-železitý RS5

30,0 g síranu amonno-železitého R se třepe se 40 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 100 ml. Pokud je roztok zakalený, odstředí se nebo filtruje.

Uchovává se chráněn před světlem.

Síran amonno-železitý RS6

20 g síranu amonno-železitého R se rozpustí v 75 ml vody R, přidá se 10 ml roztoku kyseliny sírové R 2,8% (V/V) a zředí se vodou R na 100 ml.

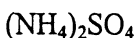
Síran amonno-železnatý R M_r 392,2

CAS 7783-85-9

Síran amonno-železnatý hexahydrát

Světle modrozelené krystaly nebo zrna. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

Síran amonný R M_r 132,1

CAS 7783-20-2

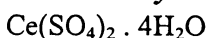
Bezbarvé krystaly nebo bílá zrna. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,0; měří se roztok (50 g/l) ve vodě prosté oxidu uhličitého R.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %.

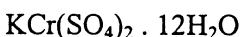
Síran barnatý R

Viz článek Barií sulfas.

Síran ceričitý R M_r 404,3

CAS 123333-60-8

Žlutý nebo oranžově žlutý krystalický prášek nebo krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, pomalu se rozpouští ve zředěných kyselinách.

Síran draselno-chromitý R M_r 499,4

CAS 7788-99-0

Síran draselno-chromitý dodekahydrát

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3723

Velké fialovočervené až černé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Síran draselno-hlinitý R

Viz článek *Kalii aluminii sulfas*.

Síran draselný R

K_2SO_4

M_r 174,3

CAS 7778-80-5

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

Síran hořečnatý R

Viz článek *Magnesii sulfas*.

Síran lithný R

$Li_2SO_4 \cdot H_2O$

M_r 128,0

CAS 10102-25-7

Síran lithný monohydrát

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Síran manganatý R

$MnSO_4 \cdot H_2O$

M_r 169,0

CAS 10034-96-5

Síran manganatý monohydrát

Slabě růžový krystalický prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Ztráta žiháním. 10,0 % až 12,0 %; stanoví se s 1,000 g při 500 °C.

Síran měďnatý R

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$

M_r 249,7

CAS 7758-99-8

Modrý prášek nebo tmavě modré krystaly, pomalu zvětrávající. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Síran měďnatý RS

Roztok 125 g/l.

Síran nikelnatý R

$NiSO_4 \cdot 7H_2O$

M_r 280,9

CAS 10101-98-1

Heptahydrát síranu nikelnatého

Zelený krystalický prášek nebo zelené krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

3724 Zkoumadla

Síran rtuťnatý RS

CAS 7783-35-9

1,0 g oxidu rtuťnatého R se rozpustí ve směsi 4 ml kyseliny sírové R a 20 ml vody R.

Síran sodný bezvodý R

CAS 7757-82-6

Je to síran sodný vyžíhaný při 600 °C až 700 °C, který vyhovuje požadavkům článku *Natrii sulfas* a zkoušce:

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; stanoví se sušením v sušárně při 130 °C.

Síran thalný R Tl_2SO_4 M_r 504,8

CAS 7446-18-6

Bílé kosodélníkové hranoly, těžce rozpustné ve vodě a prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Síran vápenatý R $\text{CaSO}_4 \cdot 0,5 \text{H}_2\text{O}$ M_r 145,1

CAS 10034-76-1

Síran vápenatý hemihydrát

Bílý prášek, dobře rozpustný v asi 1500 dílech vody, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Smíchá-li se s vodou v hmotnostním poměru 2 : 1, rychle tuhne na tvrdou a pórovitou hmotu.

Síran vápenatý RS

5,0 g síranu vápenatého R se třepe 1 h se 100 ml vody R a zfiltruje se.

Síran zinečnatý R

Viz článek *Zinci sulfas*.

Síran železitý R $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

CAS 10028-22-5

Nažloutle bílý prášek, velmi hygroskopický, rozkládající se na vzduchu, těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech chráněn před světlem.

Síran železnatý R

Viz článek *Ferrosi sulfas*.

Síran železnatý RS2

0,45 g síranu železnatého R se rozpustí v 50 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se vodou prostou oxidu uhličitého R na 100 ml.

Připravuje se v čas potřeby.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3725

Sirouhlík RCS₂ *M_r* 76,1 CAS 75-15-0

Disulfid uhličitý

Bezbarvá nebo nažloutlá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,26.

TV: 46 °C až 47 °C.

Sirovodík RH₂S *M_r* 34,08 CAS 7783-06-4

Sulfan

Plyn těžce rozpustný ve vodě.

Sirovodík R1H₂S *M_r* 34,08 CAS 7783-06-4Obsahuje nejméně 99,7 % (V/V) H₂S.**Sirovodík RS**

Čerstvě připravený roztok *sirovodíku R* ve *vodě R*. Roztok nasycený při 20 °C obsahuje asi 0,4 % až 0,5 % H₂S.

Sířičitan sodný bezvodý RViz článek *Natrii sulfis*.**Sířičitan sodný R**Viz článek *Natrii sulfis heptahydricus*.**Skopolaminiumbromid R**Viz článek *Scopolamini hydrobromidum*.**Směs formylační dle Béhala R**

10,0 g *kyseliny mravenčí bezvodé R* se opatrně smíchá s 20,0 g *acetanhydridu R* při teplotě 0 °C; teplota směsi nepřesahuje 15 °C. Směs se pak během 15 min zahřeje na 50 °C a ihned se rychle ochladí. Roztok je bezbarvý.

Připravuje se v čas potřeby.

Směs redukční R

K získání homogenní směsi se v následujícím pořadí rozetře 20 mg *bromidu draselného R*, 0,50 g *hydraziniumsulfatu R* a 5,0 g *chloridu sodného R*.

3726 Zkoumadla**Sodík R**

Na A_r 22,99 CAS 7440-23-5

Kov, jehož povrch po čerstvém řezu se šedostříbrně leskne. Při přímém styku se vzduchem rychle oxiduje na hydroxid sodný a potom se mění na uhličitán sodný. Sodík reaguje prudce s vodou, přičemž se uvolňuje vodík a tvoří se roztok hydroxidu sodného. Sodík je dobře rozpustný v bezvodém methanolu za tvorby vodíku a roztoku methanolatu sodného; prakticky je nerozpustný v etheru a etheru petrolejovém. Uchovává se pod etherem petrolejovým nebo tekutým parafinem.

Sodná sůl kyseliny glukuronové R

$C_6H_9NaO_7 \cdot H_2O$ M_r 234,1 CAS 14984-34-0

Monohydrát sodné soli kyseliny D-glukuronové

$[\alpha]_D^{20}$: asi +21,5°, měří se roztok (20 g/l).

Sorbitol R

Viz článek *Sorbitolum*.

Squalan R

$C_{30}H_{62}$ M_r 422,8 CAS 111-01-3

2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetrakosan

Olejovitá bezbarvá kapalina, snadno rozpustná v etheru a mastných olejích, těžce rozpustná v acetonu, v lihu 96%, v kyselině octové ledové a methanolu.

d_{20}^{20} : 0,811 až 0,813.

n_D^{20} : 1,451 až 1,453.

Stabilizátor polymerů R1

$C_{50}H_{66}O_8$ M_r 795 CAS 32509-66-3

Ethylenbis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butyrat]

Krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v etheru petrolejovém, velmi snadno rozpustný v acetonu, v etheru a v methanolu.

TT: asi 165 °C.

Stabilizátor polymerů R2

$C_{54}H_{78}O_3$ M_r 775

4,4',4''-[2,4,6-Trimethyl-1,3,5-benzentriyl-tris(methylen)]tris(2,6-di-terc.butylfenol)

Krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 244 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3727

Stabilizátor polymerů R3 $C_{73}H_{108}O_{12}$ M_r 1178

CAS 6683-19-8

Pentaerytrityl-tetrakis[3-(3,5-bis-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat]

Bílý až slabě žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v hexanu.

TT: 110 °C až 125 °C. α forma: 120 °C až 125 °C. β forma: 110 °C až 115 °C.**Stabilizátor polymerů R4** $C_{35}H_{62}O_3$ M_r 530,9

CAS 2082-79-3

Oktadecyl-[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat]

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v acetonu a hexanu, těžce rozpustný v methanolu.

TT: 49 °C až 55 °C.**Stabilizátor polymerů R5** $C_{48}H_{69}N_3O_6$ M_r 784,1

CAS 27676-62-6

1,3,5-Tris(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxybenzyl)-1,3,5-triazin-2,4,6-1*H*,3*H*,5*H*-trion

Bílý krystalický prášek.

TT: 218 °C až 222 °C.**Stabilizátor R6** $C_{41}H_{82}O_6P_2$ M_r 733

3,9-bis(oktadecyloxy)-2,4,8,10-tetraoxa-3,9-difosfapiro[5,5]undekan (dioxafosfan)

Bílá voskovitá látka, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v uhlovodících.

TT: 40 °C až 70 °C.**Stabilizátor polymerů R7** $C_{30}H_{58}O_4S$ M_r 514,8

CAS 123-28-4

Didodecyl-(3,3'-thiodipropionat)

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a etheru petrolejovém, těžce rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 39 °C.**Stabilizátor polymerů R8** $C_{42}H_{82}O_4S$ M_r 683

CAS 693-36-7

Dioktadecyl-(3,3'-thiodipropionat)

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v acetonu, lihu 96% a etheru petrolejovém.

TT: 58 °C až 67 °C.

3728 Zkoumadla**Stabilizátor polymerů R9** $C_{42}H_{63}O_3P$ M_r 647

CAS 31570-04-4

Tris(2,4-di-terc.butylfenyl)fosfit

Bílý prášek.

TT: asi 182 °C až 186 °C.

Streptomyciniumsulfat RViz článek *Streptomycini sulfas*.**Strychniniumnitrat R** $C_{21}H_{23}N_3O_5$ M_r 397,4

CAS 66-32-0

Bezbarvé jehličkovité krystaly nebo bílý mikrokrystalický prášek.

Je mírně rozpustný ve vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se postupem uvedeným v článku *Strychni semen*. Nanáší se 10 μ l roztoku (1 mg/ml) v lihu 96% R. Na získaném chromatogramu je po postřiku v ultrafialovém světle při 254 nm jen jedna skvrna.

Styrendivinylbenzen-kopolymer R

Síťovaný polymer, porézní a tvrdý, ve formě kuliček. Vyrábějí se různé druhy s rozdílnou velikostí kuliček. Velikost kuliček se udává v závorce za názvem zkoumadla u příslušné zkoušky.

Sudan I R $C_{16}H_{12}N_2O$ M_r 248,3

CAS 842-07-9

Colour Index 12055

1-Fenylazo-2-naftol

Oranžovočervený prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu.

TT: asi 131 °C.

Sudan III R $C_{22}H_{16}N_4O$ M_r 352,4

CAS 85-86-9

Colour Index 26 100, Schultz 532, Červeň sudanová

1-[4-(fenylazo)fenylazo]-2-naftol

Hnědočervený prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v chloroformu, kyselině octové ledové a mírně rozpustný v lihu 96%, etheru, acetonu a v tucích.

TT: min. 170 °C.

Sulfanilamid R $C_6H_8N_2O_2S$ M_r 172,2

CAS 63-74-1

4-Aminobenzensulfonamid

Bílý prášek, těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve vroucí vodě, v acetonu, ve zředěných roztocích kyselin a alkalických hydroxidů, mírně rozpustný v lihu 96%, v etheru a etheru petrolejovém.

TT: asi 165 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3729

Sulfathiazol R $C_9H_9N_3O_2S_2$ M_r 255,3

CAS 72-14-0

4-Amino-N-(2-thiazolyl)benzensulfonamid

Bílý nebo nažloutle bílý prášek nebo krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96%. Dobře se rozpouští ve zředěných roztocích minerálních kyselin, alkalických hydroxidů a uhličitánů.

TT: asi 200 °C.**Sulfid sodný R** $Na_2S \cdot 9H_2O$ M_r 240,2

CAS 1313-84-4

Bezbarvé, rychle žloutnoucí, roztékající se krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Sulfid sodný RS

12 g *sulfidu sodného R* se rozpustí za zahřívání v 45 ml směsi objemových dílů *vody R* a *glycerolu 85% R* (10 + 29). Po ochlazení se stejnou směsí zředí na 100 ml. Roztok je bezbarvý.

Škrob rozpustný R

CAS 9005-84-9

Bílý prášek.

Roztok 20 g/l v horké *vodě R* nejvýše slabě opalizuje a po ochlazení zůstane tekutý.

Škrob RS

1,0 g *škrobu rozpustného R* se rozmíchá v 5 ml *vody R* a směs se za míchání vleje do 100 ml vroucí *vody R* obsahující 10 mg *jodidu rtuťnatého R*.

Před každým použitím se provede zkouška citlivosti.

Zkouška citlivosti. Směs 1 ml roztoku škrobu, 20 ml *vody R*, asi 50 mg *jodidu draselného R* a 0,05 ml *jodu RS1* je zbarvena modře.

Škrob RS1

1 g *škrobu rozpustného R* se smíchá s malým množstvím studené *vody R*. Tato směs se za míchání přidá k 200 ml vroucí *vody R*. Přidá se 250 mg *kyseliny salicylové R* a povaří se 3 min. Ihned se přeruší zahřívání a roztok se ochladí.

Pokud je nutné dlouhodobé uchovávání, roztok by měl být uchováván při 4 °C až 10 °C. Není-li bod ekvivalence při titraci z modré do bezbarvé ostrý, připraví se čerstvý roztok škrobu.

Jestliže je roztok škrobu uchováván za chlazení, je stabilní asi 2 až 3 týdny.

Zkouška citlivosti. Směs 2 ml *škrobu RS1*, 20 ml *vody R*, asi 50 mg *jodidu draselného R* a 0,05 ml *jodu RS1* je zbarvena modře.

Škrob s jodidem draselným RS

0,75 g *jodidu draselného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R*. Zahřeje se k varu, za míchání se přidá 0,50 g *škrobu rozpustného R* v 35 ml *vody R*. Nechá se 2 min povařit a ochladí se.

3730 Zkoumadla

Zkouška citlivosti. K 15 ml škrobového roztoku s jodidem draselným se přidá 0,05 ml *kyseliny octové ledové R* a 0,3 ml *jodu RS2*. Roztok zmodrá.

Škrob prostý jodidu RS

Roztok se připraví stejně jako v odstavci *Škrob RS* s tím rozdílem, že se nepřidá jodid rtuťnatý. Připravuje se v čas potřeby.

Šťavelan amonný R $C_2H_8N_2O_4 \cdot H_2O$ M_r 142,1

CAS 6009-70-7

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

Šťavelan amonný RS

Roztok 40 g/l.

Šťavelan sodný R $C_2Na_2O_4$ M_r 134,0

CAS 62-76-0

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a etheru.

Tagatosa R $C_6H_{12}O_6$ M_r 180,16

CAS 87-81-0

D-lyxo-Hexulosa

Bílý prášek.

$[\alpha]_D^{20}$: -2,3°; roztok (21,9 g/l) ve vodě R.

TT: 134 °C až 135 °C.

Tanin

CAS 1401-55-4

Nažloutlý až světle hnědý amorfni prášek nebo lesklé lístky. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu, prakticky nerozpustný v etheru.

Uchovává se chráněn před světlem.

Terc.amylalkohol R $C_5H_{12}O$ M_r 88,1

CAS 75-85-4

Terc.pentylalkohol, 2-methyl-2-butanol

Těkavá hořlavá kapalina. Je snadno rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96%, s etherem a s glycerolem.

d_{20}^{20} : asi 0,81.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 100 °C až 104 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Terc.butanol R

Viz odstavec *Terc.butylalkohol R*.

Terc.butylalkohol R M_r 74,1

CAS 75-65-0

2-Methyl-2-propanol

Čirá bezbarvá kapalina nebo krystalická hmota. Je dobře rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s etherem.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 81 °C až 83 °C.

Teplota tuhnutí (2.2.18). Asi 25 °C.

Terc.butylamin R M_r 73,1

CAS 75-64-9

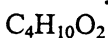
1,1-Dimethylethylamin; 2-amino-2-methylpropan

Kapalina mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : asi 0,694.

n_D^{20} : asi 1,378.

TV: asi 46 °C.

Terc.butylhydroperoxid R M_r 90,1

CAS 75-91-2

Hořlavá kapalina, dobře rozpustná v organických rozpouštědlech.

d_{20}^{20} : 0,898.

n_D^{20} : 1,401.

TV: 35 °C.

Terc.butylmethylether R M_r 88,1

CAS 1634-04-4

Bezbarvá čirá hořlavá kapalina.

n_D^{20} : asi 1,376.

Transmittance (2.2.25): nejméně 50 % při 240 nm,
nejméně 80 % při 255 nm,
nejméně 98 % při 280 nm;

měří se proti *vodě R* jako kontrolní tekutině.

Terc.pentylalkohol R M_r 88,1

CAS 75-85-4

Terc.amylalkohol; 2-methyl-2-butanol

Těkavá hořlavá kapalina, snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, s etherem a s glycerolem.

3732 Zkoumadla d_{20}^{20} : asi 0,81.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % destiluje mezi 100 °C a 104 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

Terpinen-4-ol R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,2

CAS 562-74-3

(S)-1-Isopropyl-4-methyl-3-cyklohexen-1-ol; (S)-p-menth-1-en-4-ol

Olejovitá bezbarvá kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,934. n_D^{20} : 1,477.

TV: 209 °C až 212 °C.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Lavandulae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % plochy všech získaných píků na chromatogramu.

 α -Terpineol R $C_{10}H_{18}O$ M_r 154,2

CAS 98-55-5

(RS)-2-(4-Methyl-3-cyklohexenyl)-2-propanol

Může obsahovat 1 % až 3 % β -terpineolu.

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96% a v etheru.

 d_{20}^{20} : asi 0,935. n_D^{20} : asi 1,483. $[\alpha]_D^{20}$: asi +92,5°.

TT: asi 35 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Anisi etheroleum*.

Zkoušený roztok. Roztok (100 g/l) v hexanu R.

Plocha hlavního píku je nejméně 97,0 % z celkové plochy píků. K píku odpovídajícímu hexanu se nepřihlíží.

 γ -Terpinen R $C_{10}H_{16}$ M_r 136,2

CAS 99-85-4

1-Isopropyl-4-methyl-1,4-cyklohexadien

 d_4^{15} : asi 0,850. n_D^{15} : 1,474 až 1,475.

TV: 183 °C až 186 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3733

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) postupem uvedeným v článku *Menthae piperitae etheroleum* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku odpovídajícího γ -terpinenu je nejméně 93,0 % celkové plochy píků.

Testosteron R

Viz článek *Testosteronum*.

Testosteronpropionat R

Viz článek *Testosteroni propionas*.

Tetraboritan sodný R

Viz článek *Natrii tetraboras*.

Tetraboritan sodný v kyselině sírové RS

9,55 g *tetraboritanu sodného R* se rozpustí zahřátím na vodní lázni v *kyselině sírové R* a zředí se stejnou kyselinou na 1000 ml.

Tetrabutylamoniumbromid R

$C_{16}H_{36}BrN$ M_r 322,4 CAS 1643-19-2

Bílé nebo téměř bílé krystaly.

TT: 102 °C až 104 °C.

Tetrabutylamoniumdihydrogenfosfat R

$C_{16}H_{38}NO_4P$ M_r 339,5 CAS 5574-97-0

Bílý prášek, hygroskopický.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 7,5; měří se roztok (170 g/l).

Absorbance (2.2.25). Absorbance roztoku (170 g/l) měřená při 210 nm je asi 0,10.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Tetrabutylamoniumhydrogensulfat R

$C_{16}H_{37}NO_4S$ M_r 339,5 CAS 32503-27-8

Bezbarvé krystaly nebo krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a methanolu.

TT: 169 °C až 173 °C.

Absorbance (2.2.25). Absorbance roztoku (50,0 g/l) měřená mezi 240 nm a 300 nm je nejvýše 0,05.

Tetrabutylamoniumhydroxid R

$C_{16}H_{37}NO \cdot 30H_2O$ M_r 799,9 CAS 2052-49-5

Bílé nebo téměř bílé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

3734 Zkoumadla

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{16}H_{37}NO \cdot 30 H_2O$.

Stanovení obsahu. 1,000 g se rozpustí ve 100 ml vody R. Ihned se titruje kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Provede se slepá zkouška.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS odpovídá 80,0 mg $C_{16}H_{37}NO \cdot 30 H_2O$.

Tetrabutylamoniumhydroxid (104 g/l) RS

Roztok obsahující 104 g/l $C_{16}H_{37}NO$ (M_r 259,5) se připraví rozpuštěním zkoumadla vhodné čistoty.

Tetrabutylamoniumhydroxid RS

Roztok obsahující 400 g/l $C_{16}H_{37}NO$ (M_r 259,5) vhodné čistoty.

Tetrabutylamoniumjodid R

$C_{16}H_{36}IN$

M_r 369,4

CAS 311-28-4

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{16}H_{36}IN$. Bílý nebo mírně zbarvený krystalický prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustný v lihu 96%.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,02 %.

Stanovení obsahu. 1,200 g se rozpustí ve 30 ml vody R, přidá se 50,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS a 5,0 ml kyseliny dusičné zředěné RS. Nadbytek dusičnanu stříbrného se titruje thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS za použití 2 ml síranu amonno-železitého RS2 jako indikátoru.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 36,94 mg $C_{16}H_{36}IN$.

Tetradecylamoniumbromid R

$C_{40}H_{84}BrN$

M_r 659,0

CAS 14937-42-9

Bílý nebo slabě zbarvený krystalický prášek nebo krystaly.

TT: 88 °C až 89 °C.

Tetradekan R

$C_{14}H_{30}$

M_r 198,4

CAS 629-59-4

n-Tetradekan

Bezbarvá kapalina. Obsahuje nejméně 99,5 % $C_{14}H_{30}$.

d_{20}^{20} : asi 0,76.

n_D^{20} : asi 1,429.

TT: asi -5 °C.

TV: asi 252 °C.

Tetradeterodimethylsilylvaleran sodný R

$C_6H_9^2H_4NaO_2Si$

M_r 172,3

Sodná sůl kyseliny (2,2,3,3-tetradetero)-4,4dimethyl-4-silylpentanové (TSP)

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3735

Stupeň deuterizace je nejméně 99 %.

Bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, v ethanolu a v methanolu.

TT: asi 300 °C.

Voda a deuteriumoxid. Nejvýše 0,5 %.

Tetraethylamoniumhydrogensulfat R $C_8H_{21}NO_4S$ M_r 227,3

CAS 16873-13-5

Hygroskopický prášek.

TT: asi 245 °C.

Tetraethylamoniumhydroxid RS $C_8H_{21}NO$ M_r 147,3

CAS 77-98-5

Roztok 200 g/l. Bezbarvá kapalina, silně alkalická.

d_{20}^{20} : asi 1,01.

n_D^{20} : asi 1,372.

Jakost pro HPLC.

Tetraethylenpentamin R $C_8H_{23}N_5$ M_r 189,3

CAS 112-57-2

3,6,9-Triazaundekan-1,11-diamin

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná v acetonu.

n_D^{20} : asi 1,506.

Uchovává se chráněn před vlhkostí a teplem.

Tetrafenylboritan sodný R $NaB(C_6H_5)_4$ M_r 342,2

CAS 143-66-8

Bílý až slabě žlutý objemný prášek, snadno rozpustný ve vodě a v acetonu.

Tetrafenylboritan sodný RS

Roztok 10 g/l. Je použitelný 1 týden, v případě potřeby se před použitím zfiltruje.

Tetraheptylamoniumbromid R $C_{28}H_{60}BrN$ M_r 490,7

CAS 4368-51-8

Bílý nebo slabě zbarvený krystalický prášek nebo krystaly.

TT: 89 °C až 91 °C.

Tetrahexylamoniumhydrogensulfat R $C_{24}H_{53}NO_4S$ M_r 451,8

CAS 32503-34-7

TT: 100 °C až 102 °C.

3736 Zkoumadla

Tetrahydrofuran R C_4H_8O M_r 72,1

CAS 109-99-9

Tetramethylenoxid

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, mísitelná s vodou, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,89.

Tetrahydrofuran, který nevyhovuje zkoušce na peroxidy, se nedestiluje.

Peroxidy. Do 12ml válce se zabroušenou zátkou o průměru asi 1,5 cm se převede 8 ml *škrobu s jodidem draselným RS*. Doplní se zkoušeným tetrahydrofuranem po značku, silně se protřepe a nechá stát 30 min chráněn před světlem. Přitom nevznikne žádné zbarvení.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícímu dodatečnému požadavku:

Transmittance (2.2.25): nejméně 20 % při 255 nm,
nejméně 80 % při 270 nm,
nejméně 98 % při 310 nm;

měří se proti *vodě R* jako kontrolní kapalině.

Tetrachlorethan R $C_2H_2Cl_4$ M_r 167,9

CAS 79-34-5

1,1,2,2-Tetrachlorethan

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,59. n_D^{20} : asi 1,495.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 145 °C až 147 °C.

Tetrachlormethan R

Viz odstavec *Chlorid uhličitý R*.

Tetraiodortuťnatan draselný RS

1,35 g *chloridu rtuťnatého R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Přidá se 5,0 g *jodidu draselného R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

Tetraiodortuťnatan draselný zásaditý RS

11 g *jodidu draselného R* a 15 g *jodidu rtuťnatého R* se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 100 ml. V čas potřeby se smíchají stejné objemové díly tohoto roztoku a roztoku *hydroxidu sodného R* (250 g/l).

Tetramethylamoniumhydrogensulfat R $C_4H_{13}NO_4S$ M_r 171,2

CAS 80526-82-5

Hygroskopický prášek.

TT: asi 295 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3737

Tetramethylamoniumchlorid R $C_4H_{12}ClN$ M_r 109,6

CAS 75-57-0

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě a v lihu 96%.

TT: asi 300 °C, za rozkladu.

Tetramethylamoniumhydroxid RS $C_4H_{13}NO$ M_r 91,2

CAS 75-59-2

Obsahuje nejméně 10,0 % $C_4H_{13}NO$. Čirá bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.*Stanovení obsahu.* K 1,000 g se přidá 50 ml vody R a titruje se kyselinou sírovou 0,05 mol/l VS za použití 0,1 ml červeně methylové RS jako indikátoru.1 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l VS odpovídá 9,12 mg $C_4H_{13}NO$.**Tetramethylamoniumhydroxid zředěný RS**

10 ml tetramethylamoniumhydroxidu RS se zředí lihem 96% prostým aldehydů R na 100 ml.

Připravuje se v čas potřeby.

Tetramethyldiaminodifenylmethan R $C_{17}H_{22}N_2$ M_r 254,4

CAS 101-61-1

4,4'-Methylen-bis(N,N-dimethylanilin)

Bílé až namodralé bílé krystaly nebo plátky, prakticky nerozpustné ve vodě, těžce rozpustné v lihu 96%, dobře rozpustné v minerálních kyselinách, snadno rozpustné v etheru.

TT: asi 90 °C.

Tetramethylethylendiamin R $C_6H_{16}N_2$ M_r 116,2

CAS 110-18-9

N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin

Bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou, s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,78. n_D^{20} : asi 1,418.

TV: asi 121 °C.

Tetramethylsilan R $C_4H_{12}Si$ M_r 88,2

CAS 75-76-3

TMS

Čirá bezbarvá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v acetonu a v lihu 96%.

 d_{20}^{20} : asi 0,64. n_D^{20} : asi 1,358.

TV: asi 26 °C.

3738 Zkoumadla

Při použití pro nukleární magnetickou rezonanční spektrometrii vyhovuje následující dodatečné zkoušce: v nukleárním magnetickém rezonančním spektru roztoku (100 g/l) v deuterizovaném chloroformu R, intenzita cizího signálu, kromě těchto vyvolaných spinovou interakcí mezi vedlejšími pásy a chloroformem, není větší než intenzita satelitních signálů C-13, které se objevují v odstupu 59,1 Hz po obou stranách hlavního signálu tetramethylsilanu.

Tetraoxalat draselný R

Viz odstavec *Kalium tetraoxalat R*.

Tetrasulfatoceričitan amonný R

$(\text{NH}_4)_4\text{Ce}(\text{SO}_4)_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

M_r 633,0

CAS 10378-47-9

Oranžově žlutý krystalický prášek nebo krystaly. Pomalu se rozpouští ve vodě.

Thebain R

$\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{NO}_3$

M_r 311,4

CAS 115-37-7

(5*R*,9*R*,13*S*)-4,5-Epoxy-3,6-dimethoxy-9*a*-methylmorfin-6,8-dien

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horkém ethanolu a v toluenu, těžce rozpustný v etheru.

TT: asi 193 °C.

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se postupem uvedeným ve zkoušce totožnosti B v článku *Opium crudum*. Na vrstvu se nanese 20 μl roztoku (0,5 g/l) do pruhu 3 mm x 20 mm. Na získaném chromatogramu se objeví oranžově červený nebo červený hlavní pruh s R_F asi 0,5.

Theofylin R

Viz článek *Theophyllum*.

Thiamazol R

$\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{S}$

M_r 114,2

CAS 60-56-0

Methimazol; 1-methyl-1*H*-imidazol-2-thiol

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu, mírně rozpustný v etheru.

TT: asi 145 °C.

Thioacetamid R

$\text{C}_2\text{H}_5\text{NS}$

M_r 75,1

CAS 62-55-5

Bezbarvé krystaly nebo krystalický prášek, je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

TT: asi 113 °C.

Thioacetamid RS

Roztok 40 g/l.

Thioglykolan sodný R $C_2H_3NaO_2S$ M_r 114,1

CAS 367-51-1

Merkaptooctan sodný

Bílý zrnitý prášek nebo krystaly. Je hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Thiokyanatan amonný R NH_4SCN M_r 76,1

CAS 1762-95-4

Bezbarvé rozplývavé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Thiokyanatan amonný RS

Roztok 76,0 g/l.

Thiokyanatan draselný R

KSCN

 M_r 97,2

CAS 333-20-0

Bezbarvé krystaly, rozplývavé, velmi snadno rozpustné ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Thiokyanatan draselný RS

Roztok 97,0 g/l.

Thiokyanatan rtuťnatý R $Hg(SCN)_2$ M_r 316,7

CAS 592-85-8

Bílý krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a v etheru, dobře rozpustný v roztocích chloridu sodného.

Thiokyanatan rtuťnatý RS

0,30 g thiokyanatanu rtuťnatého R se rozpustí v ethanolu R a zředí se jím na 100 ml. Roztok je použitelný jeden týden.

Thiokyanatan amonno-rtuťnatý RS

8,0 g chloridu rtuťnatého R a 9,0 g thiokyanatanu amonného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

Thiomersal R $C_9H_9HgNaO_2S$ M_r 404,8

CAS 54-64-8

Natrium-2-(ethylhydrargyriothio)benzoat

Lehký žlutobílý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

3740 Zkoumadla**Thiomočovina R**CH₄N₂S*M_r* 76,1

CAS 62-56-6

Bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

TT: asi 178 °C.

Thiosíran sodný R

Viz článek *Natrii thiosulfas*.

Threonin R

Viz článek *Threoninum*.

Thujon RC₁₀H₁₆O*M_r* 152,2

CAS 546-80-5

1-Isopropyl-4-methylbicyklo[3,1,0]hexan-3-on; (-)-α-thujon

Bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v mnoha dalších organických rozpouštědlech.

*n*_D²⁰: asi 1,455.

*d*₂₀²⁰: asi 0,925.

[α]_D²⁰: asi -15°.

TV: asi 86 °C.

Thymin RC₅H₆N₂O₂*M_r* 126,1

CAS 65-71-4

5-Methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion

Krátké jehličky nebo destičky, těžce rozpustné ve studené vodě, dobře rozpustné v horké vodě. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Thymolftalein RC₂₈H₃₀O₄*M_r* 430,5

CAS 125-20-2

2,2-Dimethyl-5,5'-diisopropylfenolftalein

Bílý nebo žlutobílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných alkalických roztocích.

Thymolftalein RS

Roztok 1,0 g/l v lihu 96% R.

Zkouška citlivosti. K 0,2 ml se přidá 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R; roztok zůstane bezbarvý. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 0,05 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 9,3 (bezbarvý) až pH 10,5 (modrý).

Thymol R

Viz článek *Thymolum*.

Při použití v plynové chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za podmínek uvedených v článku *Mentae piperitae etheroleum*.

Zkoušený roztok. 0,1 g se rozpustí v 10 ml *acetonu R*.

Plocha hlavního píku je nejméně 95,0 % celkové plochy získaných piků na chromatogramu (k píku acetonu se nepřihlíží).

Titan R

Ti A_r 47,88 CAS 7440-32-6

Obsahuje nejméně 99 % Ti.

Kovový prášek, jemný drátek (průměr nejvýše 0,5 mm) nebo houba.

TT: asi 1668 °C

Hustota: asi 4,507 g/cm³

***o*-Tolidin R**

C₁₄H₁₆N₂ M_r 212,29 CAS 119-93-97

3,3'-Dimethylbenzidín

Světle nahnědlý krystalický prášek pachu po anilinu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v etheru. Rozpouští se ve zředěných kyselinách.

TT: 129 °C až 131 °C.

Rozpustnost. 0,10 g se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a přidá se 20 ml *vody R*; vzniklý roztok je čirý.

***o*-Tolidin RS**

0,10 g *o*-tolidinu R se rozetře v porcelánové misce s 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS* a přidá se 100 až 200 ml *vody R*. Po rozpuštění se roztok převede pomocí *vody R* do odměrné baňky na 1000 ml, doplní se *vodou R* po značku a promíchá se.

Toluen R

C₇H₈ M_r 92,1 CAS 108-88-3

Methylbenzen

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

d_{20}^{20} : 0,865 až 0,870.

TV: asi 110 °C.

Toluen prostý síry R

Vyhovuje požadavkům uvedeným pro *Toluen R* a následujícím dodatečným požadavkům:

Sírné sloučeniny. 10 ml se zahřívá k varu 15 min pod zpětným chladičem s 1 ml *ethanolu R* a s 3 ml *olovnatanu draselného RS*. Po 5min stání vodná vrstva neztmavne.

3742 Zkoumadla

Sloučeniny odvozené od thiofenu. 2 ml se 5 min třepou s 5 ml *zkoumadla isatinového R*. Po 15min stání se spodní vrstva nezbarví do modra.

o-Toluensulfonamid R $C_7H_9NO_2S$ M_r 171,2

CAS 88-19-7

2-Methylbensulfonamid

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě a v etheru, dobře rozpustný v lihu 96% a v roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 156 °C.

p-Toluensulfonamid R $C_7H_9NO_2S$ M_r 171,2

CAS 70-55-3

4-Methylbensulfonamid, toluensulfonamid

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě a v etheru, dobře rozpustný v lihu 96% a v roztocích alkalických hydroxidů.

TT: asi 136 °C.

Chromatografie. Zkouší se za stejných podmínek a ve stejné koncentraci předepsané v článku *Tolbutamidum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

o-Toluidin R C_7H_9N M_r 107,2

CAS 95-53-4

2-Methylanilin

Slabě žlutá kapalina, která se vlivem vzduchu a světla barví červenohnědě. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných kyselinách.

d_{20}^{20} : asi 1,01.

n_D^{20} : asi 1,569.

TV: asi 200 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

p-Toluidin R C_7H_9N M_r 107,2

CAS 106-49-0

4-Methylanilin

Lesklé destičky nebo vločky. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a v lihu 96%, dobře rozpustný v etheru.

TT: asi 44 °C.

o-Toluidiniumchlorid R $C_7H_{10}ClN$ M_r 143,6

CAS 636-21-5

2-Methylaniliniumchlorid; 2-toluidiniumchlorid

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_7H_{10}ClN$.

TT: 215 °C až 217 °C.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky **3743**

Tosylargininiummethylesterchlorid R $C_{14}H_{23}ClN_4O_4S$ M_r 378,9

CAS 1784-03-8

L-1-[4-(methoxykarbonyl)-4-(tosylamido)butyl]guanidiniumchlorid

 $[\alpha]_D^{20}$: -12° až -16° ; měří se roztok (40 g/l).TT: asi $145^\circ C$.***Tosylargininiummethylesterchlorid RS***

98,5 mg *tosylargininiummethylesterchloridu R* se třepe s 5 ml *tlumivého roztoku trometamoluvého o pH 8,1* do rozpuštění. Po přidání 2,5 ml *červeně methylové směsného indikátoru RS* se zředí vodou *R* na 25,0 ml.

Tosylfenylalanylchlormethan R $C_{17}H_{18}ClNO_3S$ M_r 351,9

CAS 402-71-1

(S)-1-chlor-4-fenyl-3-(tosylamido)-2-butanon

 $[\alpha]_D^{20}$: -85° až -89° ; měří se roztok (10 g/l) v *lihu 96% R*. $A_{1cm}^{1\%}$: 290 až 320; měří se roztok v *lihu 96% R* při 228,5 nm.TT: asi $105^\circ C$.***Tosyllsylchlormethanhydrochlorid R*** $C_{14}H_{22}Cl_2N_2O_3S$ M_r 369,3

CAS 4238-41-9

(3S)-[7-chlor-5-(tosylamido)-6-oxoheptyl]amoniumchlorid

 $[\alpha]_D^{20}$: -7° až -9° ; měří se roztok (20 g/l). $A_{1cm}^{1\%}$: 310 až 340; měří se roztok při 230 nm ve *vodě R*.TT: asi $155^\circ C$, za rozkladu.***Tragant R***Viz článek *Tragacantha*.***Triacetin R*** $C_9H_{14}O_6$ M_r 218,2

CAS 102-76-1

Glyceroltriacetat

Bezbarvá až nažloutlá, téměř čirá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s *lihem 96%* a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,16. n_D^{20} : asi 1,43.TV: asi $260^\circ C$.

3744 Zkoumadla

Triamcinolon R $C_{21}H_{27}FO_6$ M_r 394,4

CAS 124-94-7

9-Fluor-11 β ,16 α ,17,21-tetrahydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion

Krystalický prášek.

TT: 262 °C až 263 °C.

Triethanolamin R $C_6H_{15}NO_3$ M_r 149,2

CAS 102-71-6

2,2',2''-Nitrilotriethanol

Bezbarvá viskózní velmi hygroskopická kapalina, která působením vzduchu a světla hnědne. Je mísitelná s vodou, s acetonem, s lihem 96%, s glycerolem 85% a s methanolem.

 d_{20}^{20} : asi 1,13.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Triethylamin R $C_6H_{15}N$ M_r 101,2

CAS 121-44-8

N,N-Diethylethanamin

Bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě při teplotě pod 18,7 °C, mísitelná s lihem 96% a etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,727. n_D^{20} : asi 1,401.

TV: asi 90 °C.

Triethylendiamin R $C_6H_{12}N_2$ M_r 112,2

1,4-Diazabicyklo[2,2,2]oktan

Velmi hygroskopické krystaly, které při pokojové teplotě snadno sublimují, snadno se roz-pouštějí ve vodě, v acetonu a v ethanolu.

TT: asi 158 °C.

TV: asi 174 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Trifenylnmethanol R $C_{19}H_{16}O$ M_r 260,3

CAS 76-84-6

Trifenylnkarbinol

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.

Trifenylnltetrazoliumchlorid R $C_{19}H_{15}ClN_4$ M_r 334,8

CAS 298-96-4

2,3,5-Trifenyln-2H-tetrazoliumchlorid

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3745

Obsahuje nejméně 98,0 % $C_{19}H_{15}ClN_4$. Slabě nebo tmavě žlutý prášek, dobře rozpustný ve vodě, v acetonu a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

TT: asi 240 °C, za rozkladu.

Stanovení obsahu. 1,000 g se rozpustí ve směsi 5 ml kyseliny dusičné zředěné *RS* a 45 ml vody *R*. Přidá se 50,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l *VS* a zahřeje se k varu. Po ochlazení se přidají 3 ml dibutylftalatu *R*. Po silném protřepání a po přidání 2 ml síranu amonno-železitého *RS2* jako indikátoru se titruje thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l *VS*.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l *VS* odpovídá 33,48 mg $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Uchovává se chráněn před světlem.

Trifenyltetrazoliumchlorid *RS*

Roztok 5,0 g/l v lihu 96% prostém aldehydů *R*.

Uchovává se chráněn před světlem.

Trifluoracetanhydrid *R*

$C_4F_6O_3$

M_r 210,0

CAS 407-25-0

Bezbarvá kapalina.

d_{20}^{20} : asi 1,5.

Trigonellinhydrochlorid *R*

$C_7H_8ClNO_2$

M_r 173,6

CAS 6138-41-6

1-Methylpyridinium-3-karboxylat-hydrochlorid; hydrochlorid N-methylbetainu kyseliny nikotinové

Krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

TT: asi 258 °C.

1,1,1-Trichlorethan *R*

$C_2H_3Cl_3$

M_r 133,4

CAS 71-55-6

Methylchloroform

Nehořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v acetonu, v etheru a v methanolu.

d_{20}^{20} asi 1,34.

n_D^{20} : asi 1,438.

TV: asi 74 °C.

Trichlorethylen *R*

C_2HCl_3

M_r 131,4

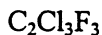
CAS 79-01-6

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d_{20}^{20} : asi 1,46.

n_D^{20} : asi 1,477.

3746 Zkoumadla

Trichlortrifluorethan R M_r 187,4

CAS 76-13-1

1,2,2-Trifluor-1,1,2-trichlorethan

Bezbarvá těkavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s acetonem a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 1,58.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 98 % predestiluje při 47 °C až 48 °C.

Trikosan R M_r 324,6

CAS 638-67-5

Bílé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v etheru a v hexanu.

 n_D^{20} : asi 1,447.

TT: asi 48 °C.

Trimethylpentan R M_r 114,2

CAS 540-84-1

2,2,4-Trimethylpentan

Bezbarvá zápalná kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu.

 d_{20}^{20} : 0,691 až 0,696. n_D^{20} : 1,391 až 1,393.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 98 °C až 100 °C.

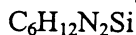
Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Transmitance (2.2.25). Nejméně 98 % při 250 nm až 420 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

Trimethylpentan R1

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro trimethylpentan R s následující modifikací:

Absorbance (2.2.25). Nejvýše 0,07 od 220 nm do 360 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

N-Trimethylsilylimidazol R M_r 140,3

CAS 18156-74-6

Bezbarvá hygroskopická kapalina.

 d_{20}^{20} : asi 0,96. n_D^{20} : asi 1,48.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Trinitrofenolat sodný RS

10 ml roztoku hydroxidu sodného R (50 g/l) se smíchá s 20 ml trinitrofenolu RS a zředí se vodou R na 100 ml. Je použitelný 2 dny.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3747

Trinitrofenol R $C_6H_3N_3O_7$ M_r 229,1

CAS 88-89-1

2,4,6-Trinitrofenol; kyselina pikrová

Žluté hranoly nebo destičky. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se zvlhčený vodou R.

Trinitrofenol RS

Roztok 10 g/l.

Trinitrofenol RS1100 ml nasyceného roztoku *trinitrofenolu R* se smíchá s 0,25 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*.**Triskyanethoxypropan R** $C_{12}H_7N_3O_3$ M_r 251,3

1,2,3-Tris(2-kyanethoxy)propan

Viskózní hnědožlutá kapalina, dobře rozpustná v methanolu. Používá se jako stacionární fáze v plynové chromatografii.

 d_{20}^{20} : asi 1,11.

Viskozita (2.2.9). Asi 172 mPa.s.

Trombin hovězí R

CAS 9002-04-4

Enzymatický přípravek získaný z hovězí plazmy, který mění fibrinogen na fibrin.

Žlutobílý prášek.

Uchovává se při teplotě pod 0 °C.

Trombin lidský R

CAS 9002-04-4

Vysušený lidský trombin je enzymový přípravek, který mění lidský fibrinogen na fibrin. Získává se z tekuté lidské plazmy srážením vhodnými solemi a organickými rozpouštědly za kontroly pH, koncentrace iontů a teploty.

Žlutobílý prášek, snadno rozpustný v roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) za tvorby zakaleného světla žlutého roztoku. Uchovává se v zatavených sterilních obalech v atmosféře dusíku, chráněn před světlem a při teplotě pod 25 °C.**Trombin lidský RS***Trombin lidský R* se rozpustí podle návodu výrobce a zředí se *tlumivým roztokem trometamolo-
vým o pH 7,4* na koncentraci 5 m.j. v mililitru.

3748 Zkoumadla**Trometamol R**

Viz článek *Trometamolum*.

Trometamol RS

Množství *trometamolu R* odpovídající 24,22 g $C_4H_{11}NO_3$ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Trometamol RSI

60,6 mg *trometamolu R* a 0,234 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Trypsin R

CAS 9002-07-7

Proteolytický enzym získaný aktivací trypsinogenu extrahovaného z hovězího pankreatu (*Bos taurus* L.). Bílý krystalický nebo amorfní prášek, mírně rozpustný ve vodě.

Trypsin pro peptidové mapování R

CAS 9002-07-7

Trypsin vysoké čistoty, upravený tak, aby byl zbaven chymotrypsinové účinnosti.

Tryptofan R $C_{11}H_{12}N_2O_2$ M_r 204,2

CAS 73-22-3

Bílý nebo žlutobílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

$[\alpha]_D^{20}$: asi -30° , stanoví se s roztokem 10 g/l.

Tyramin R $C_8H_{11}NO$ M_r 137,2

CAS 51-67-2

4-(2-Aminoethyl)fenol

Krystaly, mírně rozpustné ve vodě, dobře rozpustné ve vroucím ethanolu.

TT: 164 °C až 165 °C.

Tyrosin R $C_9H_{11}NO_3$ M_r 181,2

CAS 60-18-4

Kyselina 2-amino-3-(4-hydroxyfenyl)propionová

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé nebo bílé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v ethanolu a v etheru, dobře rozpustný ve zředěné kyselině chlorovodíkové a v roztocích alkalických hydroxidů.

Chromatografie. Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Levodopum*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3749

Uhličitan amonný R

CAS 506-87-6

Je to směs proměnného množství hydrogenuhličitanu amonného (NH_4HCO_3 , M_r 79,1) a amoniumkarbamatu ($\text{H}_2\text{NCOONH}_4$, M_r 78,1).

Uvolňuje nejméně 30 % NH_3 (M_r 17,03).

Bílá průsvitná hmota, pomalu rozpustná v asi 4 dílech vody, rozkládá se vroucí vodou.

Stanovení obsahu. 2,00 g se rozpustí ve 25 ml vody R a pomalu se přidá 50,0 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS a 0,1 ml oranže methylové RS jako indikátoru a titruje se hydroxidem sodným 1 mol/l VS.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS odpovídá 17,03 mg NH_3 .

Uchovává se při teplotě nižší než 20 °C.

Uhličitan amonný RS

Roztok 158 g/l.

Uhličitan barnatý R

BaCO_3 M_r 197,3 CAS 513-77-9

Bílý prášek nebo bílá drobná hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě.

Uhličitan draselný R

K_2CO_3 M_r 138,2 CAS 584-08-7

Bílý zrnitý prášek, hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v ethanolu.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Uhličitan lithný R

Li_2CO_3 M_r 73,9 CAS 554-13-2

Bílý lehký prášek, mírně rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Nasyčený roztok při 20 °C obsahuje 13 g/l Li_2CO_3 .

Uhličitan sodný bezvodý R

Na_2CO_3 M_r 106,0 CAS 497-19-8

Bílý hygroskopický prášek, snadno rozpustný ve vodě. Při zahřátí na teplotu asi 300 °C je úbytek hmotnosti nejvýše 1 %.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Uhličitan sodný R

Viz článek *Natrii carbonas decahydricus*.

Uhličitan sodný RS

Roztok uhličitanu sodného bezvodého R (106 g/l).

3750 Zkoumadla**Uhličitan sodný RS1**

Roztok uhličitanu sodného bezvodého R (20 g/l) v hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS.

Uhličitan vápenatý R

Viz článek *Calcii carbonas*.

Uhličitan vápenatý R1

Vyhovuje požadavkům odstavce *Uhličitan vápenatý R* a následujícímu dodatečnému požadavku: *Chloridy* (2.4.4). Nejvýše 50 µg/g.

Uhlík pro chromatografii grafitizovaný R

Obsahuje uhlíkové řetězce s délkou větší než C₉ o velikosti částic 400 µm až 850 µm.

Hustota. 0,72.

Specifický povrch. 10 m²/g.

Nepoužívá se při teplotě vyšší než 400 °C.

Uhlovodíky s nízkým tlakem par (typ L) R

Mazlavá hmota, dobře rozpustná v benzenu a toluenu.

Undekan R

C₁₁H₂₄

M_r 156,3

CAS 1120-21-4

Bezbarvá čirá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a etherem.

*d*₂₀²⁰: 0,740 až 0,742.

*n*_D²⁰: asi 1,4172.

TV: asi 195 °C.

Uridin R

C₉H₁₂N₂O₆

M_r 244,2

CAS 58-96-8

1-β-D-Ribofuranosyluracil

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: asi 165 °C.

Vanadičnan amonný R

NH₄VO₃

M_r 117,0

CAS 7803-55-6

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v amoniaku zředěném RS1.

Vanadičnan amonný RS

1,2 g vanadičnanu amonného R se rozpustí v 95 ml vody R a zředí se kyselinou sírovou R na 100 ml.

Vanilin R

Viz článek *Vanillinum*.

Vaselina bílá R

Viz odstavec *Parafin bílý měkký R*.

Vata s octanem olovnatým R

Nasáklivá vata se ponoří do směsi objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *octanu olovnatého RS* (1 + 10). Nadbytečný roztok se odstraní vložением vaty bez zatížení mezi více vrstev filtračního papíru a nechá se na vzduchu vysušit.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Vínan draselno-antimonitý R

$C_4H_4KO_7Sb \cdot 0,5H_2O$ M_r 333,9

Aquatartratoantimonitan draselný hemihydrát

Bílý zrnitý prášek nebo bezbarvé průsvitné krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě a v glycerolu, snadno rozpustný ve vroucí vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Vodný roztok reaguje slabě kysel.

Vínan draselno-sodný R

$C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$ M_r 282,2 CAS 6381-59-5

Prizmatické bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

Vínan draselný R

$C_4H_4K_2O_6 \cdot 0,5H_2O$ M_r 235,3 CAS 921-53-9

Dikalium-(2*R*,3*R*)-2,3-butandioat hemihydrát

Zrnitý prášek nebo bílé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Vínan měďnatý RS

Roztok I. 34,6 g *síranu měďnatého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí do 500 ml.

Roztok II. 173 g *vínanu draselno-sodného R* a 50 g *hydroxidu sodného R* se rozpustí ve 400 ml *vody R*. Zahřeje se k varu, ochladí se a zředí se *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 500 ml.

V čas potřeby se smíchají stejné objemové díly obou roztoků.

Vínan měďnatý RS2

1 ml roztoku *síranu měďnatého R* (5 g/l) a roztoku *vínanu draselného R* (10 g/l) se smíchají s 50 ml *uhličitanu sodného RS1*.

Připravuje se v čas potřeby.

3752 Zkoumadla

Vínan měďnatý RS3

Smíchají se stejné objemové díly roztoku *síranu měďnatého R* (10 g/l) a *vínanu sodného R* (20 g/l). K 1,0 ml směsi se přidá 50,0 ml *uhličitanu sodného RS1*. Roztok se připravuje v čas potřeby.

Vínan měďnatý RS4

Roztok I. *Síran měďnatý R* (150 g/l).

Roztok II. 2,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R*, 2,5 g *vínanu draselno-sodného R*, 2,0 g *hydrogenuhlčitanu sodného R* a 20,0 g *síranu sodného bezvodého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

V čas potřeby se smíchá 1 díl roztoku I s 25 díly roztoku II.

Vínan sodný R

$C_4H_4Na_2O_6 \cdot 2H_2O$

M_r 230,1

CAS 6106-24-7

Dinatrium-(2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxybutandioat dihydrát

Bílé krystaly nebo zrna, velmi snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

Vinylacetát R

$C_4H_6O_2$

M_r 86,1

CAS 108-05-4

d_{20}^{20} : asi 0,930.

TV : asi 72 °C.

Vinylchlorid R

C_2H_3Cl

M_r 62,5

CAS 75-01-4

Bezbarvý plyn, těžce rozpustný v organických rozpouštědlech.

2-Vinylpyridin R

C_7H_7N

M_r 105,1

CAS 100-69-6

Žlutá kapalina mísitelná s vodou.

d_{20}^{20} : asi 0,97.

n_D^{20} : asi 1,549.

1-Vinyl-2-pyrrolidon R

C_6H_9NO

M_r 111,1

CAS 88-12-0

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny C_6H_9NO .

Čirá bezbarvá kapalina.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,5 g. Jako rozpouštědlo se použije směs 50 ml *methanolu bezvodého R* a 10 ml *butyrolaktonu R*.

Stanovení obsahu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3753

- kolony z křemenného skla 30 m dlouhé, vnitřního průměru 0,5 mm a vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 R*; tloušťka vstvy je 1,0 μm,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 190 °C a teplota kolony se naprogramuje následujícím způsobem: teplota se udržuje 1 min na 80 °C a potom se zvyšuje rychlostí 10 °C/min až na 190 °C, při níž se udržuje 15 min. Nastříkne se 0,3 μl zkoušené látky a průtoková rychlost nosného plynu se upraví tak, aby retenční čas píku odpovídajícího 1-vinyl-2-pyrrolidonu byl asi 17 min. Obsah C₆H₉NO se stanoví metodou vnitřní normalizace.

Violet' krystalová RC₂₅H₃₀ClN₃M_r 408,0

CAS 548-62-9

Colour Index 42555, Schultz 78

Hexamethyl-*p*-rosaniliniumchlorid

Tmavozelený prášek nebo krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

Violet' krystalová RS0,50 g *violeti krystalové R* se rozpustí v *kyselině octové bezvodé R* a zředí se jí na 100 ml.

Zkouška citlivosti. K 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* se přidá 0,1 ml roztoku *krystalové violeti*; roztok je modrofialový. Přidáním nejvýše 0,1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* se změní zbarvení na modrozelené.

Voda destilovaná R*Voda R* připravená destilací.***Voda na injekci R***Viz článek *Aqua pro iniectione*.***Voda pro chromatografii R***

CAS 7732-18-5

Deionizovaná *voda R* s měným odporem menším než 0,18 MΩ.m.***Voda prostá amonia R***

Ke 100 ml *vody R* se přidá 0,1 ml *kyseliny sírové R*. Destiluje se za použití přístroje pro stanovení destilačního rozmezí (2.2.11). Prvních 10 ml se odstraní a dalších 50 ml se použije.

Voda prostá dusičnanů R

Ke 100 ml *vody R* se přidá několik miligramů *manganistanu draselného R* a *hydroxidu barnatého R*. Destiluje se za použití přístroje pro stanovení destilačního rozmezí (2.2.11). Prvních 10 ml se odstraní a dalších 50 ml se použije.

3754 Zkoumadla**Voda prostá oxidu uhličitého R**

Je to voda R několik minut vařená a při chlazení a uchování chráněná před vzduchem.

Voda prostá částic R

Voda R se filtruje přes membránu s velikostí pórů 0,22 μm .

Voda R

Viz článek *Aqua purificata*.

Vodík pro chromatografii R

H_2 M_r 2,016 CAS 1333-74-0

Obsahuje nejméně 99,95 % (V/V) H_2 .

Wolframan sodný R

$\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M_r 329,9 CAS 10213-10-2

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě na čirý roztok a prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Xanthyrol R

$\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$ M_r 198,2 CAS 90-46-0

9-Xanthenol

Obsahuje nejméně 90,0 % $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$. Dodává se také ve formě methanolického roztoku obsahujícího 90 g/l až 110 g/l xanthyrolu.

Bílý nebo žlutý prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, v etheru a v kyselině octové ledové.

TT: asi 123 °C.

Stanovení obsahu. V baňce na 250 ml se rozpustí 0,300 g xanthyrolu ve 3 ml *methanolu R* nebo se použijí 3,0 ml methanolického roztoku. Přidá se 50 ml *kyseliny octové ledové R* a po kapkách za současného míchání 25 ml roztoku *močoviny R* (20 g/l). Nechá se 12 h stát, sraženina se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (16), promyje se 20 ml *lihu 96% R*, vysuší se v sušárně při 100 °C až 105 °C a zváží se.

1 g sraženiny odpovídá 0,9429 g xanthyrolu.

Uchovává se chráněný před světlem. Methanolický roztok se uchovává v malých zatavených ampulích a v případě potřeby se před použitím zfiltruje.

Xanthyrol R1

Vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci *Xanthyrol R* a následujícímu dodatečnému požadavku.

Obsahuje nejméně 98,0 % $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3755

Xanthydrol RS

K 0,1 ml roztoku *xanthydrolu R* (100 g/l) v *methanolu R* se přidá 100 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Roztok se nechá ustálit 24 h před použitím.

m-Xylen R C_8H_{10} M_r 106,2

CAS 108-38-3

1,3-Dimethylbenzen

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,884. n_D^{20} : asi 1,497.

TV: asi 139 °C.

TT: asi -47 °C.

o-Xylen R C_8H_{10} M_r 106,2

CAS 95-47-6

1,2-Dimethylbenzen

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,881. n_D^{20} : asi 1,505.

TV: asi 144 °C.

TT: asi -25 °C.

Xylen R C_8H_{10} M_r 106,2

CAS 1330-20-7

Dimethylbenzen, směs izomerů

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

 d_{20}^{20} : asi 0,867. n_D^{20} : asi 1,497.

TV: asi 138 °C.

Xylosa R $C_5H_{10}O_5$ M_r 150,1

CAS 58-86-6

D-(+)-Xylosa; β -D-xylopyranosa

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé jehličky. Je velmi snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v horkém lihu 96%.

 $[\alpha]_D^{20}$: asi +20°; měří se roztok (100 g/l) 10 h po jeho přípravě.

3756 Zkoumadla**Zeleň bromkresolová R** $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ M_r 698

CAS 76-60-8

4,4'-(3*H*-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(2,6-dibrom-3-methylfenol)-5,5'-dioxid

Hnědavě bílý prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zeleň bromkresolová RS

50 mg zeleně bromkresolové R se rozpustí v 0,72 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 20 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 100 ml.

Zkouška citlivosti. Směs 0,2 ml roztoku bromkresolové zeleně a 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R je modrá. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS.

Barevný přechod. pH 3,6 (žlutá) až 5,2 (modrá).

Zeleň bromkresolová - červeně methylová RS

0,15 g zeleně bromkresolové R a 0,1 g červeně methylové R se rozpustí ve 180 ml ethanolu R a zředí se vodou R na 200 ml.

Zeleň malachitová R $C_{23}H_{25}ClN_2$ M_r 364,9

CAS 123333-61-9

Colour Index 42000, Schultz 754

4-[(4-Dimethylaminofenyl)fenyl-methylen]cyklohexa-2,5-dien-1-yliden}dimethylamoniumchlorid

Zelené krystaly s kovovým leskem, velmi dobře rozpustné ve vodě na roztok modrozelené barvy, dobře rozpustné v lihu 96% a v methanolu.

Absorpční maximum (2.2.25) roztoku (0,01 g/l) v lihu 96% R je při 617 nm.

Zeleň malachitová RS

Roztok (5,0 g/l) v kyselině octové bezvodé R.

Zeleň methylová R $C_{26}H_{33}Cl_2N_3$ M_r 458,5

CAS 7114-03-6

Colour Index 42585, Schultz 788

4-[[4-(Dimethylamino)fenyl][4-(dimethyliminio)cyklohexa-2,5-dienyliden]methylfenyl}trimethylamoniumdichlorid

Zelený prášek, dobře rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v kyselině sírové na žlutě zbarvený roztok, jehož zbarvení se po zředění vodou mění na zelené.

Zinek aktivovaný R

Aktivace. Do kuželové baňky se převede malé množství zinku ve formě pelet nebo válečků, přidá se takové množství roztoku kyseliny hexachloroplaticité R (50 µg/ml), aby pokrylo zinek. Nechá se působit 10 min, kov se opláchne a ihned vysuší.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3757

Arsen. K 5,0 g se přidá 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, 25 ml *vody R*, 0,1 ml *chloridu cínatého RS* a 5 ml *jodidu draselného RS*. Dále se provede limitní zkouška A na arsen (2.4.2); na *papíru s bromidem rtuťnatým R* nevznikne žádná skvrna.

Citlivost. Provede se limitní zkouška na arsen za použití stejných zkoumadel a za přidání roztoku obsahujícího 1 µg arsenu; na *papíru s bromidem rtuťnatým R* vznikne zřetelně viditelná skvrna.

Zinek práškový R

Obsahuje nejméně 90,0 % Zn (A_r 65,4).

Šedý velmi jemný prášek, dobře rozpustný v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS*.

Zinek R

Zn A_r 65,4 CAS 7440-66-6

Obsahuje nejméně 99,5 % Zn.

Stříbrobílé válečky, zrna, pelety nebo kovové piliny s modrým leskem.

Arsen (2.4.2). 5,0 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (0,2 µg/g). Rozpustí se v předepsané směsi 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 25 ml *vody R*.

Zkoumadlo aminohippurové R

3,0 g *kyseliny ftalové R* a 0,30 g *kyseliny aminohippurové R* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100 ml.

Zkoumadlo aminomethylizarindioctové R

Roztok I. 0,36 g *dusičnanu ceritého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Roztok II. 0,70 g *kyseliny aminomethylizarindioctové R* se suspenduje v 50 ml *vody R*. Látka se přidáním asi 0,25 ml *amoniaku 26% R* rozpustí a roztok se po přidání 0,25 ml *kyseliny octové ledové R* zředí *vodou R* na 100 ml.

Roztok III. 6,0 g *octanu sodného R* se rozpustí v 50 ml *vody R*. Přidá se 11,5 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

K 33 ml *acetonu R* se přidá 6,8 ml roztoku III, 1,0 ml roztoku II a 1,0 ml roztoku I. Směs se zředí *vodou R* na 50 ml.

Zkouška citlivosti. K 1,0 ml základního roztoku *fluoridu (10 µg F/ml)* se přidá 19,0 ml *vody R* a 5,0 ml aminomethylizarindioctového zkoumadla. Po 20 min se roztok zbarví modře.

Toto zkoumadlo je použitelné nejvýše 5 dnů.

Zkoumadlo biuretové R

1,5 g *síranu měďnatého R* a 6,0 g *vinanu draselného-sodného R* se rozpustí v 500 ml *vody R*. Přidá se 300 ml roztoku *hydroxidu sodného (100 g/l)* prostého uhlíčitanů a zředí se jím na 1000 ml a promíchá se.

Zkoumadlo cefalinové R

K 0,5 g až 1,0 g *hovězího mozku sušeného R* se přidá 20 ml *acetonu R*, nechá se 2 h stát, potom se 2 min odstředí při 500 g_n a supernatantní kapalina se dekantuje. Zbytek se vysuší ve vakuu,

3758 Zkoumadla

přidá se 20 ml *chloroformu R* a za častého protřepání se nechá 2 h stát. Pevný podíl se oddělí filtrací nebo odstředováním, chloroform se odpaří ve vakuu a zbytek se suspenduje v 5 ml až 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l).

Rozpouštědla použitá k přípravě mohou obsahovat vhodné antioxidanty, např. butylhydroxyanisol (0,02 g/l).

Uchovává se zmrazené nebo lyofilizované a je použitelné nejvýše 3 měsíce.

Zkoumadlo difenylkarbazon-rtuťnaté R

Roztok I. 0,10 g *difenylkarbazonu R* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 50 ml.

Roztok II. 1,0 g *chloridu rtuťnatého R* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 50 ml.

Stejně objemy obou roztoků se smíchají.

Zkoumadlo dinitrofenylhydrazinové R

0,20 g *dinitrofenylhydrazinu R* se rozpustí ve 20 ml *methanolu R* a přidá se 80 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové RS* a *kyseliny octové R*.

Připravuje se v čas potřeby.

Zkoumadlo dithiolové R

K 1,0 g *dithiolu R* se přidají 2 ml *kyseliny thioglykolové R* a zředí se roztokem *hydroxidu sodného R* (20 g/l) na 250 ml. Připraví se v čas potřeby.

Zkoumadlo fosfomolybdenan-wolframové R

100 g *wolframanu sodného R* a 25 g *molybdenanu sodného R* se rozpustí v 700 ml *vody R*. Přidá se 100 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 50 ml *kyseliny fosforečné R*. Potom se ve skleněné aparatuře zahřívá 10 h pod zpětným chladičem. Přidá se 150 g *síranu lithného R*, 50 ml *vody R* a několik kapek *bromu R*. Směs se vaří do odstranění nadbytku bromu (15 min), ochladí se, zředí se *vodou R* na 1000 ml a zfiltruje se. Zkoumadlo je žluté. Jestliže je zbarvené do zelena, je pro použití nevhodné, ale může se opět regenerovat vařením s několika kapkami *bromu R*. Přitom se nadbytek bromu opět odstraní vařením.

Uchovává se při 2 °C až 8 °C.

Zkoumadlo fosfomolybdenan-wolframové zředěné RS

Smíchají se objemové díly *zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R* a *vody R* (1 + 2).

Zkoumadlo fosfomolybdenové R

2,5 g *kyseliny fosfomolybdenové R* se rozpustí v *kyselině octové ledové R* a zředí se jí na 50 ml. Přidá se 2,5 ml *kyseliny sírové R* a zamíchá se.

Zkoumadlo fosfornanové R

10 g *fosfornanu sodného R* se rozpustí mírným zahříváním ve 20 ml *vody R* a zředí se *kyselinou chlorovodíkovou R* na 100 ml. Nechá se stát a potom se dekantuje nebo filtruje přes skelnou vatu.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3759

Zkoumadlo ftaldialdehydové R

2,47 g *kyseliny borité R* se rozpustí v 75 ml *vody R*, upraví se pH roztokem *hydroxidu draselného R* (450 g/l) na hodnotu 10,4 a zředí se *vodou R* na 100 ml. 1,0 g *ftaldialdehydu R* se rozpustí v 5 ml *methanolu R*, přidá se 95 ml *kyseliny borité RS* a 2 ml *kyseliny thioglykolové R* a upraví se pH roztokem *hydroxidu draselného R* (450 g/l) na hodnotu 10,4.

Uchovává se chráněno před světlem, doba použitelnosti je 3 dny.

Zkoumadlo chlorid titanitý-kyselina sírová R

Opatrně se smíchá 20 ml *chloridu titanitého RS* s 13 ml *kyseliny sírové R*. Přidá se tolik *peroxidu vodíku koncentrovaného R*, až vznikne žluté zbarvení. Zahřívá se až do vzniku bílého dýmu, ochladí se a zředí se *vodou R*. Odpařování a přidávání *vody R* se opakuje tak dlouho, dokud se nezíská bezbarvý roztok. Zředí se *vodou R* na 100 ml.

Zkoumadlo chlorid železitý-kyselina amidosírová R

Roztok 1,0 g *chloridu železitého R* a 1,6 g *kyseliny amidosírové R* ve 100 ml.

Zkoumadlo isatinové R

6,0 mg *síranu železitého R* se rozpustí v 8 ml *vody R* a opatrně se přidá 50 ml *kyseliny sírové R*. Přidá se 6,0 mg *isatinu R* a míchá se do rozpuštění.

Zkoumadlo smí být slabě žluté, ale nesmí být oranžové nebo červené.

Zkoumadlo jodistanové R

0,446 g *jodistanu sodného R* se rozpustí v 2,5 ml roztoku *kyseliny sírové R* 25% (V/V) a zředí se *kyselinou octovou ledovou R* na 100,0 ml.

Zkoumadlo jodoplaticité R

Ke 3 ml roztoku *kyseliny hexachloroplaticité R* (100 g/l) se přidá 97 ml *vody R* a 100 ml roztoku *jodidu draselného R* (60 g/l).

Uchovává se chráněno před světlem.

Zkoumadlo methoxyfenyloctové R

2,7 g *kyseliny methoxyfenyloctové R* se rozpustí v 6 ml *tetramethylamoniumhydroxidu RS* a přidá se 20 ml *ethanolu R*.

Uchovává se v polyethylenových obalech.

Zkoumadlo Millonovo R

3 ml *rtuti R* se opatrně rozpustí ve 27 ml *kyseliny dusičné dýmavé R*. Roztok se zředí stejným objemovým dílem *vody R*.

Uchovává se nejvýše 2 měsíce, chráněno před světlem.

3760 Zkoumadla**Zkoumadlo molybdenan-hexaamonné R**

V uvedeném pořadí se smíchá 1 objemový díl *molybdenanu hexaamonného R* (25 g/l) s 1 objemovým dílem roztoku *kyseliny askorbové R* (100 g/l) a s 1 objemovým dílem *kyseliny sírové R* (294,5 g/l H₂SO₄). Ke směsi se přidají 2 objemové díly *vody R*.

Zkoumadlo je použitelné 1 den.

Zkoumadlo molybdenan-hexaamonné R1

10 ml roztoku *hydrogenarseničnanu sodného R* (60 g/l), 50 ml *molybdenanu hexaamonného RS*, 90 ml *kyseliny sírové zředěné RS* se smíchá a zředí se *vodou R* na 200 ml.

Směs se udržuje 24 h při 37 °C a uchovává se v hnědožlutých lahvích.

Zkoumadlo molybdenan-vanadičné R

Ve 150ml kádince se smíchají 4,0 g jemně práškovaného *molybdenanu hexaamonného R* a 0,1 g jemně práškovaného *vanadičnanu amonného R*. Přidá se 70 ml *vody R* a částice se rozmělní za použití skleněné tyčinky. Po několika minutách vznikne čirý roztok. Přidá se 20 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

Zkoumadlo molybdenan-vanadičné R2

Roztok I. 10 g *molybdenanu hexaamonného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 1 ml *amoniaku 17,5% RS* a zředí se *vodou R* na 100 ml.

Roztok II. 2,5 g *vanadičnanu amonného R* se rozpustí v horké *vodě R*, přidá se 14 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou R* na 500 ml.

96 ml *kyseliny dusičné R* se smíchá se 100 ml roztoku I, 100 ml roztoku II a zředí se *vodou R* na 500 ml.

Zkoumadlo ninhydrinové s chloridem cínatým R

0,20 g *ninhydrinu R* se rozpustí asi ve 4 ml teplé *vody R*, přidá se 5 ml roztoku *chloridu cínatého R* (1,6 g/l), nechá se stát 30 min, potom se přefiltruje a uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C. V čas potřeby se smíchá 2,5 ml tohoto roztoku s 5 ml *vody R* a 45 ml *2-propanolu R*.

Zkoumadlo ninhydrinové s chloridem cínatým R1

4,0 g *ninhydrinu R* se rozpustí ve 100 ml *methoxyethanolu R*. Jemně se protřepe s 1 g *katexu R* (300 μm až 840 μm) a přefiltruje se (roztok a). 0,16 g *chloridu cínatého R* se rozpustí ve 100 ml *tlumivého roztoku o pH 5,5* (roztok b). V čas potřeby se smíchají stejné objemy obou roztoků.

Zkoumadlo propionanhydridové R

1,0 g *kyseliny 4-toluensulfonové R* se rozpustí v 30 ml *kyseliny octové ledové R*. Přidá se 5 ml *anhydridu kyseliny propionové R*. Zkoumadlo se použije nejdříve 15 min po přípravě a je použitelné 24 h.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3761

Zkoumadlo resorcinolové R

K 80 ml *kyseliny chlorovodíkové R* se přidá 10 ml roztoku *resorcinolu R* (20 g/l) a přidá se 0,25 ml roztoku *síranu měďnatého R* (25 g/l) a zředí se *vodou R* na 100 ml. Roztok se připraví nejméně 4 h před použitím.

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C a je použitelné jeden týden.

Zkoumadlo tetramethyldiaminodifenylmethanové R

Roztok A. 2,5 g *tetramethyldiaminodifenylmethanu R* se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové ledové R* a přidá se 50 ml *vody R*.

Roztok B. 5 g *jodidu draselného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R*.

Roztok C. 0,30 g *ninhydrinu R* se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové ledové R* a přidá se 90 ml *vody R*.

Smíchá se roztok A, roztok B a 1,5 ml roztoku C.

Zkoumadlo tetraaminměďnaté R

Viz odstavec *Hydroxid tetraaminměďnatý RS*.

Zkoumadlo thioacetamidové R

0,2 ml *thioacetamidu RS* se smíchá s 1 ml směsi, 5 ml *vody R*, 15 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 20 ml *glycerolu 85% R*. Směs se zahřívá 20 s ve vodní lázni.

Připravuje se v čas potřeby.

Zkoumadlo tromboplastinové R

1,50 g práškového *hovězího mozku sušeného R* se třepe 10 min až 15 min se 60 ml *vody R* při 50 °C. Odstředí se 2 min při 1500 ot/min a supernatantní kapalina se dekantuje. Pokud je extrakt uložený v chladničce, zůstane aktivní po dobu několika dní. Může obsahovat *o-kresol R* (3 g/l) jako protimikrobní přísadu.

Zkoumadlo vanilinové R

K 100,0 ml roztoku *vanilinu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* se přidají opatrně po kapkách 2,0 ml *kyseliny sírové R*.

Je použitelné 48 h od přípravy.

Zkoumadlo vanilinové s kyselinou fosforečnou RS

1,0 g *vanilinu R* se rozpustí v 25 ml *lihu 96% R*. Přidá se 25 ml *vody R* a 35 ml *kyseliny fosforečné R*.

Žaludeční šťáva umělá R

2,0 g *chloridu sodného R* a 3,2 g *pepsinu práškového R* se rozpustí ve *vodě R*. Přidá se 80 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

3762 Zkoumadla**Želatina hydrolyzovaná R**

50 g želatiny R se rozpustí v 1000 ml vody R. Autoklavuje se 90 min v nasycené páře při 121 °C a lyofilizuje se.

Želatina R

Viz článek *Gelatina*.

Železo R

Fe A_r 55,85 CAS 7439-89-6

Šedý prášek nebo drát, dobře rozpustný ve zředěných minerálních kyselinách.

Žlut' dimethylová R

$C_{14}H_{15}N_3$ M_r 225,3 CAS 60-11-7

Colour Index 11020, Schultz 28

4-Dimethylaminoazobenzen; žlut' methylová

Malé žluté krystaly nebo žluté nebo oranžové plátky. Je prakticky nerozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v lihu 96%.

Chromatografie. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10 μ l roztoku (0,1 g/l) v *dichlormethanu R* a vyvíjí se stejným rozpouštědlem po dráze 10 cm. Na získaném chromatogramu je přítomna jen jedna hlavní skvrna.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

Žlut' metanilová R

$C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ M_r 375,4 CAS 587-98-4

Colour Index 13065, Schultz 169

Sodná sůl kyseliny 4'-anilinoazobenzen-3-sulfonové

Nahnědle žlutý prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v etheru.

Žlut' metanilová RS

Roztok (1,0 g/l) v *methanolu R*.

Zkouška citlivosti. K 50 ml kyseliny octové bezvodé R se přidá 0,1 ml roztoku žluti metanilové. Po přidání 0,05 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS se růžovočervené zbarvení změní na fialové.

Barevný přechod. pH 1,2 (červená) až pH 2,3 (oranžovožlutá).

Žlut' naftolová S R

$C_{10}H_4N_2Na_2O_8S$ M_r 358,2 CAS 846-70-8

Colour Index 10316

Disodná sůl kyseliny 8-hydroxy-5,7-dinitro-2-naftalensulfonové

Žlutý nebo oranžově žlutý prášek, snadno rozpustný ve vodě.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3763

Chromatografie (2.2.27). Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Plantaginis folium*. Na vrstvu se nanese 20 μ l roztoku žluti naftolové (5 g/l) v *methanolu R*. Na chromatogramu je žlutá skvrna s R_F asi 0,5.

Žlut' titanová R $C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4$ M_r 696,0

CAS 1829-00-1

Colour Index 19540, Schultz 280

Disodná sůl kyseliny 2,2'-[(1-triazen-1,3-diyl)di-4,1-fenylen]bis[6-methylbenzothiazol-7-sulfonové]; thiazolová žlut'

Žlutohnědý prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Žlut' titanová RS

Roztok 0,50 g/l.

Zkouška citlivosti. K 0,1 ml roztoku žluti titanové se přidá 10 ml *vody R*, 0,2 ml základního roztoku *hořčiku* (10 μ g Mg/ml) a 1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*. V porovnání se současně stejným způsobem připraveným kontrolním roztokem bez přidání roztoku *hořčiku* se směs zbarví zřetelně růžově.

4.1.2 Základní roztoky pro limitní stanovení nečistot***Roztok acetaldehydu (100 μ g C₂H₄O/ml)***

1,0 g *acetaldehydu R* se rozpustí ve *2-propanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *2-propanolem R* na 500,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok acetaldehydu (100 μ g C₂H₄O/ml) (1)

1,0 g *acetaldehydu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 500,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok amonia (100 μ g NH₄/ml)

Množství *chloridu amonného R* odpovídající 0,741 g NH₄Cl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 10,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 25,0 ml.

Roztok amonia (2,5 μ g NH₄/ml)

Množství *chloridu amonného R* odpovídající 0,741 g NH₄Cl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok amonia (1 μ g NH₄/ml)

2,0 ml roztoku *amonia (2,5 μ g NH₄/ml)* se zředí *vodou R* na 5,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

3764 Zkoumadla**Roztok antimonu (1 µg Sb/ml)**

Množství *vinanu draselno-antimonitého R* odpovídající 0,274 g $C_4H_4KO_7Sb \cdot 0,5H_2O$ se rozpustí ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a čirý roztok se zředí *vodou R* na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 200 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. Ke 100,0 ml tohoto roztoku se přidá 300 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. Zředěné roztoky se připraví v čas potřeby.

Roztok arsenu (10 µg As/ml)

Množství *oxidu arsenitého R* odpovídající 0,330 g As_2O_3 se rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *vodou R* na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok arsenu (1 µg As/ml)

1,0 ml roztoku *arsenu (10 µg As/ml)* se v čas potřeby zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok arsenu (0,1 µg As/ml)

1,0 ml roztoku *arsenu (1 µg As/ml)* se v čas potřeby zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok barya (50 µg Ba/ml)

Množství *chloridu barnatého R* odpovídající 0,178 g $BaCl_2 \cdot 2H_2O$ se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 20,0 ml.

Roztok boru (5 mg B/ml)

4,401 g *tetraboritanu sodného R* se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Roztok cínu (5 µg Sn/ml)

Množství *cínu R* odpovídající 0,500 g Sn se rozpustí ve směsi 25 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 5 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *kyselinou chlorovodíkovou R 2,5% (V/V)* na 100,0 ml.

Roztok cínu (0,1 µg Sn/ml)

1,0 ml roztoku *cínu (5 µg Sn/ml)* se v čas potřeby zředí *vodou R* na 50,0 ml.

Roztok draslíku (100 µg K/ml)

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,446 g K_2SO_4 se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml zředí *vodou R* na 20,0 ml.

Roztok draslíku (20 µg K/ml)

1,0 ml roztoku *draslíku (100 µg K/ml)* se zředí *vodou R* na 5,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3765

Roztok dusičnanů (100 µg NO₃/ml)

Množství *dusičnanu draselného R* odpovídající 0,815 g KNO₃ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok dusičnanů (10 µg NO₃/ml)

1,0 ml *roztoku dusičnanů (100 µg NO₃/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok dusičnanů (2 µg NO₃/ml)

1,0 ml *roztoku dusičnanů (10 µg NO₃/ml)* se zředí *vodou R* na 5,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok fluoridů (10 µg F/ml)

Fluorid sodný R se suší 12 h při 300 °C. Množství vysušeného *fluoridu sodného R* odpovídající 0,442 g NaF se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml (1 ml = 0,2 mg F). Roztok se uchovává v polyethylenovém obalu. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 20,0 ml.

Roztok fluoridů (1 µg F/ml)

1,0 ml *roztoku fluoridů (10 µg F/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok formaldehydu (5 µg CH₂O/ml)

3,0 g *formaldehydu R* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 200,0 ml.

Roztok fosforečnanů (5 µg PO₄/ml)

Množství *dihydrogenfosforečnanu draselného R* odpovídající 0,716 g KH₂PO₄ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok glyoxalu (20 µg C₂H₂O₂/ml)

Do 100ml odměrné baňky se odváží množství *glyoxalu RS* odpovídající 0,200 g C₂H₂O₂ a zředí se po značku *ethanolem R*. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Roztok hexakynoželezitanu (50 µg Fe(CN)₆/ml)

Množství *hexakynoželezitanu draselného R* odpovídající 0,78 g K₃Fe(CN)₆ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok hexakynoželezitanu (100 µg Fe(CN)₆/ml)

Množství *hexakynoželezitanu draselného R* odpovídající 0,20 g K₄Fe(CN)₆ · 3H₂O se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

3766 Zkoumadla

Roztok hliníku (200 µg Al/ml)

Množství *síranu draselno-hlinitého R* odpovídající 0,352 g $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok hliníku (100 g Al/ml)

8,947 g *chloridu hlinitého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok hliníku (10 µg Al/ml)

Množství *dusičnanu hlinitého R* odpovídající 1,39 g $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok hliníku (2 µg Al/ml)

Množství *síranu draselno-hlinitého R* odpovídající 0,352 g $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok hořčíku (100 µg Mg/ml)

Množství *síranu hořečnatého R* odpovídající 1,010 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok hořčíku (10 µg Mg/ml)

1,0 ml *roztoku hořčíku (100 µg Mg/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok hořčíku (10 µg Mg/ml) (1)

8,365 g *chloridu hořečnatého R* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok chloridů (8 µg Cl/ml)

Množství *chloridu sodného R* odpovídající 1,32 g NaCl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok chloridů (5 µg Cl/ml)

Množství *chloridu sodného R* odpovídající 0,824 g NaCl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok chromu (100 µg Cr/ml)

Množství *dichromanu draselného R* odpovídající 0,283 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3767

Roztok chromu (0,1 µg Cr/ml)

1,0 ml roztoku chromu (100 µg Cr/ml) se zředí vodou R na 1000,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok jodidů (10 µg I/ml)

Množství jodidu draselného R odpovídající 0,131 g KI se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 ml.

Roztok kadmia (1 mg Cd/ml)

Množství kadmia R odpovídající 0,100 g Cd se rozpustí v minimálním množství směsi stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R a zředí se roztokem kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V) na 100,0 ml.

Roztok kadmia (10 µg Cd/ml)

1,0 ml roztoku kadmia (1 mg Cd/ml) se zředí roztokem kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V) na 100,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok mědi (1 mg Cu/ml)

Množství síranu měďnatého R odpovídající 0,393 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Roztok mědi (10 µg Cu/ml)

1,0 ml roztoku mědi (1 mg Cu/ml) se zředí vodou R na 100,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok mědi (0,1 µg Cu/ml)

1,0 ml roztoku mědi (10 µg Cu/ml) se zředí vodou R na 100,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok niklu (10 µg Ni/ml)

Množství síranu nikelnatého R odpovídající 4,780 g $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 ml.

Roztok niklu (0,2 µg Ni/ml)

1,0 ml roztoku niklu (10 µg Ni/ml) se zředí vodou R na 50,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok niklu (0,1 µg Ni/ml)

1,0 ml roztoku niklu (10 µg Ni/ml) se zředí vodou R na 100,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok olova (1 mg Pb/ml)

Množství dusičnanu olovnatého R odpovídající 0,400 g $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 250,0 ml.

3768 Zkoumadla

Roztok olova (100 µg Pb/ml)

1,0 ml roztoku olova (1 mg Pb/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok olova (10 µg Pb/ml)

1,0 ml roztoku olova (100 µg Pb/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok olova (10 µg Pb/ml) (1)

0,160 g dusičnanu olovnatého R se rozpustí ve 100 ml vody R, ke které byl přidán 1 ml kyseliny dusičné prosté olova R, a zředí se vodou R na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 10,0 ml.

Roztok olova (2 µg Pb/ml)

1,0 ml roztoku olova (10 µg Pb/ml) se zředí vodou R na 5,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok olova (1 µg Pb/ml)

1,0 ml roztoku olova (10 µg Pb/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok olova (0,1 µg Pb/ml)

1,0 ml roztoku olova (1 µg Pb/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok palladia (500 µg Pd/ml)

50,0 mg palladia R se rozpustí v 9 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Roztok palladia (0,5 µg Pd/ml)

1,0 ml roztoku palladia (500 µg Pd/ml) se zředí směsí objemových dílů kyseliny dusičné R a vody R (0,3 + 99,7) na 1000,0 ml.

Roztok platiny (30 µg Pt/ml)

80 mg kyseliny hexachloroplatičité R se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Roztok rtuti (1 mg Hg/ml)

Množství chloridu rtuťnatého R odpovídající 1,354 g HgCl₂ se rozpustí v 50 ml kyseliny dusičné zředěné RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Roztok selenu (100 µg Se/ml)

0,100 g selenu R se rozpustí ve 2 ml kyseliny dusičné R a odpaří se do sucha. Zbytek po odpaření se převede do 2 ml vody R, odpaří se do sucha, což se opakuje třikrát.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3769

Zbytek po odpaření se rozpustí v 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a stejným rozpouštědlem se zředí na 1000,0 ml.

Roztok selenu (1 µg Se/ml)

Množství *kyseliny seleničité R* odpovídající 6,54 mg H_2SeO_3 se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 40,0 ml.

Roztok síranů (100 µg SO_4 /ml)

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K_2SO_4 se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 10,0 ml.

Roztok síranů (10 µg SO_4 /ml)

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K_2SO_4 se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou destilovanou R* na 100,0 ml.

Roztok síranů (10 µg SO_4 /ml) (1)

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g K_2SO_4 se rozpustí v *lihu R 30% (V/V)* a zředí se jím na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Roztok siřičitanů (1,5 µg SO_2 /ml)

Množství *disiřičitanu sodného R* odpovídající 0,152 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Ke 3,0 ml tohoto roztoku se přidají 4,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok sodíku (200 µg Na/ml)

Množství *chloridu sodného R* odpovídající 0,509 g NaCl se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Roztok sodíku (50 µg Na/ml)

2,5 ml roztoku *sodíku (200 µg Na/ml)* se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok stříbra (5 µg Ag/ml)

Množství *dusičnanu stříbrného R* odpovídající 0,790 g AgNO_3 se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Roztok thalia (10 µg TV/ml)

Množství *síranu thalného R* odpovídající 0,1235 g Ti_2SO_4 se rozpustí v roztoku *chloridu sodného R (9,0 g/l)* a zředí se jím na 1000,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

3770 Zkoumadla

Roztok titanu (100 µg Ti/ml)

100,0 mg titanu *R* se rozpustí ve 100 ml kyseliny chlorovodíkové *R* a zředí se vodou *R* na 150,0 ml, je-li třeba zahřátím. Nechá se ochladit a zředí se vodou *R* na 1000,0 ml.

Roztok vanadu (1 mg V/ml)

Množství vanadičnanu amonného *R* odpovídající 0,230 g NH_4VO_3 se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Roztok vápníku (400 µg Ca/ml)

Množství uhličitanu vápenatého *R* odpovídající 1,000 g CaCO_3 se rozpustí ve 23 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l *RS* a zředí se vodou destilovanou *R* na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou destilovanou *R* na 10,0 ml.

Roztok vápníku (100 µg Ca/ml)

Množství uhličitanu vápenatého *R* odpovídající 0,624 g CaCO_3 se rozpustí ve 3 ml kyseliny octové *RS* a zředí se vodou destilovanou *R* na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou destilovanou *R* na 10,0 ml.

Roztok vápníku (100 µg Ca/ml) (1)

Množství chloridu vápenatého bezvodého *R* odpovídající 2,769 g CaCl_2 se rozpustí v kyselině chlorovodíkové zředěné *RS* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou *R* na 10,0 ml.

Roztok vápníku (100 µg Ca/ml) v lihu

Množství uhličitanu vápenatého *R* odpovídající 2,50 g CaCO_3 se rozpustí ve 12 ml kyseliny octové *RS* a zředí se vodou destilovanou *R* na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí lihem 96% *R* na 10,0 ml.

Roztok vápníku (10 µg Ca/ml)

Množství uhličitanu vápenatého *R* odpovídající 0,624 g CaCO_3 se rozpustí ve 3 ml kyseliny octové *RS* a zředí se vodou destilovanou *R* na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou destilovanou *R* na 100,0 ml.

Roztok zinku (5 mg Zn/ml)

Množství oxidu zinečnatého *R* odpovídající 3,150 g ZnO se rozpustí v 15 ml kyseliny chlorovodíkové *R* a zředí se vodou *R* na 500,0 ml.

Roztok zinku (100 µg Zn/ml)

K množství síranu zinečnatého *R* odpovídajícímu 0,440 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ se přidá 1 ml kyseliny octové *RS* a zředí se vodou *R* na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou *R* na 10,0 ml.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3771

Roztok zinku (10 µg Zn/ml)

1 ml roztoku zinku (100 µg Zn/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok zinku (5 µg Zn/ml)

1 ml roztoku zinku (100 µg Zn/ml) se zředí vodou R na 20,0 ml. Připraví se v čas potřeby.

Roztok zirkonu (1 mg Zr/ml)

Množství dusičnan-oxidu zirkoničitého R odpovídající 0,293 g $ZrO(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$ se rozpustí ve směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Roztok železa (1 mg Fe/ml)

0,100 g Fe se rozpustí v nejmenším možném množství směsi stejných objemů kyseliny chlorovodíkové R a vody R a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Roztok železa (250 µg Fe/ml)

4,840 g chloridu železitého R se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R (150 g/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 40,0 ml.

Roztok železa (20 µg Fe/ml)

Množství síranu amonno-železitého R odpovídající 0,863 g $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ se rozpustí ve vodě R, přidá se 25 ml kyseliny sírové zředěné RS a zředí se vodou R na 500,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 10,0 ml.

Roztok železa (10 µg Fe/ml)

Množství síranu amonno-železnatého R odpovídající 7,022 g $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ se rozpustí ve vodě R, přidá se 25 ml kyseliny sírové zředěné RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 ml.

Roztok železa (8 µg Fe/ml)

80 mg železa R se rozpustí v 50 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové R (220 g/l HCl) a zředí se vodou R na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 10,0 ml.

Roztok železa (2 µg Fe/ml)

1,0 ml roztoku železa (20 µg Fe/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

Roztok železa (1 µg Fe/ml)

1,0 ml roztoku železa (20 µg Fe/ml) se zředí vodou R na 20,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

3772 Zkoumadla

Základní roztok pro mikrostanovení vody

Komerčně dostupný standardní roztok pro coulometrickou titraci vody obsahující ověřený obsah vody ve vhodném rozpouštědle.

4.1.3 Tlumivé roztoky***Tlumivý roztok acetonový***

8,15 g octanu sodného R a 42,0 g chloridu sodného R se rozpustí ve vodě R, přidá se 68,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a 150,0 ml acetonu R a zředí se vodou R na 500,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 2,0

6,57 g chloridu draselného R se rozpustí ve vodě R, přidá se 119,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 2,0

8,95 g hydrogenfosforečnanu sodného R a 3,40 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku kyselinou fosforečnou R.

Tlumivý roztok síranový o pH 2,0

132,1 g síranu amonného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml (roztok I). Opatrně a za stálého chlazení se vmíchá 14 ml kyseliny sírové R do asi 400 ml vody R; nechá se vychladnout a zředí se vodou R na 500,0 ml (roztok II). Stejně objemy roztoků I a II se smíchají. Je-li třeba, upraví se hodnota pH (2.2.3).

Tlumivý roztok o pH 2,5

100 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí v 800 ml vody R, pH (2.2.3) roztoku se upraví na 2,5 kyselinou chlorovodíkovou R a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 2,5 (1)

K 4,9 g kyseliny fosforečné zředěné RS se přidá 250 ml vody R, pH (2.2.3) roztoku se upraví hydroxidem sodným zředěným RS a zředí se vodou R na 500,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 3,0

21,0 g kyseliny citronové R se rozpustí ve 200 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml. 40,3 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 100,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 3,0 (1)

0,7 ml kyseliny fosforečné R se smíchá se 100 ml vody R a zředí se jí na 900 ml pH (2.2.3) roztoku se upraví hydroxidem sodným koncentrovaným RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3773

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,2

K 900 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (4 g/l) se přidá 100 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (2,5 g/l). Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,2 (1)

U roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (35,8 g/l) se upraví pH *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 3,2 (2.2.3). 100,0 ml roztoku se zředí *vodou R* na 2000,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 3,5

25,0 g *octanu amonného R* se rozpustí ve 25 ml *vody R*, přidá se 38,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a upraví se pH (2.2.3) roztoku dle potřeby *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* nebo *amoniakem zředěným RS*. Zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,5

68,0 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 1000,0 ml a upraví se pH (2.2.3) roztoku *kyselinou fosforečnou R*.

Tlumivý roztok o pH 3,6

K 250,0 ml *hydrogenftalanu draselného 0,2 mol/l RS* se přidá 11,94 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 3,7

K 15,0 ml *kyseliny octové RS* se přidá 60 ml *lihu 96% R*, 20 ml *vody R*, pH (2.2.3) se upraví *amoniakem 17,5 % R* na hodnotu 3,7 a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Tlumivý roztok se síranem měďnatým o pH 4,0

0,25 g *síranu měďnatého R* a 4,5 g *octanu amonného R* se rozpustí v *kyselině octové zředěné RS* a zředí se jí na 100,0 ml.

Tlumivý roztok octanový o pH 4,4

136 g *octanu sodného R* a 77 g *octanu amonného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Tento roztok se smíchá s 250,0 ml *kyseliny octové ledové R*.

Tlumivý roztok hydrogenftalanový o pH 4,4

2,042 g *hydrogenftalanu draselného R* se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidá se 7,5 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 200,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 4,5 (0,05 mol/l)

6,80 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 1000,0 ml *vody R*. Hodnota pH (2.2.3) roztoku je 4,5.

3774 Zkoumadla**Tlumivý roztok jantaranový o pH 4,6**

11,8 g *kyseliny jantarové R* se rozpustí ve směsi 600 ml *vody R* a 82 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok octanový o pH 4,6

5,4 g *octanu sodného R* se rozpustí v 50,0 ml *vody R*, přidá se 2,4 g *kyseliny octové ledové R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku.

Tlumivý roztok octanový o pH 4,7

136,1 g *octanu sodného R* se rozpustí v 500 ml *vody R*. 250 ml tohoto roztoku se smíchá s 250 ml *kyseliny octové zředěné RS* a dvakrát se vytřepe čerstvě připraveným a zfiltrovaným roztokem *dithionu R* (0,10 g/l) v *chloroformu R*. Potom se třepe s *chloridem uhličitým R* do získání bezbarvé organické vrstvy. Vodná vrstva se filtruje, aby se odstranily stopy chloridu uhličitého.

Tlumivý roztok octanový o pH 5,0

Ke 120 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* (6 g/l) se přidá 100 ml *hydroxidu draselného 0,1 mol/l RS* a asi 250 ml *vody R*. Promíchá se a upraví se hodnota pH na 5,0 roztokem *kyseliny octové RS* (6 g/l) nebo *hydroxidem draselným 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 5,2

1,02 g *hydrogenftalanu draselného R* se rozpustí ve 30,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 5,5

54,4 g *octanu sodného R* se rozpustí, je-li třeba zahřátím na 35 °C, v 50,0 ml *vody R*. Po ochlazení se pomalu přidá 10 ml *kyseliny octové bezvodé R*, zamíchá se a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 5,5

Roztok I. 13,61 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Roztok II. 35,81 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

96,4 ml roztoku I a 3,6 ml roztoku II se smíchají.

Tlumivý roztok fosforečnan-citronanový o pH 5,5

56,85 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* (28,4 g/l) se smíchá s 43,15 ml roztoku *kyseliny citronové R* (21 g/l).

Tlumivý roztok octan-edetanový o pH 5,5

250 g *octanu amonného R* a 15 g *edetanu disodného R* se rozpustí ve 400 ml *vody R* a přidá se 125 ml *kyseliny octové ledové R*.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 5,8

1,19 g *hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R* a 8,25 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok octanový o pH 6,0

100 g *octanu amonného R* se rozpustí ve 300 ml *vody R*, přidá se 4,1 ml *kyseliny octové ledové R*, dle potřeby se upraví pH (2.2.3) *amoniakem 17,5% R* nebo *kyselinou octovou RS* a potom se zředí *vodou R* na 500,0 ml.

Tlumivý roztok diethylamoniumfosforečnanový o pH 6,0

68 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 500 ml. K 25 ml tohoto roztoku se přidá 450 ml *vody R* a 6 ml *diethylaminu R*, dle potřeby se upraví pH na $6 \pm 0,05$ (2.2.3) za použití *diethylaminu R* nebo *kyseliny fosforečné R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,0

63,2 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (71,5 g/l) se smíchá s 36,8 ml roztoku *kyseliny citronové R* (21,0 g/l).

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,0 (1)

6,8 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 1000,0 ml a upraví se pH (2.2.3) roztoku *hydroxidem sodným koncentrovaným RS*.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,0 (2)

K 250,0 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* se přidá 28,5 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,4

1,79 g *hydrogenfosforečnanu sodného R*, 1,36 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 7,02 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,4 (1)

2,5 g *hydrogenfosforečnanu sodného R*, 2,5 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* a 8,2 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 950 ml *vody R*. Dle potřeby se upraví pH (2.2.3) roztoku na 6,4 *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* nebo *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS*. Zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok hydrogenftalanový o pH 6,4 (0,5 mol/l)

100 g *hydrogenftalanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku za použití *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*.

3776 Zkoumadla**Tlumivý roztok o pH 6,5**

60,5 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 46 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 100 ml *edetanu disodného 0,02 mol/l RS* a 20 mg *chloridu rtuťnatého R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok imidazolový o pH 6,5

6,81 g *imidazolu R* a 1,23 g *síranu hořečnatého R* se rozpustí v 752 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztoku a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,6

K 250,0 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* se přidá 89,0 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 6,8

1,0 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R*, 2,0 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* a 8,5 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,8

77,3 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R (71,5 g/l)* se smíchá s 22,7 ml roztoku *kyseliny citronové R (21,0 g/l)*.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 6,8 (1)

K 51,0 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného (27,2 g/l)* se přidá 49,0 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R (71,6 g/l)*. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 6,8 (1 mol/l)

60,6 g *trometamolu R* se rozpustí ve 400 ml *vody R*. Hodnota pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 7,0

K 1000 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R (18,0 g/l)* a *chloridu sodného R (23,0 g/l)* se přidá takové množství roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R (7,8 g/l)* a *chloridu sodného R (23,0 g/l)*, aby vznikl roztok o pH 7,0 (asi 280 ml) (2.2.3). V tomto roztoku se rozpustí takové množství *azidu sodného R*, aby jeho koncentrace byla 0,2 g/l.

Tlumivý roztok maleinanový o pH 7,0

10,0 g *chloridu sodného R*, 6,06 g *trometamolu R* a 4,90 g *anhydridu kyseliny maleinové R* se rozpustí v 900 ml *vody R* a upraví se pH (2.2.3) roztokem *hydroxidu sodného R (170 g/l)* na 7,0 a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C. Je použitelný 3 dny.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0

82,4 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (71,5 g/l) a 17,6 ml roztoku *kyseliny citronové R* (21,0 g/l) se smíchá.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (1)

250,0 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l R* se smíchá se 148,2 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (8,0 g/l). Podle potřeby se upraví pH roztoku (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (2)

50,0 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (136 g/l) se smíchá se 29,5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Upraví se pH roztoku (2.2.3) na $(7,0 \pm 0,1)$.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (3)

5 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 11 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*. Hodnota pH (2.2.3) se upraví na 7,0 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS*. Objem roztoku se doplní *vodou R* na 1000,0 ml a promíchá se.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (0,025 mol/l)

1 objemový díl *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,063 mol/l)* se smíchá s 1,5 objemových dílů *vody R*.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (0,063 mol/l)

5,18 g *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* a 3,65 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* se rozpustí v 950 ml *vody R* a hodnota pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou R*; roztok se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (0,067 mol/l)

Roztok I. 0,908 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Roztok II. 2,38 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

38,9 ml roztoku I a 61,1 ml roztoku II se smíchá. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (0,1 mol/l)

1,361 g roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Upraví se pH (2.2.3) roztokem *hydrogenfosforečnanu sodného R* (35 g/l).

Tlumivý roztok o pH 7,2

K 250,0 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l R* se přidá 175,0 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

3778 Zkoumadla**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,2**

87,0 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (71,5 g/l) se smíchá s 13,0 ml roztoku *kyseliny citronové R* (21,0 g/l).

Tlumivý roztok fosforečnan-albuminový o pH 7,2

10,75 g *hydrogenfosforečnanu sodného R*, 7,6 g *chloridu sodného R* a 10 g *albuminu hovězího R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se upraví pH (2.2.3) *hydroxidem sodným zředěným RS* nebo *kyselinou fosforečnou zředěnou RS*.

Tlumivý roztok fosforečnan-albuminový o pH 7,2 (1)

10,75 g *hydrogenfosforečnanu sodného R*, 7,6 g *chloridu sodného R* a 1 g *albuminu hovězího R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se upraví pH (2.2.3) *hydroxidem sodným zředěným RS* nebo *kyselinou fosforečnou zředěnou RS*.

Tlumivý roztok fyziologický o pH 7,2

8,0 g *chloridu sodného R*, 0,20 g *chloridu draselného R*, 0,10 g *chloridu vápenatého bezvodého R*, 0,10 g *chloridu hořečnatého R*, 3,18 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 0,20 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok imidazolový o pH 7,3

3,4 g *imidazolu R* a 5,8 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 18,6 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Tlumivý roztok barbitalový o pH 7,4

50 ml roztoku obsahujícího *octan sodný R* (19,44 g/l) a *barbital sodnou sůl R* (29,46 g/l) se smíchá s 50,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Potom se přidá 20 ml roztoku *chloridu sodného R* (85 g/l) a zředí se *vodou R* na 250,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,4

K 393,4 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* se přidá 250,0 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* a promíchá se.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,4

6,08 g *trometamolu R* a 8,77 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 500,0 ml *vody destilované R*. Přidá se 10,0 g *albuminu hovězího R*, upraví se pH (2.2.3) za použití *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 7,4 (1)

0,60 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R*, 6,4 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 5,85 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky 3779

Tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 7,4

2,38 g *hydrogenfosforečnanu sodného R*, 0,19 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 8,0 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Tlumivý roztok boritanový o pH 7,5

2,5 g *chloridu sodného R*, 2,85 g *tetraboritanu sodného R* a 10,5 g *kyseliny borité R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,5 (0,2 mol/l)

27,22 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 930 ml *vody R*, upraví se na pH 7,5 (2.2.3) roztokem *hydroxidu draselného R* (300 g/l) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,5 (0,33 mol/l)

Roztok I. 119,31 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Roztok II. 45,36 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

85 ml roztoku I se smíchá s 15 ml roztoku II. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3).

Tlumivý roztok HEPES o pH 7,5

2,38 g *HEPES R* se rozpustí v asi 90 ml *vody R*. Hodnota pH se upraví na 7,5 *hydroxidem sodným RS* a doplní se *vodou R* na 100 ml.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5

7,27 g *trometamolu R* a 5,27 g *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (1)

Viz odstavec *Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (0,05 mol/l)*.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 7,5 (0,05 mol/l)

6,057 g *trometamolu R* se rozpustí ve *vodě R*, upraví se pH (2.2.3) *kyselinou chlorovodíkovou R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok citronanový o pH 7,8

10,0 g *citronanu sodného R* a 5,90 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*. Hodnota pH (2.2.3) se upraví přidáním *kyseliny chlorovodíkové R* a objem roztoku se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

3780 Zkoumadla

Tlumivý roztok o pH 8,0

K 50,0 ml dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS se přidá 46,8 ml hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS a zředí se vodou R na 200,0 ml.

Tlumivý roztok boritanový o pH 8,0 (0,0015 mol/l)

0,572 g tetraboritanu sodného R a 2,94 g chloridu vápenatého R se rozpustí v 800 ml vody R. Upraví se pH (2.2.3) tohoto roztoku kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 8,0 (0,02 mol/l)

K 50,0 ml roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS se přidá 46,8 ml roztoku hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS a zředí se vodou R na 500,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 8,0 (0,1 mol/l)

0,523 g dihydrogenfosforečnanu draselného R a 16,73 g hydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 8,0 (1 mol/l)

136,1 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí ve vodě R, upraví se pH (2.2.3) hydroxidem sodným 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 8,1

0,294 g chloridu vápenatého R se rozpustí ve 40 ml trometamolu RS, upraví se pH (2.2.3) kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Tlumivý roztok trometamol-glycinový o pH 8,3

6,0 g trometamolu R a 28,8 g glycinu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 10,0 ml.

Tlumivý roztok barbitalový o pH 8,4

8,25 g barbitalu sodné soli R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok trometamol-albuminový o pH 8,4

6,1 g trometamolu R, 2,8 g edetanu disodného R, 10,2 g chloridu sodného R a 10 g albuminu hovězího R se rozpustí ve vodě R, upraví se pH na 8,4 (2.2.3) kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok trometamolový s edetanem disodným o pH 8,4

5,12 g chloridu sodného R, 3,03 g trometamolu R a 1,40 g edetanu disodného R se rozpustí v 250 ml vody destilované R, upraví se pH (2.2.3) na 8,4 kyselinou chlorovodíkovou R a zředí se vodou destilovanou R na 500,0 ml.

Tlumivý roztok trisacetatový o pH 8,5

0,294 g chloridu vápenatého R a 12,11 g trometamolu R se rozpustí ve vodě R, upraví se pH (2.2.3) kyselinou octovou RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok barbitalový o pH 8,6 (1)

1,38 g barbitalu R, 8,76 g barbitalu sodné soli R a 0,38 g mléčnanu vápenatého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok trometamolový o pH 8,8 (1,5 mol/l)

90,8 g trometamolu R se rozpustí ve 400 ml vody R, upraví se pH (2.2.3) kyselinou chlorovodíkovou R a zředí se vodou R na 500,0 ml.

Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 9,0

1,74 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí v 80 ml vody R, je-li třeba, upraví se pH (2.2.3) roztokem hydroxidu draselného 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Tlumivý roztok o pH 9,0

Roztok I. 6,18 g kyseliny borité R se rozpustí v chloridu draselném 0,1 mol/l RS a zředí se jím na 1000,0 ml.

Roztok II. Roztok hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS.

1000,0 ml roztoku I se smíchá se 420,0 ml roztoku II.

Tlumivý roztok o pH 9,0 (1)

6,20 g kyseliny borité R se rozpustí v 500 ml vody R, upraví se pH (2.2.3) hydroxidem sodným 1 mol/l RS (asi 41,5 ml) a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok s chloridem amonným o pH 9,5

33,5 g chloridu amonného R se rozpustí ve 150 ml vody R, přidá se 42,0 ml amoniaku 26% R a zředí se vodou R na 250,0 ml. Uchovává se v polyethylenových obalech.

Tlumivý roztok s chloridem amonným o pH 10,0

5,4 g chloridu amonného R se rozpustí ve 20 ml vody R, přidá se 35,0 ml amoniaku 17,5% RS a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Tlumivý roztok diethanolaminový o pH 10,0

96,4 g diethanolaminu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 400 ml. Přidá se 0,5 ml roztoku chloridu hořečnatého R (186,0 g/l), upraví se pH (2.2.3) kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 500,0 ml.

3782 Zkoumadla

Tlumivý roztok o pH 10,9

6,75 g *chloridu amonného R* se rozpustí v roztoku *amoniaku 17,5% RS* a zředí se jím na 100,0 ml.

Tlumivý roztok k úpravě celkové iontové síly

58,5 g *chloridu sodného R*, 57,0 ml *kyseliny octové ledové R*, 61,5 g *octanu sodného R* a 5,0 g *kyseliny cyklohexyldinitrilotetraoctové R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml. Upraví se pH (2.2.3) roztokem *hydroxidu sodného R* (335 g/l) na 5,0 až 5,5 a zředí se *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml.

Tlumivý roztok k úpravě celkové iontové síly (1)

Roztok (a). 210 g *kyseliny citronové R* se rozpustí ve 400 ml *vody destilované R*. Upraví se pH (2.2.3) *amoniakem 26% R* na 7,0. Roztok se zředí *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml.

Roztok (b). 132 g *hydrogenfosforečnanu amonného R* se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Roztok (c). K suspenzi 292 g *kyseliny edetové R* v asi 500 ml *vody destilované R* se přidává asi 200 ml *amoniaku 26% R* do rozpuštění. Upraví se pH (2.2.3) *amoniakem 26% R* na 6 až 7. Roztok se zředí *vodou destilovanou R* na 1000,0 ml.

Smíchají se stejné objemy roztoků (a), (b) a (c) a pH se upraví *amoniakem 26% R* na hodnotu 7,5.

4.2 Odměrná analýza

4.2.1 Základní látky pro odměrné roztoky

Základní látky pro odměrné roztoky jsou označeny písmeny *VR* a připravují se následujícími postupy.

Bromičnan draselný VR

KBrO_3 M_r 167,0 CAS 7758-01-2

Připravuje se překrystalizováním *bromičnanu draselného R* z vroucí vody *R* a následným vysušením při 180 °C do konstantní hmotnosti.

Hydrogenftalan draselný VR

$\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ M_r 204,2 CAS 877-24-7

Hydrogenftalan draselný R se překrystalizuje z vroucí vody *R*, krystaly se oddělí při teplotě nad 35 °C a suší se při 110 °C do konstantní hmotnosti.

Chlorid sodný VR

NaCl M_r 58,44 CAS 7647-14-5

Na jeden objemový díl nasyceného roztoku *chloridu sodného R* se přidají dva objemové díly *kyseliny chlorovodíkové R*. Vyloučené krystaly se promyjí *kyselinou chlorovodíkovou RS*, která se odstraní zahříváním na vodní lázni. Krystaly se suší při 300 °C do konstantní hmotnosti.

Kyselina benzoová VR

$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ M_r 122,1 CAS 65-85-0

Připravuje se sublimací *kyseliny benzoové R* ve vhodném zařízení.

Kyselina sulfanilová VR

$\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$ M_r 173,2 CAS 121-57-3

Připravuje se překrystalizováním *kyseliny sulfanilové R* z vroucí vody. Po filtraci se krystaly suší při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti.

Oxid arsenitý VR

As_2O_3 M_r 197,8 CAS 1327-53-3

Připravuje se sublimací *oxidu arsenitého R* ve vhodném zařízení.

Uchovává se nad *silikagelem bezvodým R*.

Uhličitan sodný VR

Na_2CO_3 M_r 106,0 CAS 497-19-8

Nasycený roztok *uhličitanu sodného R* se při pokojové teplotě zfiltruje, potom se pomalu do filtrátu zavádí plynný *oxid uhličitý R* a míchá se do vychladnutí. Po 2 h se vzniklá sraženina zfil-

3784 Zkoumadla

truje přes filtr ze slinutého skla, promyje se ledovou vodou *R* nasycenou oxidem uhličitým. Po vysušení při 100 °C až 105 °C se zahřívá za občasného míchání při 270 °C až 300 °C do konstantní hmotnosti.

Zinek VR

Zn

 A_r 65,4

CAS 7440-66-6

Obsah zinku je nejméně 99,9 %.

4.2.2 Odměrné roztoky

Odměrné roztoky se připravují obvyklými chemickými analytickými postupy. Ověří se přesnost použité aparatury, zda je vhodná pro zamýšlené použití.

Koncentrace odměrných roztoků se uvádí v molaritě. Molarita vyjadřuje počet molů látky rozpuštěné v 1 litru roztoku. Roztok, který obsahuje x molů látky v litru, se označuje x mol/l.

Odměrné roztoky se neliší od předepsané koncentrace o více než ± 10 %. Molarita odměrných roztoků se stanoví s přesností 0,2 %.

Voda používaná v odměrné analýze vyhovuje požadavkům článku *Aqua purificata*.

Stanovení titru odměrných roztoků se provádí postupy uvedenými dále. Když se odměrný roztok použije pro stanovení, ve kterém se určí bod ekvivalence elektrochemickým postupem (například amperometricky nebo potenciometricky), stanovení titru odměrného roztoku se provede stejným postupem. Složení prostředí, ve kterém se provádí stanovení titru, má být stejné jako při vlastním stanovení.

Zředěné odměrné roztoky se připravují z roztoků popsanych dále jejich ředěním vodou prostou oxidu uhličitého *R*. Titr těchto odměrných roztoků je stejný jako titr připravených odměrných roztoků. Roztoky s molaritou nižší než 0,1 mol/l se připravují v čas potřeby.

Odměrné roztoky jsou označeny písmeny *VS*. Roztoky připravené v koncentraci mol/l podle níže uvedených postupů, u nichž nebyl stanoven titr, jsou v článcích označeny *RS*.

Arsenitan sodný 0,1 mol/l VS

Množství oxidu arsenitého *VR* odpovídající 4,946 g As_2O_3 se rozpustí ve směsi 20 ml hydroxidu sodného koncentrovaného *RS* a 20 ml vody *R* a zředí se jí na 400 ml. Potom se přidává kyselina chlorovodíková zředěná *RS*, dokud není roztok neutrální na papír lakmusový *R*. V roztoku se rozpustí 2 g hydrogenuhličitanu sodného *R* a zředí se vodou *R* na 500,0 ml.

Benzetoniumchlorid 0,004 mol/l VS

1,792 g benzetoniumchloridu *R* předem vysušeného do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Skutečná molarita roztoku se vypočítá ze stanovení obsahu benzetoniumchloridu, počítáno na vysušený $C_{27}H_{42}ClNO_2$. Stanoví se následovně: 0,350 g vysušené látky se rozpustí v 30 ml kyseliny octové bezvodé *R*, přidá se 6 ml octanu rtuťnatého *RS* a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l *VS* za použití 0,05 ml violeti krystalové *RS* jako indikátoru. Současně se provede slepý pokus.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l *VS* odpovídá 44,81 mg $C_{27}H_{42}ClNO_2$.

Bromičnan draselný 0,033 mol/l VS

5,5670 g bromičnanu draselného VR se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Bromičnan draselný 0,02 mol/l VS

3,340 g bromičnanu draselného VR se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Bromičnan draselný 0,0167 mol/l VS

Připraví se zředěním bromičnanu draselného 0,033 mol/l VS.

Bromičnan draselný 0,0083 mol/l VS

Připraví se zředěním bromičnanu draselného 0,033 mol/l VS.

Bromičnan draselný 0,0167 mol/l s bromidem draselným VS

2,7835 g bromičnanu draselného VR a 13 g bromidu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Dichroman draselný 0,0167 mol/l VS

4,90 g dichromanu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml roztoku dichromanu draselného se přidá 1,0 g jodidu draselného R a 7 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS. Přidá se 250 ml vody R a titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 3 ml škrobu RS jako indikátoru z modrého zbarvení roztoku do světle zeleného.

Dusičnan olovnatý 0,1 mol/l VS

33,0 g dusičnanu olovnatého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml roztoku dusičnanu olovnatého se přidá 300 ml vody R a obsah olova se stanoví chelatometricky (2.5.11).

Dusičnan rtuťnatý 0,02 mol/l VS

6,85 g dusičnanu rtuťnatého R se rozpustí ve 20 ml kyseliny dusičné 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 15,0 mg chloridu sodného VR se rozpustí v 50 ml vody R a titruje se roztokem dusičnanu rtuťnatého za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití srovnávací merkurosulfátové elektrody a indikační platínové nebo rtuťové elektrody.

1 ml dusičnanu rtuťnatého 0,02 mol/l VS odpovídá 2,338 mg NaCl.

Dusičnan stříbrný 0,1 mol/l VS

17,0 g dusičnanu stříbrného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 0,100 g chloridu sodného VR se rozpustí ve 30 ml vody R a titruje se připraveným roztokem dusičnanu stříbrného za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

3786 Zkoumadla

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,844 mg NaCl.
Uchovává se chráněn před světlem.

Dusičnan stříbrný 0,001 mol/l VS

5,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* se zředí vodou R na 500,0 ml.

Dusitan sodný 0,1 mol/l VS

7,5 g *dusitanu sodného R* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 0,300 g *kyseliny sulfanilové VR* se rozpustí v 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a roztokem *dusitanu sodného* se provede stanovení dusíku v primárních aromatických aminech (2.5.8) za elektrometrické indikace bodu ekvivalence. Titr se stanovuje v čas potřeby.

1 ml *dusitanu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 17,32 mg $C_6H_7NO_3S$.

Edetan disodný 0,1 mol/l VS

37,5 g *edetanu disodného R* se rozpustí v 500 ml *vody R*, přidá se 100 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 0,120 g *zinku VR* se rozpustí ve 4 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a přidá se 0,1 ml *bromové vody R*. Varem se odstraní přebytečný brom. Reakce roztoku se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na slabě kyselou nebo neutrální. Obsah zinku se stanoví chelatometricky (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,54 mg Zn.

Uchovává se v polyethylenových obalech.

Edetan disodný 0,02 mol/l VS

7,444 g *edetanu disodného R* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 0,100 g *zinku VR* se rozpustí ve 4 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a přidá se 0,1 ml *bromové vody R*. Varem se odstraní přebytečný brom a roztok se přelije do odměrné baňky a zředí se vodou R na 100,0 ml. 25,0 ml tohoto roztoku se přeneso do 500ml kuželové baňky a zředí se vodou R na 200 ml. Dále se přidá asi 50 mg *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R* a takové množství *methenaminu R*, až vznikne fialově růžové zbarvení. Dále se přidají 2,0 g *methenaminu R* a titruje se roztokem *edetanu disodného* do změny fialově růžového zbarvení na žluté.

1 ml *edetanu disodného 0,02 mol/l VS* odpovídá 1,308 mg Zn.

Hexanitratoceričitan amonný 0,1 mol/l VS

54,82 g *hexanitratoceričitanu amonného R* a 56 ml *kyseliny sírové R* se 2 min míchají. Přidá se pětkrát 100 ml *vody R* a po každém přidání se roztok promíchá. Čirý roztok se zředí vodou R na 1000,0 ml. Titr roztoku se stanoví 10 dní po přípravě.

Stanovení titru. 80,0 mg *oxidu arsenitého VR* se rozpustí mírným zahřátím v 15 ml *hydroxidu sodného 0,2 mol/l RS*. K čirému roztoku se přidá 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 0,15 ml roztoku *oxidu osmičelého R* (2,50 g/l) v *kyselině sírové zředěné RS* a 0,1 ml *feroinu RS*. Titruje se připraveným roztokem *hexanitratoceričitanu amonného*, ke konci titrace pomalu, až do vymizení červeného zbarvení.

1 ml *hexanitratoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS* odpovídá 4,946 mg As_2O_3 .
Uchovává se chráněn před světlem.

Hexanitratoceričitan amonný 0,01 mol/l VS

K 100,0 ml *hexanitratoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS* se za chlazení přidá 30 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Hydrogenftalan draselný 0,1 mol/l VS

V kuželové baňce obsahující asi 800 ml *kyseliny octové bezvodé R* se rozpustí 20,42 g *hydrogenftalanu draselného VR* a zahřívá se na vodní lázni do úplného rozpuštění za chránění před vlhkostí. Ochladí se na 20 °C a zředí se *kyselinou octovou bezvodou R* na 1000,0 ml.

Hydroxid draselný 1 mol/l VS

60 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 20,0 ml roztoku *hydroxidu draselného* se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

Hydroxid draselný 0,1 mol/l VS

6,0 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 20,0 ml roztoku *hydroxidu draselného* se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

Hydroxid draselný 0,5 mol/l v lihu 60% VS

3,0 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí v *lihu prostém aldehydů R 60% (V/V)* a zředí se jím na 100,0 ml.

Stanovení titru. 20,0 ml roztoku *hydroxidu draselného v lihu 60% (V/V)* se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

Hydroxid draselný v lihu 0,5 mol/l VS

3,0 g *hydroxidu draselného R* se rozpustí v 5 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% prostým aldehydů R* na 100,0 ml.

Stanovení titru. 20,0 ml roztoku *hydroxidu draselného v lihu* se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

Hydroxid draselný v lihu 0,1 mol/l VS

20,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* se zředí *lihem 96% prostým aldehydů R* na 100,0 ml.

3788 Zkoumadla**Hydroxid draselný v lihu 0,01 mol/l VS**

2,0 ml hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS se zředí lihem 96% prostým aldehydů R na 100,0 ml.

Hydroxid sodný 1 mol/l VS

42 g hydroxidu sodného R se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 20,0 ml roztoku hydroxidu sodného se titruje kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS za použití předepsaného indikátoru pro titraci.

Pokud je předepsáno použití odměrného roztoku hydroxidu sodného prostého uhličitánů, pak se při jeho přípravě postupuje následovně:

Hydroxid sodný R se rozpustí ve vodě R na koncentraci 400 g/l až 600 g/l a nechá se stát. Čirá supernatantní tekutina se slije za chránění před oxidem uhličitým a zředí se vodou prostou oxidu uhličitého R na požadovanou molaritu. Roztok vyhovuje následující zkoušce:

20,0 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové stejné molarity se titruje roztokem hydroxidu sodného za použití 0,5 ml fenolftaleinu RS jako indikátoru. Po dosažení bodu ekvivalence se přidá dostatečné množství kyseliny chlorovodíkové k odbarvení roztoku a jeho objem se varem sníží na 20 ml. Během varu se přidá právě tolik kyseliny chlorovodíkové, až růžové zbarvení vzniklé varem zmizí a při dalším vaření se již neobjeví. Spotřebuje se nejvýše 0,10 ml kyseliny chlorovodíkové.

Hydroxid sodný 0,1 mol/l VS

100,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Provede se způsobem popsaným v odstavci Hydroxid sodný 1 mol/l VS za použití kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS.

Hydroxid sodný v ethanolu 0,1 mol/l VS

K 250 ml ethanolu R se přidá 3,3 g hydroxidu sodného koncentrovaného RS.

Stanovení titru. 0,200 g kyseliny benzoové VR se rozpustí ve směsi 2 ml vody R a 10 ml lihu 96% R. Titruje se připraveným roztokem hydroxidu sodného v ethanolu za použití 0,2 ml thymolftaleinu RS jako indikátoru. Titr se stanoví v čas potřeby.

1 ml hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS odpovídá 12,21 mg C₇H₆O₂.

Chlorid barnatý 0,1 mol/l VS

· 24,4 g chloridu barnatého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 10,0 ml roztoku chloridu barnatého se přidá 60 ml vody R, 3 ml amoniaku 26% R, 0,5 mg až 1,0 mg ftaleinpurpuru R a titruje se edetanem disodným 0,1 mol/l VS. Když se roztok začne odbarvovat, přidá se 50 ml lihu 96% R a titruje se až do vymizení modrofialového zbarvení.

Chlorid hořečnatý 0,1 mol/l VS

20,33 g chloridu hořečnatého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Obsah hořčíku se stanoví chelatometricky (2.5.11).

Chlorid zinečnatý 0,05 mol/l VS

6,82 g chloridu zinečnatého R (váží se velmi opatrně) se rozpustí ve vodě R. Je-li potřeba, přidává se po kapkách kyselina chlorovodíková R do vymizení zákalu. Zředí se vodou R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml roztoku chloridu zinečnatého se přidá 5 ml kyseliny octové zředěné RS a obsah zinku se stanoví chelatometricky (2.5.11).

Chloristan barnatý 0,05 mol/l VS

15,8 g hydroxidu barnatého R se rozpustí ve směsi 7,5 ml kyseliny chloristé R a 75 ml vody R. pH roztoku se upraví na hodnotu 3 přidáním kyseliny chloristé R a je-li třeba, roztok se zfiltruje. Po přidání 150 ml lihu 96% R se zředí vodou R na 250 ml a tlumivým roztokem o pH 3,7 se zředí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 5,0 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l VS se přidá 5,0 ml vody R, 50 ml tlumivého roztoku o pH 3,7 a 0,5 ml alizarinu S RS. Titruje se roztokem chloristanu barnatého do vzniku oranžovočerveného zbarvení. Titr se stanoví v čas potřeby.

Jod 0,5 mol/l VS

127 g jodu R a 200 g jodidu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 400,0 mg oxidu arsenitého VR se rozpustí ve směsi 10 ml hydroxidu sodného zředěného RS a 10 ml vody R. Přidá se 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, 3 g hydrogenuhličitanu sodného R a titruje se roztokem jodu za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru.

1 ml jodu 0,5 mol/l VS odpovídá 49,46 mg As_2O_3 .

Uchovává se chráněn před světlem.

Jod 0,01 mol/l VS

0,3 g jodidu draselného R se přidá k 20,0 ml jodu 0,05 mol/l VS a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Jod 0,05 mol/l VS

12,7 g jodu R a 20 g jodidu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 80 mg oxidu arsenitého VR se rozpustí ve směsi 10 ml hydroxidu sodného zředěného RS a 10 ml vody R. Přidá se 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, 3,0 g hydrogenuhličitanu sodného R a titruje se roztokem jodu za použití 1 ml škrobu RS jako indikátoru.

1 ml jodu 0,05 mol/l VS odpovídá 4,946 mg As_2O_3 .

Uchovává se chráněn před světlem.

3790 Zkoumadla**Jodičnan draselný 0,05 mol/l VS**

10,70 g jodičnanu draselného *R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 25,0 ml roztoku jodičnanu draselného se zředí vodou *R* na 100,0 ml. Ke 20,0 ml tohoto roztoku se přidají 2,0 g jodidu draselného *R* a 10 ml kyseliny sírové zředěné *RS*. Titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za přítomnosti 1 ml škrobu *RS* přidaného před koncem titrace.

Jodistan sodný 0,1 mol/l VS

21,4 g jodistanu sodného *R* se rozpustí v asi 500 ml vody *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Do baňky se zátkou se odměří 20,0 ml roztoku jodistanu sodného a přidá se 5 ml kyseliny chloristé *R*. Baňka se uzavře a obsah baňky se protřepe. pH (2.2.3) se upraví nasyceným roztokem hydrogenuhličitanu sodného *R* na hodnotu 6,4. Přidá se 10 ml jodidu draselného *RS*, baňka se uzavře, obsah baňky se protřepe a nechá se stát 2 min. Titruje se arsenitanem sodným 0,025 mol/l VS až žluté zbarvení roztoku téměř zmizí. Přidají se 2 ml škrobu *RS* a pomalu se titruje až do úplného zmizení zbarvení.

Jodosiřičité činidlo VS

Aparatura k přípravě roztoku musí být během přípravy uzavřená a suchá. Skládá se z nádoby s kulatým dnem o obsahu 3000 ml až 4000 ml opatřené otvory pro míchadlo, teploměr a s otvorem pro trubičku se sušidlem. Za stálého míchání se ke směsi 700 ml pyridinu bezvodého *R* a 700 ml 2-methoxyethanolu *R* přidá 220 g jemně upráškovaného jodu *R* předem vysušeného nad oxidem fosforečným *R*. Míchá se do rozpuštění jodu (asi 30 min). Roztok se ochladí na $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ a rychle za stálého míchání se přidá 190 g kapalného oxidu siřičitého *R*, přičemž teplota nesmí překročit $30\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok se ochladí.

Stanovení titru. Asi 20 ml methanolu bezvodého *R* se titruje jodosiřičitým činidlem způsobem uvedeným ve stati (2.5.12). Po dosažení bodu ekvivalence se přidá odpovídající, přesně odvážené množství vody *R* a znovu se titruje. Vypočítá se, kolik miligramů vody odpovídá 1 ml jodosiřičitého činidla.

1 ml jodosiřičitého činidla odpovídá nejméně 3,5 mg vody. Titr roztoku se stanoví v čas potřeby. Při práci je nutná ochrana před vlhkostí. Roztok se uchovává v suchém obalu.

Karbohendeciniumbromid 0,01 mol/l VS

Množství karbohendeciniumbromidu *R* odpovídající 4,2250 g $\text{C}_{21}\text{H}_{44}\text{BrNO}_2$, vysušeného při $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ do konstantní hmotnosti, se rozpustí v odměrné baňce ve vodě *R* a doplní se jí na 1000,0 ml. Roztok je stálý.

Kyselina dusičná 1 mol/l VS

96,6 g kyseliny dusičné *R* se zředí vodou *R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 1,000 g uhličitanu sodného *VR* se rozpustí v 50 ml vody *R*, přidá se 0,1 ml oranže methylové *RS* a titruje se roztokem kyseliny dusičné do první změny zbarvení na červenožluté. Potom se vaří 2 min, přičemž se zbarvení roztoku změní na žluté. Po ochlazení se dotitruje do červenožlutého zbarvení.

1 ml kyseliny dusičné 1 mol/l VS odpovídá 53,00 mg Na_2CO_3 .

Kyselina chloristá 0,1 mol/l VS

K 900 ml *kyseliny octové ledové R* se v odměrné baňce za míchání přidá 8,5 ml *kyseliny chloristé R*. Potom se přidá 30 ml *acetanhydridu R* a zředí se *kyselinou octovou ledovou R* na 1000,0 ml. Směs se promíchá a nechá se stát 24 h. Stanoví se obsah vody semimikrostanovením (2.5.12) bez přidání methanolu, a je-li třeba, upraví se obsah vody na 0,1 % až 0,2 % přidáním buď *acetanhydridu R*, nebo *vody R*. Opět se nechá stát 24 h.

Stanovení titru. 0,350 g *hydrogenftalanu draselného VR* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Po ochlazení, při němž je třeba roztok chránit před vlivem vzduchu, se titruje roztokem *kyseliny chloristé* za použití 0,05 ml *violeti krystalové RS*. V průběhu stanovení titru je potřebné sledovat teplotu roztoku *kyseliny chloristé*. Je-li teplota při stanovení obsahu odlišná od teploty při stanovení titru *kyseliny chloristé*, provede se korekce objemu *kyseliny chloristé* použité na stanovení obsahu následovně:

$$V_c = V [1 + (t_1 - t_2) 0,0011],$$

v němž značí:

- t_1 - teplota při stanovení titru,
- t_2 - teplota při stanovení obsahu,
- V_c - korigovaný objem,
- V - nalezený objem při stanovení obsahu.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,42 mg $C_8H_5KO_4$.

Kyselina chloristá 0,05 mol/l VS

50,0 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* se zředí *kyselinou octovou bezvodou R* na 100,0 ml.

Kyselina chlorovodíková 1 mol/l VS

103,0 g *kyseliny chlorovodíkové R* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 1,000 g *uhličitanu sodného VR* se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml *oranže methylové RS* a titruje se roztokem *kyseliny chlorovodíkové* do první změny zbarvení na žlutočervené. Potom se vaří 2 min, přičemž se zbarvení roztoku změní na žluté. Po ochlazení se dotitruje do žlutočerveného zbarvení.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 53,00 mg Na_2CO_3 .

Kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l VS

100,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Stanoví se způsobem uvedeným v odstavci *Kyselina chlorovodíková 1 mol/l VS* s navázkou 0,100 g *uhličitanu sodného VR*, který se rozpustí ve 20 ml *vody R*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,30 mg Na_2CO_3 .

Kyselina octová 0,1 mol/l VS

6,0 g *kyseliny octové ledové R* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 25,0 ml *kyseliny octové* se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*.

3792 Zkoumadla**Kyselina sírová 0,5 mol/l VS**

28 ml kyseliny sírové R se zředí vodou R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. 1,000 g uhličitanu sodného VR se rozpustí v 50 ml vody R, přidá se 0,1 ml oranžové methylové RS a titruje se roztokem kyseliny sírové do první změny zbarvení na červenožluté. Potom se vaří 2 min, přičemž barva roztoku se změní na žlutou. Po ochlazení se dotitruje do červenožlutého zbarvení.

1 ml kyseliny sírové 0,5 mol/l VS odpovídá 53,00 mg Na₂CO₃.

Kyselina sírová 0,05 mol/l VS

100,0 ml kyseliny sírové 0,5 mol/l VS se zředí vodou R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Titr kyseliny sírové se stanoví způsobem uvedeným v odstavci Kyselina sírová 0,5 mol/l VS s navážkou uhličitanu sodného VR 0,100 g, která se rozpustí ve 20 ml vody R.

1 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l VS odpovídá 5,30 mg Na₂CO₃.

Manganistan draselný 0,02 mol/l VS

3,2 g manganistanu draselného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. Roztok se zahřívá 1 h na vodní lázni, nechá se vychladnout a zfiltruje se přes filtr ze slinutého skla.

Stanovení titru. K 20,0 ml roztoku manganistanu draselného se přidají 2 g jodidu draselného R a 10 ml kyseliny sírové zředěné RS a titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS za použití 1 ml škrobu RS přidaného před koncem titrace jako indikátoru. Titr se stanoví v čas potřeby.

Uchovává se chráněn před světlem.

Methoxid lithný 0,1 mol/l VS

0,694 g lithia R se rozpustí ve 150 ml methanolu bezvodého R a zředí se toluenem R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 10 ml dimethylformamidu R se přidá 0,05 ml roztoku modři thymolové R (3 g/l) v methanolu R a titruje se roztokem methoxidu lithného do jasně modrého zbarvení. Ihned se přidá 0,200 g kyseliny benzoové VR, míchá se do rozpuštění a znovu se titruje roztokem methoxidu lithného do jasně modrého zbarvení. Roztok je v průběhu titrace nutné chránit před vzdušným oxidem uhličitým. Titr roztoku methoxidu lithného se vypočítá ze spotřeby získané při druhé titraci. Stanovení titru se provede v čas potřeby.

1 ml methoxidu lithného 0,1 mol/l VS odpovídá 12,21 mg C₇H₆O₂.

Methoxid sodný 0,1 mol/l VS

175 ml methanolu bezvodého R se ochladí v ledové vodě a po malých dávkách se přidává za chlazení asi 2,5 g čerstvě nařezaného sodíku R. Když se kov rozpustí, roztok se zředí toluenem R na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 10 ml dimethylformamidu R se přidá 0,05 ml roztoku modři thymolové R (3 g/l) v methanolu R a titruje se roztokem methoxidu sodného do jasně modrého zbarvení. Ihned se přidá 0,200 g kyseliny benzoové VR, míchá se do rozpuštění a znovu se titruje roztokem methoxidu sodného do jasně modrého zbarvení. Roztok je v průběhu titrace nutné chránit před vzdušným

oxidem uhličitým. Titr roztoku methoxidu sodného se vypočítá ze spotřeby získané při druhé titraci. Stanovení titru se provede v čas potřeby.

1 ml *methoxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Síran amonno-železitý 0,1 mol/l VS

50,0 g *síranu amonno-železitého R* se rozpustí ve směsi 6 ml *kyseliny sírové R* a 300 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 25,0 ml roztoku *síranu amonno-železitého* se přidají 3 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 2 g *jodidu draselného R*. Roztok se nechá 10 min stát a potom se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 48,22 mg $FeNH_4(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$.

Síran ceričitý 0,1 mol/l VS

40,4 g *síranu ceričitého R* se rozpustí ve směsi 500 ml *vody R* a 50 ml *kyseliny sírové R*, nechá se ochladit a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 25,0 ml roztoku *síranu ceričitého* se přidají 2,0 g *jodidu draselného R* a 150 ml *vody R* a titruje se ihned *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu R* jako indikátoru.

Síran měďnatý 0,02 mol/l VS

5,00 g *síranu měďnatého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml roztoku *síranu měďnatého* se přidají 2 g *octanu sodného R* a 0,1 ml *pyridylazonaftolu RS* a titruje se roztokem *edetanu disodného 0,02 mol/l VS* do změny fialově modrého zbarvení na jasně zelené. Před koncem titrace se titruje pomalu.

Síran zinečnatý 0,1 mol/l VS

29,0 g *síranu zinečnatého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Ke 20,0 ml roztoku *síranu zinečnatého* se přidá 5 ml *kyseliny octové zředěné RS* a obsah zinku se stanoví chelatometricky (2.5.11).

Síran železnatý 0,1 mol/l VS

27,80 g *síranu železnatého R* se rozpustí v 500 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 25,0 ml roztoku *síranu železnatého* se přidají 3 ml *kyseliny fosforečné R* a ihned se titruje *manganistanem draselným 0,02 mol/l VS*. Titr se stanoví v čas potřeby.

Tetrabutylamoniumhydroxid 0,1 mol/l VS

40 g *tetrabutylamoniumjodidu R* se rozpustí v 90 ml *methanolu bezvodého R*, přidá se 20 g jemně upráškovaného *oxidu stříbrného R* a silně se 1 h protřepává. Několik mililitrů se odstředí a zkouší se na případnou přítomnost jodidů v supernatantní tekutině. Je-li reakce pozitivní, přidají se 2,0 g *oxidu stříbrného R* a protřepává se ještě 30 min. Postup se opakuje, dokud kapalina není prostá jodidů. Směs se zfiltruje přes jemný filtr se slinutého skla, baňka a filtr se promyjí třikrát

3794 Zkoumadla

50 ml *toluenu R*. Filtrát a promývací kapalina se spojí a roztok se zředí *toluenem R* na 1000,0 ml. Roztok se nechá 5 min probublávat suchým dusíkem prostým oxidu uhličitého.

Stanovení titru. K 10 ml *dimethylformamidu R* se přidá 0,05 ml roztoku *modři thymolové R* v *methanolu R* (3 g/l) a titruje se roztokem tetrabutylamoniumhydroxidu do jasně modrého zbarvení. Ihned se přidá 0,200 g *kyseliny benzoové VR*, míchá se do rozpuštění a znovu se titruje roztokem tetrabutylamoniumhydroxidu do jasně modrého zbarvení. Roztok je v průběhu titrace nutné chránit před vzdušným oxidem uhličitým. Titr roztoku tetrabutylamoniumhydroxidu se vypočítá ze spotřeby získané při druhé titraci. Stanovení titru se provede v čas potřeby.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Tetrabutylamoniumhydroxid v propanolu 0,1 mol/l VS

Roztok se připraví, včetně stanovení titru, postupem uvedeným v odstavci *Tetrabutylamoniumhydroxid 0,1 mol/l VS* za použití *2-propanolu R* místo *toluenu R*.

Tetrasulfatoceričitan amonný 0,1 mol/l VS

65,0 g *tetrasulfatoceričitanu amonného R* se rozpustí ve směsi 500 ml *vody R* a 30 ml *kyseliny sírové R*. Po vychladnutí se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

Stanovení titru. Stanoví se způsobem uvedeným v odstavci *Hexanitratoceričitan amonný 0,1 mol/l VS*. K titraci se použije roztok tetrasulfatoceričitanu amonného.

1 ml *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS* odpovídá 4,946 mg As_2O_3 .

Tetrasulfatoceričitan amonný 0,01 mol/l VS

Ke 100,0 ml roztoku *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,1 mol/l VS* se za chlazení přidá 30 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Thiokyanatan amonný 0,1 mol/l VS

7,612 g *thiokyanatanu amonného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 20,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* se přidá 25 ml *vody R* a 2 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a titruje se roztokem thiokyanatanu amonného za použití 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* do červenožlutého zbarvení.

Thiosíran sodný 0,1 mol/l VS

25 g *thiosíranu sodného R* a 0,2 g *uhličitanu sodného R* se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Stanovení titru. K 10,0 ml *bromičnanu draselného 0,033 mol/l VS* se přidá 40 ml *vody R*, 10 ml *jodidu draselného RS* a 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a titruje se roztokem thiosíranu sodného za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace.

Seznam referenčních látek použitých v národních člancích**N**

5-Aminoimidazol-4-karboxamid hydrochlorid CRL

2-Azahypoxanthin CRL

Butamiraciumdihydrogencitrat CRL

Celiprololiumchlorid CRL

Dakarbazin CRL

6,11-Dihydrodibenzo[b,e]thiepin-11-on CRL

11-(3-Dimethylaminopropyl)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]thiepin-11-ol CRL

11-(3-Dimethylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]thiepin-5-oxid (hydrochlorid) CRL

11-(3-Dimethylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[b,e]thiepin-5,5-dioxid (hydrochlorid) CRL

Dosulepiniumchlorid CRL

Doxazosiniummesilat CLR

Ethylbiskumacetat CRL

Hexachlorofen CRL

Hymechromon CRL

Kloroxin CRL

Medosulepiniumchlorid CRL

Meglumin CRL

2-Methyl-5-nitroimidazol CRL

Ornidazol CRL

Suxamethoniumjodid CRL

Silybinin CRL

Trimekainiumchlorid CRL

Troxerutin CRL

Xanthinolumnikotinat CRL

5 Všeobecné dodatky

5.4 Zbytková rozpouštědla



1999

Limitní hodnoty zbytkových rozpouštědel v léčivých a pomocných látkách a v léčivých přípravcích Mezinárodní konference o harmonizaci technických požadavků pro registraci léčivých přípravků pro humánní použití (ICH) přijala Pokyn pro zbytková rozpouštědla jako nečistoty, který předepisuje limitní hodnoty pro obsah rozpouštědel, jež mohou zůstat v léčivých látkách, pomocných látkách a léčivých přípravcích po jejich vyrobení. Tento pokyn, jehož text je uveden níže, vylučuje přípravky, které jsou již na trhu. Evropský lékopis používá stejné principy uvedené v pokynu pro existující léčivé látky, pomocné látky a léčivé přípravky bez ohledu na to, zda jsou nebo nejsou předmětem lékopisného článku. Všechny látky a přípravky se mají zkoušet na obsah rozpouštědel pravděpodobně přítomných v látkách nebo přípravcích.

Bude-li zdůvodněno a schváleno použití rozpouštědla třídy 1, pak bude jeho maximální povolené množství uvedeno v odstavci Zkoušky na čistotu v příslušném článku.

V článcích se nebudou běžně uvádět limitní zkoušky pro jednotlivá rozpouštědla třídy 2, protože použitá rozpouštědla se mohou měnit od výrobce k výrobcí. Oprávněná autorita má být proto informována o tom, která rozpouštědla se ve výrobním procesu použila. Tato informace se také uvede v dokumentaci předložené k získání certifikátu vhodnosti článků Evropského lékopisu a též je uvedena v certifikátu.

Jsou-li ve výrobním postupu použita pouze rozpouštědla třídy 3, provede se zkouška Ztráta sušením a tato zkouška se popíše v příslušném článku. Je-li zdůvodněna a schválena maximální povolená koncentrace rozpouštědla třídy 3 větší než 0,5 %, požaduje se specifické stanovení tohoto rozpouštědla. v tomto případě se uvede v příslušném článku limitní hodnota, protože definice uvádí bezvodou látku a látku prostou rozpouštědel. v každém případě má být oprávněná autorita informována, která rozpouštědla se použila. Podobně jako u rozpouštědel třídy 2 se tento údaj uvede v certifikátu vhodnosti.

Jsou-li použita zbytková rozpouštědla třídy 1 nebo třídy 2 (nebo třídy 3, přesahující limit 0,5 %), má se použít postup, uvedený v obecné stati (2.4.24), kdekoliv je to možné. Jinak se použije vhodná validovaná metoda.

Nečistoty: Pokyn pro zbytková rozpouštědla

(CPMP/ICH/283/95)

- 1 Úvod
- 2 Rozsah pokynu
- 3 Obecné principy
 - 3.1 Klasifikace zbytkových rozpouštědel podle posouzení jejich rizika
 - 3.2 Metody stanovení expozičních limitů
 - 3.3 Volby popisu limitů rozpouštědel třídy 2
 - 3.4 Analytické postupy
 - 3.5 Uvádění úrovně zbytkových rozpouštědel
- 4 Limity zbytkových rozpouštědel
 - 4.1 Rozpouštědla, kterých je lépe se vyvarovat
 - 4.2 Rozpouštědla s omezeným použitím
 - 4.3 Rozpouštědla s nízkým toxickým potenciálem
 - 4.4 Rozpouštědla, pro která nebyly nalezeny odpovídající toxikologické údaje

3798 *Všeobecné dodatky***Vysvětlivky**

Příloha 1 Seznam rozpouštědel uvedených v Pokynu

Příloha 2 Další důležité údaje

A2.1: Regulace organických těkavých rozpouštědel s ohledem na životní prostředí

A2.2: Zbytková rozpouštědla v léčivech

Příloha 3 Metody pro stanovení expozičních limitů

1 Úvod

Cílem tohoto pokynu je doporučit pro pacientovu bezpečnost přijatelná množství zbytkových rozpouštědel v léčivech. Pokyn doporučuje použití méně toxických rozpouštědel a popisuje hladiny, o nichž se předpokládá, že jsou toxikologicky přijatelné pro některá zbytková rozpouštědla.

Zbytková rozpouštědla v léčivech jsou zde definována jako organické těkavé látky, které se používají nebo vznikají při výrobě léčivých látek nebo pomocných látek nebo léčivých přípravků. Rozpouštědla nejsou běžnými výrobními pochody zcela odstraněna. Vhodný výběr rozpouštědla pro syntézu léčivé látky může zvýšit výtěžek nebo ovlivnit vlastnosti, jako je krystalická forma, čistota a rozpustnost. Rozpouštědlo tedy může být v některých případech kritickým parametrem při syntéze. Tento pokyn se netýká rozpouštědel používaných záměrně jako pomocné látky ani solvátů. Avšak obsah rozpouštědel v takových výrobcích by měl být zhodnocen a zdůvodněn.

Protože zbytková rozpouštědla nejsou užitečná z terapeutického hlediska, měla by být všechna odstraněna v možném rozsahu tak, aby se vyhovělo specifikaci přípravku, správné výrobní praxi nebo ostatním požadavkům na jakost. Léčivé přípravky by neměly obsahovat větší koncentrace zbytkových rozpouštědel, než jaké mohou být doloženy údaji o bezpečnosti. Některá rozpouštědla, o nichž je známo, že způsobují nepříjemnou toxicitu (třída 1, tabulka 1) by se měla odstranit z výroby léčivých látek, pomocných látek nebo léčivých přípravků, pokud by jejich použití nemohlo být silně zdůvodněno při posouzení vztahu riziko-prospěch. Některá rozpouštědla o nižší toxicitě (třída 2, tabulka 2) by se měla omezit, aby byl pacient chráněn před potenciálními nežádoucími účinky. Ideálně by se tam, kde je to z praktického hlediska možné, měla používat méně toxická rozpouštědla (třída 3, tabulka 3). Úplný seznam rozpouštědel zahrnutých v tomto pokynu je uveden v Příloze 1.

Seznam není vyčerpávající a další rozpouštědla se mohou použít a později do něho přidat. Doporučené limity rozpouštědel třídy 1 a třídy 2 nebo klasifikace rozpouštědel se mohou změnit, když budou dostupné nové údaje o jejich bezpečnosti. Údaje o bezpečnosti, předkládané se žádostí o registraci nového léčivého přípravku obsahujícího nové rozpouštědlo, mohou být založeny na koncepci tohoto pokynu nebo na koncepci kvalifikace nečistot, jak jsou vyjádřeny v pokynu pro léčivé látky (Q3A, Nečistoty v nových léčivých látkách) nebo v pokynu pro léčivé přípravky (Q3B, Nečistoty v nových léčivých přípravcích), nebo ve všech třech pokynech.

2 Rozsah pokynu

Tento pokyn se týká zbytkových rozpouštědel v léčivých látkách, pomocných látkách a léčivých přípravcích. Proto by se zkoušky na zbytková rozpouštědla měly provádět tam, kde je známo, že výsledkem výrobního nebo čistícího procesu může být přítomnost takovýchto rozpouštědel. Je třeba provádět zkoušky jen na rozpouštědla, která jsou používána nebo vznikají při výrobě nebo čištění léčivých látek, pomocných látek nebo léčivých přípravků. Ačkoliv si výrobci mohou zvolit zkoušení léčivých přípravků, mohou být použity kumulativní metody pro výpočet koncentrací zbytkových rozpouštědel v léčivých přípravcích z koncentrací v jednotlivých složkách, použitých při jejich výro-

bě. Pohybují-li se vypočtené hodnoty v úrovních stejných nebo nižších, než jsou doporučeny v tomto pokynu, není třeba uvažovat o zkoušení léčivých přípravků na zbytková rozpouštědla. Jsou-li však vypočtené hodnoty nad doporučenou úroveň, měl by se léčivý přípravek zkoušet, aby se zjistilo, zda proces výroby snížil koncentraci daného rozpouštědla na přijatelnou úroveň. Léčivý přípravek by se rovněž měl zkoušet, jestliže se při jeho výrobě použilo rozpouštědlo.

Pokyn se netýká možných nových léčivých látek, pomocných látek nebo léčivých přípravků používaných v průběhu klinického hodnocení, ani se netýká léčivých přípravků, které jsou již na trhu.

Pokyn se týká všech lékových forem a způsobů podání. Vyšší hladiny zbytkových rozpouštědel mohou být přijatelné v některých případech, jako je krátkodobé použití (30 dní nebo méně) nebo místní použití. Zdůvodnění takovýchto hladin by mělo být předloženo individuálně, případ od případu.

Viz Příloha 2 pro dodatečné informace, vztahující se na zbytková rozpouštědla.

3 Obecné principy

3.1 KLASIFIKACE ZBYTKOVÝCH ROZPOUŠTĚDEL PODLE POSOUZENÍ JEJICH RIZIKA

Termín „tolerovatelný denní příjem“ (TDI - tollerable daily intake) se používá Mezinárodním programem chemické bezpečnosti (ICPS - International Program on Chemical Safety) k popisu expozičních limitů toxických chemikálií a „přijatelný denní příjem“ (ADI - acceptable daily intake) je používán Světovou zdravotnickou organizací a ostatními národními a mezinárodními zdravotnickými autoritami a institucemi. Nový termín „povolená denní dávka“ (PDE - permitted daily exposure) se v tomto pokynu definuje jako farmaceuticky přijatelný příjem zbytkových rozpouštědel, čímž se odstraní matoucí nejednotnost hodnot ADI pro tutéž látku.

Zbytková rozpouštědla uvedená v tomto pokynu jsou v Příloze 1 označena běžnými názvy a vzorci. Byla zhodnocena podle jejich možného rizika pro lidské zdraví a zařazena do jedné ze tří tříd takto:

Rozpouštědla třídy 1: Rozpouštědla, kterých je lépe se vyvarovat

Znamé lidské karcinogeny, silně podezřelé lidské karcinogeny a látky nebezpečné pro životní prostředí.

Rozpouštědla třídy 2: Rozpouštědla s omezeným použitím

Ne-genotoxické zvířecí karcinogeny nebo možná příčinná agens jiné ireverzibilní toxicity, jako je neurotoxicita nebo teratogenicita.

Rozpouštědla podezřelá z jiných významných, ale reverzibilních toxicit.

Rozpouštědla třídy 3: Rozpouštědla s nízkým toxickým potenciálem

Rozpouštědla s nízkým toxickým potenciálem pro člověka; není třeba žádný expoziční limit s ohledem na zdraví. Hodnoty PDE rozpouštědel třídy 3 jsou 50 mg nebo více na den.

3.2 METODY STANOVENÍ EXPOZIČNÍCH LIMITŮ

Metoda používaná na stanovení povolené denní dávky zbytkových rozpouštědel je uvedena v Příloze 3. Souhrn údajů o toxicitě, které byly použity ke stanovení limitů, je publikován v časopise *Pharmeuropa*, Vol. 9, No. 1, Supplement, April 1997.

3.3 VOLBY POPISU LIMITŮ ROZPOUŠTĚDEL TŘÍDY 2

Limity pro rozpouštědla třídy 2 mohou být stanoveny dvěma způsoby.

Volba 1: Mohou se použít limity koncentrace v $\mu\text{g/g}$, uvedené v tabulce 2, které byly vypočítány za použití níže uvedené rovnice (1) za předpokladu, že se denně podává 10 g přípravku.

$$c = \frac{100 \cdot \text{PDE}}{\text{dávka}} \quad (1),$$

3800 Všeobecné dodatky

v němž značí:

- c* - koncentraci v $\mu\text{g/g}$,
PDE - povolenou denní dávku v mg/den ,
dávka - dávku v g/den .

Předpokládá se, že tyto limity jsou přijatelné pro všechny léčivé látky, pomocné látky nebo léčivé přípravky. Tento postup se může použít, není-li denní dávka známa nebo pevně stanovena. Jestliže všechny pomocné a léčivé látky ve složení splňují limity dané ve Volbě 1, mohou být tyto složky použity v libovolném poměru. Jestliže denní dávka nepřekročí 10 g, není zapotřebí žádných dalších výpočtů. Přípravky, které se podávají ve větších denních dávkách než 10 g by se měly posuzovat podle Volby 2.

Volba 2: Nepovažuje se za nezbytné, aby každá složka léčivého přípravku vyhovovala limitům daným ve Volbě 1. PDE v mg/den , jak jsou uvedeny v tabulce 2, se mohou použít se známou maximální denní dávkou a rovnicí (1) uvedenou výše ke stanovení povolené koncentrace zbytkového rozpouštědla v léčivém přípravku. Takovéto limity se považují za přijatelné, pokud bylo dokázáno, že zbytkové rozpouštědlo bylo sníženo na praktické minimum. Limity by měly být realistické ve vztahu k analytické přesnosti, výrobním možnostem a přijatelným změnám ve výrobním postupu. Limity by měly odrážet současné výrobní standardy.

Volba 2 se může použít sečtením jednotlivých množství zbytkového rozpouštědla, která jsou obsažena v každé složce léčivého přípravku. Denní součet množství rozpouštědla by měl být nižší, než je množství, které je dáno PDE.

Uvažujme příklad použití Volby 1 a Volby 2 aplikovaný na acetonitril v léčivu. Povolená denní dávka acetonitrilu je 4,1 mg/den ; potom limit Volby 1 je 410 $\mu\text{g/g}$. Denní maximum podávané hmotnosti léčivého přípravku je 5,0 g a léčivý přípravek obsahuje dvě pomocné látky. Složení léčivého přípravku a vypočítaný maximální obsah zbytkového acetonitrilu jsou uvedeny v následující tabulce.

Složka	Množství v přípravku (g)	Obsah acetonitrilu ($\mu\text{g/g}$)	Denní dávka (mg)
Léčivá látka	0,3	800	0,24
Pomocná látka 1	0,9	400	0,36
Pomocná látka 2	3,8	800	3,04
Léčivý přípravek	5,0	728	3,64

Pomocná látka 1 splňuje limit Volby 1, ale léčivá látka, pomocná látka 2 a léčivý přípravek nesplňují limit Volby 1. Nicméně léčivý přípravek splňuje limit Volby 2, tj. 4,1 mg/den a tak se řídí doporučeními tohoto pokynu.

Uvažujme jiný příklad použití acetonitrilu jako zbytkového rozpouštědla. Maximální předepsaná denní dávka léčivého přípravku je 5,0 g a léčivý přípravek obsahuje dvě pomocné látky. Složení léčivého přípravku a vypočítaný maximální obsah zbytkového acetonitrilu jsou uvedeny v následující tabulce.

Složka	Množství v přípravku (g)	Obsah acetonitrilu ($\mu\text{g/g}$)	Denní dávka (mg)
Léčivá látka	0,3	800	0,24
Pomocná látka 1	0,9	2000	1,80
Pomocná látka 2	3,8	800	3,04
Léčivý přípravek	5,0	1016	5,08

V tomto příkladu nesplňuje léčivý přípravek limity Volby 1, ani Volby 2 podle celkového množství. Výrobce by měl zkoušet léčivý přípravek, aby zjistil, zda výrobní postup snížil hladinu acetonitrilu. Jestliže hladina acetonitrilu se během výrobního postupu nesnížila na povolený limit, pak by výrobce léčivého přípravku měl použít jiné kroky ke snížení množství acetonitrilu v léčivém přípravku. Selžou-li všechny kroky ke snížení hladiny zbytkového rozpouštědla, mohl by ve výjimečných případech výrobce k podpoře povolení vyššího obsahu zbytkového rozpouštědla předložit souhrn pokusů o snížení úrovně rozpouštědla, aby se dostal na hodnotu uvedenou ve směrnici a předložit výsledky analýzy vztahu riziko-prospěch.

3.4 ANALYTICKÉ POSTUPY

Zbytková rozpouštědla se obvykle stanoví za použití chromatografických technik, jako je plynová chromatografie. Je-li to možné, měly by se použít jakékoliv harmonizované postupy pro stanovení hladin zbytkových rozpouštědel, jak jsou popsány v lékopisech. Jinak si výrobci mohou pro jednotlivá stanovení vybrat nejvhodnější validované analytické postupy. Jsou-li přítomna pouze rozpouštědla třídy 3, mohou se použít nesespecifické metody, jako je ztráta sušením.

Validace metod pro stanovení zbytkových rozpouštědel by se měla řídit pokyny Mezinárodní konference o harmonizaci (ICH) „Text o validaci analytických postupů“ (*Text on Validation of Analytical Procedures*) a „Rozšíření ICH textu o validaci analytických postupů“ (*Extension of the ICH Text on Validation of Analytical Procedures*).

3.5 UVÁDĚNÍ ÚROVNÍ ZBYTKOVÝCH ROZPOUŠTĚDEL

Výrobci léčivých přípravků potřebují určité informace o obsahu zbytkových rozpouštědel v pomocných nebo léčivých látkách, aby splňovali kritéria tohoto pokynu. Níže uvedené údaje jsou uvedeny jako přijatelné příklady informací, které by dodavatelé pomocných nebo léčivých látek měli poskytnout farmaceutickým výrobcům. Dodavatelé by si mohli zvolit jeden z následujících příkladů jako vhodný:

- Pravděpodobně jsou přítomna pouze rozpouštědla třídy 3. Ztráta sušením je menší než 0,5 %.
- Pravděpodobně jsou přítomna pouze rozpouštědla třídy 2 X, Y.. Všechna jsou pod limitem Volby 1. (Zde by měl dodavatel vyjmenovat rozpouštědla třídy 2, reprezentovaná X, Y...).
- Pravděpodobně jsou přítomna pouze rozpouštědla třídy 2 X, Y... a třídy 3. Rozpouštědla třídy 2 jsou pod limitem Volby 1 a rozpouštědla třídy 3 pod 0,5 %.

Jsou-li pravděpodobně přítomna rozpouštědla třídy 1, měla by se určit jejich totožnost a stanovit jejich množství. Výraz „pravděpodobně přítomná“ se vztahuje na rozpouštědla použitá v konečném výrobním kroku a na rozpouštědla, která byla použita v dřívějších krocích výroby a nebyla důsledně odstraněna validovaným postupem.

Jsou-li přítomna rozpouštědla třídy 2 a třídy 3 ve větší koncentraci než je limit Volby 1 nebo 0,5 %, měla by se určit jejich totožnost a stanovit jejich množství.

4 Limity zbytkových rozpouštědel

4.1 ROZPOUŠTĚDLA, KTERÝCH JE LÉPE SE VYVAROVAT

Rozpouštědla třídy 1 by se neměla používat při výrobě léčivých a pomocných látek a léčivých přípravků pro jejich nepřijatelnou toxicitu nebo jejich škodlivý vliv na životní prostředí. Je-li avšak jejich použití při výrobě léčivého přípravku se značnými terapeutickými přednostmi nevyhnutelné, pak jejich koncentrace musí být omezeny, jak je ukázáno v tabulce 1, pokud není schváleno jinak.

1,1,1-Trichlorethan je zahrnut do tabulky 1, protože to je látka nebezpečná pro životní prostředí. Stanovená limitní hodnota 1500 µg/g je založena na přehledu bezpečnostních údajů.

3802 Všeobecné dodatky

Tab. 1. Rozpouštědla třídy 1 v léčivých přípravcích (rozpouštědla, kterých je lépe se vyvarovat)

Rozpouštědlo	Limitní koncentrace ($\mu\text{g/g}$)	Nebezpečí
benzen	2	karcinogenní
chlorid uhličitý	4	toxický, ohrožující životní prostředí
1,1-dichlorethen	8	toxický
1,2-dichlorethan	5	toxický
1,1,1-trichlorethan	1500	ohrožující životní prostředí

4.2 ROZPOUŠTĚDLA S OMEZENÝM POUŽITÍM

Rozpouštědla uvedená v tabulce 2 by se měla pro jejich vlastní toxicitu v léčivých přípravcích limitovat. PDE jsou uvedeny na nejbližší 0,1 mg/den a koncentrace na nejbližších 10 $\mu\text{g/g}$. Není nezbytně vyžadována přesnost stanovení. Přesnost by měla být součástí validace metody.

Tab. 2. Rozpouštědla třídy 2 v léčivých přípravcích

Rozpouštědlo	PDE (mg/den)	Koncentrační limit ($\mu\text{g/g}$)
acetonitril	4,1	410
butylmethylketon	0,5	50
cyklohexan	38,8	3880
1,2-dichlorethen	18,7	1870
dichlormethan	6,0	600
1,2-dimethoxyethan	1,0	100
N,N-dimethylacetamid	10,9	1090
N,N-dimethylformamid	8,8	880
1,4-dioxan	3,8	380
2-ethoxyethanol	1,6	160
ethylenglykol	6,2	620
formamid	2,2	220
hexan	2,9	290
chlorbenzen	3,6	360
chloroform	0,6	60
methanol	30,0	3000
2-methoxyethanol	0,5	50
methylcyklohexan	11,8	1180
N-methylpyrrolidon	48,4	4840
nitromethan	0,5	50
pyridin	2,0	200
sulfolan	1,6	160
tetralin	1,0	100
toluen	8,9	890
1,1,2-trichlorethylen	0,8	80
xylen*	21,7	2170

* obvykle 60 % *m*-xylenu, 14 % *p*-xylenu, 9 % *o*-xylenu se 17 % ethylbenzenu

4.3 ROZPOUŠTĚDLA S NÍZKÝM TOXICKÝM POTENCIÁLEM

Rozpouštědla třídy 3 (uvedená v tabulce 3) se mohou považovat jako méně toxická a s nižším rizikem pro lidské zdraví. Třída 3 nezahrnuje rozpouštědla známá jako ohrožující lidské zdraví v koncentracích běžně přijatých v lékopisech. Avšak pro mnohá rozpouštědla třídy 3 nejsou k dispozici dlouhodobé studie toxicity nebo karcinogenity. Dostupné údaje naznačují, že jsou méně toxická v akutních nebo krátkodobých studiích a nemají genotoxické účinky. Uvažuje se, že množství těchto zbytkových rozpouštědel 50 mg/den nebo méně (odpovídá 5 000 µg/g nebo 0,5 % při Volbě 1) by mohlo být přijatelné bez upřesňování. Vyšší množství mohou být také přijatelná, odpovídají-li možnostem výroby a požadavkům správné výrobní praxe.

Tab. 3. Rozpouštědla třídy 3, která by se měla omezit požadavky SLP nebo jinými kvalitativními požadavky

aceton	isopropylacetat
anisol	kyselina mravenčí
1-butanol	kyselina octová
2-butanol	kumen
butylacetat	methylacetat
dimethylsulfoxid	3-methyl-1-butanol
ethanol	methylether
ethylacetat	2-methyl-1-propanol
ethylether	pentan
ethylformiat	1-pentanol
ethylmethylketon	1-propanol
heptan	2-propanol
isobutylacetat	propylacetat
isobutylmethylketon	tetrahydrofuran

4.4 ROZPOUŠTĚDLA, PRO KTERÁ SE NENALEZLY ODPOVÍDAJÍCÍ TOXIKOLOGICKÉ ÚDAJE

Níže uvedená rozpouštědla (tabulka 4) mohou být též předmětem zájmu výrobců pomocných a léčivých látek nebo léčivých přípravků. Nenašly se však žádné vhodné toxikologické údaje, na jejichž základě by byly stanoveny PDE. Výrobci by měli získat souhlas pro zbytkové hladiny těchto rozpouštědel v léčivých přípravcích.

Tab. 4. Rozpouštědla, pro která se nenalezly odpovídající toxikologické údaje

1,1-diethoxypropan	isopropylmethylketon
1,1-dimethoxymethan	methyltetrahydrofuran
2,2-dimethoxypropan	ether petrolejový
Isooktan	kyselina trichloroctová
Isopropylether	kyselina trifluoroctová

3804 Všeobecné dodatky

Vysvětlivky

Genotoxické karcinogeny: karcinogeny, které vyvolávají zhoubné bujení ovlivněním genů nebo chromozomů.

LOEL: zkratka pro nejnižší hladinu s pozorovatelným účinkem (*lowest observed effect level*).

Nejnižší hladina s pozorovatelným účinkem: nejnižší dávka látky ve studii nebo skupině studií, která u exponovaných osob nebo zvířat způsobí biologicky signifikantní nárůst frekvence nebo závažnosti účinku.

Modifikující faktor: faktor stanovený odborným posouzením toxikologa a aplikovaný na bioanalytické údaje s cílem dosáhnout bezpečných údajů pro lidi.

Neurotoxická: nežádoucí působení látky na nervovou soustavu.

NOEL: zkratka pro dávku bez pozorovatelného účinku.

Hladina bez pozorovatelného účinku: nejvyšší dávka látky, která u exponovaných osob nebo zvířat nevyvolá biologicky signifikantní nárůst frekvence nebo závažnosti účinku.

PDE: zkratka pro povolenou denní dávku.

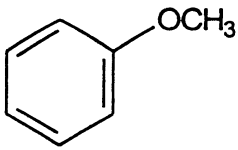
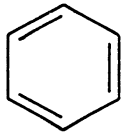
Povolená denní dávka: nejvyšší přijatelný denní příjem zbytkových rozpouštědel v léčivých přípravcích.

Reverzibilní toxicita: výskyt nepříznivých změn navozených látkou, který odezní po skončení působení látky.

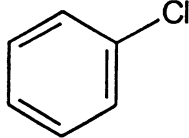
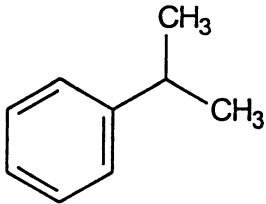
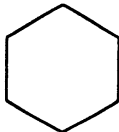
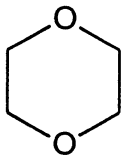
Silně podezřelý lidský karcinogen: látka, která není v epidemiologické evidenci karcinogeneze, ale jsou známy pozitivní genotoxické údaje a existuje jednoznačný průkaz karcinogenity na hlodavcích.

Teratogenita: výskyt strukturálních malformací u vyvíjecího se plodu, jestliže byla látka podávána během těhotenství.

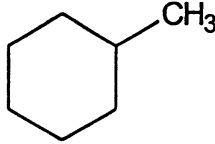
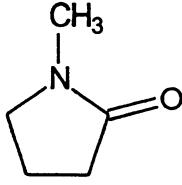
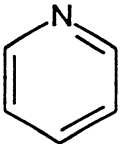
Příloha 1. Seznam rozpouštědel uvedených ve směrnici

Rozpouštědlo	Další název	Strukturní vzorec	Třída
kyselina octová	kyselina ethanová	CH ₃ COOH	3
aceton	2-propanon	CH ₃ COCH ₃	3
acetonitril		CH ₃ CN	2
anisol	methoxybenzen		3
benzen			1
1-butanol	n-butylalkohol	CH ₃ (CH ₂) ₃ OH	3
2-butanol	sek.butylalkohol	CH ₃ CH ₂ CH(OH)CH ₃	3
butylacetat	butylester kyseliny octové	CH ₃ COO(CH ₂) ₃ CH ₃	3
terc.butylmethylether	2-methoxy-2-methylpropan	(CH ₃) ₃ COOCH ₃	3
chlorid uhličitý	tetrachlormethan	CCl ₄	1


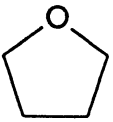
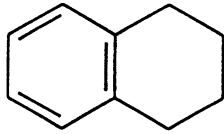
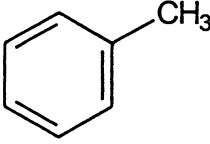
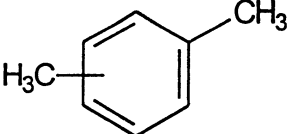
Zbytková rozpouštědla 3805

chlorbenzen			2
chloroform	trichlormethan	CHCl_3	2
kumen	isopropylbenzen		3
cyklohexan	hexamethylen		2
1,2-dichlorethan	ethylenchlorid	$\text{CH}_2\text{ClCH}_2\text{Cl}$	1
1,1-dichlorethen	1,1-dichlorethylen	$\text{H}_2\text{C}=\text{CCl}_2$	1
1,2-dichlorethen	1,2-dichlorethylen	$\text{ClHC}=\text{CHCl}$	2
dichlormethan	metylenchlorid	CH_2Cl_2	2
1,2-dimethoxyethan	ethylenglykol-dimethylether, dimethylglykol	$\text{H}_3\text{COCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	2
N,N-dimethylacetamid	DMA	$\text{CH}_3\text{CON}(\text{CH}_3)_2$	2
N,N-dimethylformamid	DMF	$\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$	2
dimethylsulfoxid	DMSO	$(\text{CH}_3)_2\text{SO}$	3
1,4-dioxan	1,4-diethylendioxid		2
ethanol	ethylalkohol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	3
2-ethoxyethanol	ethylenglykol-monoethylether, ethylcellosolo, ethylglykol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	2
ethylacetat	ethylester kyseliny octové	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_3$	3
ethylenglykol	1,2-ethandiol	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	2
ethylether	diethylether	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$	3
ethylformiat	ethylester kyseliny mravenčí	$\text{HCOOCH}_2\text{CH}_3$	3
formamid	amid kyseliny mravenčí	HCONH_2	2
kyselina mravenčí		HCOOH	3
heptan	n-heptan	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$	3
hexan	n-hexan	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	2

3806 Všeobecné dodatky

isobutylacetat	isobutylester kyseliny octové	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	3
isopropylacetat	isopropylester kyseliny octové	$\text{CH}_3\text{COOCH}(\text{CH}_3)_2$	3
methanol	methylalkohol	CH_3OH	2
2-methoxyethanol	ethylenglykol-monoethylether, methylcellosolo, methylglykol	$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	2
methylacetat	methylester kyseliny octové	$\text{CH}_3\text{COOCH}_3$	3
3-methyl-1-butanol	isoamylalkohol, isopentylalkohol	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	3
butylmethylketon	2-hexanon, methylbutylketon	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{COCH}_3$	2
methylcyklohexan			2
ethylmethylketon	2-butanon, methylethylketon	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COCH}_3$	3
isobutylmethylketon	4-methyl-2-pentanon, methylisobutylketon, isopropylacetan	$\text{CH}_3\text{COCH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	3
2-methyl-1-propanol	isobutylalkohol	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OH}$	3
N-methylpyrrolidon	1-methyl-2-pyrrolidon		2
nitromethan		CH_3NO_2	2
pentan	n-pentan	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$	3
1-pentanol	amylalkohol, n-amylalkohol, 1-pentanol, pentylalkohol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_2\text{OH}$	3
1-propanol	propylalkohol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	3
2-propanol	isopropylalkohol	$(\text{CH}_2)_3\text{CHOH}$	3
propylacetat	propylester kyseliny octové	$\text{CH}_3\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	3
pyridin			2

Zbytková rozpouštědla 3807

sulfolan	tetramethylensulfon, tetrahydrothiofen-1,1-dioxid		2
tetrahydrofuran			3
tetralin	1,2,3,4-tetrahydronaftalen		2
toluen	methylbenzen		2
1,1,1-trichlorethan	methylchloroform	CH_3CCl_3	1
1,1,2-trichlorethylen	trichlorethylen	$\text{HCIC}=\text{CCl}_2$	2
xylen	dimethylbenzen (směs izomerů)		2

*Obvykle 60 % *m*-xylynu, 14 % *p*-xylynu, 9 % *o*-xylynu se 17 %ethylbenzenu.

Příloha 2. Další důležité údaje

A2.1 REGULACE ORGANICKÝCH TĚKAVÝCH ROZPOUŠTĚDEL S OHLEDEM NA ŽIVOTNÍ PROSTŘEDÍ

Některá zbytková rozpouštědla, často používaná při výrobě léčiv, jsou uvedena jako toxické látky v monografiích „Environmental Health Criteria (EHC)“ („*Ekologická zdravotní kritéria*“) a v „Integrated Risk Information System“ (IRIS) („*Integrovaný informační systém o riziku*“). Cíle takových skupin jako je „International Programme on Chemical Safety“ (IPCS) („*Mezinárodní program chemické bezpečnosti*“), „United States Environmental Protection Agency“, (USEPA) („*Agentura pro ochranu životního prostředí USA*“) a „United States Food and Drug Administration“ (USFDA) („*Úřad pro potraviny a léčiva USA*“) zahrnují stanovení přijatelných expozičních hladin. Cílem je ochrana lidského zdraví a udržování integrity prostředí proti možným škodlivým vlivům chemikálií, vyplývajících z dlouhodobého působení na prostředí. Metody zahrnuté do stanovení maximálních bezpečných expozičních limitů jsou obvykle založeny na dlouhodobých studiích. Jsou-li nedostupné údaje z dlouhodobých studií, mohou se použít údaje z krátkodobějších studií s modifikací závěrů, jako je např. použití větších bezpečnostních faktorů. Uvedený postup se

3808 Všeobecné dodatky

přednostně vztahuje na dlouhodobé nebo *celoživotní expozice obecné populace* v okolním prostředí, tj. vzduch, potrava, pitná voda a jiné okolní vlivy.

A2.2 ZBYTKOVÁ ROZPOUŠTĚDLA V LÉČIVECH

Expoziční limity v tomto pokynu jsou stanoveny s odkazem na metodologie a údaje o toxicitě, uvedené v monografiích EHC a IRIS. Avšak při stanovení expozičních limitů by se měly vzít v úvahu některé specifické případy týkající se zbytkových rozpouštědel používaných při syntéze a výrobě léčivých přípravků. Jsou to:

- 1) Pacienti (ne obecná populace) užívající léčiva k léčení svých nemocí nebo k profylaxi, aby předcházeli infekci nebo onemocnění.
- 2) Předpoklad celoživotní expozice pacienta neplatí pro většinu léčivých přípravků, ale je vhodné jej vzít v úvahu jako pracovní hypotézu, aby se snížilo riziko ohrožení lidského zdraví.
- 3) Zbytková rozpouštědla jsou neodstranitelnými složkami ve farmaceutické výrobě a často budou i součástí léčivých přípravků.
- 4) Zbytková rozpouštědla by neměla překročit doporučené hladiny s výjimkou mimořádných okolností.
- 5) Údaje z toxikologických studií, které jsou použity ke stanovení přijatelných hladin zbytkových rozpouštědel, by měly vznikat za použití vhodných protokolů, jako jsou protokoly popsané např. v "Red Book" OECD a FDA.

Příloha 3. Metody pro stanovení expozičních limitů

Gaylor-Kodellova metoda odhadu rizika (Gaylor D. W. a Kodell R. L. - Linear Interpolation algorithm for low dose assessment of toxic substance. *J. Environ. Pathology*, 4, 305, 1980) je vhodná pro třídu 1 karcinogenních rozpouštědel. Jen v případech, kdy jsou dostupné spolehlivé údaje o karcinogenitě, by se mohla použít extrapolace pomocí matematických modelů pro vytyčení expozičních limitů. Expoziční limity pro rozpouštědla třídy 1 by se mohla stanovit za použití velkého bezpečnostního faktoru (to je 10 000 až 100 000) s ohledem na dávky bez pozorovatelného účinku (NOEL). Detekce a stanovení těchto rozpouštědel by se měla provést současně uznávanými analytickými technikami.

Přijatelné expoziční hladiny pro rozpouštědla třídy 2 byly v tomto pokynu stanoveny vypočtením PDE hodnot podle postupů pro stanovení expozičních limitů v léčivech (Pharmacopoeial Forum, Nov-Dec 1989) a podle metody přijaté ICPS pro odhad rizika chemikálií pro lidské zdraví (Environmental Health Criteria 170, WHO, 1994). Tyto metody jsou podobné metodám použitým USEPA (IRIS) a USFDA („Red Book“) a ostatním. Metoda je zde nastíněna pro lepší porozumění postupu, jak byly odvozeny hodnoty PDE. Není nutné provádět tyto výpočty, aby mohly být použity PDE hodnoty tabelované v sekci 4 tohoto dokumentu.

PDE se odvodí z hladiny bez pozorovatelného účinku (NOEL) nebo z nejnižší hladiny s pozorovatelným účinkem (LOEL) v nejspolehlivější studii na zvířatech dle vzorce:

$$\text{PDE} = \frac{\text{NOEL} \cdot \text{korekce na hmotnost}}{\text{F1} \cdot \text{F2} \cdot \text{F3} \cdot \text{F4} \cdot \text{F5}} \quad (1).$$

PDE se přednostně odvodí z NOEL. Není-li získáno NOEL, může se použít LOEL. Zde navržené modifikující faktory pro převod dat na lidi jsou stejného druhu jako „koefficient nejistoty“ použitý v Environmental Health Criteria (Environmental Health Criteria 170, World Health Organisation, Geneva, 1994) a „modifikující faktor“ nebo „faktory bezpečnosti“ ve Pharmacopoeial

Forum. Při všech výpočtech je předpokládána 100% systematická expozice bez ohledu na způsob podání.

Modifikující faktory jsou:

F1 = uvažovaný faktor pro extrapolaci mezi druhy:

F1 = 2 pro přepočtení ze psů na lidi.

F1 = 2,5 pro přepočtení z králíků na lidi.

F1 = 3 pro přepočtení z opic na lidi.

F1 = 5 pro přepočtení z potkanů na lidi.

F1 = 10 pro přepočtení z ostatních zvířat na lidi.

F1 = 12 pro přepočtení z myši na lidi.

F1 bere v úvahu srovnatelné plochy tělesného povrchu: poměry tělesných hmotností pro výše uvedené druhy a člověka. Plocha povrchu s je počítána podle vztahu:

$$S = k \cdot M^{0,67} \quad (2),$$

v němž značí:

M - hmotnost těla,

k - konstantu, která je brána jako 10.

V rovnici použité tělesné hmotnosti jsou uvedeny v tabulce A3.1.

F2 = faktor o hodnotě 10 je uvažován vzhledem k variabilitě mezi jednotlivci. Faktor o hodnotě 10 je obecně dán pro všechna organická rozpouštědla a v tomto pokynu je důsledně používán.

F3 = proměnný faktor, uvažovaný pro toxikologické studie při krátkodobé expozici.

F3 = 1 pro studie, které probíhají minimálně polovinu doby života (1 rok pro hlodavce nebo králíky; 7 let pro kočky, psy a opice).

F3 = 1 pro reprodukční studie, které trvají celé období organogeneze.

F3 = 2 pro šestiměsíční studii na hlodavcích nebo 3,5letou studii na nehlodavcích.

F3 = 5 pro tříměsíční studii na hlodavcích nebo 2letou studii na nehlodavcích.

F3 = 10 pro krátkodobější studie.

Ve všech případech byl vyšší faktor použit pro délku studie, spadající mezi uvedené časové údaje, např. faktor 2 pro devítiměsíční studii na hlodavcích.

F4 = faktor, který se může použít v případech silné toxicity, to je ne-genotoxické karcinogenity, neurotoxicity nebo teratogenity. Při studiích reprodukční toxicity se používají tyto faktory:

F4 = 1 pro fetální toxicitu spojenou s toxicitou pro matku.

F4 = 5 pro fetální toxicitu bez toxicity pro matku.

F4 = 5 pro teratogenní účinek spojený s toxicitou pro matku.

F4 = 10 pro teratogenní účinek bez toxicity pro matku.

F5 = variabilní faktor, který se může použít, nebyla-li stanovena hladina bez pozorovaného účinku NOEL.

Je-li dostupná pouze nejnižší hladina s pozorovatelným účinkem LOEL, může se použít faktor o hodnotě až 10 v závislosti na závažnosti toxicity.

Přepočtení na tělesnou hmotnost předpokládá, že hmotnost lidského těla bez ohledu na pohlaví je 50 kg. Tato poměrně nízká hmotnost vyžaduje dodatečný bezpečnostní faktor vzhledem ke standardní hmotnosti 60 kg nebo 70 kg, které jsou často používány u tohoto druhu výpočtů. I když někteří dospělí pacienti váží méně než 50 kg, jejich přizpůsobivost je uvažována v rámci faktorů bezpečnosti použitých při stanovení PDE. Je-li rozpouštědlo přítomno ve složení přípravku specificky určeného pro pediatrické použití, byl by vhodný přepočtení na nižší tělesnou hmotnost.

3810 Všeobecné dodatky

Jako příklad použití této rovnice je uvažována toxikologická studie acetonitrilu pro myš uvedená v časopise *Pharmeuropa*, 9, No. 1, Supplement, April 1997, str. S24. Bylo vypočítáno, že NO-EL je $50,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}$. PDE pro acetonitril je v této studii počítána takto:

$$\text{PDE} = \frac{50,7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{den}^{-1} \cdot 50 \text{ kg}}{12 \cdot 10 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 1} = 4,22 \text{ mg} \cdot \text{den}^{-1}.$$

V tomto příkladu,

- F1 = 12 vzhledem k přepočtu z myši na lidi,
 F2 = 10 vzhledem k rozdílům mezi jednotlivými lidmi,
 F3 = 5, protože studie trvala pouze 13 týdnů,
 F4 = 1, protože nebyla pozorována závažná toxicita,
 F5 = 1, protože nebyla stanovena účinná hladina.

Tab. A3.1. Hodnoty použité pro výpočty v tomto dokumentu

tělesná hmotnost potkana	425 g
tělesná hmotnost březí potkaní samice	430 g
tělesná hmotnost myši	28 g
tělesná hmotnost březí myši	30 g
tělesná hmotnost morčete	500 g
tělesná hmotnost opice (Rhesus)	2,5 kg
tělesná hmotnost králíka (i březí samice)	4 kg
tělesná hmotnost psa (Beagl)	11,5 kg
kapacita plic potkana	290 l/den
kapacita plic myši	43 l/den
kapacita plic králíka	1440 l/den
kapacita plic morčete	430 l/den
kapacita plic člověka	28 800 l/den
kapacita plic psa	9 000 l/den
kapacita plic opice	1 150 l/den
spotřeba vody u myši	5 ml/den
spotřeba vody u potkana	30 ml/den
spotřeba potravy u potkana	30 g/den

Rovnice pro ideální plyn $p \cdot V = n \cdot R \cdot T$ se používá pro převod koncentrací plynů, používaných v inhalačních studiích, z jednotek $\mu\text{g/g}$ na jednotku mg/l nebo mg/m^3 . Jako příklad se uvádí studie reprodukční toxicity u krysy inhalací chloridu uhličitého (relativní molekulová hmotnost 153,84) uvedená v časopise *Pharmeuropa*, 9, No. 1, Supplement, April 1997, str. S9.

$$\frac{n}{V} = \frac{p}{R \cdot T} = \frac{300 \cdot 10^{-6} \text{ atm} \cdot 153\,840 \text{ mg} \cdot \text{mol}^{-1}}{0,082 \text{ atm} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 298 \text{ K}} = \frac{46,10 \text{ mg}}{24,451} = 1,89 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}.$$

K převodu na mg/m^3 je použit vztah 1000 litrů = 1 m^3 .

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3811

5.5 Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu (lihová tabulka)



1999

Stanovení hustoty vychází ze stati 2.2.5 a Směrnice č. 76/765/EEC ze dne 27.7.1976.

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
0,0	0,00	998,20
0,1	0,08	998,05
0,2	0,16	997,90
0,3	0,24	997,75
0,4	0,32	997,59
0,5	0,40	997,44
0,6	0,47	997,29
0,7	0,55	997,14
0,8	0,63	996,99
0,9	0,71	996,85
1,0	0,79	996,70
1,1	0,87	996,55
1,2	0,95	996,40
1,3	1,03	996,25
1,4	1,11	996,11
1,5	1,19	995,96
1,6	1,27	995,81
1,7	1,35	995,67
1,8	1,43	995,52
1,9	1,51	995,38
2,0	1,59	995,23
2,1	1,67	995,09
2,2	1,75	994,94
2,3	1,82	994,80
2,4	1,90	994,66
2,5	1,98	994,51
2,6	2,06	994,37
2,7	2,14	994,23
2,8	2,22	994,09
2,9	2,30	993,95
3,0	2,38	993,81
3,1	2,46	993,66
3,2	2,54	993,52
3,3	2,62	993,38
3,4	2,70	993,24
3,5	2,78	993,11
3,6	2,86	992,97
3,7	2,94	992,83
3,8	3,02	992,69
3,9	3,10	992,55
4,0	3,18	992,41

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
4,1	3,26	992,28
4,2	3,34	992,14
4,3	3,42	992,00
4,4	3,50	991,87
4,5	3,59	991,73
4,6	3,66	991,59
4,7	3,74	991,46
4,8	3,82	991,32
4,9	3,90	991,19
5,0	3,98	992,06
5,1	4,06	990,92
5,2	4,14	990,79
5,3	4,22	990,65
5,4	4,30	990,52
5,5	4,38	990,39
5,6	4,46	990,26
5,7	4,54	990,12
5,8	4,62	989,99
5,9	4,70	989,86
6,0	4,78	989,73
6,1	4,86	989,60
6,2	4,95	989,47
6,3	5,03	989,34
6,4	5,11	989,21
6,5	5,19	989,08
6,6	5,27	988,95
6,7	5,35	988,82
6,8	5,43	988,69
6,9	5,51	988,56
7,0	5,59	988,43
7,1	5,67	988,30
7,2	5,75	988,18
7,3	5,83	988,05
7,4	5,91	987,92
7,5	5,99	987,79
7,6	6,07	987,67
7,7	6,15	987,54
7,8	6,23	987,42
7,9	6,32	987,29
8,0	6,40	987,16
8,1	6,48	987,04

3812 Všeobecné dodatky

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
8,2	6,56	986,91
8,3	6,64	986,79
8,4	6,72	986,66
8,5	6,80	986,54
8,6	6,88	986,42
8,7	6,96	986,29
8,8	7,04	986,17
8,9	7,12	986,05
9,0	7,20	985,92
9,1	7,29	985,80
9,2	7,37	985,68
9,3	7,45	985,56
9,4	7,53	985,44
9,5	7,61	985,31
9,6	7,69	985,19
9,7	7,77	985,07
9,8	7,85	984,95
9,9	7,93	984,83
10,0	8,01	984,71
10,1	8,10	984,59
10,2	8,18	984,47
10,3	8,26	984,35
10,4	8,34	984,23
10,5	8,42	984,11
10,6	8,50	983,99
10,7	8,58	983,88
10,8	8,66	983,76
10,9	8,75	983,64
11,0	8,83	983,52
11,1	8,91	983,40
11,2	8,99	983,29
11,3	9,07	983,17
11,4	9,15	983,05
11,5	9,23	982,94
11,6	9,32	982,82
11,7	9,40	982,70
11,8	9,48	982,59
11,9	9,56	982,47
12,0	9,64	982,35
12,1	9,71	982,24
12,2	9,80	982,12
12,3	9,89	982,01
12,4	9,97	981,89
12,5	10,05	981,78
12,6	10,13	981,67
12,7	10,21	981,55
12,8	10,29	981,44

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
12,9	10,37	981,32
13,0	10,46	981,21
13,1	10,54	981,10
13,2	10,62	980,98
13,3	10,70	980,87
13,4	10,78	980,76
13,5	10,87	980,64
13,6	10,95	980,53
13,7	11,03	980,42
13,8	11,11	980,31
13,9	11,19	980,19
14,0	11,27	980,08
14,1	11,36	979,97
14,2	11,44	979,86
14,3	11,52	979,75
14,4	11,60	979,64
14,5	11,68	979,52
14,6	11,77	979,41
14,7	11,85	979,30
14,8	11,93	979,19
14,9	12,01	979,08
15,0	12,09	978,97
15,1	12,17	978,86
15,2	12,26	978,75
15,3	12,34	978,64
15,4	12,42	978,53
15,5	12,50	978,42
15,6	12,59	978,31
15,7	12,67	978,20
15,8	12,75	978,09
15,9	12,83	977,98
16,0	12,91	977,87
16,1	13,00	977,76
16,2	13,08	977,65
16,3	13,16	977,55
16,4	13,24	977,44
16,5	13,32	977,33
16,6	13,41	977,22
16,7	13,49	977,11
16,8	13,57	977,00
16,9	13,65	976,89
17,0	13,74	976,79
17,1	13,82	976,68
17,2	13,90	976,57
17,3	13,98	976,44
17,4	14,07	976,35
17,5	14,15	976,25

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3813

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)	% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
17,6	14,23	976,14	22,3	18,12	971,08
17,7	14,31	976,03	22,4	18,21	970,97
17,8	14,40	975,92	22,5	18,29	970,86
17,9	14,48	975,81	22,6	18,37	970,75
18,0	14,56	975,71	22,7	18,46	970,64
18,1	14,64	975,60	22,8	18,54	970,53
18,2	14,73	975,49	22,9	18,62	970,42
18,3	14,81	975,38	23,0	18,71	970,31
18,4	14,89	975,28	23,1	18,79	970,20
18,5	14,97	975,17	23,2	18,87	970,09
18,6	15,06	975,06	23,3	18,96	969,98
18,7	15,14	974,95	23,4	19,04	969,87
18,8	15,22	974,85	23,5	19,13	969,76
18,9	15,30	974,74	23,6	19,21	969,65
19,0	15,39	974,63	23,7	19,29	969,54
19,1	15,47	974,52	23,8	19,38	969,43
19,2	15,55	974,42	23,9	19,46	969,32
19,3	15,63	974,31	24,0	19,54	969,21
19,4	15,72	974,20	24,1	19,63	969,10
19,5	15,80	974,09	24,2	19,71	968,99
19,6	15,88	973,99	24,3	19,79	968,88
19,7	15,97	973,88	24,4	19,88	968,77
19,8	16,05	973,77	24,5	19,96	968,66
19,9	16,13	973,66	24,6	20,05	968,55
20,0	16,21	973,56	24,7	20,13	968,43
20,1	16,30	973,45	24,8	20,21	968,32
20,2	16,38	973,34	24,9	20,30	968,21
20,3	16,46	973,24	25,0	20,38	968,10
20,4	16,55	973,13	25,1	20,47	967,99
20,5	16,63	973,02	25,2	20,55	967,87
20,6	16,71	972,91	25,3	20,63	967,76
20,7	16,79	972,80	25,4	20,72	967,65
20,8	16,88	972,70	25,5	20,80	967,53
20,9	16,96	972,59	25,6	20,88	967,42
21,0	17,04	972,48	25,7	20,97	967,31
21,1	17,13	972,37	25,8	21,05	967,19
21,2	17,21	972,27	25,9	21,14	967,08
21,3	17,29	972,16	26,0	21,22	966,97
21,4	17,38	972,05	26,1	21,31	966,85
21,5	17,46	971,94	26,2	21,39	966,74
21,6	17,54	971,83	26,3	21,47	966,62
21,7	17,62	971,73	26,4	21,56	966,51
21,8	17,71	971,62	26,5	21,64	966,39
21,9	17,79	971,51	26,6	21,73	966,28
22,0	17,87	971,40	26,7	21,81	966,16
22,1	17,96	971,29	26,8	21,90	966,05
22,2	18,04	971,18	26,9	21,98	965,93

3814 Všeobecné dodatky

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
27,0	22,06	965,81
27,1	22,15	965,70
27,2	22,23	965,58
27,3	22,32	965,46
27,4	22,40	965,35
27,5	22,49	965,23
27,6	22,57	965,11
27,7	22,65	964,99
27,8	22,74	964,88
27,9	22,82	964,76
28,0	22,91	964,64
28,1	22,99	964,52
28,2	23,08	964,40
28,3	23,16	964,28
28,4	23,25	964,16
28,5	23,33	964,04
28,6	23,42	963,92
28,7	23,50	963,80
28,8	23,59	963,68
28,9	23,67	963,56
29,0	23,76	963,44
29,1	23,84	963,32
29,2	23,93	963,20
29,3	24,01	963,07
29,4	24,10	962,95
29,5	24,18	962,83
29,6	24,27	962,71
29,7	24,35	962,58
29,8	24,44	962,46
29,9	24,52	962,33
30,0	24,61	962,21
30,1	24,69	962,09
30,2	24,78	961,96
30,3	24,86	961,84
30,4	24,95	961,71
30,5	25,03	961,59
30,6	25,12	961,46
30,7	25,20	961,33
30,8	25,29	961,21
30,9	25,38	961,08
31,0	25,46	960,95
31,1	25,55	960,82
31,2	25,63	960,70
31,3	25,72	960,57
31,4	25,80	960,44
31,5	25,89	960,31
31,6	25,97	960,18

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
31,7	26,06	960,05
31,8	26,15	959,92
31,9	26,23	959,79
32,0	26,32	959,66
32,1	26,40	959,53
32,2	26,49	959,40
32,3	26,57	959,27
32,4	26,66	959,14
32,5	26,75	959,01
32,6	26,83	958,87
32,7	26,92	968,74
32,8	27,00	968,61
32,9	27,09	958,47
33,0	27,18	958,34
33,1	27,26	958,20
33,2	27,35	958,07
33,3	27,44	957,94
33,4	27,52	957,80
33,5	27,61	957,66
33,6	27,69	957,53
33,7	27,78	957,39
33,8	27,87	957,26
33,9	27,95	957,12
34,0	28,04	956,98
34,1	28,13	956,84
34,2	28,21	956,70
34,3	28,30	956,57
34,4	28,39	956,43
34,5	28,47	956,29
34,6	28,56	956,15
34,7	28,65	956,01
34,8	28,73	955,87
34,9	28,82	955,73
35,0	28,91	955,59
35,1	28,99	955,45
35,2	29,08	955,30
35,3	29,17	955,16
35,4	29,26	955,02
35,5	29,34	954,88
35,6	29,43	954,73
35,7	29,52	954,59
35,8	29,60	954,44
35,9	29,69	954,30
36,0	29,78	954,15
36,1	29,87	954,01
36,2	29,95	953,86
36,3	30,04	953,72

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3815

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
36,4	30,13	953,57
36,5	30,21	953,42
36,6	30,30	953,28
36,7	30,39	953,13
36,8	30,48	952,98
36,9	30,56	952,83
37,0	30,65	952,69
37,1	30,74	952,54
37,2	30,83	952,39
37,3	30,92	952,24
37,4	31,00	952,09
37,5	31,09	951,94
37,6	31,18	951,79
37,7	31,27	951,63
37,8	31,35	951,48
37,9	31,44	951,33
38,0	31,53	951,18
38,1	31,62	951,02
38,2	31,71	950,87
38,3	31,79	950,72
38,4	31,88	950,56
38,5	31,97	950,41
38,6	32,06	950,25
38,7	32,15	950,10
38,8	32,24	949,94
38,9	32,32	949,79
39,0	32,41	949,63
39,1	32,50	949,47
39,2	32,59	949,32
39,3	32,68	949,16
39,4	32,77	949,00
39,5	32,86	948,84
39,6	32,94	948,68
39,7	33,03	948,52
39,8	33,12	948,37
39,9	33,21	948,21
40,0	33,30	948,05
40,1	33,39	947,88
40,2	33,48	947,72
40,3	33,57	947,56
40,4	33,66	947,40
40,5	33,74	947,24
40,6	33,83	947,08
40,7	33,92	946,91
40,8	34,01	946,75
40,9	34,10	946,58
41,0	34,19	946,42

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
41,1	34,28	946,26
41,2	34,37	946,09
41,3	34,46	945,93
41,4	34,55	945,75
41,5	34,64	945,59
41,6	34,73	945,43
41,7	34,82	945,26
41,8	34,91	945,09
41,9	35,00	944,93
42,0	35,09	944,76
42,1	35,18	944,59
42,2	35,27	944,42
42,3	35,36	944,25
42,4	35,45	944,08
42,5	35,54	943,91
42,6	35,63	943,74
42,7	35,72	943,57
42,8	35,81	943,40
42,9	35,90	943,23
43,0	35,99	943,06
43,1	36,08	942,88
43,2	36,17	942,71
43,3	36,26	942,54
43,4	36,35	942,37
43,5	36,44	942,19
43,6	36,53	942,02
43,7	36,62	941,84
43,8	36,71	941,67
43,9	36,80	941,49
44,0	36,89	941,32
44,1	36,98	941,14
44,2	37,07	940,97
44,3	37,16	940,79
44,4	37,25	940,61
44,5	37,35	940,43
44,6	37,44	940,26
44,7	37,53	940,08
44,8	37,62	939,90
44,9	37,71	939,72
45,0	37,80	939,54
45,1	37,89	939,36
45,2	37,98	939,18
45,3	38,08	939,00
45,4	38,17	938,82
45,5	38,26	938,64
45,6	38,35	938,46
45,7	38,44	938,28

3816 Všeobecné dodatky

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
45,8	38,53	938,10
45,9	38,62	937,91
46,0	38,72	937,73
46,1	38,81	937,55
46,2	38,90	937,36
46,3	38,99	937,18
46,4	39,08	937,00
46,5	39,18	936,81
46,6	39,27	936,63
46,7	39,36	936,44
46,8	39,45	936,26
46,9	39,54	936,07
47,0	39,64	935,88
47,1	39,73	935,70
47,2	39,82	935,51
47,3	39,91	935,32
47,4	40,00	935,14
47,5	40,10	934,95
47,6	40,19	934,76
47,7	40,28	934,57
47,8	40,37	934,38
47,9	40,47	934,19
48,0	40,56	934,00
48,1	40,65	933,81
48,2	40,75	933,62
48,3	40,84	933,43
48,4	40,93	933,24
48,5	41,02	933,05
48,6	41,12	932,86
48,7	41,21	932,67
48,8	41,30	932,47
48,9	41,40	932,28
49,0	41,49	932,09
49,1	41,58	931,90
49,2	41,68	931,70
49,3	41,77	931,51
49,4	41,86	931,31
49,5	41,96	931,12
49,6	42,05	930,92
49,7	42,14	930,73
49,8	42,24	930,53
49,9	42,33	930,34
50,0	42,43	930,14
50,1	42,52	929,95
50,2	42,61	929,75
50,3	42,71	929,55
50,4	42,80	929,35

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
50,5	42,90	929,16
50,6	42,99	928,96
50,7	43,08	928,76
50,8	43,18	928,56
50,9	43,27	928,36
51,0	43,37	928,16
51,1	43,46	927,96
51,2	43,56	927,77
51,3	43,65	927,57
51,4	43,74	927,36
51,5	43,84	927,16
51,6	43,93	926,96
51,7	44,03	926,76
51,8	44,12	926,56
51,9	44,22	926,36
52,0	44,31	926,16
52,1	44,41	925,95
52,2	44,50	925,75
52,3	44,60	925,55
52,4	44,69	925,35
52,5	44,79	925,14
52,6	44,88	924,94
52,7	44,98	924,73
52,8	45,07	924,53
52,9	45,17	924,32
53,0	45,26	924,12
53,1	45,36	923,91
53,2	45,46	923,71
53,3	45,55	923,50
53,4	45,65	923,30
53,5	45,74	923,09
53,6	45,84	922,88
53,7	45,93	922,68
53,8	46,03	922,47
53,9	46,13	922,26
54,0	46,22	922,06
54,1	46,32	921,85
54,2	46,41	921,64
54,3	46,51	921,43
54,4	46,61	921,22
54,5	46,70	921,01
54,6	46,80	920,80
54,7	46,90	920,59
54,8	46,99	920,38
54,9	47,09	920,17
55,0	47,18	919,96
55,1	47,28	919,75

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3817

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
55,2	47,38	919,54
55,3	47,47	919,33
55,4	47,57	919,12
55,5	47,67	918,91
55,6	47,77	918,69
55,7	47,86	918,48
55,8	47,96	918,27
55,9	48,08	918,06
56,0	48,15	917,84
56,1	48,25	917,63
56,2	48,35	917,42
56,3	48,45	917,20
56,4	48,54	916,99
56,5	48,64	916,77
56,6	48,74	916,56
56,7	48,84	916,35
56,8	48,93	916,13
56,9	49,03	915,91
57,0	49,13	915,70
57,1	49,23	915,48
57,2	49,32	915,27
57,3	49,42	915,05
57,4	49,52	914,83
57,5	49,62	914,62
57,6	49,72	914,40
57,7	49,81	914,18
57,8	49,91	913,97
57,9	50,01	913,85
58,0	50,11	913,53
58,1	50,21	913,31
58,2	50,31	913,09
58,3	50,40	912,87
58,4	50,50	912,65
58,5	50,60	913,43
58,6	50,70	912,22
58,7	50,80	912,00
58,8	50,90	911,78
58,9	51,00	911,55
59,0	51,10	911,33
59,1	51,19	911,11
59,2	51,29	910,89
59,3	51,39	910,67
59,4	51,49	910,45
59,5	51,59	910,23
59,6	51,69	910,01
59,7	51,79	909,78
59,8	51,89	909,56

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
59,9	51,99	909,34
60,0	52,09	909,11
60,1	52,19	908,89
60,2	52,29	908,67
60,3	52,39	908,44
60,4	52,49	908,22
60,5	52,59	908,00
60,6	52,69	907,77
60,7	52,79	907,55
60,8	52,89	907,32
60,9	52,99	907,10
61,0	53,09	906,87
61,1	53,19	906,64
61,2	53,29	906,42
61,3	53,39	906,19
61,4	53,49	905,97
61,5	53,59	905,74
61,6	53,69	905,51
61,7	53,79	905,29
61,8	53,89	905,06
61,9	53,99	904,83
62,0	54,09	904,60
62,1	54,19	904,37
62,2	54,30	904,15
62,3	54,40	903,92
62,4	54,50	903,69
62,5	54,60	903,46
62,6	54,70	903,23
62,7	54,80	903,00
62,8	54,90	902,77
62,9	55,00	902,54
63,0	55,11	902,31
63,1	55,21	902,08
63,2	55,31	901,85
63,3	55,41	901,62
63,4	55,51	901,39
63,5	55,61	901,15
63,6	55,72	900,92
63,7	55,82	900,69
63,8	55,92	900,46
63,9	56,02	900,23
64,0	56,12	899,99
64,1	56,23	899,76
64,2	56,33	899,53
64,3	56,43	899,29
64,4	56,53	899,06
64,5	56,64	898,83

3818 Všeobecné dodatky

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
64,6	56,74	898,59
64,7	56,84	898,36
64,8	56,94	898,12
64,9	57,05	897,89
65,0	57,15	897,65
65,1	57,25	897,42
65,2	57,36	897,18
65,3	57,46	896,94
65,4	57,56	896,71
65,5	57,67	896,47
65,6	57,77	896,23
65,7	57,87	896,00
65,8	57,98	895,76
65,9	58,08	895,52
66,0	58,18	895,28
66,1	58,29	895,05
66,2	58,39	894,81
66,3	58,49	894,57
66,4	58,60	894,33
66,5	58,70	894,09
66,6	58,81	893,98
66,7	58,91	893,61
66,8	59,01	893,37
66,9	59,12	893,13
67,0	59,22	892,89
67,1	59,33	892,65
67,2	59,43	892,41
67,3	59,54	892,17
67,4	59,64	891,93
67,5	59,74	891,69
67,6	59,85	891,45
67,7	59,95	891,20
67,8	60,06	890,96
67,9	60,16	890,72
68,0	60,27	890,48
68,1	60,37	890,23
68,2	60,48	889,99
68,3	60,58	889,75
68,4	60,69	889,50
68,5	60,80	889,26
68,6	60,90	889,01
68,7	61,01	888,77
68,8	61,11	888,52
68,9	61,22	888,28
69,0	61,32	888,03
69,1	61,43	887,79
69,2	61,54	887,54

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
69,3	61,64	887,29
69,4	61,75	887,05
69,5	61,85	886,80
69,6	61,96	886,55
69,7	62,07	886,31
69,8	62,17	886,06
69,9	62,28	885,81
70,0	62,39	885,56
70,1	62,49	885,31
70,2	62,60	885,06
70,3	62,71	884,82
70,4	62,81	884,57
70,5	62,92	884,32
70,6	63,03	884,07
70,7	63,13	883,82
70,8	63,24	883,57
70,9	63,35	883,32
71,0	63,46	883,06
71,1	63,56	882,81
71,2	63,67	882,56
71,3	63,78	882,31
71,4	63,89	882,06
71,5	63,99	881,81
71,6	64,10	881,55
71,7	64,21	881,30
71,8	64,32	881,05
71,9	64,43	880,79
72,0	64,53	880,54
72,1	64,64	880,29
72,2	64,75	880,03
72,3	64,86	879,78
72,4	64,97	879,52
72,5	65,08	879,27
72,6	65,19	879,01
72,7	65,29	878,75
72,8	65,40	878,50
72,9	65,51	878,24
73,0	65,62	877,99
73,1	65,73	877,73
73,2	65,84	877,47
73,3	65,95	877,21
73,4	66,06	876,96
73,5	66,17	876,70
73,6	66,28	876,44
73,7	66,39	876,18
73,8	66,50	875,92
73,9	66,61	875,66

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3819

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)	% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
74,0	66,72	875,40	78,7	71,98	862,86
74,1	66,83	875,14	78,8	72,10	862,59
74,2	66,94	874,88	78,9	72,21	862,31
74,3	67,05	874,62	79,0	72,33	862,04
74,4	67,16	874,36	79,1	72,44	861,76
74,5	67,27	874,10	79,2	72,56	861,49
74,6	67,38	873,84	79,3	72,67	861,21
74,7	67,49	873,58	79,4	72,79	860,94
74,8	67,60	873,32	79,5	72,90	860,66
74,9	67,71	873,06	79,6	73,02	860,38
75,0	67,82	872,79	79,7	73,13	860,10
75,1	67,93	872,53	79,8	73,25	859,83
75,2	68,04	872,27	79,9	73,36	859,55
75,3	68,15	872,00	80,0	73,48	859,27
75,4	68,26	871,74	80,1	73,60	858,99
75,5	68,38	871,48	80,2	73,71	858,71
75,6	68,49	871,21	80,3	73,83	858,43
75,7	68,60	870,95	80,4	73,94	858,15
75,8	68,71	870,68	80,5	74,06	857,87
75,9	68,82	870,42	80,6	74,18	857,59
76,0	68,93	870,15	80,7	74,29	857,31
76,1	69,04	869,89	80,8	74,41	857,03
76,2	69,16	869,62	80,9	74,53	856,75
76,3	69,27	869,35	81,0	74,64	856,46
76,4	69,38	869,09	81,1	74,76	856,18
76,5	69,49	868,82	81,2	74,88	855,90
76,6	69,61	868,55	81,3	74,99	855,62
76,7	69,72	868,28	81,4	75,11	855,33
76,8	69,83	868,02	81,5	75,23	855,05
76,9	69,94	867,75	81,6	75,34	854,76
77,0	70,06	867,48	81,7	75,46	854,48
77,1	70,17	867,21	81,8	75,58	854,19
77,2	70,28	866,94	81,9	74,70	853,91
77,3	70,39	866,67	82,0	75,82	853,62
77,4	70,51	866,40	82,1	75,93	853,34
77,5	70,62	866,13	82,2	76,05	853,05
77,6	70,73	865,86	82,3	76,17	852,76
77,7	70,85	865,59	82,4	76,29	852,48
77,8	70,96	865,32	82,5	76,41	852,19
77,9	71,07	865,05	82,6	76,52	851,90
78,0	71,19	864,78	82,7	76,64	851,61
78,1	71,30	864,50	82,8	76,76	851,32
78,2	71,41	864,23	82,9	76,88	851,03
78,3	71,53	863,96	83,0	77,00	850,74
78,4	71,64	863,69	83,1	77,12	850,45
78,5	71,76	863,41	83,2	77,24	850,16
78,6	71,87	863,14	83,3	77,36	849,87

3820 Všeobecné dodatky

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
83,4	77,48	849,58
83,5	77,60	849,29
83,6	77,72	848,99
83,7	77,84	848,70
83,8	77,96	848,41
83,9	78,08	848,11
84,0	78,20	847,82
84,1	78,32	847,53
84,2	78,44	847,23
84,3	78,56	846,93
84,4	78,68	846,64
84,5	78,80	846,34
84,6	78,92	846,05
84,7	79,04	845,75
84,8	79,16	845,45
84,9	79,28	845,15
85,0	79,40	844,85
85,1	79,53	844,55
85,2	79,65	844,25
85,3	79,77	843,95
85,4	79,89	843,65
85,5	80,01	843,35
85,6	80,14	843,05
85,7	80,26	842,75
85,8	80,38	842,44
85,9	80,50	842,14
86,0	80,63	841,84
86,1	80,75	841,53
86,2	80,87	841,23
86,3	81,00	840,92
86,4	81,12	840,62
86,5	81,24	840,31
86,6	81,37	840,00
86,7	81,49	839,70
86,8	81,61	839,39
86,9	81,74	839,08
87,0	81,86	838,77
87,1	81,99	838,46
87,2	82,11	838,15
87,3	82,24	837,84
87,4	82,36	837,52
87,5	82,49	837,21
87,6	82,61	836,90
87,7	82,74	836,59
87,8	82,86	836,27
87,9	82,99	835,96
88,0	83,11	835,64

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
88,1	83,24	835,32
88,2	83,37	835,01
88,3	83,49	834,69
88,4	83,62	834,37
88,5	83,74	834,05
88,6	83,87	833,73
88,7	84,00	833,41
88,8	84,13	833,09
88,9	84,25	832,77
89,0	84,38	832,45
89,1	84,51	832,12
89,2	84,64	831,80
89,3	84,76	831,48
89,4	84,89	831,15
89,5	85,02	830,82
89,6	85,15	830,50
89,7	85,28	830,17
89,8	85,41	829,84
89,9	85,54	829,51
90,0	85,66	829,18
90,1	85,79	828,85
90,2	85,92	828,52
90,3	86,05	828,19
90,4	86,18	827,85
90,5	86,31	827,52
90,6	86,44	827,18
90,7	86,57	826,85
90,8	86,71	826,51
90,9	86,84	826,17
91,0	86,97	825,83
91,1	87,10	825,49
91,2	87,23	825,15
91,3	87,36	824,81
91,4	87,49	824,47
91,5	87,63	824,13
91,6	87,76	823,78
91,7	87,89	823,44
91,8	88,02	823,09
91,9	88,16	822,74
92,0	88,29	822,39
92,1	88,42	822,04
92,2	88,56	821,69
92,3	88,69	821,34
92,4	88,83	820,99
92,5	88,96	820,63
92,6	89,10	820,28
92,7	89,23	819,92

Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu 3821

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
92,8	89,37	819,57
92,9	89,50	819,21
93,0	89,64	818,85
93,1	89,77	818,49
93,2	89,91	818,12
93,3	90,05	817,76
93,4	90,18	817,40
93,5	90,32	817,03
93,6	90,46	816,66
93,7	90,59	816,30
93,8	90,73	815,93
93,9	90,87	815,55
94,0	91,01	815,18
94,1	91,15	814,81
94,2	91,29	814,43
94,3	91,43	814,06
94,4	91,56	813,68
94,5	91,70	813,30
94,6	91,84	812,92
94,7	91,98	812,54
94,8	92,13	812,15
94,9	92,27	811,77
95,0	92,41	811,38
95,1	92,55	810,99
95,2	92,69	810,60
95,3	92,83	810,21
95,4	92,98	809,82
95,5	93,12	809,42
95,6	93,26	809,02
95,7	93,41	808,63
95,8	93,55	808,23
95,9	93,69	807,82
96,0	93,84	807,42
96,1	93,98	807,01
96,2	94,13	806,61
96,3	94,27	806,20
96,4	94,42	805,78

% V/V	% m/m	ρ_{20} (kg/m ³)
96,5	94,57	805,37
96,6	94,71	804,96
96,7	94,86	804,54
96,8	95,01	804,12
96,9	95,16	803,70
97,0	95,31	803,27
97,1	95,45	802,85
97,2	95,60	802,42
97,3	95,75	801,99
97,4	95,90	801,55
97,5	96,05	801,12
97,6	96,21	800,68
97,7	96,36	800,24
97,8	96,51	799,80
97,9	96,66	799,35
98,0	96,81	798,90
98,1	96,97	798,45
98,2	97,12	798,00
98,3	97,28	797,54
98,4	97,43	797,08
98,5	97,59	796,62
98,6	97,74	796,15
98,7	97,90	795,68
98,8	98,06	795,21
98,9	98,22	794,73
99,0	98,38	794,25
99,1	98,53	793,77
99,2	98,69	793,28
99,3	98,86	792,79
99,4	99,02	792,30
99,5	99,18	791,80
99,6	99,34	791,29
99,7	99,50	790,79
99,8	99,67	790,28
99,9	99,83	789,76
100,0	100,0	789,24

Tabulka I: Omamné a psychotropní látky¹⁾**N**

Obsahuje pouze lékopisné látky **podléhající ustanovení zákona č. 167/1998 Sb. o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů** (dále jen „zákon č. 167/1998 Sb.“) ze dne 11.6.1998. Omamnými látkami a psychotropními látkami se ve smyslu tohoto zákona rozumí návykové látky uvedené v příloze č. 1 až 7 tohoto zákona. Zákon o návykových látkách upravuje též zacházení s prekursory a pomocnými látkami, tj. s látkami používanými při výrobě nebo zpracování omamných a psychotropních látek. Prekursorem se ve smyslu tohoto zákona rozumí látka uvedená v příloze č. 9 tohoto zákona a pomocnou látkou se rozumí látka uvedená v příloze č. 10 tohoto zákona. U pomocných látek zákon stanoví jen povinnost jejich výrobců zaregistrovat se u Ministerstva zdravotnictví a ohlašovací povinnost.

V lékopisu jsou omamné látky označeny §§, psychotropní látky § a prekursory (§). Omamné a psychotropní látky se označují štítky s červeným písmem na bílém podkladě. Omamné látky uvedené v příloze č. 1 a psychotropní látky uvedené v příloze č. 5 zákona č. 167/1998 Sb. se navíc označují šikmým modrým pruhem.

Omamné látky, psychotropní látky, přípravky a prekursory musí být skladovány v souladu s § 10 zákona č. 167/1998 Sb. v uzamčených místnostech, jejichž stěny, stropy a podlahy jsou z materiálů znesnadňujících proniknutí ke skladovaným látkám, nebo v nepřenosných uzamykatelných schránkách z kovu. Ve zdravotnických zařízeních (lékárnách), v zařízeních sociální péče a u osob oprávněných k poskytování veterinární péče musí být skladovány v nepřenosných schránkách z kovu omamné látky uvedené v příloze č. 1 a psychotropní látky uvedené v příloze č. 5 zákona č. 167/1998 Sb. (látky s modrým pruhem) a přípravky je obsahující. Návykové látky, kde je to vhodné, jsou v lékopisu označeny zároveň jako Venena nebo Separanda.

Lékopisné omamné látky zařazené do seznamu I

Příloha č. 1 k zákonu č. 167/1998 Sb.

§§	ALFENTANILI HYDROCHLORIDUM
§§	COCAINI HYDROCHLORIDUM
§§	DEXTROMORAMIDI HYDROGENOTARTRAS
§§	DIPHENOXYLATI HYDROCHLORIDUM
§§	FENTANYLI DIHYDROGENOCITRAS
§§	FENTANYLUM
§§	METHADONI HYDROCHLORIDUM
§§	MORPHINI HYDROCHLORIDUM
§§	MORPHINI SULFAS
§§	OPIUM CRUDUM
§§	PETHIDINI HYDROCHLORIDUM
§§	SUFENTANILI DIHYDROGENOCITRAS

¹⁾ Tato tabulka zcela nahrazuje Tabulku č. 1 z ČL 97 a při uchovávání jednotlivých léčiv uvedených v ČL 97 je třeba se řídit touto přepracovanou tabulkou.

Lékopisné omamné látky zařazené do seznamu II

Příloha č. 2 k zákonu č. 167/1998 Sb.

- §§ † CODEINI DIHYDROGENOPHOSPHAS HEMIHYDRICUS
- §§ † CODEINI DIHYDROGENOPHOSPHAS SESQUIHYDRICUS
- §§ † CODEINUM
- §§ † DEXTROPROPOXYPHENI HYDROCHLORIDUM
- §§ † ETHYLMORPHINI HYDROCHLORIDUM
- §§ † PHOLCODINUM

Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu II

Příloha č. 5 k zákonu č. 167/1998 Sb.

- § AMFETAMINI SULFAS
- § METHAQUALONUM

Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu III

Příloha č. 6 k zákonu č. 167/1998 Sb.

- § † AMOBARBITALUM
- § † AMOBARBITALUM NATRICUM
- § † BUPRENORPHINI HYDROCHLORIDUM
- § † BUPRENORPHINUM
- § † FLUNITRAZEPAMUM
- § † GLUTETHIMIDUM
- § † PENTOBARBITALUM
- § † PENTOBARBITALUM NATRICUM

Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu IV

Příloha č. 7 k zákonu č. 167/1998 Sb.

- § † ALPRAZOLAMUM
- § † BARBITALUM
- § † BROMAZEPAMUM
- § † CHLORDIAZEPOXIDI HYDROCHLORIDUM
- § † CHLORDIAZEPOXIDUM
- § † CLONAZEPAMUM
- § † DIAZEPAMUM
- § † DIKALII CLORAZEPAS
- § † FLURAZEPAMI HYDROCHLORIDUM
- § † LORAZEPAMUM
- § † MEPROBAMATUM

3824 *Všeobecné dodatky*

- § † METHYLPHENOBARBITALUM
- § † MIDAZOLAMUM
- § † NITRAZEPAMUM
- § † OXAZEPAMUM
- § † PHENOBARBITALUM
- § † PHENOBARBITALUM NATRICUM
- § † TEMAZEPAMUM

Lékopisné prekursory zařazené do tabulky I

Příloha č. 9 k zákonu č. 167/1998 Sb.

- (§) † EPHEDRINI HYDROCHLORIDUM
- (§) † EPHEDRINI RACEMICI HYDROCHLORIDUM
- (§) † EPHEDRINUM
- (§) † EPHEDRINUM HEMIHYDRICUM
- (§) †† ERGOMETRINI HYDROGENOMALEAS
- (§) †† ERGOTAMINI TARTRAS
- (§) † PSEUDOEPHEDRINI HYDROCHLORIDUM

Tabulka II: Venena**N**

Obsahuje léčiva velmi silně účinná (zvláště nebezpečné jedy), označená v lékopisu †† (Venenum). v lékárnách se uchovávají v uzamčené skříni (seclusa) a označují se štítky s bílým písmem na černém pozadí.

ALFACALCIDOLUM
BENPERIDOLUM
CALCIFEDIOLUM MONOHYDRICUM
CLEMASTINI HYDROGENOFUMARAS
DOXAZOSINI MESILAS
ESTRIOLUM
GLYCEROLI TRINITRATIS SOLUTIO
PENTAERITHRITYLI TETRANITRAS DILUTUS
THIOMERSALUM

Tabulka III: Separanda**N**

Obsahuje léčiva silně účinná a žíraviny označené v lékopisu † (Separandum). v lékárnách se uchovávají odděleně od ostatních léčiv a označují se štítky s červeným písmem na bílém podkladu.

ACECLOFENACUM	DIRITHROMYCINUM
ACIDUM CHENODEOXYCHOLICUM	DOBUTAMINI HYDROCHLORIDUM
ACIDUM MEFENAMICUM	DOXAPRAMI HYDROCHLORIDUM
ACIDUM OXOLINICUM	MONOHYDRICUM
ACIDUM URSODEOXYCHOLICUM	ERYTHROPOIETINI SOLUTIO
ACIDUM VALPROICUM	CONCENTRATA
ALCURONII CHLORIDUM	ETAMSYLATUM
ALFUZOSINI HYDROCHLORIDUM	ETILEFRINI HYDROCHLORIDUM
ALTEPLASUM AD INIECTABILE	FENBENDAZOLUM
AMIKACINI DISULFAS	FENBUFENUM
AMIKACINUM	FENOFIBRATUM
AMINOGLUTETHIMIDUM	FENTICONAZOLI NITRAS
AMPHOTERICINUM B	FLECAINIDI ACETAS
ARGENTI DIACETYLTANNAS	FLUMAZENILUM
ALBUMINATUS	FLUMETASONI PIVALAS
BAMBUTEROLI HYDROCHLORIDUM	FLUOCORTOLONI PIVALAS
BELLADONNAE FOLII EXTRACTUM	FOSFOMYCINUM CALCICUM
SICCUM NORMATUM	MONOHYDRICUM
BENSERAZIDI HYDROCHLORIDUM	FOSFOMYCINUM DINATRICUM
BROMPERIDOLUM	GONADORELINI ACETAS
BUPRENORPHINI HYDROCHLORIDUM	IODI SOLUTIO ETHANOLICA
BUPRENORPHINUM	ISOPRENALINI HYDROCHLORIDUM
CARMUSTINUM	ITRACONAZOLUM
CEFIXIMUM TRIHYDRICUM	IVERMECTINUM
CEFUROXIMUM AXETILI	MALATHIONUM
CELIPROLOLI HYDROCHLORIDUM	MAPROTILINI HYDROCHLORIDUM
CICLOPIROXUM OLAMINUM	MEFLOQUINI HYDROCHLORIDUM
CLEBOPRIDII HYDROGENOMALAS	MEPIVACAINI HYDROCHLORIDUM
CLOZAPINUM	METAMIZOLUM NATRICUM
DALTEPARINUM NATRICUM	METIXENI HYDROCHLORIDUM
DEPTROPINI DIHYDROGENOCITRAS	MONOHYDRICUM
DEXCHLORPHENIRAMINI	METOCLOPRAMIDUM
HYDROGENOMALEAS	MITOXANTRONI
DICYCLOVERINI HYDROCHLORIDUM	DIHYDROCHLORIDUM
DIHYDRALAZINI SULFAS	NABUMETONUM
DIHEMIHYDRICUS	NETILMICINI SULFAS
DINOPROSTUM TROMETAMOLI	NIMODIPINUM
DINOPROSTONUM	NITRENDIPINUM
DIPYRIDAMOLUM	NORFLOXACINUM

OXYBUPROCAINI
HYDROCHLORIDUM
OXYBUTYNINI HYDROCHLORIDUM
PARNAPARINUM NATRICUM
PHENIRAMINI HYDROGENOMALEAS
PHENYTOINUM
PICOTAMIDUM MONOHYDRICUM
PIMOZIDUM
PIPERACILLINUM MONOHYDRICUM
PIPERACILLINUM NATRICUM
PIVMECILLINAMI
HYDROCHLORIDUM
PRILOCAINI HYDROCHLORIDUM
PRILOCAINUM
PROMAZINI HYDROCHLORIDUM
PSEUDOEPHEDRINI
HYDROCHLORIDUM
PYRIDOSTIGMINI BROMIDUM
QUINIDINI SULFAS DIHYDRICUS
RAMIPRILUM
SELEGILINI HYDROCHLORIDUM
TARTRAS

SILYMARINUM
STANNOSI CHLORIDUM DIHYDRICUM
TERCONAZOLUM
TESTOSTERONUM
TINZAPARINUM NATRICUM
TOCOFEROLI ALFA DL
HYDROGENOSUCCINAS
TOCOFEROLI ALFA RRR ACETAS
TOCOFEROLI ALFA RRR
HYDROGENOSUCCINAS
TOCOFEROLUM ALFA RRR
TRIAMCINOLONUM
TRIFLUSALUM
TYLOSINI TARTRAS AD USUM
VETERINARIUM
TYLOSINUM AD USUM
VETERINARIUM
VINDESINI SULFAS
ZINCI ACEXAMAS
ZOLPIDEMI

Tabulka IV: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro dospělé

N

Seznam použitých zkratk, viz ČL 97 str. 722. Zjednodušené zkratky maximálních dávek, viz ¹⁾.

Název	Způsob podávání	Dávky (g) pokud není uvedeno jinak			Poznámka
		Jednotlivá dávka	Denní dávka	Maximální dávka ¹⁾	
ACECLOFENACUM	p.o.	0,1			¹⁾ sing. = maximální dávka jednotlivá, p.die = maximální dávka denní
ACESULFAMUM KALICUM	p.o.		0,015/kg		
ACETAZOLAMIDUM	p.o.	0,25	0,75	0,50/sing. 1/p.die	
	i.m., i.v.	0,25	0,50	0,50/sing. 1/ p.die	
ACETYLCYSTEINUM	p.o.	0,2	0,8	1/sing. 1/p.die	
	inhal.	0,4	1,6	2/sing. 10/p.die	
ACIDUM ACETYLSALICYLICUM	p.o.	0,5	1-2	1/sing. 6/p.die	U vyšších dávek se sleduje hladina v krvi.
ACIDUM AMINOCAPROICUM	p.o.	4,0-5,0 1,0-1,25	16	30/p.die	úvodní dávka pokračování dávek (po 1 h)
ACIDUM CHENODEOXYCHOLICUM	p.o.		0,01-0,018 /kg	1,5/p.die	Podává se 2x denně. Obézní pacienti užívají až 20 mg/kg.
ACIDUM FOLICUM	p.o.	0,01 0,005	0,02 0,01	0,05/p.die	úvodní dávka udržovací dávka, obden
	i.m.	0,005	0,01	0,01/sing. 0,02/p.die	
ACIDUM MEFENAMICUM	p.o.	0,5	1,5	2/ p.die	Nedoporučuje se užívat déle než 7 dní.
ACIDUM OXOLINICUM	p.o.		1,5		500 mg každých 8 h nebo 750 mg každých 12 h.

ACIDUM URSODEOXYCHOLICUM	p.o.		0,008- 0,012 /kg		Podává se 2x denně. Obézní pacienti užívají až 15 mg/kg denně.
ACIDUM VALPROICUM	p.o.		1,0-1,5		
ADENINUM	p.o.	0,015- 0,003	0,15	0,06/sing. 0,3/p.die	
ALCURONII CHLORIDUM	i.v.	0,0002/kg			Účinek trvá 20 min až 30 min.
ALFUZOSINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,0025	0,010		
ALLII SATIVI BULBUS PULVIS	p.o.		0,5-1,0		
ALOE BARBADENSIS ALOE CAPENSIS	p.o.		0,01-0,02		Vyjádřeno jako bezvodý aloin.
ALTEPLASUM AD INIECTABILE	i.v.inf.		0,1		K léčbě infarktu myokardu je počáteční dávka 10 mg, za 1 až 2 min následuje 50 mg/hod i.v. inf, dále následuje 40 mg/2 hod i.v. inf. Při fibrinolytické léčbě plicní embolie se podává celková dávka 120 mg během 120 min, k fibrinolytické léčbě akutního infarktu myokardu se podává celková dávka 100 mg během 90 min.
AMIKACINUM	i.m. i.v.inf.		0,01- 0,015/kg		V jedné nebo ve 2-3 dílčích dávkách po 12-18 h. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
AMILORIDI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,005-0,01	0,005- 0,015	0,03/p.die	
AMINOGLUTETHIMIDUM	p.o.	0,25	1,0		
AMINOPHENAZONUM	p.o., i.v.	0,3-0,45	0,3-0,9	0,5/sing. 2/p.die	
AMINOPHYLLINUM	p.o.	0,1-0,3	0,3-1,2	0,5/sing. 1,5/p.die	neretardované formy
	p.o.	0,175-0,7	0,35-1,4	0,7/sing. 1,4/p.die	retardované formy
AMMONII CHLORIDUM	p.o.	0,3-1	2,0	2/sing. 6/p.die	
AMOBARBITALUM	p.o.	0,05-0,10	0,2	0,2/sing. 0,4/p.die	

AMOBARBITALUM NATRICUM	p.o.	0,05-0,10	0,2	0,3/sing. 0,5/p.die	
AMPHOTERICINUM B	i.v.inf.		0,001/kg	0,0015 /kg/p.die	Počáteční dávka od 0,0001 g/kg/den, postupně se zvyšuje.
ARGENTI DIACETYLTANNAS ALBUMINATUS	intraocul	1% oční kapky			
	intranas.	3% nosní kapky			
ARGININI HYDROCHLORIDUM	i.v. inf.	10	30	10/sing. 30/p.die	
ASCORBYLIS PALMITAS	p.o.			0,09/p.die	
ATROPINI SULFAS	p.o.	0,5 mg	1 mg	1mg/sing. 3mg/p.die	
BACITRACINUM	p.o.	20 000 m.j.	80 000 m.j.	30000 m.j./sing. 120 000 m.j./p.die	
BAMBUTEROLI HYDROCHLORIDUM	p.o.		10-20 µg/kg		
BARBITALUM	p.o.	0,3-0,5	0,5	0,5/sing. 1,5/p.die	
BELLADONNAE FOLII EXTRACTUM SICCUM NORMATUM	p.o.	0,01	0,03	0,03/sing. 0,10/p.die	
BELLADONNAE FOLIUM BELLADONNAE PULVIS NORMATUS	p.o.	0,03	0,10	0,10/sing. 0,30/p.die	
BENPERIDOLUM	p.o.		0,25- 1,5 mg		P.o. ke zvládnutí odchýlného sexuálního chování, p.o. nebo parenterálně k léčbě psychických stavů.
BENSERAZIDI HYDROCHLORIDUM	p.o.				Podává se s levodopou v poměru 1:4, denní obvyklá dávka je 100-200 mg benserazidu a 400-800 mg levodopy.
BETAMETHASONI ACETAS	p.o.	0,001	0,005	0,009/p.die	Dávkování je přísně individuální.
BIPERIDENI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,001	0,002	0,002/sing. 0,016/p.die	

BISACODYLUM	p.o.	0,01	0,01	0,02/p.die	
	p.rect.	0,01	0,01	0,02/p.die	
BROMPERIDOLUM	p.o. i.m.		0,001- 0,015		Obvyklou denní dávku lze zvýšit až na 50 mg, je-li třeba. Hluboko i.m. 50-300 mg každé 4 týdny, lze podat i i.v.
BUFEXAMACUM	loc.	5% krém			2-3x denně
BUPRENORPHINUM	i.m. i.v.	0,3-0,6 mg	1,2-1,6 mg		po 6-8 h
	subling.	0,2-0,4 mg			po 6-8 h
CALCIFEDIOLUM MONOHYDRICUM			0,05- 0,5 mg		Další podání za 7-30 dní.
CALCII LACTAS	p.o.	1,0	5,0		
CALCII PHOSPHAS	p.o.	0,5-1	4,0		
CALENDULAE FLOS	p.o.	1-2	4-8		
CAMPHORA RACEMICA	s.c.	0,1-0,2	0,3-0,4	0,4/sing. 0,8/p.die	
CAPTOPRILUM	p.o.	6,25-12,5 mg	0,05	0,05/sing. 0,15/p.die	
CARBASALATUM CALCICUM	p.o.			4/p.die	Jako analgetikum a antipyretikum.
	p.o.			6/p.die	Při kosterněšvalových a kloubních bolestech.
CARBETHOPENDECINII BROMIDUM	loc.	0,2% mast 0,5% zásyp 1% roztok			
	intranas.	0,55% nosní kapky			
	intrao- cul.	0,1% oční mast 0,2% oční kapky			
CARBOCISTEINUM	p.o.	0,25-0,75	2,25	1/sing. 5/p.die	

CARMUSTINUM	i.v.inf.		0,15-0,20/m ²		Popř. lze dávku rozdělit do dvou dávek 0,075-0,1 g/m ² tělesného povrchu a aplikovat 2 dny za sebou. Podávání lze opakovat po 4-6 týdnech.
CEFIXIMUM TRIHYDRICUM	p.o.		0,2-0,4		Podává se 1x denně, nebo lze dávku rozdělit na dvě po 12 hod. Při léčbě kapavky se podává 400 mg 1x denně.
CEFUROXIMUM AXETILI	p.o.	0,125-0,500			Podává se 2x denně.
CELIPROLOLI HYDROCHLORIDUM	p.o.		0,2-0,4		Při léčbě hypertenze a anginy pectoris 1x denně. Při poruše jater a ledvin 100 mg 1x denně.
CHLORALI HYDRAS	p.o., p.rect.	0,5	1,0	2/sing. 6/p.die	
CHLORAMBUCILUM	p.o.	0,001-0,002	0,004-0,01	0,004/sing. 0,01/p.die	
CHLORAMPHENICOLI PALMITAS	p.o.	0,5-1	2,0	1,5/sing. 3/p.die	
CHLORAMPHENICOLUM	p.o.	0,25-0,5	1,5-2	1/sing. 3/p.die	
CICLOPIROXUM OLAMINUM	loc.	1 % krém 1 % roztok			1 až 2x denně
CINNAMOMI ETHEROLEUM	p.o.	0,1			
CITRONELLAE ETHEROLEUM	p.o.	0,1			
CLEBOPRIDĪ HYDROGENOMALAS	p.o., i.v.	0,5-1mg			3x denně
CLEMASTINI HYDROGENOFUMARAS	p.o.	1 mg		6 mg /p.die	Podává se 2x denně.
	i.m., i.v.	2-4 mg		6 mg/p.die	Při profylaxi 2 mg i.v.
CLOZAPINUM	i.m.	0,012	0,15	0,30/p.die	Dávkování se zvyšuje postupně.
	p.o.		0,20-0,40	0,60/p.die	Udržovací dávka je obvykle 100 mg na noc.
CODEINUM	p.o.	0,01-0,03	0,06	0,06/sing. 0,20/p.die	1 mg bezvodé báze odpovídá 1,36 mg hemihydrátu dihydrogenkodeiniumfosfatu nebo 1,42 mg seskvihydrátu dihydrogenkodeiniumfosfatu.
CORIANDRI FRUCTUS	p.o.	1,0	3,0		Ve formě nálevu.

CORTISONI ACETAS	p.o., i.m.	0,025	0,1	0,1/sing. 0,4/p.die	Dávkování je přísně individuální.
CRATAEGI FRUCTUS	p.o.	2,0	4,0-6,0		Ve formě nálevu.
CROTAMITONUM	loc.	10% krém 10% lotio			1x denně po 2 dny
CYAMOPSISIDIS SEMINIS PULVIS	p.o.	5	15		3x denně, před jídlem
DALTEPARINUM NATRICUM	s.c.	2500 m.j.			1-2 h před výkonem
	s.c.	2500 m.j.			Rizikové stavy po 12 h.
	i.v.	35 m.j./kg			
	i.v.inf.	13 m.j./kg/h			
DEXCHLORPHENIRAMINI HYDROGENOMALEAS	p.o.	0,004		0,024/p.die	Soustavná léčba 8-12 mg 2x denně.
DIAZEPAMUM	p.o.	0,002-0,01	0,004-0,04	0,01/sing. 0,04/p.die	Dávkování je individuální.
	i.v.,i.m.	0,002-0,02	0,03-0,04	0,02/sing. 0,06/p.die	Dávkování je individuální.
DIAZOXIDUM	p.o.	0,05-0,075	0,15-0,5	0,25/sing. 0,6/p.die	Až 0,008 g/kg/den, rozděleně do dvou až tří dávek po 12 h, resp. 8h.
DICLOFENACUM NATRICUM	p.o.	0,025-0,05	0,05-0,1	0,1/sing. 0,15/p.die	
	i.m.	0,075		0,15/p.die	Podává se nejdéle 2 dny.
DICYCLOVERINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,01-0,02		0,16/p.die	3-4x denně
	i.m.	0,02 mg			4x denně
DIETHYCARBAMAZINI DIHYDRO- GENOCITRAS	p.o.	0,002/kg	0,006/kg	0,72/p.die	
DIGITALIS PURPUREAE FOLIUM	p.o.	0,05-0,1	0,3-0,6	0,3/sing. 1,2/p.die	
DIHYDRALAZINI SULFAS DIHEMIHYDRICUS	p.o. i.m. i.v. inf.	0,025- 0,050			3x denně; při těžších poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
DIMERCAPROLUM	i.m.	0,15	0,8	0,2/sing. 1,2/p.die	Dávkování je individuální, závisí na typu kovu a stavu nemocného.

DIMETICONUM	p.o.	0,04-0,80	0,16-0,52	0,1/sing. 0,4/p.die	
DINOPROSTUM TROMETAMOLI	i.v.inf.	0,75- 1,5 mg			Rychlostí 1,5 µg až 4 µg/min. Další dávky v hodinových intervalech.
	p.o.	0,5 mg			
	vagin.	0,5-2 mg		3 mg cel- kově	
DINOPROSTONUM	i.v.inf.	0,5-1 mg		1,5 mg/sing.	
DIPYRIDAMOLUM	p.o.		0,3-0,6		V rozdělených dávkách před jídlem.
	i.v.	0,01			Pomalá i.v. injekce, po 30 min se může dávka opakovat.
DIRITHROMYCINUM	p.o.	0,5			1x denně
DOBUTAMINI HYDROCHLORIDUM	i.v. inf.	1-5 µg/kg/min			V závislosti na pacientově srdeční činnosti a krevním tlaku. Ampule (250 mg) se zředí G5, nebo F 1/1.
DOXAPRAMI HYDROCHLORIDUM MONOHYDRICUM	i.v.	0,5-1,5 mg/kg		4mg/kg/p.d ie	Podává se po dobu 30 s, dávku lze opakovat v hodinovém intervalu.
	i.v.inf.	1-3 mg/min		4mg/kg/p.d ie	Počáteční dávka 2-5 mg/min.
	p.o.		0,3-0,6		
DOXAZOSINI MESILAS	p.o.	1 mg	4 mg	16 mg/p.die	Nedoporučuje se překročit denní dávku 16 mg .
ECONAZOLI NITRAS	loc.				1% roztok, krém, gel
	vagin.	0,05		0,15/p.die	
EMETINI DIHYDROCHLORIDUM	i.m.,s.c.	0,02-0,03	0,04	0,04/sing. 0,06/p.die	V 10-12denní léčebné kúře se podá 0,01g/kg; nejvýše však celkem 0,6 g.
EPINEPHRINI HYDROGENOTARTRAS	s.c.,i.m.	0,2-1,0 mg	1 mg	1mg/sing. 3mg/p.die	
	loc.				Jako vazokonstrikční přísada v roztocích lokálních anestetik v koncentraci 0,01- 0,005 mg/ml.
ERYTHOPOIETINI SOLUTIO CONCENTRATA	i.v., s.c.				3x týdně 50 m.j./kg až 200 m.j./kg

ESTRIOLUM	p.o.		0,5-3 mg		Krátkodobá léčba.
	p.o.		0,25-2 mg		Podává se v cyklu, může se podávat v kombinaci s dalšími estrogeny.
	vagin.	0,01%- 0,1% va- gin.krém			Pesar obsahující 0,5 mg, vaginální kuličky 0,5 mg a 3,5 mg.
ETAMSYLATUM	p.o.	0,5			4x denně při krvácení
	i.v.	0,25-0,5	1,0		
	i.m.	0,25-0,5	1,0		
ETILEFRINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,01			2-3x denně
	i.m.	0,005-0,01			
ETOFYLLINUM	p.o.	0,2	0,5	0,4/sing. 1/p.die	
EUCALYPTI FOLIUM	p.o.	1,5	4,0-6,0		Ve formě nálevu.
FENBUFENUM	p.o.		0,9		Podává se 1x denně nebo rozděleně 2x denně.
FENOFIBRATUM	p.o.		0,2-0,4		Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
FENTANYLUM	i.v.	50 µg/kg			Při bolestech po 4-6 hodinách.
	i.m.	50-100 µg			Při premedikaci 45 min před anestezií.
	trans- derm.		25-100 µg/h		Náplast se ponechává obvykle na kůži 72 h.
FENTICONAZOLI NITRAS	loc.	2% krém, lot.,spray, vagin.krém			2-3x denně
FERROSI GLUCONAS	p.o.	0,3	0,9	0,5/sing. 1,5/ p.die	
FERROSI SULFAS	p.o.	0,2	0,6	0,5/sing. 1/p.die	
FLECAINIDI ACETAS	p.o.	0,1		0,4/p.die	2x denně 2 mg/kg
	i.v.			0,15/p.die	
FLUMAZENILUM	i.v.	0,2 mg		1mg/p.die	Při otravě benzodiazepiny až 2 mg denně.
FLUMETASONI PIVALAS	loc.	0,02% krém, mast			2-3x denně

FLUCORTOLONI PIVALAS	loc.	0,1% krém, mast			
	p.rect.	0,6 mg v čípku			
FOENUGRAECI SEMEN	p.o.	2,0	6,0		Ve formě nálevu.
FOSFOMYCINUM CALCICUM MONOHYDRICUM	p.o.	1,0	3,0-4,0		Vyjádřeno jako fosfomycin; podává se 3-4x denně.
FOSFOMYCINUM DINATRICUM	i.m.,i.v.	1,0	3,0-4,0		Vyjádřeno jako fosfomycin; podává se 3-4x denně. Ve výjimečných případech až 16 g denně.
FRANGULAE EXTRACTUM SICCUM NORMATUM	p.o.		0,02-0,03		Vyjádřeno jako glukofrangulin A.
FUROSEMIDUM	p.o.	0,02-0,08	0,16	0,16/sing. 0,60/p.die	
	i.v.,inf.	0,02-0,08	0,12-0,5	2/p.die	
GALLAMINI TRIETHIODIDUM	i.v.	0,02-0,04		0,08/sing.	
GLUCAGONUM	s.c.,i.m., i.v.	0,5-1mg	2 mg	1mg/sing. 2mg/p.die	
GLYCEROLI TRINITRATIS SOLUTIO	subling.	0,05		0,1/s. 0,4/p.die	Vyjádřeno jako 1% roztok.
GONADORELINI ACETAS	s.c., i.v., intranas.	100 µg 0,2 mg			Pro diagnostické účely. Podává se 3x denně do každého nosního průchodu.
GRAMINIS RHIZOMA	p.o.	1,5	6-9		Ve formě odvaru.
GUANETHIDINI SULFAS	p.o.	0,01-0,02	0,01-0,02	0,03/p.die	
HALOPERIDOLUM	p.o.,i.v.	0,5-5 mg	1-15 mg	100mg/p.di e	
HEPARINUM NATRICUM	i.m.,i.v.	0,05-0,10	0,25	0,2/sing. 0,6/p.die	
HEXETIDINUM	loc.	0,1% ústní voda, 0,2% spray			3x denně kloktat 15 s. 2-3x denně se podá 5-10 dávek.
HEXOBARBITALUM	p.o.	0,25-0,5	0,25-0,5	0,6/sing. 0,6/p.die	

HYDRALAZINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,025	0,05	0,05/sing. 0,1/p.die	
	i.v.	0,01			
HYDROCHLOROTHIAZIDUM	p.o.	0,025	0,05	0,05/sing. 0,1/p.die	
HYDROXYETHYLIS SALICYLAS	loc.	1% emulze, 10% mast			Několikrát denně.
HYOSCIAMINI SULFAS	subling	0,125 mg	0,5 mg	0,5mg/sing. 1mg/p.die	
	p.o.	0,375 mg	0,75 mg	0,5mg/sing. 1mg/p.die	Léková forma s řízeným uvolňováním.
	i.m.	0,25 mg	0,5 mg	0,5mg/sing. 0,5mg/p.die	
IBUPROFENUM	p.o.	0,3-0,5	1,2	0,6/sing. 1,8/p.die	
	p.rect.	0,6	1,2	0,6/sing. 1,2/p.die	
	loc.				5% krém nebo gel, 3-4x denně
	i.m.	0,4	0,8		Po jedné až dvou dávkách se přejde na perorální podání.
IDOXURIDINUM	loc.				5% roztok, 0,1% - 0,5% oční mast
IMIPENEMUM	i.v. inf.	0,5	1-2	4 g/p.die nebo 50 mg/kg/ p.die	Je třeba podávat v kombinaci s cilastatinem v poměru 1:1; podává se každých 6-8 h.
	i.m.	0,5			Je třeba podávat v kombinaci s cilastatinem v poměru 1:1; podává se každých 6-8 h.
INDOMETACINUM	p.o.	0,025-0,05	0,05-0,15	0,2/p.die	
	p.rect.	0,1	0,2	0,2/p.die	
	loc.				1% gel
	i.m.	0,05	0,05-12		Po jedné až dvou dávkách se přejde na perorální podání.

ISONIAZIDUM	p.o.	0,05-0,15	0,5	0,3/sing. 1/p.die	
ISOPRENALINI HYDROCHLORIDUM	i.v.	0,5-10 µg/min		0,03/sing. 0,1/p.die	
ISOPRENALINI SULFAS	subling.	0,005-0,01	0,02-0,03	0,015/sing. 0,04/p.die.	
ITRACONAZOLUM	p.o.		0,1-0,4		
IVERMECTINUM	p.o.		3-12 mg		Jednorázově; podává se dávka 15 µg/kg.
KALII BROMIDUM	p.o.	1,0	3,0	1/sing. 6/p.die	
KALII CLAVULANAS	p.o.	0,125	0,375	0,25/sing. 0,75/p.die	
KALII IODIUM	p.o.	0,05-0,5	0,15-0,3	1/sing. 4/p.die	
KETOCONAZOLUM	p.o.		0,2		1x denně
	loc.	2% krém			1-2x denně
	loc.	2% šampon			2x týdně 2-4 týdny
LACTITOLUM MONOHYDRICUM	p.o.		10-20		
LACTULOSI SOLUTIO	p.o.	3-5	10-20	40/sing. 100/p.die	
LAVANDULAE ETHEROLEUM	p.o.	0,02-0,08			
LEVOCARNITINUM	i.v.		25-100 mg/kg/den		
LITHII CARBONAS	p.o.	0,6	1,8	0,6/sing. 2,4/p.die	
LITHII CITRAS	p.o.	0,1	0,3	0,3/sing. 0,6/p.die	
MAGNESII TRISILICAS	p.o.	0,5-2		2/p.die	
MALATHIONUM	loc.	0,5 % lotio			
MAPROTILINI HYDROCHLORIDUM	i.v.	0,025-0,05		0,15/p.die	3x denně
	p.o.	0,025-0,15			3x denně
MEBENDAZOLUM	p.o.	0,1	0,2	5/p.die	Dávkovací schéma závisí na vyvolávajícím agens

MEFLOQUINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,025		1,5/p.die	1x týdně při profylaxi
MELISSAE FOLIUM	p.o.	1,5			Ve formě nálevu.
MEPIVACAINI HYDROCHLORIDUM	i.m.	0,05		1/p.die	Nedoporučuje se překročit dávku 1 g/den.
MEPROBAMATUM	p.o.	0,4	0,8	0,8/sing. 2/p.die	
METAMIZOLUM NATRICUM MONOHYDRICUM	p.o.	0,5-1		2,5/sing.	3-4x denně
	i.m.,i.v.	0,5-1		5/p.die	2-3xdenně
METFORMINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,5	1,5	1/sing. 3/p.die	
METHYLATROPINI BROMIDUM	loc.				0,5% - 2% roztok v oftamologii
METHYLATROPINI NITRAS	p.o.	0,001	0,004	0,002/sing. 0,006/p.die	
METHYLDOPUM	p.o.	0,25-05	0,5-1,5	3/p.die	
METHYLIS SALICYLAS	ext.				Mast, linimentum, roztok 25% - 50%; 5 mg/m ² .
METHYLPARABENUM NATRICUM	loc.	0,25%			
	p.o., inj.	10 mg/kg			
METHYLPHENOBARBITALUM	p.o.	0,05-0,1	0,2	0,15/sing. 0,6/p.die	
METIXENI HYDROCHLORIDUM MONOHYDRICUM	p.o.	2,5-20 mg		0,06/p.die	3x denně
METOCLOPRAMIDUM	p.o., p.rect.	0,01			3x denně
	i.v.,i.m. inf.	2 mg/kg		10 mg/kg	
	i.v.	0,014/m ²			Opakuje se za 3 týdny.
MITOXANTRONI DIHYDROCHLORIDUM	i.v.	0,012/m ²			Léčba 5 dní při lymfatické leukémii.
MORPHINI SULFAS	s.c., i.m.	0,002-0,02	0,01-0,04	0,02/sing. 0,06/p.die	Možno opakovat za 4 h.
	i.v.	0,002-0,02		0,02/sing. 0,06/p.die	Podává se pomalu nebo v infuzi, možno opakovat za 4 h.
	p.rect.	0,01-0,03			Možno opakovat za 4 h.

NABUMETONUM	p.o.		1,0	2/p.die	1x denně
NATRII CALCII EDETAS	i.v. (i.m.)	0,02/kg	0,04/kg	2/sing. 4/p.die	
NATRII SALICYLAS	p.o.	0,5-1	6,0	2/sing. 12/p.die	U vyšších dávek se sleduje hladina v krvi.
NEOSTIGMINI BROMIDUM NEOSTIGMINI METILSULFAS	p.o.	0,015-0,03	0,03-0,09	0,03/sing. 0,15/p.die	Vyjádřeno jako neostigmin.
	i.m.,i.v., s.c.	0,25-0,5 mg	1,5 mg	1mg/sing. 2,5mg/p.die	
NETILMICINI SULFAS	i.m., inf.		4-6mg/kg		V jedné dávce nebo ve 2-3 dílčích dávkách po 12-8 h, při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
NICETHAMIDUM	p.o., s.c., i.m.	0,0065- 0,02	0,034-0,04	0,1/p.die 0,25/p.die	
NICOTINAMIDUM	p.o.	0,1	0,3	0,3/sing. 1/p.die	
	s.c.,i.m.	0,1	0,2	0,2/sing. 0,5/p.die	
NIMODIPINUM	p.o.	0,03			Podává se po 6 h.
	i.v.inf.	0,001/h			3 x denně
NITRENDIPINUM	p.o.	0,01			1-2x denně. U nemocných s vážným poškozením jater se léčba zahájí dávkou 5 mg denně.
NITROFURANTOINUM	p.o.	0,05-0,1	0,2-03	0,1/sing. 0,6/p.die	
NORFLOXACINUM	p.o.	0,4		1,6/p.die	2x denně, při dlouhodobé léčbě 400 mg 1x denně. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
	intrao- cul.	0,3% oční kapky			
NORTRIPTYLINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,01-0,02	0,05	0,05/sing. 0,1/p.die	
NOSCAPINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,05	0,1	0,06/sing. 0,25/p.die	

NYSTATINUM	p.o.	0,5-1milion m.j.	1,5-3 mili- ony m.j.	4 miliony. m.j./p.die	Nevstřebává se.
	vagin.	200 000 m.j.		1milion m.j./p.die	
	loc.				100 000 m.j./g masti
OMEPRAZOLUM	p.o.	0,02	0,04	0,04/sing. 0,12/p.die	
ORTHOSIPHONIS FOLIUM	p.o.	2-3	6-8		Ve formě nálevu.
OXAZEPAM	p.o.	0,01-0,03	0,04-0,12	0,06/sing. 0,18/p.die	
OXYBUPROCAINI HYDROCHLORIDUM	intrao- cul.	0,4% sol.			1 kapku do spojivkového vaku každých 30-60 s 3-10x po sobě.
OXYBUTYNINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,005			2-3x denně; v geriatrii 2x denně 3 mg
OXYPHENBUTAZONUM	p.o.	0,1-0,2	0,3-0,6	0,4/sing. 1,2/p.die	
	p.rect	0,25	0,50	1/p.die	
PANCREATIS PULVIS	p.o.	1-2	2-6	6/p.die	
PAPAVERINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,05-0,1	0,2	0,2/sing. 0,4/p.die	
	i.m.,i.v.	0,03-0,05	0,1	0,15/sing. 0,25/p.die	
PARACETAMOLUM	p.o., p.rect.	0,5-1,0	1,5	1,0/sing. 4/p.die	Při dlouhodobé léčbě max. 2,5g denně. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
PARALDEHYDUM	p. rect	2,0	4,0	5/sing. 10/p.die	
PARNAPARINUM NATRICUM	s.c.	3000-6000 m.j.			1x denně
PENICILLAMINUM	p.o.	0,15-0,5	0,3-2	0,5/sing. 3/p.die	Kontrola krevního obrazu a bílkovin v moči.
PENTAERITHRITYLI TETRANITRAS DILUTUS	p.o.	0,01-0,02			Vztaženo na účinnou látku.

PERPHENAZINUM	p.o.	0,004	0,016	0,008/sing. 0,064/p.die	
	i.m.	0,005	0,01	0,01/sing. 0,03/p.die	
PHENACETINUM	p.o.	0,15-0,4	0,75-1	0,5/sing. 1,5/p.die	
PHENAZONUM	p.o.	0,15	0,9	0,5/sing. 2/p.die	
PHENIRAMINI HYDROGENOMALEAS	p.o.	0,015-0,003			3x denně
PHENOBARBITALUM	p.o.	0,03-0,12	0,1-0,3	0,2/sing. 0,4/p.die	
PHENOBARBITALUM NATRICUM	i.m., i.v.	0,1	0,2	0,2/sing.	
PHENOXYETHANOLUM	loc.				2-2,2%
PHENYTOINUM	p.o.	0,1		0,3/sing. 0,6/p.die	3x denně
PHYSOSTIGMINI SALICYLAS	s.c., i.m., i.v.	0,5-1 mg	2 mg	4mg/p.die	
	loc.				0,25% oční kapky
PILOCARPINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,005	0,01	0,02/sing. 0,04/p.die	
	i.m., s.c.	0,001		0,002/sing.	
PIMOZIDUM	p.o.		0,002- 0,008	0,04/p.die	V akutních případech 10 mg 1x denně.
PIPERACILLINUM	i.m., i.v.	2-4		24/p.die	Každých 6-8 h; při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
PIPERAZINI ADIPAS	p.o.	1-2		4/sing.	
PIPERAZINI CITRAS	p.o.	2-4	2-4		Podá se buďto jednorázově, nebo se rozdělí do dvou dílčích dávek.
PIROXICAM	p.o.	0,02	0,03	0,04/p.die	Nejvýše 40 mg denně po dobu 4 dnů.
	i.m.	0,02	0,02		V léčbě se pokračuje perorálním nebo rektálním podáním.
	p.rect.	0,02		0,04/p.die	Nejvýše 40 mg denně po dobu 7 dnů.
	loc.				0,5% gel; 3-4x denně se vtírá 1g gelu.

PIVAMPICILLINUM	p.o.	0,5	1,0	1/sing. 2/p.die	
PIVMECILLINAMI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,2-0,4			4x denně; při salmonelových infekcích až 2,4 g denně.
PLANTAGINIS OVATAE SEMEN	p.o.	7-30 až 40			Jako laxans, 1x denně. Jako antidiarhoicum.
PLANTAGINIS OVATAE TESTA	p.o.	3,5			3x denně podle potřeby.
PRILOCAINUM	i.m. loc.	0,03-0,06 5 % krém		0,4/2 h	S přídatkem adrenalinu se podává až 0,8 g. Nanášá se 1-5 h před povrchovým chirurgickým výkonem.
PRIMIDONUM	p.o.	0,1-0,25	0,75	0,75/sing. 1,5/p.die	
PROBENECIDUM	p.o.	0,25-0,5	0,5-1	0,5/sing. 2/p.die	
PROMAZINI HYDROCHLORIDUM	p.o. i.m.	0,1-0,2 0,05-0,1		1/p.die	4x denně
PROPACETAMOLI HYDROCHLORIDUM	i.m., i.v.	1-2		8/p.die	2-4x denně, interval nejméně 4 h.
PROPYLPARABENUM NATRICUM	loc.	0,25%			
PROPYPHENAZONUM	p.o.	0,15-0,3	0,45-0,75	0,3/sing. 0,9/p.die	
PROTHROMBINUM MULTIPLEX HUMANUM CRYODESICCATUM	i.v.	200-600 m.j.			
PROXYPHYLLINUM	p.o.	0,3	0,9	1,2/sing. 2,4/p.die	
PSEUDOEPHEDRINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,03 0,12			2x denně
PYRIDOSTIGMINI BROMIDUM	s.c. i.m. p.o.	0,001- 0,002 0,02-0,06	0,3-1,2		2-4x denně
RAMIPRILUM	p.o.	2,5-10 mg			1x denně, při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.

RANITIDINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,15	0,3	0,3/sing. 0,6/p.die	Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
	i.v.,i.m.	0,05			
	inf.				0,125-0,25 mg/kg/h
RATANHIAE RADIX	p.o.	1,5	3,0	5/sing. 10/p.die	
	p.rect.	1	2,0		
	loc.				do 10 %
RESERPINUM	p.o.	0,1-0,25 mg	0,25-0,5 mg	0,5mg/sing. 1mg/p.die	
RIFAMPICINUM	p.o.	0,6		1,2/p.die	10 mg/kg
RIFAMYCINUM NATRICUM	i.v.,inf	0,5	1,5	2/p.die	
SELEGILINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,005	0,010		V případě atypických depresí lze podat až 30 mg denně.
SENNAE EXTRACTUM SICCCUM NORMATUM	p.o.		0,02-0,03		Vyjádřeno jako sennosid B. 1x denně večer
SILYMARINUM	p.o.	0,07-0,15			2-3x denně
	i.v. inf.	0,35			20 µg/kg/den
SPIRAMYCINUM	p.o.	1,0	2,0	7/p.die	Výjimečně 125 mg/kg/den; 1g odpovídá přibližně 1 milionu m.j.
	i.v., inf.	0,5	1,5	3/p.die	Podává se v G5.
STANNOSI CHLORIDUM DIHYDRICUM					Dávkování podle způsobu použití.
SUFENTANILI DIHYDROGENOCITRAS	i.v.	2-10 µg/kg			Dávka závisí na stavu pacienta a délce trvání operace.
SULFADOXINUM	p.o.	1,5	1,5	2/p.die	
SULFAFURAZOLUM	p.o.	2-4			Úvodní dávka po 4 hod, později po 6 h. Při poruchách funkce ledvin se dávky snižují.
		1	4-8	2/sing. 12/sing.	
SULFATHIAZOLUM	p.o.	1-1,5	6-8		
	loc.				0,5 g vagin. 5% mast, 10% oční mast.

TERCONAZOLUM	loc.	0,04-0,08 0,8 % krém			3 dny na noc vagin. kuličku 2-3x denně krém na genitálie
	vagin.	0,4% krém			Po dobu 7 dní se podává 40 mg ve vagin. krému.
TERFENADINUM	p.o.	0,06	0,12	0,12/sing.	
TESTOSTERONUM	i.m.	0,05			1x denně nebo obden
THEOBROMINUM	p.o.	0,25	0,75	0,5/sing. 1,5/p.die	
THEOPHYLLINUM	p.o.	0,1-0,25	0,1-0,25	0,3/sing. 1/p.die	
THIORIDAZINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,025-0,1	0,05-0,3	0,8/p.die	Dávkování se zvyšuje postupně.
THYMI ETHEROLEUM	p.o.	0,1			
TINZAPARINUM NATRICUM	s.c.	3500 m.j. (50 m.j./kg)			2 h před zákrokem, následujících 7-10 dní 1x denně
TRIAMTERENUM	p.o.	0,05	0,15	0,1/sing. 0,25/p.die	
TRIFLUOPERAZINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	1-5 mg	20 mg	40mg/p.die	Dávkování se zvyšuje postupně.
	i.m.	1-2 mg	4-6 mg	10mg/p.die	
TRIFLUSALUM	p.o.		0,3-0,9		
TRIMETHADIONUM	p.o.	0,2-0,3	0,9	1,2/sing. 2,4/p.die	Dávkování se zvyšuje postupně.
TRIMETHOPRIMUM	p.o.	0,1-0,2	0,2-0,4	0,64/p.die	Spolu se sulfonamidy; při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
	i.v.	0,16	0,32	0,24/sing. 0,64/p.die	Spolu se sulfonamidy; při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje. Ředí se F 1/1.
TRIMIPRAMINI HYDROGENOMALEAS	p.o.	0,025-0,05	0,075- 0,125	0,15/sing. 0,3/p.die	
TROMETAMOLUM	i.v.	3,6	10	30/p.die	
UROFOLLITROPINUM	s.c.,i.m.	75-150 m.j.			
VANCOMYCINI HYDROCHLORIDUM	i.v.	0,5	1,0	0,5/sing. 2/p.die	Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
	p.o.	0,125-0,25	0,75	0,5/sing. 2/p.die	Nevstřebává se (k léčbě kolitidy).

VERAPAMILI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,04-0,12	0,24-0,48	0,16/sing. 0,48/p.die	
VINDESINI SULFAS	i.v., inf.	3 g/m ²			Podává se 1x týdně pomalu i.v. nebo infuzí jako bolus.
WARFARINUM NATRICUM	p.o.	0,005	0,01	0,01/sing. 0,015/p.die	
XYLITOLUM	inf.			3/kg/p.die	Max. dávka 0,125 g/kg/hod
XYLOSUM	p.o.	5-25			s 500 ml vody
ZOLPIDEMI TARTRAS	p.o.	0,005- 0,010			Starší pacienti začínají s dávkou 5 mg na noc.

Tabulka V: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro děti

N

Seznam použitých zkratk, viz ČL 97 str. 722.

Název	Způsob podávání	Dávkování podle věku v g pokud není uvedeno jinak				Poznámka
		g/kg/den*	0-1 rok	1-6 let	6-15 let	
ACIDUM FUSIDICUM	p.o.	0,01-0,03				Ve třech dílčích dávkách po 8 h; podává se ve formě sodné soli.
ACIDUM MEFENAMICUM	p.o.	0,025				Antipyretikum. K léčbě Stillovy nemoci.
ACIDUM OXOLINICUM	p.o.					Pro děti starší 12 let každých 8 h 500 mg.
ACIDUM VALPROICUM	p.o.	0,02-0,03				U dětí mladších 12 let; iniciální dávka 0,005 g/kg/den.
ALCURONII CHLORIDUM	i.v.	0,0002				Účinek trvá 20-30 min.
AMIKACINUM	i.m.,i.v.	0,010-0,015				Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
AMPHOTERICINUM B	i.v.	0,25 mg/kg/den				
ARGENTI DIACETYLTANNAS ALBUMINATUS	intranas.	1-3% roztok				
BAMBÜTEROLI HYDROCHLORIDUM	p.o.					4-12 let 0,8-1,5 µg/kg/den ve dvou dílčích dávkách; starší 12 let 10-20 µg/kg/den ve dvou dílčích dávkách.
BUFEXAMACUM	loc.				5% krém	Mohou ho používat děti od šesti let.

BUPRENORPHINUM	i.m.	3-6 µg/kg				Je-li třeba, lze dávku zvýšit až na 9 µg/kg; opakuje se po 6-8 h.
	subling.					16-25 kg 100 µg 25-37,5 kg 100-200 µg 37,5-50 kg 200-300 µg
CARMUSTINUM	i.v.	0,15-0,20 m ² /6 týdnů				U dětí je zvýšené nebezpečí pneumotoxicity.
CEFIXIMUM TRIHYDRICUM	p.o.	0,008				Do 50 kg tělesné hmotnosti 8 mg/kg/den, p.o. susp. Dávku lze rozdělit na dvě po 12 h.
CEFUROXIMUM AXETILI	p.o.	0,012- 0,025				Ve dvou dílčích dávkách po 12 h.
CICLOPIROXUM OLAMINUM	loc.	1% krém 1% roztok				1-2x denně
CLEBOPRID HYDROGENOMALAS	p.o.,i.v.	15-20 µg/kg/den				
CLEMASTINI HYDROGENOFUMARAS	p.o.	25 µg/kg/den			1-2 mg	Ve dvou rozdělených dávkách; dětem do 1 roku se nedoporučuje podávat.
COLISTIMETHANUM NATRICUM	i.m.,i.v.	50 000 m.j/kg/den				Ve třech dílčích dávkách po 8 h.
DEXCHLORPHENIRAMINI HYDROGENOMALEAS	p.o.			1 mg po 4-6 h (max. 6 mg/den)	2 mg po 4-6 h (max. 12 mg/den)	1-2 roky: 1 mg 2x denně Trvalá léčba: 6-12 let 8 mg/den, nad 12 let 12 mg/den.
DICYCLOVERINI HYDROCHLORIDUM	p.o.		6 měs. -2 roky: 5-10 mg 3-4x denně (nejvýše 40 mg)	2-12 let: 10 mg 3x denně		
DIPYRIDAMOLUM	p.o.	0,005 /kg/den				V rozdělených dávkách před jídlem.
DIRITHROMYCINUM	p.o.				0,50	Děti starší 12 let; podává se 1x denně.

ERYTHOPOIETINI SOLUTIO CONCENTRATA	i.v. s.c.	25-150 m.j./kg/ den				3x týdně
ETAMSYLATUM	p.o.	0,01				Rozděleně do 2-4 dávek.
	i.m. i.v.	12,5 mg/kg po 6 h (50 mg/ /kg/den)				Profylaxe a léčba periventrikulární hemoragie. Novorozenci s nízkou porodní hmotností 12,5 mg/kg i.m., i.v. každých 6 h.
ETILEFRINI HYDROCHLORIDUM	p.o.				0,005- 0,01	3x denně
FENOFIBRATUM	p.o.	5 mg/kg/ den				U dětí nad 10 let
FENTANYLUM	i.v.	3-5 µg/kg				Při spontánním dýchání. Je-li třeba, přidá se 1 µg/kg. Při asistovaném dýchání 15 µg/kg.
FLECAINIDI ACETAS	p.o.	0,005				
FLUMETASONI PIVALAS	loc.	0,02% krém, mast				Nevhodný pro děti mladší 2 let.
FOSFOMYCINUM CALCICUM MONOHYDRICUM	p.o.				1-2	Vyjádřena jako fosfomycin.
FOSFOMYCINUM DINATRICUM	i.m.,i.v.				1-2	Vyjádřena jako fosfomycin.
GALACTOSUM	i.v.					Koncentrace a dávkování podle diagnos- tického použití.
HEXETIDINUM	loc.	0,1% ústní voda				Děti starší 6 let 2-3x denně kloktat 15 s 15 ml.
	loc.	0,2% spray				U dětí starších 10 let se 3x denně podají 3-4 dávky.
IMIPENEMUM	i.v., i.m.	0,005- 0,015/kg/ 6 h				Celková denní dávka nepřesáhne 2 g pro děti od 3 měsíců a lehčí než 40 kg . Děti starší 12 let - viz tabulku dávek pro dospělé.

IMMUNOGLOBULINUM HUMANUM HEPATITIS B AD USUM INTRA VEŇOSUM	i.v.			200 m.j.	300 m.j.	Nad 10 let 500 m.j.
IVERMECTINUM	p.o.	150 µg/kg				Podává se jednorázově dětem starším 5 let a vážícím nejméně 15 kg.
KETOCONAZOLUM	p.o.	3-8 mg/kg/ den		50 mg	100 mg	Délka terapie závisí na původci onemocnění.
LACTITOLUM MONOHYDRICUM	p.o.	0,25		2,5-5	5-10	1x denně
LACTULOSUM	p.o.		1-2	3	7	1-2x denně v závislosti na věku a indikaci
LEVOCARNITINUM	i.v. p.o.	10-30 mg/kg/ den		1		1x denně
MALATHIONUM	loc.					0,5% lotio
MEDOSULEPINI HYDROCHLORIDUM	i.v.			7-14 mg	15-30 mg	1-2x denně
MEFLOQUINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,025/kg				1x týdně při profylaxi, pro děti od 2 let a od 15 kg do 45 kg.
MEPIVACAINI HYDROCHLORIDUM	inj.			0,02	0,03	Pro děti od 3 let v koncentraci nižší než 2 %.
METAMIZOLUM NATRICUM MONOHYDRICUM	i.m., i.v.	8-16 mg/kg				1-4x denně
METHYLPARABENUM NATRICUM						Nejvyšší denní dávka pro děti 60 mg/kg.
METOCLOPRAMIDUM	p.o. p.rect.			1-2 mg	2,5-5 mg 5-10 mg	2-3x denně 1-3x denně
MORPHINI SULFAS	s.c., i.m.	0,1-0,2 mg/kg/ dávku		0,002- 0,004	0,004- 0,01	Pro kojence nevhodný.
NALOXINI HYDROCHLORIDUM	i.v., i.m., s.c.	0,01mg/ kg				Dávku je možno opakovat až do celkové dávky 0,1 mg/kg.
NETILMICINI SULFAS	i.m.,i.v.	4-6 mg/kg/ den				V jedné dávce nebo ve 2-3 dílčích dávkách po 12-8 h; novorozenci 7,5-9 mg/kg/den ve 3 dílčích dávkách po 8 h.

NORFLOXACINUM	p.o.				0,4	Pro děti starší 12 let; podává se 2x denně.
OXYBUTYNYNI HYDROCHLORIDUM	p.o.				0,003	2x denně
PHENIRAMINI HYDROGENOMALEAS				0,003	0,006	2-4x denně
PHENYTOINUM	p.o.	0,005	0,01-0,03	0,03-0,05	0,05-0,1	Udržovací dávkování 4-7 mg/kg/den ve 2-3 dávkách. U kojenců se podává až od 2. měsíce života.
PIPERACILLINUM MONOHYDRICUM	i.m., i.v.	0,1-0,2				Ve 3-4 dílčích dávkách po 8-6 h; lze použít u dětí starších 2 měsíců.
PIVMCILLINAMI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,02-0,04				U salmonelových infekcí až 60 mg/kg/den.
PLANTAGINIS OVATAE SEMEN	p.o.				2-15	Děti starší 6 let; 1x denně.
PLANTAGINIS OVATAE TESTA	p.o.				1,5	Děti starší 6 let; 1x denně.
PROMAZINI HYDROCHLORIDUM	i.m.	0,7 mg/kg				K premedikaci.
PROPACETAMOLI HYDROCHLORIDUM	inf.				1-2	Děti od 13. roku (přes 40 kg).
PROTHROMBINUM MULTIPLEX HUMANUM CRYODESICCATUM	inf.					Dávkování a intervaly mezi podáními závisí na klinickém obraze.
PSEUDOEPHEDRINI HYDROCHLORIDUM	p.o.				0,03	2x denně; děti starší 12 let
PYRIDOSTIGMINI BROMIDUM	s.c., i.m. p.o.	0,25-0,5 mg/kg/den	0,005-0,01	0,03	0,06	Léčba novorozenecké myasthenie 50-150 µg/kg i.m. po 4-6 h.
SENNAE EXTRACTUM SICCUM NORMATUM					7-15 mg	
SILYMARINUM	p.o.				0,005-0,006/kg/den	2-3x denně
STANNOSI CHLORIDUM DIHYDRICUM						Dávkování podle způsobu použití.

SUFENTANILI DIHYDROGENOCITRAS	i.v.	1-5 µg/kg				Velmi limitováno, omezený počet údajů.
TESTOSTERONUM	i.m.				0,05-0,4	V intervalu 2-4 týdnů
TOCOFEROLI ALFA <i>RRR</i> ACE- TAS	p.o.	0,005- 0,01	0,01-0,05	0,05-0,1		
VINDESINI SULFAS	i.v. inf.					Týdenní dávka 3 mg/m ²

Tabulka VI: Doporučené dávky některých oficiálních léčiv používaných u zvířat

N

Dávky jsou vyjádřeny v gramech, pokud není uvedeno jinak. Seznam použitých zkratk viz ČL 97 str. 722 a 799.

ACIDUM OXOLINICUM

Farmakologická skupina, použití: chemoterapeutika

Dávky:

p.o. (v krmivu, nápoji) G: 10,0 na 100 l pitné vody
0,25 na kg krmiva
S (odstávčata): 0,4 na kg krmiva

BUPRENORPHINI HYDROCHLORIDUM

Farmakologická skupina, použití: analgetika

Dávky:

i.m., s.c. C: 10 – 20 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (každých 12 h)
F: 5 – 10 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (každých 12 h)

DOBUTAMINI HYDROCHLORIDUM

Farmakologická skupina, použití: kardiaka

Dávky:

i.v. infuze E: 4 – 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$
C: 5 – 20 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$

DOXAPRAMI HYDROCHLORIDUM

Farmakologická skupina, použití: centrální analeptika, asfyxie novorozeňat

Dávky:

i.v. C, F: 1 – 2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (max. 5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ - opakovat za 15 – 20 min)
E: kolem 0,5 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
p.o. Hřibě, tele, jehně: 0,5 – 1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$

ETHANOLUM 96%

Farmakologická skupina, použití: narkotika (přežvýkavci), při otravě ethylenglykolem

Dávky:

p.o. B, O, Cp: 1 – 1,5 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ (v roztocích s vodou do 20 %)
i.v. B, O, Cp: 1 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ (zředit 4 díly vody nebo 10 % roztoku glukosy)
i.v. infuze 20% roztoku C: 5,5 $\text{ml}/\text{kg}/4\text{ h}$
i.p. F: 5 $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}$ (jako vodný roztok do 20 %)

3854 Všeobecné dodatky**ETILEFRINI HYDROCHLORIDUM****Farmakologická skupina, použití:** sympatomimetika**Dávky:**

i.v. obecně 0,05 – 0,1 mg.kg⁻¹
i.m., s.c. E, B: 0,8 – 0,24 mg.kg⁻¹; Tele: 1 mg.kg⁻¹
S: 0,2 – 0,5 mg.kg⁻¹; Sele: 0,8 mg.kg⁻¹
C: 0,4 – 1,3 mg.kg⁻¹; F: 0,2 – 1 mg.kg⁻¹

FENBENDAZOLUM**Farmakologická skupina, použití:** anthelmintika**Dávky:**

p.o. E, B: 7,5 mg.kg⁻¹; E: 10 mg.kg⁻¹ (askaridóza)
Hřibě: 50 mg.kg⁻¹ (strongyloidóza)
O, Cp: 5 mg.kg⁻¹; 10 mg.kg⁻¹ (moniezióza)
S: 5 mg.kg⁻¹; 25 mg.kg⁻¹ (metastrongylóza, trichuróza)
C, F: 50 mg.kg⁻¹ (po dobu 3 dnů)
Holub: 100 mg v 1 kg krmiva (po dobu 3 dnů)

ITRACONAZOLUM**Farmakologická skupina, použití:** antimykotika**Dávky:**

p.o. C, F : 5 – 10 mg.kg⁻¹ (dermatofytózy)

IVERMECTINUM**Farmakologická skupina, použití:** antibiotika; antiparazitika**Dávky:**

p.o. E, O, Cp: 0,2 mg.kg⁻¹
(v krmivu) S: 0,1 mg.kg⁻¹ denně po 7 dní
s.c. B, O: 0,2 mg.kg⁻¹
S: 0,3 mg.kg⁻¹
nalévání na hřbet B: 0,5 mg.kg⁻¹

KETOCONAZOLUM**Farmakologická skupina, použití:** antimykotika**Dávky:**

p.o. C: 10 mg.kg⁻¹

METAMIZOLUM NATRICUM**Farmakologická skupina, použití:** analgetika - antipyretika**Dávky:**

i.v. E: 0,1 mg.kg⁻¹
C: až 0,25 mg.kg⁻¹ (LD₅₀ 50 mg.kg⁻¹)
i.m. C: 0,5 – 5 mg.kg⁻¹
1 mg.kg⁻¹ (k premedikaci thiopentalové narkózy)

Doporučené dávky některých oficiálních léčiv používaných u zvířat 3855

s.c. (LD₅₀ pro psa 50 mg.kg⁻¹)
 p.o. (LD₅₀ pro psa 70 mg.kg⁻¹)

PROMAZINI HYDROCHLORIDUM

Farmakologická skupina, použití: antipsychotika

Dávky:

p.o. B: 1,5 – 2,5 mg.kg⁻¹
 O, Cp, Sele : 3 – 6 mg.kg⁻¹
 S : 3 – 4 mg.kg⁻¹
 C, F : 2 – 6,5 mg.kg⁻¹
 i.m., s.c. B : 0,5 mg.kg⁻¹
 E : 0,5 – 1,5 mg.kg⁻¹
 O: 1,5 – 3 mg.kg⁻¹
 S : 1 – 2 mg.kg⁻¹
 C, F : 2 – 6 mg.kg⁻¹
 i.v. E, B, S, O, Cp: 0,5 – 1 mg.kg⁻¹
 C, F : 2 – 4 mg.kg⁻¹

PYRIDOSTIGMINI BROMIDUM

Farmakologická skupina, použití: parasymptomimetika, (při myasthenia gravis)

Dávky:

p.o. C: 0,2 – 2 mg.kg⁻¹ (každých 8 h)
 F: 0,26 mg.kg⁻¹ (d. max.)

SILYMARINUM

Farmakologická skupina, použití: hepatoprotektiva

Dávky:

p.o. obecně 30 – 40 mg.kg⁻¹ (opakovaně až každých 8 – 12 h)

SUFENTANILI DIHYDROGENOCITRAS

Farmakologická skupina, použití: analgetika

Dávky:

i.v. C: 0,003 – 0,005 mg.kg⁻¹
 i.v. infuze C: 0,009 – 0,013 mg/kg/h

TRIAMCINOLONUM

Farmakologická skupina, použití: hormony (glukokortikoidy)

Dávky:

p.o. C: 0,05 – 0,1 mg.kg⁻¹
 F: 0,25 – 0,5 mg.kg⁻¹
 i.m. C: 0,2 – 0,3 mg.kg⁻¹
 F: 0,11 – 0,22 mg.kg⁻¹
 E, B, S : 0,02 – 0,04 mg.kg⁻¹

3856 *Všeobecné dodatky*

TYLOSINUM AD USUM VETERINARIUM**Farmakologická skupina, použití:** antibiotika**Dávky:**

p.o.	S: 7 – 10 mg.kg ⁻¹ (každých 8 – 12 h); 100,0 g.t ⁻¹ krmiva C, F: 10 – 15 mg.kg ⁻¹ (každých 8 – 12 h) G: 0,5 g.l ⁻¹ pitné vody
s.c.	G: 25 mg.kg ⁻¹
i.m.	B: 5 – 10 mg.kg ⁻¹ (každých 12 h) Tele: 10 mg.kg ⁻¹ (každých 24 h) O, Cp.: 10 mg.kg ⁻¹ (každých 12 – 24 h) S: 7 - 10 mg.kg ⁻¹ (každých 12 – 24 h) C,F: 5 - 10 mg.kg ⁻¹ (každých 12 – 24 h)

TYLOSINI TARTRAS AD USUM VETERINARIUM**Farmakologická skupina, použití:** antibiotika**Dávky:**

p.o.	S: 1,0 – 2,0 pro toto; 0,25 v 1 litru nápoje (po 3 – 10 dní) Tele: 1,0 pro toto (každých 12 h) G: 0,5 v 1 litru pitné vody
------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

6 Speciální část

6.1 Léčivé a pomocné látky

Absinthii herba

Pelyňková nat'

Synonymum. Herba absinthii



1999

Jsou to usušené celé nebo řezané přízemní listy nebo kvetoucí málo olistěné vrcholky druhu *Artemisia absinthium* L. nebo jejich směs. Obsahuje nejméně 2 ml silice v kilogramu drogy, vztaženo na vysušenou drogu.

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A.** Listy našedlé až nazelenalé, na obou stranách plstnaté. Přízemní listy dlouze řapíkaté s trojúhelníkovitou až oválnou čepelí, dvakrát až třikrát peřenosečnou, úkrojky listu okrouhlé až kopinaté. Na stonku listy méně dělené, v horní části kopinaté. Stonek v horní části zelenošedý, plstnatý o průměru až 2,5 cm, obvykle s pěti plochými podélnými rýhami. Květenství je uspořádáno v přímé latě. Na bázi každé větvičky jsou kopinaté až slabě peřenodílné listeny. Úbory kulovité až ploše kulovité o průměru 2 mm až 4 mm. Zákrov šedě plstnatý, vnější lístky čárkovité, vnitřní vejčité, na konci suchomázdríté. Lůžko s velmi dlouhými pentlicovitými chlupy až 1 mm nebo i několik mm dlouhými. Četné oboupohlavné žluté terčovité květy jsou asi 2 mm dlouhé, žlutých paprscitých květů je malý počet.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenošedý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: četné krycí chlupy tvaru písmene T, s krátkou jednořadou jednobuněčnou až pětibuněčnou nohou, tvořenou malými buňkami, a na ni kolmo nasazenou velmi dlouhou koncovou buňkou na obou koncích zúženou; úlomky pokožky na obou stranách listu s buňkami se stěnami vlnitými až zprohýbanými, průduchy anomocytické (2.8.3), žláznaté chlupy s krátkou dvouřadou dvoubuněčnou nohou a dvouřadou dvoubuněčnou nebo čtyřbuněčnou hlavičkou; úlomky trubkovitých a paprscitých květů obsahující malé drúzy šřavelanu vápenatého; četné pentlicovité chlupy s malou bazální buňkou a velmi dlouhou, tenkostěnnou válcovitou buňkou dlouhou asi 1 mm až 1,5 mm; kulovitá pylová zrna o průměru asi 30 μm se třemi klíčovými póry a jemně bradavčitou exinou; svazky vláken a malých šroubovitě a prstencovitě ztlustlých cév a větších tečkovaně ztlustlých cév; úlomky parenchymatického pletiva stonku s buňkami se stěnami mírně ztlustlými tečkovanými.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.7) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

3858 Absinthii herba

Zkoušený roztok. 2 g práškové drogy (355) se smíchají s 50 ml vroucí vody R a nechají se stát 5 min za občasného protřepávání. Po ochlazení se přidá 5 ml roztoku octanu olovnatého R (100 g/l) a zfiltruje se. Baňka i filtr se promyjí 20 ml vody R. Filtrát se protřepe 50 ml dichlormethanu R, organická vrstva se vysuší síranem sodným bezvodým R, zfiltruje se a na vodní lázni se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml lihu 96% R.

Porovnávací roztok. 2 mg červeně methylové R a 2 mg resorcinolu R se rozpustí v 10,0 ml methanolu R.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 μ l obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů acetonu R, kyseliny octové ledové R, toluenu R a dichlormethanu R (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se acetanhydridem v kyselině sírové RS a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna (artabsin) těsně nad červenou skvrnou (červeň methylová) na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se usuší 5 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední třetině červená skvrna (červeň methylová) a pod ní světle růžová skvrna (resorcinol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní červená až hnědočervená skvrna (absinthin) s hodnotou R_F odpovídající skvrně resorcinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny, které jsou méně intenzivní než skvrna odpovídající absinthinu.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 5 % stonků o průměru více než 4 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

Číslo hořkosti. Nejméně 10 000. Provádí se srovnáním s chininiumchloridem, jehož číslo hořkosti je 200 000. Číslo hořkosti je definováno jako reciproká hodnota zředění, které chutná ještě hořce.

Základní roztok chininiumchloridu. 0,100 g chininiumchloridu R se rozpustí ve 100,0 ml vody R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 1,00 g práškové drogy (710) se přelije 1000 ml vroucí vody R a za nepřetržitého míchání se zahřívá 30 min na vodní lázni. Po ochlazení se zředí vodou R na 1000 ml. Důkladně se promíchá, pak se zfiltruje a prvních 20 ml filtrátu se odstraní.

Připraví se řada porovnávacích roztoků tak, že v první zkumavce jsou 4,2 ml základního roztoku chininiumchloridu a v každé následující zkumavce se zředí vodou R na 10,0 ml a určí se roztok s nejnižší koncentrací, který chutná ještě hořce. 10,0 ml roztoku nejnižší koncentrace se převaluje v ústech 30 s tak, aby roztok přišel do styku s kořenem jazyka. Jestliže roztok nechutná hořce, vyplivne se a po 1 min se ústa vypláchnou vodou R. Po 10 min se zkouší stejným způsobem roztok následující vyšší koncentrace.

Korekční faktor k se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{5,00}{n}$$

v němž značí:

n - počet ml základního roztoku chininiumchloridu, který chutnal ještě hořce.

10/ k ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku chutná hořce.

† *Aceclofenacum* 3859

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 12,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 1,0 %.

Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12) v 1000ml baňce s 50,0 g řezané drogy a 500 ml vody R jako destilační tekutiny, do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu R. Destiluje se 3 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min.

Uchovávání

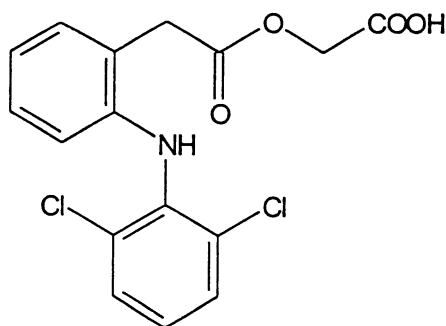
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

† *Aceclofenacum*

Aceclofenak



1998

 $C_{16}H_{13}Cl_2NO_4$ M_r 354,19

CAS 89796-99-6

Je to kyselina 2-[2-(2,6-dichloranilino)fenylacetoxy]octová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{16}H_{13}Cl_2NO_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a dimethylformamidu, dobře rozpustný v methanolu a lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

3860 † *Aceclofenacum*

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A. 50,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 220 nm až 370 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 275 nm. Specifická absorbance v maximu je 320 až 350.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem *aceklofenaku CRL*.
- C. Asi 10 mg se rozpustí v 10 ml *lihu 96% R*. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml směsi připravené těsně před použitím smícháním stejných objemů roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (6 g/l) a roztoku *chloridu železitého R* (9 g/l) a nechá se 5 min stát za chránění před světlem. Přidají se 3 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (10,0 g/l) a nechá se stát 15 min za chránění před světlem; vznikne modré zbarvení a tvoří se sraženina.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Množství *sodné soli diklofenaku CRL* odpovídající 5 mg diklofenaku se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). K 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,25 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fázi na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem butylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze o průtokové rychlosti 1 ml/min, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *tetrahydrofuranu R* a roztoku *kyseliny octové ledové R* (1,2 g/l) (225 + 225 + 550), jejíž hodnota pH byla upravena na 3,5 roztokem *hydroxidu sodného R* (40 g/l),
- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *aceklofenaku* asi 4 min, *diklofenaku* asi 7 min. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška dvou hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *aceklofenaku* a píkem *diklofenaku* je nejméně 8,0.

Nastříkne se odděleně 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 10násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě plochy hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g v křemenném kelímku se navlhčí 2 ml *kyseliny sírové R* a postupně se zahřívá do spálení látky a dále, dokud zbytek v kelímku není téměř bílý nebo nejvýše našedlý. Vyžihá se za teploty nepřevyšující 800 °C a nechá se ochladit. Přidají se 3 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 1 ml *kyseliny dusičné R*, zahřeje se a pomalu se odpaří do sucha. Po vychladnutí se přidá 1 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (100 g/l), 10,0 ml *vody destilované R* a zneutralizuje se roztokem *amoniaku 17,5% RS* (1,0 g/l) za použití 0,1 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru. Přidají se 2,0 ml roztoku *kyseliny octové bezvodé R* (60 g/l) a zředí se *vodou destilovanou R* na

20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve 40 ml *methanolu R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

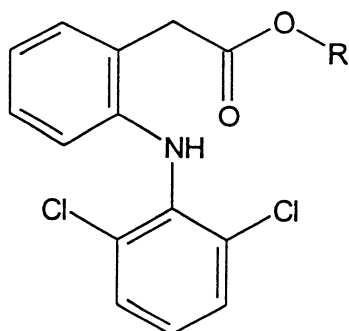
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 35,42 mg C₁₆H₁₃Cl₂NO₄.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

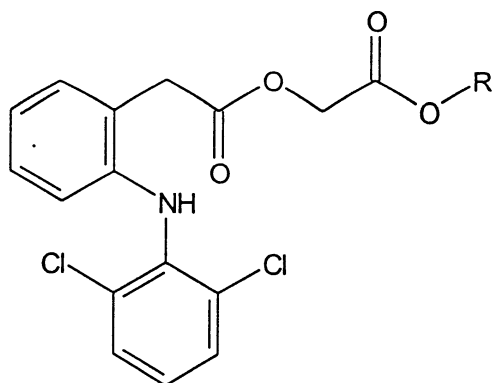
Nečistoty



A. R = H: kyselina [2-(2,6-dichloranilino)fenyl]octová (diklofenak),

B. R = CH₃: methyl-[2-(2,6-dichloranilino)fenyl]acetat (methylester diklofenaku),

C. R = C₂H₅: ethyl-[2-(2,6-dichloranilino)fenyl]acetat (ethylester diklofenaku),



3862 *Acesulfamum kalicum*

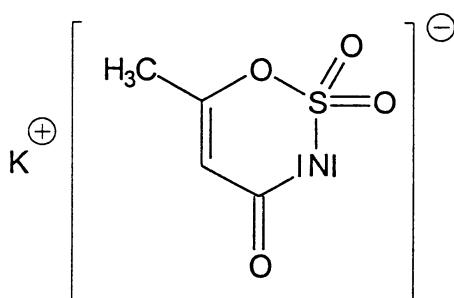
- D. R = CH₃: methyl- {2-[2-(2,6-dichloranilino)fenyl]acetoxy} acetat (methylester aceklofenaku),
 E. R = C₂H₅: ethyl- {2-[2-(2,6-dichloranilino)fenyl]acetoxy} acetat (ethylester aceklofenaku),
 F. R = CH₂ - C₆H₅: benzyl- {2-[2-(2,6-dichloranilino)fenyl]acetoxy} acetat (benzylester aceklofenaku).

Acesulfamum kalicum

Draselná sůl acesulfamu



1998

C₄H₄KNO₄S

M, 201,24

CAS 55589-62-3

Je to draselná sůl 6-methyl-4-oxo-(3H)-1,2,3-oxathiazin-2,2-dioxidu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₄H₄KNO₄S.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v acetonu a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety draselné soli acesulfamu CRL.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *celulosa pro chromatografii R*.

Zkoušený roztok. 5 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg draselné soli acesulfamu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg draselné soli acesulfamu CRL a 5 mg sodné soli sacharinu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 5 ml.

Na vrstvu se nanese v prouzcích po 5 μ l každého roztoku. Vyvíjí se dvakrát směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *acetonu R* a *ethylacetatu R* (10 + 60 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselé nebo zásaditě reagující látky. Ke 20 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Acetylacetamid. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,80 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 50 mg *acetylacetamidu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 45 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). K 10 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se *methanolem R* na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *lihu 96% R* a *ethylacetatu R* (2 + 15 + 74) po dráze 15 cm. Vrstva se suší na vzduchu do vymizení pachu rozpouštědel. Vrstva se postříká *zkoumadlem vanilinovým s kyselinou fosforečnou RS*, asi 10 min se zahřívá při 120 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající acetylacetamidu není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,125 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je zřetelně oddělená skvrna a na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou patrné dvě zřetelně oddělené skvrny.

Nečistota B a příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *draselné soli acesulfamu nečistoty B CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *draselné soli acesulfamu nečistoty B CRL* a 10,0 mg *draselné soli acesulfamu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (3,3 g/l) (40 + 60) s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 234 nm.

3864 *Acesulfamum kalicum*

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška dvou hlavních píků byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem draselné soli acesulfamu a píkem draselné soli acesulfamu nečistoty B je nejméně 3.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající nejméně 3násobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (20 μ g/g).

Fluoridy. Nejvýše 3 μ g F/g; stanoví se potenciometricky (2.2.36 *Metoda I*) za použití indikační fluorido-selektivní elektrody a argentchloridové srovnávací elektrody.

Zkoušený roztok. 3,000 g se rozpustí ve vodě destilované R, přidá se 15,0 ml tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly (1) a zředí se vodou destilovanou R na 50,0 ml.

Porovnávací roztoky. K 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml a 3,0 ml základního roztoku fluoridů (10 μ g F/ml) se přidá 15,0 ml tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly (1) a zředí se vodou destilovanou R na 50,0 ml.

Provede se měření všech roztoků.

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (5 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

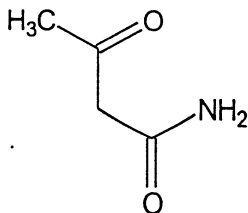
Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R. Titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

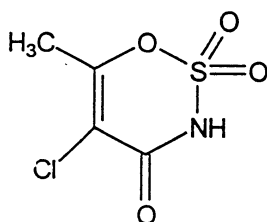
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 20,12 mg C₄H₄KNO₄S.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Nečistoty

A. 3-oxobutanamid (acetylacetylamid),

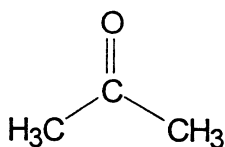


B. 5-chlor-6-methyl-4-oxo-(3H)-1,2,3-oxathiazin-2,2-dioxid.

Acetinum

Aceton

1999



C_3H_6O

M_r 58,08

CAS 67-64-1

Je to 2-propanon.

Vlastnosti

Těkavá čirá bezbarvá kapalina. Je mísitelný s vodou, s lihem 96% a s etherem. Jeho páry jsou zápalné.

Zkoušky totožnosti

- A. K 1 ml se přidají 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,3 ml roztoku *nitroprussidu sodného R* (25 g/l); vznikne intenzivní červené zbarvení, které se po přidání 3,5 ml *kyseliny octové R* změní na fialové.
- B. K 10 ml roztoku zkoušené látky 0,1 % (V/V) v *lihu R* 50% (V/V) se přidá 1 ml roztoku *nitrobenzaldehydu R* (10 g/l) ve stejném rozpouštědle a 0,5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*. Nechá se asi 2 min stát a potom se okyselí *kyselinou octovou R*; vznikne zelenomodré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. K 10 ml se přidá 10 ml *vody R*. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5 ml se přidá 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 0,15 ml *fenolftaleinu RS* a 0,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je růžový. Přidá se

3866 Acetonum

0,7 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 0,05 ml *červeně methylové RS*; roztok je červený nebo oranžový.

Relativní hustota (2.2.5). 0,790 až 0,793.

Příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok. K 0,5 ml *methanolu R* se přidá 0,5 ml *2-propanolu R* a zředí se zkoušeným roztokem na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 50 m a vnitřního průměru 0,3 mm se stěnou pokrytou vrstvou (0,5 μm) *makroglu 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při dělicím poměru asi 50 : 1 a lineární průtokové rychlosti 21 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 45 °C do nástřiku a pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min do 100 °C. Teplota nástřikového prostoru je 150 °C a teplota detektoru 250 °C.

Nastříkne se 1 μl zkoušeného roztoku a 1 μl porovnávacího roztoku.

Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek eluují se látky v tomto pořadí: aceton, methanol, 2-propanol.

Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času acetonu, který je asi 5,3 min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky methanolu a 2-propanolu nejméně 1,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku odpovídajícího methanolu nebo 2-propanolu není větší než rozdíl mezi plochami odpovídajících piků na chromatogramu porovnávacího roztoku a plochami odpovídajících piků na chromatogramu zkoušeného roztoku (0,05 % *V/V* pro každou nečistotu); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku odpovídajícího methanolu a píku odpovídajícího 2-propanolu, není větší než rozdíl mezi plochou píku methanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku a plochou odpovídajícího píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (0,05 % *V/V* pro každou další nečistotu).

Látky nerozpustné ve vodě. K 1 ml se přidá 19 ml *vody R*; roztok je čirý (2.2.1).

Redukující látky. K 30 ml se přidá 0,1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* a nechá se stát 2 h ve tmě; směs se zcela neodbarví.

Zbytek po odpaření. 20,0 g se odpaří na vodní lázni do sucha a potom se suší při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (50 $\mu\text{g/g}$).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3 g/l. Stanoví se s 10,0 ml zkoušené látky za použití 20 ml *pyridinu bezvodého R* jako rozpouštědla.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Nečistoty

A. methanol,

B. 2-propanol.

Acidum alginicum 3867

Acidum alginicum

Kyselina alginová



1999

CAS 9005-32-7

Je to směs polyuronových kyselin $[(C_6H_8O_6)_n]$ tvořená zbytky kyseliny D-mannuronové a kyseliny L-guluronové. Získává se především z řas rodu *Phaeophyceae*. Malý podíl karboxylových skupin může být neutralizován. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 19,0 % až 25,0 % karboxylových skupin (COOH).

Vlastnosti

Bílý až slabě žlutohnědý krystalický nebo amorfni prášek. Je velmi těžce rozpustná nebo prakticky nerozpustná v lihu 96%, prakticky nerozpustná v organických rozpouštědlech. Ve vodě bobtná, ale nerozpouští se; rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

- A. K 0,2 g se přidá 20 ml vody R a 0,5 ml *uhličitanu sodného RS*. Směs se protřepe a zfiltruje. K 5 ml filtrátu se přidá 1 ml *chloridu vápenatého RS*; vznikne objemná gelovitá hmota.
- B. K 5 ml filtrátu získaného ve zkoušce A se přidá 0,5 ml roztoku *síranu hořečnatého R* (123 g/l); objemná gelovitá hmota se nevytvoří.
- C. K 5 mg se přidá 5 ml vody R, 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dihydroxynaftalenu R* (10 g/l) v lihu 96% R a 5 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Mírně se 3 min vaří, ochladí se, přidá se 5 ml vody R a protřepe se s 15 ml *diisopropyletheru R*. Současně se provede slepá zkouška. Horní vrstva získaná se zkoušenou látkou je výrazněji modravě červeně zbarvena než horní vrstva u slepé zkoušky.

Zkoušky na čistotu

Chloridy. Nejvýše 1,0 %. K 2,50 g se přidá 50 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, 1 h se protřepává, zředí se *kyselinou dusičnou zředěnou RS* na 100,0 ml a zfiltruje se. K 50,0 ml filtrátu se přidá 10,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS*, 5 ml *toluenu R* a titruje se za intenzivního protřepávání *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* za použití 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* jako indikátoru.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,545 mg Cl.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml *základního roztoku olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 0,1000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 8,0 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s 0,100 g zkoušené látky.

3868 † *Acidum amidotrizoicum dihydricum*

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10^2 živých aerobních mikroorganismů v gramu. Stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella*.

Stanovení obsahu

K 0,2500 g se přidá 25 ml vody R, 25,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS a 0,2 ml fenolftaleinu RS. Titruje se kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS.

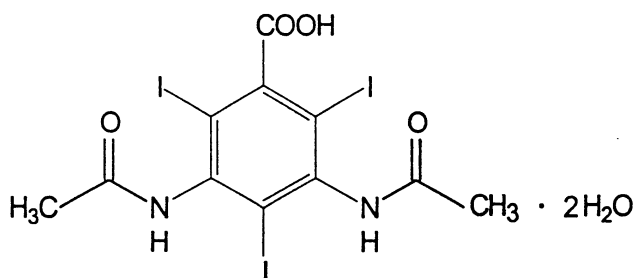
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 4,502 mg karboxylových skupin (COOH).

† **Acidum amidotrizoicum dihydricum**

Dihydrát kyseliny amidotrizoové



1999


 $C_{11}H_9I_3N_2O_4 \cdot 2H_2O$
 M_r 649,95

CAS 50978-11-5

Je to dihydrát kyseliny 3,5-diacetamido-2,4,6-trijodbenzoové. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_9I_3N_2O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem dihydrátu kyseliny amidotrizoové CRL.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

C. 50 mg se mírně zahřeje v malé porcelánové misce nad otevřeným plamenem; vyvíjejí se fialové páry.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *hydroxidu sodném zředěném RS* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 0,50 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 50 mg *dihydrátu kyseliny amidotrizoové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *2-butanonu R* a *toluenu R* (20 + 25 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší do vytěkání rozpouštědel a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %).

Halogenidy. 0,55 g se rozpustí ve směsi 4 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 15 ml *vody R*, potom se přidá 6 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (2.4.4) (150 µg/g, vyjádřeno jako chloridy).

Volné aromatické aminy. *Roztoky a zkoumadla se udržují ve vodě s ledem a chrání se před přímým světlem.* 0,50 g se naváží do 50ml odměrné baňky, přidá se 15 ml *vody R*, protřepe se, přidá se 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a ochladí se ve vodě s ledem. K ochlazené směsi se přidá 5 ml čerstvě připraveného roztoku *dusitanu sodného R* (5 g/l) a 12 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Opatrně se protřepe a nechá se stát přesně 2 min po přidání kyseliny chlorovodíkové. Potom se přidá 10 ml roztoku *amidosíranu amonného R* (20 g/l). Nechá se 5 min stát za občasného protřepání, pak se přidá 0,15 ml roztoku *1-naftolu R* (100 g/l) v *lihu 96% R*, protřepe se a nechá se stát dalších 5 min. Potom se přidá 3,5 ml *tlumivého roztoku o pH 10,9*, promíchá se a zředí se *vodou R* na 50 ml. Absorbance roztoku (2.2.25) při 485 nm měřená do 20 min po přípravě proti kontrolní tekutině připravené současně za stejných podmínek bez zkoušené látky je nejvýše 0,30.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve 4 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Připraví se porovnávací roztok za použití základního roztoku *olova* (2 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). 4,5 % až 7,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

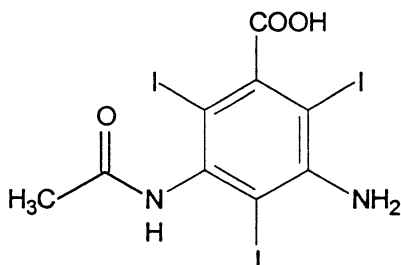
3870 *Acidum ascorbicum***Stanovení obsahu**

K 0,150 g ve 250ml varné baňce se přidá 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a několik varných kuliček. Směs se vaří 30 min pod zpětným chladičem, pak se ochladí a chladič se promyje 20 ml *vody R*, které se přidají do baňky. Obsah baňky se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla, filtr se několikrát promyje *vodou R*. Ke spojenému filtrátu s promývací tekutinou se přidá 40 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a ihned se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) a za použití vhodného systému elektrod, např. stříbrné-merkurosulfatové elektrody.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,47 mg $C_{11}H_9I_3N_2O_4$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

A. kyselina 5-acetamido-3-amino-2,4,6-trijodbenzoová.

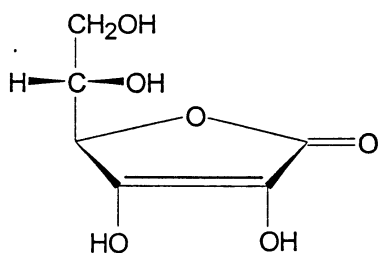
Acidum ascorbicum

Kyselina askorbová

Synonymum. Vitamin C



1999



$C_6H_8O_6$

M_r 176,13

CAS 50-81-7

Je to (*R*)-5-[(*S*)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxy-5*H*-furan-2-on. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny C₆H₈O₆.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Působením vzduchu a vlhkosti mění barvu. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a prakticky nerozpustná v etheru.

Taje při asi 190 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. 0,10 g se rozpustí ve vodě *R* a ihned se jí zředí na 100,0 ml. K 10 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* se přidá 1,0 ml tohoto roztoku a zředí se vodou *R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku ihned po zředění v maximu při 243 nm. Specifická absorbance v maximu je 545 až 585.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety obsahující 1 mg zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety obsahující 1 mg kyseliny askorbové *CRL*.
- C. Hodnota pH (2.2.3) roztoku *S*, viz Zkoušky na čistotu, je 2,1 až 2,6.
- D. K 1 ml roztoku *S* se přidá 0,2 ml kyseliny dusičné zředěné *RS* a 0,2 ml dusičnanu stříbrného *RS2*; vznikne šedá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 20 ml.

Vzhled roztoku. Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok *HŽ*₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +20,5° až +21,5°; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g ve vodě *R* a zředěným stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Kyselina šťavelová. Nejvýše 0,2 %.

Zkoušený roztok. 0,25 g se rozpustí v 5 ml vody *R*. Tento roztok se neutralizuje na papír lakmusový červený *R* za použití hydroxidu sodného zředěného *RS* a poté se přidá 1 ml kyseliny octové zředěné *RS* a 0,5 ml chloridu vápenatého *RS*.

Porovnávací roztok. 70 mg kyseliny šťavelové *R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 500 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml kyseliny octové zředěné *RS* a 0,5 ml chloridu vápenatého *RS*.

Oba roztoky se nechají stát 1 h. Opalescence zkoušeného roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku.

Měď. Nejvýše 5 μg/g; stanoví se absorpční atomovou spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 2,0 g se rozpustí v kyselině dusičné 0,1 mol/l *RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se porovnávací roztoky obsahující 0,2 μg Cu/ml, 0,4 μg Cu/ml a 0,6 μg Cu/ml zředěním základního roztoku mědi (10 μg Cu/ml) kyselinou dusičnou 0,1 mol/l *RS*.

3872 *Acidum asparticum*

Měří se absorbance při 324,8 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Nula na přístroji se nastaví za použití *kyseliny dusičné 0,1 mol/l RS*.

Železo. Nejvýše 2 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 5,0 g se rozpustí v *kyselině dusičné 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se porovnávací roztoky obsahující 0,2 µg Fe/ml, 0,4 µg Fe/ml a 0,6 µg Fe/ml zředěním základního roztoku železa (20 µg Fe/ml) *kyselinou dusičnou 0,1 mol/l RS*.

Měří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Nula na přístroji se nastaví za použití *kyseliny dusičné 0,1 mol/l RS*.

Těžké kovy (2.4.8). 1,5 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 15 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí ve směsi 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 80 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, přidá se 1 ml *škrobu RS* a titruje se *jodem 0,05 mol/l VS* do vzniku trvalého fialově modrého zbarvení.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 8,81 mg C₆H₈O₆.

Uchovávání

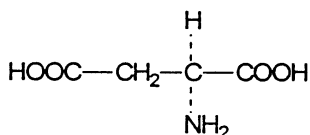
V dobře uzavřených nekovových obalech, chráněna před světlem.

Acidum asparticum¹⁾

Kyselina asparagová



RR99

C₄H₇NO₄M_r 133,10

CAS 56-84-8

Je to kyselina (*S*)-2-aminobutandiová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C₄H₇NO₄.

Výroba

Je-li vyráběna fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 579 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je těžce rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v lihu 96% a v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů a ve zředěných roztocích minerálních kyselin.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Suspenze 1 g zkoušené látky v 10 ml vody R je silně kyselá (2.2.4).
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety kyseliny asparagové CRL.
- D. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se jí na 10 ml. **Roztok je čirý (2.2.1)** a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +24,0° až +26,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,000 g v kyselině chlorovodíkové RS a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve 2 ml amoniaku 17,5% RS a zředí se vodou R na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg kyseliny asparagové CRL se rozpustí ve 2 ml amoniaku zředěného RS1 a zředí se vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg kyseliny asparagové CRL a 10 mg kyseliny glutamové CRL se rozpustí ve 2 ml amoniaku zředěného RS1 a zředí se vodou R na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku, nechá se na vzduchu vysušit a vyvíjí se směs objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká ninhydrinem RS a potom se zahřívá 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

3874 *Acidum asparticum*

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g), bez dalšího přidání *kyseliny dusičné zředěné RS*.

Sírany (2.4.13). 0,50 g se rozpustí ve 4 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok po 30 min vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o straně 5 mm zvlhčeného několika kapkami *vody R*. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K suspenzi se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se ihned překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia (100 µg NH₄/ml)*, 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g)*.

Železo (2.4.9). V dělicí nálevce se rozpustí 1,0 g v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min vždy 10 ml *isobutylmethyketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a 3 min se třepe. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí mírným zahřátím v 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. Po ochlazení se přidá 0,1 ml *modři bromthymolové RS1* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do změny žlutého zbarvení na modré.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,31 mg C₄H₇NO₄.

Uchovávání

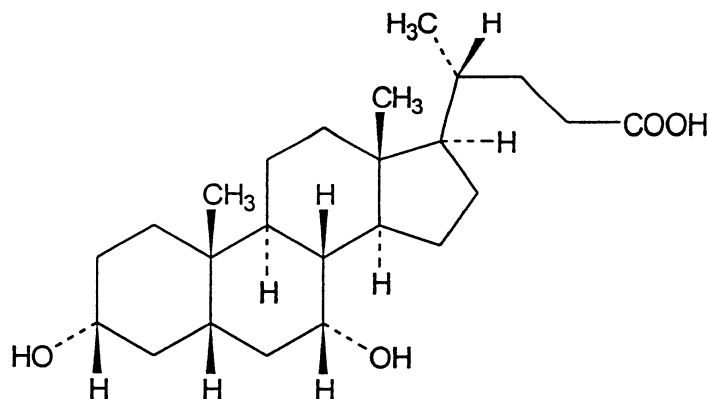
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

† *Acidum chenodeoxycholicum* 3875† **Acidum chenodeoxycholicum**

Kyselina chenodeoxycholová



1998

 $C_{24}H_{40}O_4$ M_r 392,56

CAS 474-25-9

Je to kyselina 3 α ,7 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{24}H_{40}O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%, dobře rozpustná v acetonu a těžce rozpustná v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny chenodeoxycholové CRL*. Měří se tablety s *bromidem draselným R*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. Asi 10 mg se rozpustí v 1 ml *kyseliny sírové R*, přidá se 0,1 ml *formaldehydu R*, nechá se 5 min stát a pak se přidá 5 ml *vody R*; vznikne zelenavě modrá suspenze.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +11,0° až +13,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v *methanolu R* a zředěním na 25,0 ml stejným rozpouštědlem.

3876 † *Acidum chenodeoxycholicum*

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok (a). 0,40 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *kyseliny chenodeoxycholové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *kyseliny lithocholové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg *kyseliny ursodeoxycholové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 20 mg *kyseliny cholové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) a zředí se jí na 100 ml.

Porovnávací roztok (e). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 9) na 10 ml.

Porovnávací roztok (f). 10 mg *kyseliny chenodeoxycholové CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (c) a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R* a *dichlormethanu R* (1 + 30 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 120 °C. Pak se ihned postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (47,6 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny sírové R* a *kyseliny octové ledové R* (1 + 20) a znovu se zahřívá při 120 °C do objevení modrých skvrn na světlejším pozadí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): žádná skvrna odpovídající kyselině lithocholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); žádná skvrna odpovídající kyselině ursodeoxycholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %); žádná skvrna odpovídající kyselině cholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících kyselině lithocholové, kyselině ursodeoxycholové a kyselině cholové, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (0,25 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) jsou patrné dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

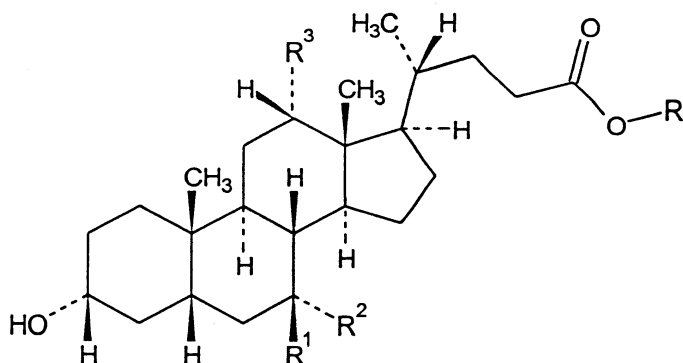
Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R*, předem zneutralizovaného na 0,2 ml *fenolftaleinu RS*, přidá se 50 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do vzniku růžového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 39,26 mg C₂₄H₄₀O₄.

Uchovávání

Separandum.

Nečistoty

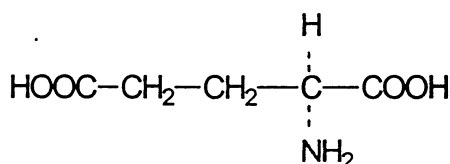
- A. R = H, R¹ = OH, R² = H, R³ = H: kyselina ursodeoxycholová,
 B. R = H, R¹ = H, R² = OH, R³ = OH: kyselina cholová (kyselina 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 C. R = H, R¹ = H, R² = H, R³ = H: kyselina lithocholová (kyselina 3 α -hydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 D. R = H, R¹ = OH, R² = H, R³ = OH: kyselinaursocholová (kyselina 3 α ,7 β ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 E. R = H, R¹ = H, R² = H, R³ = OH: kyselina deoxycholová (kyselina 3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 F. R = H, R¹, R² = =O, R³ = H: kyselina 3 α -hydroxy-7-oxo-5 β -cholan-24-ová,
 G. R = CH₃, R¹ = OH, R² = H, R³ = H: methyl-3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-at.

Acidum glutamicum¹⁾

Kyselina glutamová



RR99

C₅H₉NO₄

M, 147,13

CAS 56-86-0

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 578 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

3878 *Acidum glutamicum*

Je to kyselina (S)-2-aminopentan-1,5-diová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 100,5 % sloučeniny C₅H₉NO₄.

Výroba

Je-li vyráběna fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustná ve vroucí vodě, těžce rozpustná ve studené vodě, prakticky nerozpustná v kyselině octové, v acetonu, v lihu 96% a v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *kyseliny glutamové CRL*. Jestliže jsou spektra rozdílná, rozpustí se zkoušená látka a referenční látka odděleně v malém množství *vody R*, odpaří se do sucha při 60 °C a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** Ke 2,0 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a 3,0 ml až 3,5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* do změny zbarvení indikátoru na červené. Přidá se směs 3 ml *formaldehydu RS*, 3 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Potom se přidává *hydroxid sodný 1 mol/l VS* do vzniku růžového zbarvení. Roztok se odbarví a dále se přidává *hydroxid sodný 1 mol/l VS* do vzniku červeného zbarvení. Celková spotřeba *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* je 4,0 ml až 4,7 ml.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,00 g se rozpustí mírným zahřátím v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +30,5° až +32,5°, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s roztokem S.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v 5 ml *amoniaku zředěného RS2* a zředí se *vodou R* na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *kyseliny glutamové CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg kyseliny glutamové CRL a 10 mg kyseliny asparagové CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 5 μ l každého roztoku. Vrstva se suší v proudu vzduchu 15 min a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí v kyselině dusičné zředěné RS a zředí se vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g) bez dalšího přidání kyseliny dusičné.

Sírany (2.4.13). 5 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček papíru lakmusového červeného R o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami vody R. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml vody R. K suspenzi se přidá 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se ihned překloupí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 μ g NH_4/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 μ g/g).

Železo (2.4.9). V dělicí nálevce se rozpustí 1,0 g v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,130 g se rozpustí mírným zahřátím v 50 ml vody prosté oxidu uhličitého R a po ochlazení se titruje hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za použití modři bromthymolové RS1 jako indikátoru do změny žlutého zbarvení na modré.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 14,71 mg $\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4$.

Uchovávání

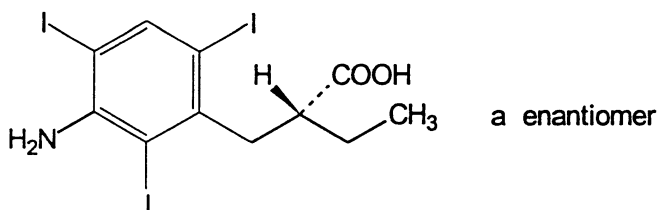
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

3880 † *Acidum iopanoicum*† **Acidum iopanoicum**

Kyselina jopanoová



1999

 $C_{11}H_{12}I_3NO_2$ M_r 570,93

CAS 96-83-3

Je to kyselina (*RS*)-2-(3-amino-2,4,6-trijodbenzyl)máselná. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_{12}I_3NO_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v ethanolu, v etheru a v methanolu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). Asi 155 °C, za rozkladu.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny jopanoové CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Vrstva se postříká roztokem *dimethylaminocinnamaldehydu R* (1 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *lihu 96% R* (1 + 99). Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. 50 mg se opatrně zahřívá v malé porcelánové misce nad plamenem; vyvíjí se fialová pára.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *hydroxidu sodném 1 mol/l RS* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₃ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 1,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R (3 + 97)* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R (3 + 97)* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 50 mg *kyseliny jopanoové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R (3 + 97)* a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R (3 + 97)* na 50 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R*, *toluenu R* a *dioxanu R (10 + 20 + 20 + 50)* po dráze 10 cm. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

Halogenidy. K 0,46 g se přidá 10 ml *kyseliny dusičné R* a 15 ml *vody R*, třepe se 5 min a pak se zfiltruje. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (2.4.4) (180 μ g/g, vyjádřeno jako chloridy).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Do 250ml varné baňky se k 0,150 g přidá 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a několik varných kuliček. Vaří se 60 min pod zpětným chladičem, pak se ochladí a chladič se promyje 20 ml *vody R*, které se přidají do varné baňky. Obsah baňky se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla a filtr se promyje několikrát *vodou R*. K spojenému filtrátu s promývací tekutinou se přidá 40 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a ihned se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití vhodného systému elektrod, např. stříbrné-merkurosulfátové.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 19,03 mg $C_{11}H_{12}I_3NO_2$.

Uchovávání

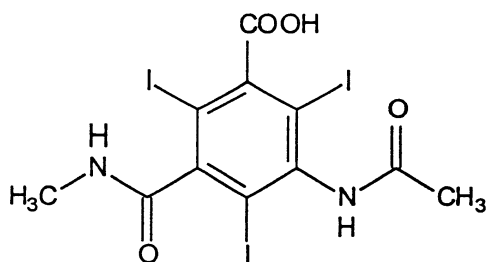
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Separandum.

3882 † *Acidum iotalamicum*† **Acidum iotalamicum**

Kyselina jotalamová

1999

 $C_{11}H_9I_3N_2O_4$

M, 613,92

CAS 2276-90-6

Je to kyselina 3-acetamido-2,4,6-triod-5-[(methylamino)karbonyl]benzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_9I_3N_2O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustná ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustná v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny jotalamové CRL*.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *kyseliny jotalamové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *2-butanonu R* a *toluenu R* (20 + 25 + 60) po dráze 15 cm. Potom se vrstva suší do vytékání rozpouštědel a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se shoduje polohou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. 50 mg se opatrně zahřívá v malé porcelánové misce nad plamenem; vyvíjí se fialová pára.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *hydroxidu sodném 1 mol/l RS* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silika-gelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *methanolu R* (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 mg *5-amino-2,4,6-trijod-N-methylisofthalmové kyseliny CRL* se rozpustí v 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *methanolu R*, *etheru R* a *dichlormethanu R* (1 + 1 + 1 + 5 + 10) po dráze 10 cm. Potom se vrstva suší do vytěkání rozpouštědel a pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Halogenidy. 0,55 g se rozpustí ve směsi 4 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 15 ml *vody R*, přidá se 6 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (2.4.4) (150 µg/g, vyjádřeno jako chloridy).

Volné aromatické aminy. *Roztoky a zkoumadla se udržují ve vodě s ledem a chrání se před přímým světlem.* K 0,50 g v 50ml odměrné baňce se přidá 15 ml *vody R*, protřepe se, přidá se 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a ochladí se ve vodě s ledem. K ochlazené směsi se přidá 5 ml čerstvě připraveného roztoku *dusitanu sodného R* (5 g/l) a 12 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Opatrně se protřepe a nechá se stát přesně 2 min od přidání kyseliny chlorovodíkové. Potom se přidá 10 ml roztoku *amidosíranu amonného R* (20 g/l), nechá se 5 min stát za občasného protřepání, přidá se 0,15 ml roztoku *1-naftolu R* (100 g/l) v *líhu 96% R*, protřepe se a nechá se stát dalších 5 min. Potom se přidá 3,5 ml *tlumivého roztoku o pH 10,9*, promíchá se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 485 nm do 20 min po přípravě proti kontrolnímu roztoku připravenému současně stejným způsobem bez zkoušené látky. Absorbance není vyšší než 0,30.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve 4 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (2 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 0,300 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Do 250ml varné baňky se odváží 0,150 g, přidá se 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a několik varných kuliček. Vaří se 30 min pod

3884 † *Acidum mefenamicum*

zpětným chladičem, ochladí se a chladič se promyje 20 ml vody R, které se přidají do varné baňky. Obsah baňky se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla, filtr se promyje několikrát vodou R. Ke spojenému filtrátu s promývací tekutinou se přidá 40 ml kyseliny sírové zředěné RS a ihned se titruje dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití vhodného systému elektrod, např. stříbrné-merkurosulfátové.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 20,47 mg $C_{11}H_9I_3N_2O_4$.

Uchovávání

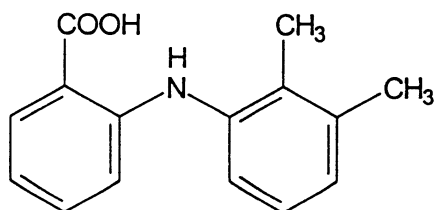
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.
Separandum.

† **Acidum mefenamicum**

Kyselina mefenamová



1999

 $C_{15}H_{15}NO_2$ M_r 241,28

CAS 61-68-7

Je to kyselina 2-[(2,3-xylyl)amino]benzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{15}H_{15}NO_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý mikrokrytalický prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, těžce rozpustná v lihu 96% a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 20 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a methanolu R (1 + 99) a zředí se stejnou směsí na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a methanolu R (1 + 99) na 50 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 250 nm až 380 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při

- 279 nm a 350 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 279 nm k absorbanci naměřené v maximu při 350 nm je 1,1 až 1,3.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *kyseliny mefenamové CRL*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v *lihu 96% R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- C. Asi 25 mg se rozpustí v 15 ml *dichlormethanu R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok vykazuje intenzivní zelenožlutou fluorescenci. Opatrně se po kapkách přidá 0,5 ml nasyceného roztoku *kyseliny trichloroctové R* a opět se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok nevykazuje fluorescenci.
- D. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové R* a přidá se 0,05 ml *dichromanu draselného RS1*; vznikne intenzivní modré zbarvení, které se rychle mění na hnědozelené.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 0,125 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *kyseliny flufenamové R* a 5 mg *kyseliny mefenamové CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 20 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *dioxanu R* a *toluenu R* (1 + 25 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a vystaví se na 5 min působení par jodu. Potom se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

2,3-Dimethylanilin.

Roztok (a). 0,250 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 10 ml. Tento roztok se použije na přípravu zkoušeného roztoku.

Roztok (b). 50 mg *2,3-dimethylanilinu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) na 100 ml. Tento roztok se použije na přípravu porovnávacího roztoku.

Použijí se tři zkumavky s plochým dnem, do první se přenesou 2 ml roztoku (a), do druhé 1 ml roztoku (b) a 1 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) a do třetí 2 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 3) (slepá zkouška). Do každé zkumavky se přidá 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dimethylaminobenzaldehydu R* (10 g/l) v *methanolu R* a 2 ml *kyseliny octové ledové R* a nechá se stát při pokojové teplotě 10 min. Intenzita žlutého zbarvení zkoušeného roztoku je mezi intenzitou zbarvení roztoku získaného při slepé zkoušce a intenzitou zbarvení porovnávacího roztoku (100 µg/g).

Měď²⁺. Nejvýše 10 µg/g. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23 *Metoda I*).

3886 † *Acidum mefenamicum*

Zkoušený roztok. 1,00 g se naváží do kelímku z křemičitého skla, zvlhčí se *kyselinou sírovou R*, 30 min se opatrně zahřívá nad plamenem a potom se žihá při 650 °C. V žihání se pokračuje do vymizení všech černých částic. Potom se ochladí, zbytek se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku mědi (0,1 % Cu), který se zředí podle potřeby *kyselinou dusičnou 0,1 mol/l RS*.

Měří se absorbance při 324,8 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

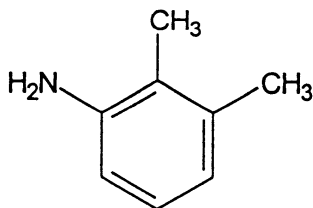
0,200 g se rozpustí pomocí ultrazvukové lázně ve 100 ml teplého *ethanolu R* předem zneutralizovaného na *červeně fenolovou RS*, přidá se 0,1 ml *červeně fenolové RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 24,13 mg $C_{15}H_{15}NO_2$.

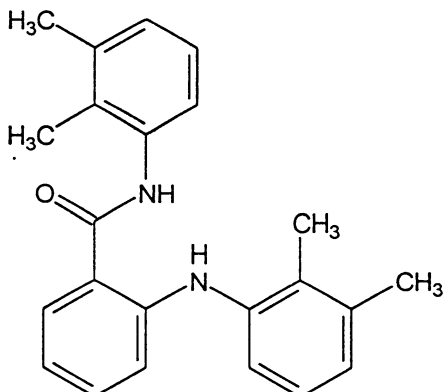
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Separandum.

Nečistoty

A. 2,3-dimethylanilin,



B. N-(2,3-xylyl)-2-[(2,3-xylyl)amino]benzamid.

Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1 : 1 dispersio 30% 3887

Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1 : 1 dispersio 30%



1999

Disperze kopolymeru kyseliny methakrylové a ethylakrylatu 1 : 1 30%

Je to disperze kopolymeru kyseliny methakrylové a ethylakrylatu se střední molekulovou hmotností asi 250 000 ve vodě. Poměr karboxylových skupin k esterovým skupinám je asi 1 : 1. Může obsahovat vhodné povrchově aktivní látky, jako je dodecylsírán sodný a polysorbat 80. Počítáno na zbytek po odpaření, obsahuje 46,0 % až 50,6 % jednotek kyseliny methakrylové.

Vlastnosti

Bílá opalizující velmi viskózní tekutina. Je mísitelná s vodou a s roztokem hydroxidu sodného (40 g/l). Přidáním rozpouštědel, jako je aceton, ethanol nebo 2-propanol, vzniká sraženina, rozpustná v nadbytku rozpouštědla.

Snadno dochází k mikrobiálnímu znečištění.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem
Ph. Eur. pro disperzi kopolymeru kyseliny methakrylové a ethylakrylatu 1 : 1 30%.

B. Zkouška Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Zjevná viskozita. Nejvýše 15 mPa.s; stanoví se viskozita (2.2.10) za použití rotačního viskozimetru a při smykové rychlosti 50 s⁻¹.

Vzhled filmu. 1 ml se nalije na skleněnou destičku a vysuší se. Vznikne průsvitný křehký film.

Velikost částic. 100,0 g se zfiltruje přes předem zvažované síto (90) z nerezové oceli, síto se promývá vodou R, až je filtrát čirý, a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1,00 g.

Ethylakrylat a kyselina methakrylová. Celkový obsah nejvýše 0,1 %, počítáno na vysušenou látku. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v 50,0 ml *methanolu R* a přidá se 25,0 ml *vody R*.

Kontrolní roztok. K 50,0 ml *methanolu R* se přidá 25,0 ml *vody R*.

Porovnávací roztok. 10 mg *ethylakrylatu R* a 10 mg *kyseliny methakrylové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml a potom se přidá 25,0 ml *vody R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 2,0* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 2,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 202 nm.

3888 *Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1 : 1*

Nastříkne se odděleně po 50 µl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky ethylakrylatu a kyseliny methakrylové nejméně 2,0. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu kontrolního roztoku nejsou žádné píky s retenčními časy odpovídajícími píků ethylakrylatu a kyseliny methakrylové. Obsah monomerů v procentech se vypočítá z plochy píků na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku a z obsahu monomerů v porovnávacím roztoku.

Zbytek po odpaření. 0,285 g až 0,315 g; 1,000 g se suší 5 h při 110 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10^3 živých aerobních mikroorganismů v gramu. Stanoví se počítáním na pevných půdách.

Stanovení obsahu

1,500 g se rozpustí ve směsi 40 ml vody R a 60 ml 2-propanolu R. Pomalu se titruje za stálého míchání hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS za použití fenolftaleinu RS jako indikátoru.

1 ml hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS odpovídá 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (jednotky kyseliny methakrylové).

Uchovávání

Chráněna před mrazem. S látkou je třeba zacházet tak, aby se minimalizovalo mikrobiální znečištění.

Označování

V označení na obalu se uvede název a koncentrace povrchově aktivních látek, pokud byly přidány.

**Acidum methacrylicum et ethylis acrylas
polymerisatum 1 : 1**

1999

Kopolymer kyseliny methakrylové a ethylakrylatu 1 : 1

Je to kopolymer kyseliny methakrylové a ethylakrylatu se střední relativní molekulovou hmotností asi 250 000. Poměr karboxylových skupin k esterovým skupinám je asi 1 : 1. Může obsahovat vhodné povrchově aktivní látky, jako dodecylsíran sodný a polysorbat 80. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 46,0 % až 50,6 % jednotek kyseliny methakrylové.

Vlastnosti

Bílý sypký prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu a v 2-propanolu a prakticky nerozpustný v ethylacetatu. Je snadno rozpustný v roztoku hydroxidu sodného (40 g/l).

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. pro kopolymer kyseliny methakrylové a ethylakrylatu 1 : 1.

B. Zkouška Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Zjevná viskozita. 100 mPa.s až 200 mPa.s. Rozpustí se množství zkoušené látky odpovídající 37,5 g vysušené látky ve směsi 7,9 g vody R a 254,6 g 2-propanolu R a stanoví se viskozita (2.2.10) za použití rotačního viskozimetru a smykové rychlosti 10 s⁻¹.

Vzhled filmu. 1 ml roztoku připraveného pro zkoušku Zjevná viskozita se nalije na skleněnou destičku a vysuší se. Vznikne průsvitný křehký film.

Ethylakrylat a kyselina methakrylová. Celkový obsah nejvýše 0,1 %. Stanoví se metodou kapalinové chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v 50,0 ml methanolu R a přidá se 25,0 ml vody R.

Kontrolní roztok. K 50,0 ml methanolu R se přidá 25,0 ml vody R.

Porovnávací roztok. 10 mg ethylakrylatu R a 10 mg kyseliny methakrylové R se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 50,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 50,0 ml a potom se přidá 25,0 ml vody R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů methanolu R a tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 2,0 (30 + 70), s průtokovou rychlostí 2,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 202 nm.

Nastříkne se odděleně po 50 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky ethylakrylatu a kyseliny methakrylové nejméně 2,0. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogram kontrolního roztoku nevykazuje žádné píky s retenčními časy odpovídajícími píkům ethylakrylatu a kyseliny methakrylové. Obsah monomerů v procentech se vypočítá z plochy píků na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku a z obsahu monomerů v porovnávacím roztoku.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,4 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

1,000 g se rozpustí ve směsi 40 ml vody R a 60 ml 2-propanolu R. Pomalu se titruje za stálého míchání hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS za použití fenolftaleinu RS jako indikátoru.

1 ml hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS odpovídá 43,05 mg C₄H₆O₂ (jednotky kyseliny methakrylové).

Označování

V označení na obalu se uvede název a koncentrace povrchově aktivních látek, pokud byly přidány.

3890 *Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 1*

Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 1



Kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu 1 : 1

Je to kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu o průměrné relativní molekulové hmotnosti asi 135 000. Poměr karboxylových a esterových skupin je asi 1 : 1. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 46,0 % až 50,6 % jednotek kyseliny methakrylové.

Vlastnosti

Bílý sypký prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu a 2-propanolu a prakticky nerozpustný v ethylacetatu. Je snadno rozpustný v roztoku hydroxidu sodného (40 g/l).

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. pro kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu 1 : 1*.
- B. Zkouška Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Zjevná viskozita. 50 mPa.s až 200 mPa.s. Množství zkoušené látky odpovídající 37,5 g vysušené látky se rozpustí ve směsi 7,9 g vody R a 254,6 g 2-propanolu R a stanoví se viskozita (2.2.10) za použití rotačního viskozimetru a při smykové rychlosti 10 s⁻¹.

Vzhled filmu. 1 ml roztoku připraveného pro zkoušku Zjevná viskozita se nalije na skleněnou destičku a vysuší se. Vznikne průsvitný křehký film.

Methylmethakrylat a kyselina methakrylová. Celkový obsah nejvýše 0,1 %. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v 50,0 ml methanolu R a přidá se 25,0 ml vody R.

Kontrolní roztok. K 50,0 ml methanolu R se přidá 25,0 ml vody R.

Porovnávací roztok. 10 mg methylmethakrylatu R a 10 mg kyseliny methakrylové R se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 50,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 50,0 ml a přidá se 25,0 ml vody R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů methanolu R a tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 2,0 (30 + 70), s průtokovou rychlostí 2,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 202 nm.

Nastříkne se odděleně po 50 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky methylmethakrylatu a kyseliny methakrylové nejméně 2,0. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogram kontrolního roztoku nevykazuje

Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 2 3891

žádné píky s retenčními časy odpovídajícími píků methylmethakrylatu a kyseliny methakrylové. Vypočítá se obsah monomerů v procentech z plochy píků na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku a z obsahu monomerů v porovnávacím roztoku.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

1,000 g se rozpustí ve směsi 40 ml vody R a 60 ml 2-propanolu R a pomalu se titruje za stálého míchání hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS za použití fenolftaleinu RS jako indikátoru.

1 ml hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS odpovídá 43,05 mg C₄H₆O₂ (jednotky kyseliny methakrylové).

Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1 : 2



Kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu 1 : 2

Je to kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu se střední relativní molekulovou hmotností asi 135 000. Poměr karboxylových skupin k esterovým skupinám je asi 1 : 2. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 27,6 % až 30,7 % jednotek kyseliny methakrylové.

Vlastnosti

Bílý sypký prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu a 2-propanolu a prakticky nerozpustný v ethylacetatu. Je snadno rozpustný v roztoku hydroxidu sodného (40 g/l).

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. pro kopolymer kyseliny methakrylové a methylmethakrylatu 1 : 2.

B. Zkouška Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Zjevná viskozita. 50 mPa.s až 200 mPa.s. Množství zkoušené látky odpovídající 37,5 g vysušené látky se rozpustí ve směsi 7,9 g vody R a 254,6 g 2-propanolu R a stanoví se viskozita (2.2.10) za použití rotačního viskozimetru a smykové rychlosti 10 s⁻¹.

Vzhled filmu. 1 ml roztoku připraveného pro zkoušku Zjevná viskozita se nalije na skleněnou destičku a vysuší se. Vznikne průsvitný křehký film.

Methylmethakrylat a kyselina methakrylová. Celkový obsah nejvýše 0,1 %. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

3892 † *Acidum oxolinicum*

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v 50,0 ml *methanolu R* a přidá se 25,0 ml *vody R*.

Kontrolní roztok. K 50,0 ml *methanolu R* se přidá 25,0 ml *vody R*.

Porovnávací roztok. 10 mg *methylmethakrylatu R* a 10 mg *kyseliny methakrylové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml a potom se přidá 25,0 ml *vody R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 2,0* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 2,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 202 nm.

Nastříkne se odděleně po 50 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky *methylmethakrylatu* a *kyseliny methakrylové* nejméně 2,0. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogram kontrolního roztoku nevykazuje žádné píky s retenčními časy odpovídajícími píkům *methylmethakrylatu* a *kyseliny methakrylové*. Obsah monomerů v procentech se vypočítá z plochy píků na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku a z obsahu monomerů v porovnávacím roztoku.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

1,000 g se rozpustí ve směsi 40 ml *vody R* a 60 ml *2-propanolu R*. Pomalu se titruje za stálého míchání *hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

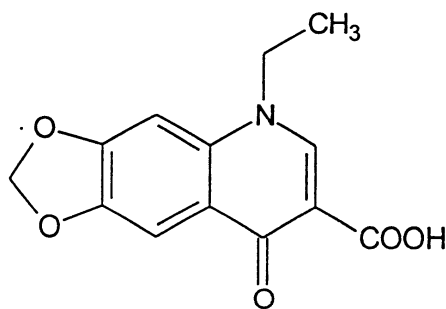
1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS* odpovídá 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (jednotky *kyseliny methakrylové*).

† *Acidum oxolinicum*

Kyselina oxolinová



1999



$C_{13}H_{11}NO_5$

M_r 261,23

CAS 14698-29-4

Je to kyselina 5-ethyl-8-oxo-5,8-dihydro-1,3-dioxolo[4,5-g]chinolin-7-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{13}H_{11}NO_5$.

Vlastnosti

Téměř bílý nebo nažloutlý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v dichlormethanu, prakticky nerozpustná v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. 25,0 mg se zahřátím na vodní lázni rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*. Po vychladnutí se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 220 nm až 350 nm; absorpční maxima jsou při 260 nm, při 322 nm a při 336 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 260 nm k absorbanci naměřené v maximu při 336 nm je 4,9 až 5,2.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *kyseliny oxolinové CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *lihem 96% R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *kyseliny oxolinové CRL* se rozpustí ve 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *lihem 96% R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *ciprofloxaciniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku. Na dno chromatografické komory se umístí odpařovací miska obsahující 50 ml *amoniaku 26% R*. Komora se uzavře a vrstva se vystaví na 15 min působení par amoniaku. Pak se přenese do druhé chromatografické komory a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 20 + 40 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, fluorescencí a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,6 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (40 g/l).

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodné celulosy s úzkou distribucí velikosti částic.

3894 † *Acidum oxolinicum*

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí ve 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *lihem 96% R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *lihem 96% R* na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 mg *kyseliny oxolinové nečistoty B CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 mg zkoušené látky a 5 mg *kyseliny oxolinové nečistoty A CRL* se rozpustí ve 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *lihem 96% R* na 40 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku po vhodně malých dávkách tak, aby se získaly malé skvrny. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% R*, *vody R* a *1-propanolu R* (15 + 30 + 55) po dráze 6 cm (odpovídající dvěma třetinám výšky desky). Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: skvrna odpovídající kyselině oxolinové nečistotě B není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající kyselině oxolinové nečistotě B, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,4 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

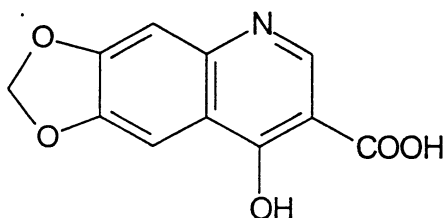
0,200 g se rozpustí ve 150 ml *dimethylformamidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Použije se skleněná indikační elektroda a kalomelová referenční elektroda, obsahující jako elektrolyt nasycený roztok *chloridu draselného R* v *methanolu R*. Provede se slepá zkouška.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,12 mg $C_{13}H_{11}NO_5$.

Uchovávání

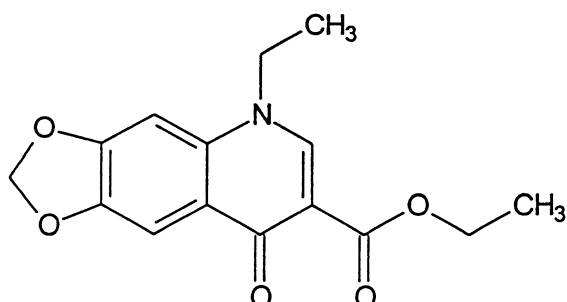
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.
Separandum.

Nečistoty

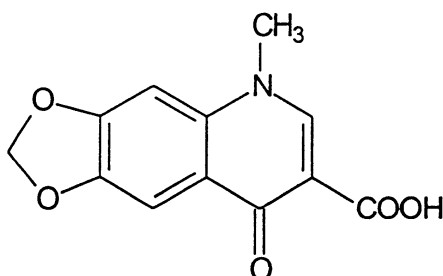


Acidum undecylenicum 3895

A. kyselina 8-hydroxy-1,3-dioxolo[4,5-g]chinolin-7-karboxylová,



B. ethyl-5-ethyl-8-oxo-5,8-dihydro-1,3-dioxolo[4,5-g]chinolin-7-karboxylat,



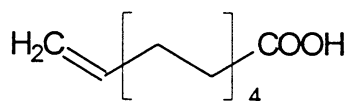
C. kyselina 5-methyl-8-oxo-5,8-dihydro-1,3-dioxolo[4,5-g]chinolin-7-karboxylová.

Acidum undecylenicum¹⁾

Kyselina undecylenová



RR99



$C_{11}H_{20}O_2$

M_r 184,28

CAS 112-38-9

Je to kyselina 10-undecenová. Obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{11}H_{20}O_2$.

Vlastnosti

Bílá nebo velmi světle žlutá krystalická hmota nebo bezbarvá nebo světle žlutá kapalina. Je prakticky nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%, v etheru, v tucích a v silicích.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 307 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

3896 *Acidum undecylenicum***Zkoušky totožnosti**

- A. Index lomu (2.2.6). 1,447 až 1,450; stanoví se při $(25 \pm 0,5)$ °C.
- B. Teplota tuhnutí (2.2.18). 21 °C až 24 °C.
- C. K 2,0 g se přidají 2 ml čerstvě předestilovaného *anilinu R* a směs se 10 min vaří pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 30 ml *etheru R*, třikrát se protřepe vždy s 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a potom s 20 ml *vody R*. Organická vrstva se odpaří do sucha na vodní lázni a zbytek se dvakrát rekrystalizuje *lihem R 70% (V/V)* a pak se suší 3 h ve vakuu; teplota tání (2.2.14) je 66 °C až 68 °C.
- D. 0,1 g se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 5 ml *kyseliny octové ledové R*. Potom se přidá po kapkách 0,25 ml *manganistanu draselného RS*; roztok se odbarví.

Zkoušky na čistotu

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10.

Vázané a minerální oleje. K 1,0 g se přidá 5 ml *uhličitanu sodného RS* a 25 ml *vody R* a 3 min se vaří. Horký roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

Kyseliny rozpustné ve vodě. K 1,0 g se přidá 20 ml *vody R* zahřáté na 35 °C až 45 °C a 2 min se třepe. Po ochlazení se vodná vrstva zfiltruje přes navlhčený filtr. K 10 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

Stupeň nenasycenosti. 85,0 mg se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 30 ml *kyseliny octové ledové R*. Titruje se *bromičnanem draselným 0,0167 mol/l s bromidem draselným VS* do změny modrého zbarvení na žluté za použití 0,05 ml *indigokarmínu RS1* jako indikátoru přidaného na konci titrace. Spotřeba *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l s bromidem draselným VS* je 8,9 ml až 9,4 ml. Provede se slepá zkouška.

Stanovení obsahu

0,750 g se rozpustí v 10 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS* za použití 0,1 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru do vzniku růžového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS* odpovídá 92,14 mg $C_{11}H_{20}O_2$.

Uchovávání

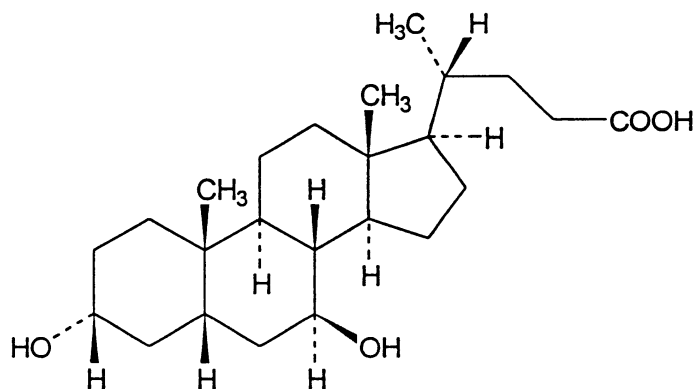
V dobře uzavřených nekovových obalech, chráněna před světlem, na chladném místě.

† *Acidum ursodeoxycholicum* 3897† **Acidum ursodeoxycholicum**

Kyselina ursodeoxycholová



1998

 $C_{24}H_{40}O_4$ M_r 392,58

CAS 128-13-2

Je to kyselina 3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{24}H_{40}O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%, těžce rozpustná v acetonu a v dichlormethanu.

Taje při asi 202 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny ursodeoxycholové CRL*. Měří se tablety s *bromidem draselným R*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. Asi 10 mg se rozpustí v 1 ml *kyseliny sirové R*, přidá se 0,1 ml *formaldehydu RS* a nechá se 5 min stát. Pak se přidá 5 ml *vody R*; vznikne zelenomodrá suspenze.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7) +58,0° až +62,0°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v *ethanolu R* a zředěním na 25,0 ml stejným rozpouštědlem.

3898 † *Acidum ursodeoxycholicum*

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok (a). 0,40 g se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg kyseliny ursodeoxycholové CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg kyseliny lithocholové CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg kyseliny chenodeoxycholové CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 20 mg kyseliny cholové CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) a zředí se jí na 100 ml.

Porovnávací roztok (e). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9) na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (f). 10 mg kyseliny ursodeoxycholové CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (c) a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se v nenasyčené komoře směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, acetonu R a dichlormethanu R (1 + 30 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 120 °C a ihned se postříká roztokem kyseliny fosfomolybdenové R (47,6 g/l) ve směsi objemových dílů kyseliny sírové R a kyseliny octové ledové R (1 + 20) a zahřívá se při 120 °C do objevení modrých skvrn na světlejším pozadí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): žádná skvrna odpovídající kyselině lithocholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); žádná skvrna odpovídající kyselině chenodeoxycholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %); žádná skvrna odpovídající kyselině cholové není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících kyselině lithocholové, kyselině chenodeoxycholové a kyselině cholové, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (0,25 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) jsou patrné dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

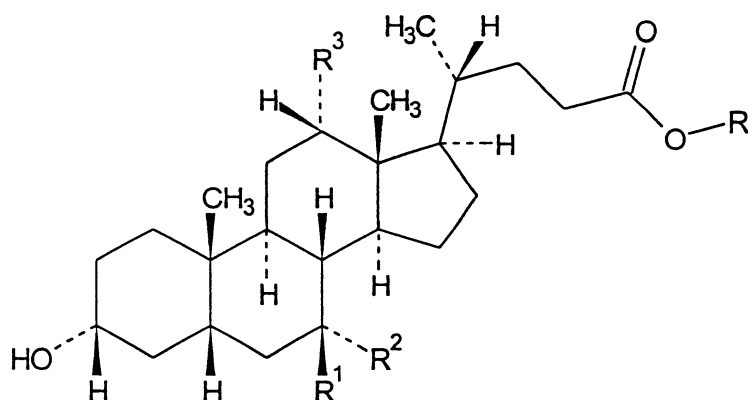
Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí v 50 ml lihu 96% R, předem zneutralizovaného na 0,2 ml fenolftaleinu RS, přidá se 50 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS do růžového zbarvení.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 39,26 mg C₂₄H₄₀O₄.

† *Acidum valproicum* 3899**Uchovávání**

Separandum.

Nečistoty

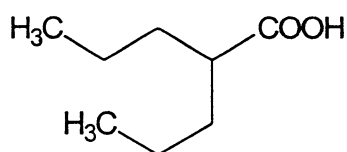
- A. R = H; R¹ = H; R² = OH; R³ = H: kyselina chenodeoxycholová,
 B. R = H; R¹ = H; R² = OH; R³ = OH: kyselina cholová (kyselina 3 α ,7 α ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 C. R = H; R¹ = H; R² = H; R³ = H: kyselina lithocholová (kyselina 3 α -hydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 D. R = H; R¹ = OH; R² = H; R³ = OH: kyselina ursocholová (kyselina 3 α ,7 β ,12 α -trihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 E. R = H; R¹ = H; R² = H; R³ = OH: kyselina deoxycholová (kyselina 3 α ,12 α -dihydroxy-5 β -cholan-24-ová),
 F. R = H; R¹,R² = =O; R³ = H: kyselina 3 α -hydroxy-7-oxo-5 β -cholan-24-ová,
 G. R = CH₃; R¹ = OH; R² = H; R³ = H: methyl-3 α ,7 β -dihydroxy-5 β -cholan-24-at.

† Acidum valproicum

Kyselina valproová



1999

C₈H₁₆O₂M_r 144,21

CAS 99-66-1

Je to kyselina 2-propylpentanová. Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₈H₁₆O₂.

3900 † *Acidum valproicum***Vlastnosti**

Bezbarvá nebo velmi slabě žlutá čirá kapalina, mírně viskózní. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s dichlormethanem. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Index lomu (2.2.5). 1,422 až 1,425.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny valproové CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagełu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *kyseliny valproové CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí stejných objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se rovnoměrně postříká *zelení bromkresolovou RS*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. K 1 ml se přidají 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, 3 ml *vody R* a 1 ml roztoku *dusičnanu kobaltnatého R* (100 g/l); vzniká fialová sraženina, která se po odfiltrování rozpouští v *dichlormethanu R*.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *hydroxidu sodném zředěném RS* a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok \check{Z}_5 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *kyseliny máselné R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 10 mg *kyseliny máselné R* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 200 ml.

Zkoušený roztok. 0,250 g se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 5,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 20 mg zkoušené látky a 20 mg *kyseliny 2-(1-ethylmethyl)-pentanové CRL* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 2-nitrotereftalatu R* (tloušťka filmu 0,5 μ m),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 8 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
s následujícím teplotním programem:

† *Acidum valproicum* 3901

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 10	130	-	izotermicky lineární gradient
	10 - 30	130→190	3	
Nástřikový prostor		220		
Detektor		220		

Nastříkne se po 1 μ l každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku rozlišení mezi píky kyseliny 2-(1-ethylmethyl)-pentanové a kyseliny valproové je nejméně 3,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy píku vnitřního standardu (0,3 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku vnitřního standardu (0,1 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy píku vnitřního standardu.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí v *lihu R 80% (V/V)* a zředí se jím na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok (2 μ g Pb/ml) se připraví zředěním základního roztoku olova (100 μ g Pb/ml) *lihem R 80% (V/V)*.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 25 ml *lihu 96% R*, přidají se 2 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

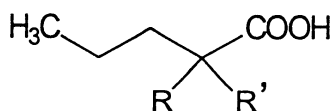
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,42 mg $C_8H_{16}O_2$.

Uchovávání

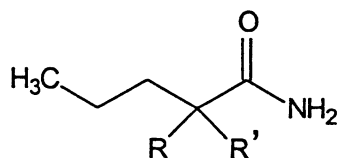
Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

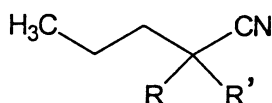
Nečistoty



- A. $R = R' = H$: kyselina pentanová (kyselina valerová),
 B. $R = H, R' = CH_2-CH_3$: kyselina (2*RS*)-2-ethylpentanová,
 C. $R = H, R' = CH(CH_3)_2$: kyselina (2*RS*)-2-(isopropyl)pentanová,
 D. $R = R' = CH_2-CH_2-CH_3$: kyselina 2,2-dipropylpentanová,

3902 *Alaninum*

- E. R = R' = H: pentanamid (valeramid),
 F. R = H, R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2-propylpentanamid,
 G. R = R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2,2-dipropylpentanamid,

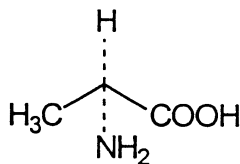


- H. R = R' = H: pentannitril (valeronitril),
 I. R = H, R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2-propylpentannitril,
 J. R = R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2,2-dipropylpentannitril.

Alaninum¹⁾

Alanin

RR99

C₃H₇NO₂M_r 89,09

CAS 56-41-7

Je to kyselina (*S*)-2-aminopropionová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₃H₇NO₂.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

¹⁾ Pharmedica 10, 4, 576 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *alaninu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. 0,5 g se rozpustí ve směsi 1 ml *vody R*, 0,5 ml roztoku *dusitanu sodného R* (100 g/l) a 0,25 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a protřepe se; vyvíjí se plyn. Pak se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,25 ml *jodu RS*. Po asi 30 min se tvoří žlutá sraženina s charakteristickým pachem.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+13,5^\circ$ až $+15,5^\circ$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *alaninu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *alaninu CRL* a 10 mg *glycinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 μ l každého roztoku, vysuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a položí se vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti

3904 Alcohol cetylstearylicus emulsificans A

strany 5 mm a zvlhčí se několika kapkami vody R. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml vody R. K roztoku se přidá 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se přiklopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

80,0 mg se rozpustí ve 3 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 30 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za použití 0,1 ml naftolbenzeinu RS jako indikátoru do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 8,91 mg C₃H₇NO₂.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Alcohol cetylstearylicus emulsificans A

Emulgující cetylstearylalkohol (typ A)

Synonymum. Alcohol cetylicus et stearylicus emulsificans A



1999

Je to směs, která obsahuje nejméně 80,0 % cetylstearylalkoholu a nejméně 7,0 % cetylstearylsíranu sodného, oba počítány na bezvodou látku. Může být přidána vhodná tlumivá přísada.

Vlastnosti

Bílá nebo světle žlutá voskovitá hmota, plátky, vločky nebo granule. Je dobře rozpustný v horké vodě za vzniku opalizujícího roztoku, prakticky nerozpustný ve studené vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,1 g se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 10 ml *trimethylpentanu R*. Protřepe se s 2 ml *lihu R 70% (V/V)* a oddělí se. Spodní vrstva se použije jako zkoušený roztok (b). 1 ml horní vrstvy se zředí *trimethylpentanem R* na 8 ml.

Zkoušený roztok (b). Použije se spodní vrstva získaná při přípravě zkoušeného roztoku (a).

Porovnávací roztok (a). 40 mg *cetylstearylalkoholu R* se rozpustí v 10 ml *trimethylpentanu R*.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *cetylstearylsíranu sodného R* se zahřátím na vodní lázni rozpustí v 10 ml *lihu R 70% (V/V)*.

Na vrstvu se odděleně nanese po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *acetonu R* a *methanolu R* (20 + 40 + 40) po dráze 12 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (50 g/l) v *lihu 96% R* a zahřívá se při 120 °C do objevení skvrn (asi 3 h). Dvě hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídají polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Dvě skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídají polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční časy dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se shodují s dvěma hlavními píky na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Barví žlutě nesvítivý plamen.

D. K 0,3 g se přidá 20 ml *ethanolu R* a za protřepávání se zahřívá na vodní lázni. Směs se ihned zfiltruje, filtrát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 7 ml *vody R*. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml roztoku *modři methylenové R* (1 g/l), 2 ml *dichlormethanu R* a 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a protřepe se; vzniká modré zbarvení spodní vrstvy.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky rozpuštěné ve 25 ml *dichlormethanu R*.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 2,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Cetylstearylalkohol. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Roztok vnitřního standardu. 0,60 g *heptadekanolu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 150 ml.

Zkoušený roztok (a). 0,300 g se rozpustí v 50 ml roztoku vnitřního standardu, přidá se 50 ml *vody R* a čtyřikrát se vytřepává 25 ml *pentanu R*. V případě potřeby se přidá *chlorid sodný R*

3906 *Alcohol cetylstearyllicus emulsificans A*

k usnadnění oddělení vrstev. Spojené organické vrstvy se dvakrát promyjí 30 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltrují se.

Zkoušený roztok (b). 0,300 g se rozpustí v 50 ml ethanolu R, přidá se 50 ml vody R a čtyřikrát se vytřepává se 25 ml pentanu R. V případě potřeby se přidá chlorid sodný R k usnadnění oddělení vrstev. Spojené organické vrstvy se dvakrát promyjí 30 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltrují se.

Porovnávací roztok. 50 mg cetylalkoholu CRL a 50 mg stearylalkoholu CRL se rozpustí v ethanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony z křemenného skla délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm, jejíž vnitřní povrch je pokryt vrstvou polydimethylsiloxanu R,
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100,

s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 20	150 → 250	5	lineární gradient
Nástříkový prostor		250		
Detektor		250		

Látky jsou eluovány v pořadí: cetylalkohol, heptadekanol (vnitřní standard) a stearylalkohol.

Odděleně se nastříkne 1 µl zkoušeného roztoku (a) a 1 µl zkoušeného roztoku (b). Jestliže chromatogram zkoušeného roztoku (b) vykazuje pik se stejným retenčním časem jako pik odpovídající vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), vypočítá se poměr (r) podle vzorce:

$$r = \frac{S_{Ci}}{S_i},$$

v němž značí:

S_{Ci} - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

S_i - plochu píku se stejným retenčním časem, jako má pik odpovídající vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Jestliže r je menší než 300, vypočítá se korigovaná plocha $S_{Ha(kor)}$ píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vzorce:

$$S_{Ha(kor)} = S'_{Ha} - \frac{S_i \cdot S_C}{S_{Ci}},$$

v němž značí:

S'_{Ha} - plochu píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

S_C - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Za stejných podmínek se nastříknou odděleně stejné objemy porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku (a). Určí se totožnost piků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) porovnáním jejich retenčních časů s píky na chromatogramu porovnávacího roztoku a stanoví se plocha každého píku.

Obsah cetylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

Alcohol cetylstearylicus emulsificans B 3907

$$S_A \frac{100 \cdot m_H}{S_{Ha(kor)} \cdot m},$$

v němž značí:

S_A - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

$S_{Ha(kor)}$ - korigovanou plochu píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

m_H - hmotnost vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

m - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech.

Obsah stearylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$S_B \frac{100 \cdot m_H}{S_{Ha(kor)} \cdot m},$$

v němž značí:

S_B - plochu píku odpovídajícího stearylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Obsah cetylstearylalkoholu v procentech odpovídá součtu procentuálního obsahu cetylalkoholu a stearylalkoholu.

Cetylstearylsíran sodný. 0,300 g se disperguje ve 25 ml *dichlormethanu R*, přidá se 50 ml *vody R* a 10 ml *dimidiumbromidu s modří sulfanovou RS*. Titruje se *benzetoniumchloridem 0,004 mol/l VS* za použití ultrazvukové vibrace a zahřívání. Před každým přidáním odměrného roztoku se nechají vrstvy oddělit a titruje se do změny barvy spodní vrstvy z růžové na šedou.

1 ml *benzetoniumchloridu 0,004 mol/l VS* odpovídá 1,434 mg cetylstearylsíranu sodného.

Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, název a koncentrace přidané tlumivé přísady.

Alcohol cetylstearylicus emulsificans B

Emulgující cetylstearylalkohol (typ B)

Synonymum. Alcohol cetyllicus et stearylicus emulsificans B



1999

Je to směs, která obsahuje nejméně 80,0 % cetylstearylalkoholu a nejméně 7,0 % laurylsíranu sodného, oba počítány na bezvodou látku. Může být přidána vhodná tlumivá přísada.

Vlastnosti

Bílá nebo světle žlutá voskovitá hmota, plátky, vločky nebo granule. Je dobře rozpustný v horké vodě za vzniku opalizujícího roztoku, je prakticky nerozpustný ve studené vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C a D.

3908 Alcohol cetylstearyllicus emulsificans B

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,1 g se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 10 ml *trimethylpentanu R*. Protřepe se s 2 ml *lihu R 70% (V/V)* a oddělí se. Spodní vrstva se použije jako zkoušený roztok (b). 1 ml horní vrstvy se zředí *trimethylpentanem R* na 8 ml.

Zkoušený roztok (b). Použije se spodní vrstva získaná při přípravě zkoušeného roztoku (a).

Porovnávací roztok (a). 40 mg *cetylstearylalkoholu R* se rozpustí v 10 ml *trimethylpentanu R*.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *laurylsíranu sodného R* se zahřátím na vodní lázni rozpustí v 10 ml *lihu R 70% (V/V)*.

Na vrstvu se odděleně nanese po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *acetonu R* a *methanolu R* (20 + 40 + 40) po dráze 12 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (50 g/l) v *lihu 96% R* a zahřívá se při 120 °C do objevení skvrn (asi 3 h). Dvě hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídají polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Jedna ze skvrn na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a zbarvením hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční časy dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se shodují s dvěma hlavními píky na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Barví žlutě nesvítivý plamen.

D. K 0,3 g se přidá 20 ml *ethanolu R* a za protřepávání se zahřívá na vodní lázni. Směs se ihned zfiltruje, filtrát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 7 ml *vody R*. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml roztoku *modři methylenové R* (1 g/l), 2 ml *dichlormethanu R* a 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a protřepe se; vzniká modré zbarvení spodní vrstvy.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3,0; stanoví se s 2,00 g rozpuštěnými v 25 ml *dichlormethanu R*.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 2,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Cetylstearylalkohol. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Roztok vnitřního standardu. 0,60 g *heptadekanolu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 150 ml.

Zkoušený roztok (a). 0,300 g se rozpustí v 50 ml roztoku vnitřního standardu, přidá se 50 ml *vody R* a čtyřikrát se vytřepává s 25 ml *pentanu R*. V případě potřeby se přidá *chlorid sodný R* k usnadnění oddělení vrstev. Spojené organické vrstvy se dvakrát promyjí 30 ml *vody R*, vysuší se *síranem sodným bezvodým R* a zfiltrují se.

Alcohol cetylstearyllicus emulsificans B 3909

Zkoušený roztok (b). 0,300 g se rozpustí v 50 ml *ethanolu R*, přidá se 50 ml *vody R* a čtyřikrát se vytřepává s 25 ml *pentanu R*. V případě potřeby se přidá *chlorid sodný R* k usnadnění oddělení vrstev. Spojené organické vrstvy se dvakrát promyjí 30 ml *vody R*, vysuší se *síranem sodným bezvodým R* a zfiltrují se.

Porovnávací roztok. 50 mg *cetylalkoholu CRL* a 50 mg *stearylalkoholu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony z křemenného skla délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřním povrchem pokrytým vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
 - *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
 - plamenoionizačního detektoru,
 - dělicího poměru 1 : 100,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 20	150 → 250	5	lineární gradient
Nástřikový prostor		250		
Detektor		250		

Látky jsou eluovány v pořadí: cetylalkohol, heptadekanol (vnitřní standard) a stearylalkohol.

Odděleně se nastříkne 1 µl zkoušeného roztoku (a) a 1 µl zkoušeného roztoku (b). Jestliže chromatogram zkoušeného roztoku (b) vykazuje pík se stejným retenčním časem jako pík odpovídající vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), vypočítá se poměr (r) podle vzorce:

$$r = \frac{S_{Ci}}{S_i},$$

v němž značí:

S_{Ci} - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

S_i - plochu píku se stejným retenčním časem, jako má pík odpovídající vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Jestliže r je menší než 300, vypočítá se korigovaná plocha $S_{Ha(kor)}$ píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vzorce:

$$S_{Ha(kor)} = S'_{Ha} - \frac{S_i \cdot S_C}{S_{Ci}},$$

v němž značí:

S'_{Ha} - plochu píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

S_C - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Za stejných podmínek se nastříknou odděleně stejné objemy porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku (a). Určí se totožnost píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) porovnáním jejich referenčních časů s píky na chromatogramu porovnávacího roztoku a stanoví se plocha každého píku.

Obsah cetylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

3910 *Alcohol isopropylicus*

$$S_A \frac{100 \cdot m_H}{S_{Ha(kor)} \cdot m},$$

v němž značí:

S_A - plochu píku odpovídajícího cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

$S_{Ha(kor)}$ - korigovanou plochu píku odpovídajícího vnitřnímu standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

m_H - hmotnost vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

m - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech.

Obsah stearylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$S_B \frac{100 \cdot m_H}{S_{Ha(kor)} \cdot m},$$

v němž značí:

S_B - plochu píku odpovídajícího stearylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Obsah cetylstearylalkoholu v procentech odpovídá součtu procentuálního obsahu cetylalkoholu a stearylalkoholu.

Laurylsíran sodný. 0,300 g se disperguje ve 25 ml *dichlormethanu R*, přidá se 50 ml *vody R* a 10 ml *dimidiumbromidu s modří sulfanovou RS*. Titruje se *benzetoniumchloridem 0,004 mol/l VS* za použití ultrazvukové vibrace a zahřívání. Před každým přidáním odměrného roztoku se nechají vrstvy oddělit a titruje se do změny barvy spodní vrstvy z růžové na šedou.

1 ml *benzetoniumchloridu 0,004 mol/l VS* odpovídá 1,154 mg laurylsíranu sodného.

Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, název a koncentrace přidané tlumivé přísady.

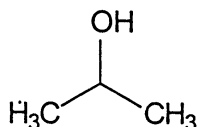
Alcohol isopropylicus

Isopropylalkohol

Synonymum. Alcoholum isopropylicum



1999

 $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ M_r 60,10

CAS 67-63-0

Je to 2-propanol.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina. Je mísitelný s vodou, s lihem 96% a s etherem.

Zkoušky totožnosti

A. Relativní hustota (2.2.5). 0,785 až 0,789.

B. Index lomu (2.2.6). 1,376 až 1,379.

C. K 1 ml se přidají 2 ml *dichromanu draselného RS* a 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a směs se vaří. Vyvíjející se páry změní zabarvení kousku filtračního papíru navlhčeného *nitrobenzaldehydem RS* do zelena. Filtrační papír se zvlhčí *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*; zabarvení se změní na modré.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*). 1 ml se zředí vodou R na 20 ml. Po 5 min je roztok čirý (2.2.1).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 25 ml se 5 min mírně vaří. Přidá se 25 ml vody prosté oxidu uhličitého R a nechá se ochladit za chránění před oxidem uhličitým ze vzduchu. Přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na světle růžové se spotřebuje nejvýše 0,6 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Benzen a příbuzné látky. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok (a). Zkoušená látka.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml *2-butanolu RI* se zředí zkoušeným roztokem (a) na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (a) na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml *2-butanolu RI* a 0,5 ml *1-propanolu R* se zředí zkoušeným roztokem (a) na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (a) na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,10 ml *benzenu R* se zředí zkoušeným roztokem (a) na 100,0 ml. 0,20 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (a) na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm, jejíž vnitřní povrch je pokryt *poly[(fenyl)(kvanopropyl)][dimethyl]siloxanem R* (tloušťka filmu 1,8 μm),
 - *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu, s dělicím poměrem 1 : 5, s lineární rychlostí 35 cm/s, s průtokovou rychlostí 1,4 ml/min,
 - *dusíku pro chromatografii R* nebo *helia pro chromatografii R* jako pomocného plynu,
 - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 12	40	-	izotermicky lineární gradient izotermicky
	12 - 32	40 → 240	10	
	32 - 42	240	-	
Nástřikový prostor		280	-	
Detektor		280	-	

3912 Alcohol isopropylicus

Nastříkne se 1 μ l porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou píků následujících hlavní pík byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (1-propanol) a druhým píkem (2-butanol) je nejméně 10. Nastříkne se 1 μ l zkoušeného roztoku (b). Na získaném chromatogramu plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího 2-butanolu, není větší než plocha píku 2-butanolu (0,1 % *V/V*) a součet ploch píků nepřekračuje trojnásobek plochy píku 2-butanolu (0,3 % *V/V*).

Nastříkne se 1 μ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku následujícího hlavního píku s retenčním časem asi 10 min byla nejméně 10 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 1 μ l zkoušeného roztoku (a). Plocha žádného píku benzenu není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 μ l/ml).

Peroxidy. Do 12ml zkumavky se zabroušenou zátkou o průměru asi 15 mm se převede 8 ml škrobu s jodidem draselným RS a zcela se doplní zkoušenou látkou. Intenzivně se třepe a nechá se 30 min stát za chránění před světlem; nevznikne žádné zabarvení.

Netěkavé látky. Zkouška se provede až po ověření, že zkoušená látka vyhovuje zkoušce Peroxidy. 100 g se odpaří do sucha na vodní lázni a suší se v sušárně při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 2 mg (20 μ g/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %, stanoví se s 5,000 g zkoušené látky.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

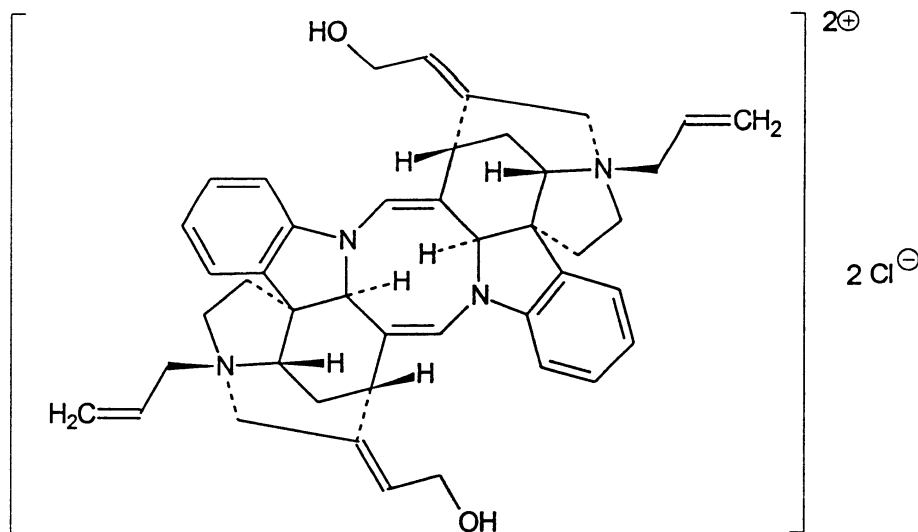
Nečistoty

- A. aceton,
- B. benzen,
- C. diisopropylether,
- D. diethylether,
- E. methanol,
- F. propanol.

† *Alcuronii chloridum* 3913† **Alcuronii chloridum**

Alkuroniumchlorid

1999

 $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$ M_r 737,81

CAS 15180-03-7

Je to (23*E*,26*E*)-(1*R*,3*aS*,10*S*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*bS*,21*S*,22*aS*)-23,26-bis(2-hydroxyethyliden)-1,12-diprop-2-enyl-2,3,11,11*a*,13,14,22,22*a*-oktahydro-10*H*-1,21:10,12-diethano-19*aH*,20*bH*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm'*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazoliumdichlorid (4,4'-didimethyl-4,4'-diallyltoxiferinium-I-dichlorid). Počítáno na bezvodou a 2-propanolu prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{44}H_{50}Cl_2N_4O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě šedobílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96 %, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Zkoušky totožnosti, zkoušky na čistotu a stanovení obsahu se provádějí co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *alkuroniumchloridu* CRL.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

3914 † Alcuronii chloridum

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,250 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆, HŽ₆ nebo H₆ (2.2.2, Metoda I).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně methylové RS a 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví červeně. Přidá se 0,04 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS, roztok se zbarví žlutě.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -430° až -451° ; počítáno na bezvodou a 2-propanolu prostou látku. Měří se roztok S.

2-Propanol. Nejvýše 1,0 % (2.4.24, Systém A).

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí methanolem R na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg alkuroniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí methanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 2 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí methanolem R na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů roztoku chloridu sodného R (58,4 g/l), amoniaku zředěného RS2 a methanolu R (15 + 35 + 50) po dráze 15-cm. Vrstva se suší na vzduchu 10 min a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Potom se vrstva postříká hexanitratoceričitanem amonným 0,1 mol/l RS. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle před a po postříkání. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpouští 1 min mícháním v 70 ml acetahydridu R. Přidá se 0,1 ml violeti krystalové RS jako indikátoru a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS, až se barva změní z fialovomodré na zelenomodrou.

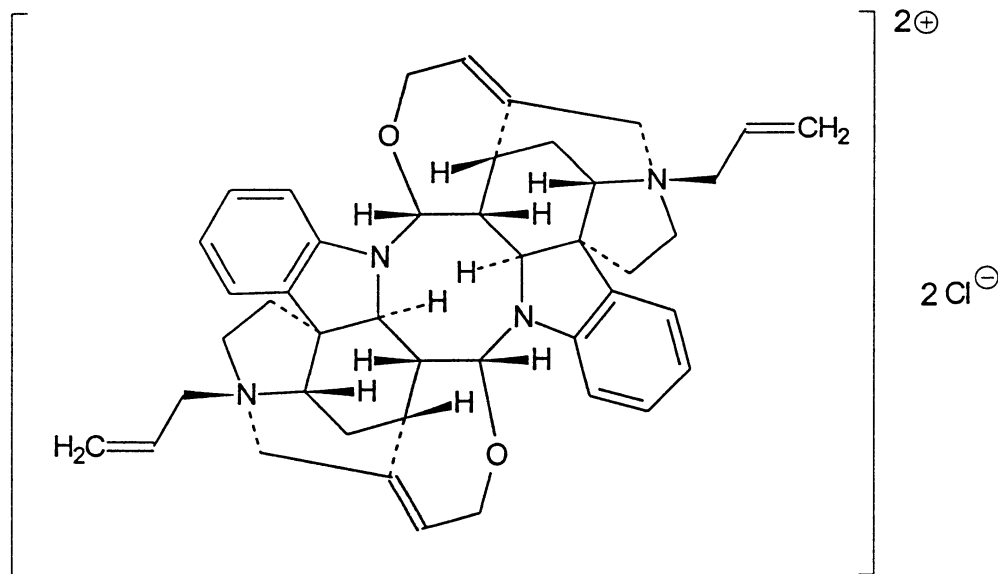
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 36,9 mg C₄₄H₅₀Cl₂N₄O₂.

Uchovávání

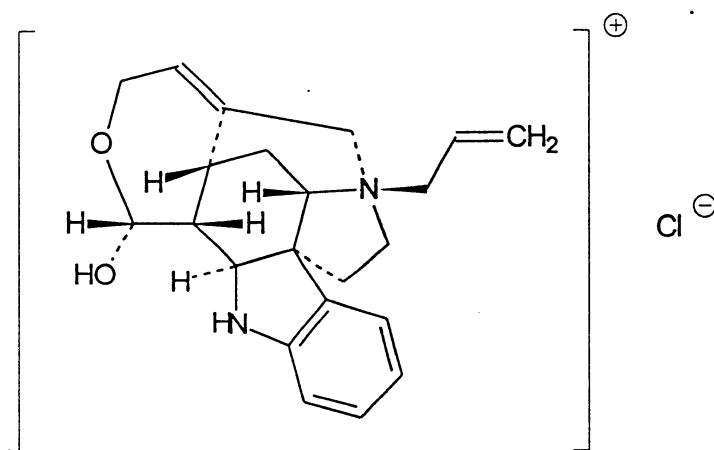
Ve vzduchotěsném obalu pod dusíkem, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty



- A. (1*R*,3*aS*,9*R*,9*aR*,10*R*,11*aS*,12*R*,14*aS*,19*aS*,20*R*,20*aR*,20*bS*,21*R*,22*aS*)-1,12-diprop-2-enyl-2,3,9*a*,11,11*a*,13,14,19*a*,20*a*,20*b*,22,22*a*-dodekahydro-10*H*,21*H*-1,23:12,27-dimethano-9,10:20,21-bis(epoxyprop[2]eno)-9*H*,20*H*-[1,5]diazocino[1,2,3-*lm*:5,6,7-*l'm'*]dipyrrolo[2,3-*d*:2',3'-*d'*]dikarbazoliumdichlorid(4,4'-diallylkarakurinium-V-dichlorid),

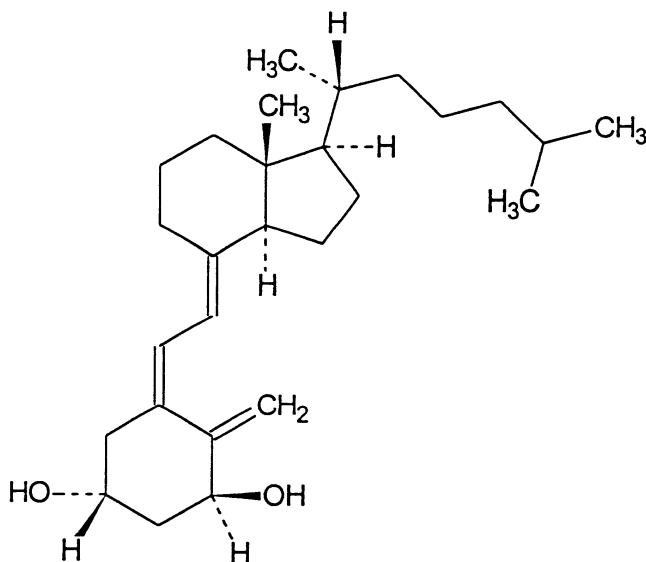


- B. (4*bS*,7*R*,7*aS*,8*aR*,13*R*,13*aR*,13*bS*)-3-hydroxy-7-prop-2-enyl-5,6,7*a*,8,8*a*,11,13,13*a*,13*b*,14-dekahydro-7,9-methano-7*H*-oxepino[3,4-*a*]pyrrolo[2,3-*d'*]karbazoliumchlorid[(4*R*,17*R*)-4-allyl-17,18-epoxy-17-hydroxy-19,20-didehydrokuraniumchlorid][(17*S*)-4-allyl-19,20-didehydro-17-hydroxy-17,18-epoxykuraniumchlorid].

3916 †† *Alfacalcidolum*†† **Alfacalcidolum**

Alfakalcidol

1999

 $C_{27}H_{44}O_2$ M_r 400,64

CAS 41294-56-8

Je to (5*Z*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-1 α ,3 β -diol. Obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{27}H_{44}O_2$.

Vlastnosti

Bílé nebo téměř bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96 %, dobře rozpustný v mastných olejích. Je citlivý na vzduch, teplo a světlo.

V roztoku může dojít k reverzibilní izomerizaci na pre-alfakalcidol v závislosti na teplotě a času.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. alfakalcidolu*. Měří se tablety připravené z 2 mg zkoušené látky a 150 mg bromidu draselného R.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku se retenčním časem a velikostí shoduje s hlavním píkem na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29), popsaná v odstavci Stanovení obsahu.

Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se metodou vnitřní normalizace vypočítá procentuální obsah příbuzných látek, kromě pre-alfakalcidolu, které jsou eluovány po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času alfakalcidolu. Obsah jednotlivých příbuzných látek je nejvýše 0,5 % a součet všech příbuzných látek je nejvýše 1,0 %; nepřihlíží se k píkům menším než 0,1 %.

Stanovení obsahu

Provede se co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 1,0 mg se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

Porovnávací roztok (a). 1,0 mg *alfakalcidolu CRL* se rozpustí bez zahřátí v 10,0 ml mobilní fáze.

Porovnávací roztok (b). Porovnávací roztok (a) se zředí 100násobně mobilní fází.

Porovnávací roztok (c). 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zahřívají 2 h ve vodní lázni při 80 °C pod zpětným chladičem a potom se ochladí.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R2* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *amoniaku 17,5% RS, vody R a acetonitrilu R* (1 + 200 + 800), s průtokovou rychlostí 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 100 μl porovnávacího roztoku (c) a zaznamená se chromatogram, celkem šestkrát. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas pre-alfakalcidolu, vztaženo k alfakalcidolu, asi 1,3. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka odezvy alfakalcidolu je nejvýše 1 % a rozlišení mezi píky pre-alfakalcidolu a alfakalcidolu je nejméně 4,0. V případě potřeby se upraví poměry složek v mobilní fázi tak, aby bylo dosaženo požadovaného rozlišení.

Nastříkne se 100 μl porovnávacího roztoku (a) a 100 μl porovnávacího roztoku (b) a zaznamenají se chromatogramy. Nastříkne se 100 μl zkoušeného roztoku a zaznamenává se chromatogram za stejných podmínek po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku.

Uchovávání

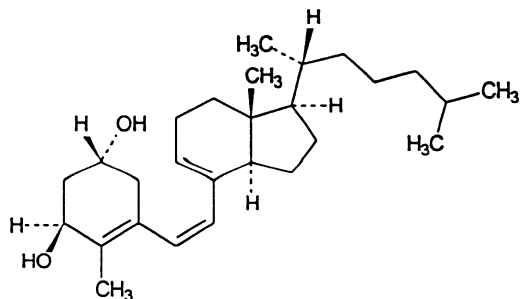
Ve vzduchotěsných obalech, pod dusíkem, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Obsah otevřeného obalu se ihned spotřebuje.

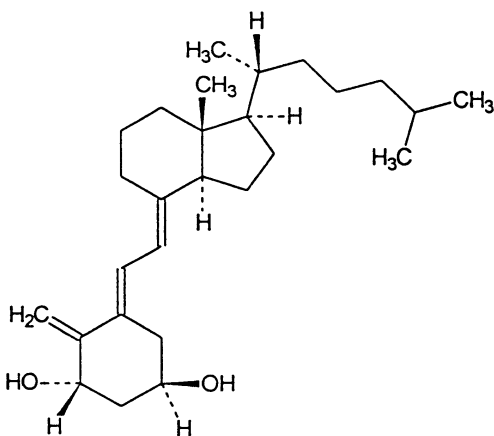
Venenum.

3918 †† *Alfacalcidolum*

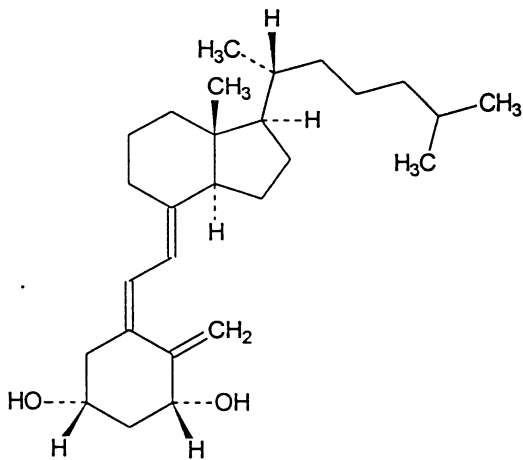
Nečistoty



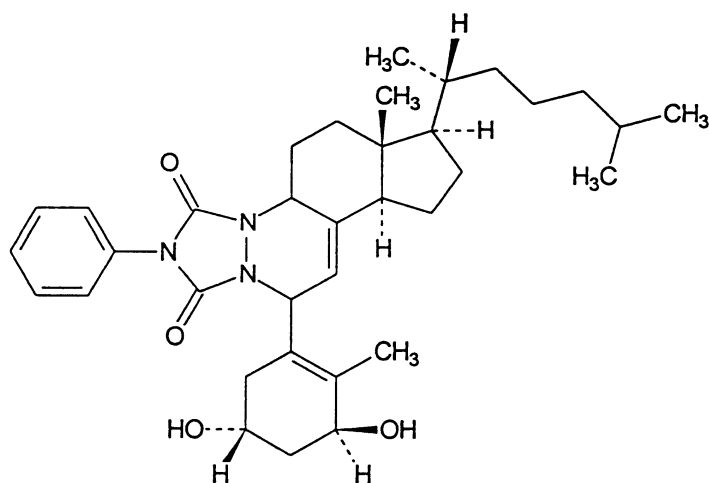
A. (6*Z*)-9,10-sekcholesta-5(10),6,8-trien-1 α ,3 β -diol (pre-alfakalcidol),



B. (5*E*,7*E*)-9,10-sekcholesta-5,7,10(19)-trien-1 α ,3 β -diol (trans-alfakalcidol),



C. (5*Z*,7*E*)-9,10-sekcholesta-5,7,10(19)-trien-1 β ,3 β -diol (1 β -kalcidol),

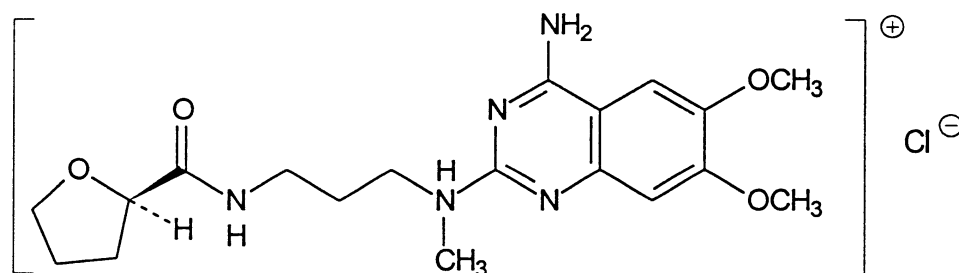


D. triazolinový adukt pre-alfakalcidolu.

† *Alfuzosini hydrochloridum*

Alfuzosiniumchlorid

1999



a enantiomer

$C_{19}H_{28}ClN_5O_4$

M_r 425,92

CAS 81403-68-1

Je to (*RS*)-*N*-(4-amino-6,7-dimethoxychinazolin-2-yl)-*N*-methyl-*N*-{3-[(2-tetrahydrofuroyl)amino]propyl}amoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{28}ClN_5O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, slabě hygroskopický. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96 %, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

3920 † *Alfuzosini hydrochloridum***Zkoušky totožnosti**

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *alfuzosiniumchloridu CRL*.
- B. K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,500 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 6,0. Měří se čerstvě připravený roztok S.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *alfuzosin nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25 ml. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fázi na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm, naplněné mikročásticemi *silikagelu oktadecylsilanizovaného pro chromatografii R* (5 μm), s uhlíkovým zatížením 18,5 %, specifickou povrchovou plochou 320 m^2/g , velikostí pórů 15 nm a se zakončením hexamethyldisilanu,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R*, *acetonitrilu R* a roztoku chloristanu sodného (1 + 20 + 80) připraveného následujícím způsobem: 5,0 ml *kyseliny chloristé R* se zředí *vodou R* na 900 ml, pH se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 3,5 a doplní se na 1000 ml *vodou R*; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška dvou píků byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma píky odpovídajícími *alfuzosinu* a *alfuzosinu nečistotě A* není menší než 3,0.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,6násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,025násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 2,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

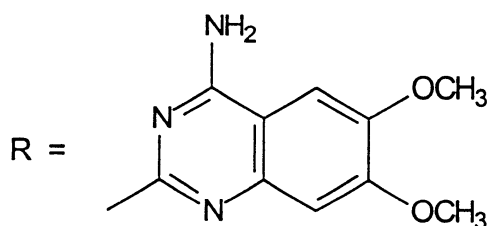
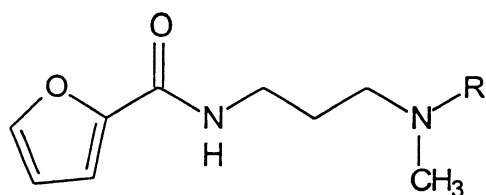
0,300 g se rozpustí ve směsi 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 40 ml *acetanhydridu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 42,59 mg $C_{19}H_{28}ClN_5O_4$.

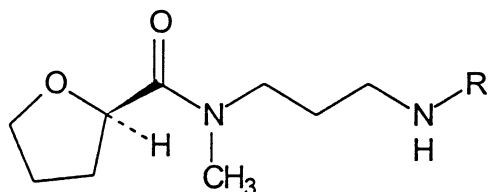
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

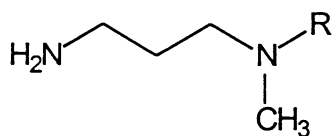


- A. N-{3-[(4-amino-6,7-dimethoxychinazolin-2-yl)(methyl)amino]propyl}furan-2-karboxamid,
B. R-Cl: 2-chlor-6,7-dimethoxychinazolin-4-amin,

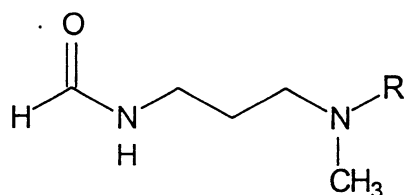


a enantiomer

- C. (RS)-N-{3-[(4-amino-6,7-dimethoxychinazolin-2-yl)amino]propyl}-N-methyltetrahydrofuran-2-karboxamid,



- D. N-(4-amino-6,7-dimethoxychinazolin-2-yl)-N-methylpropan-1,3-diamin,



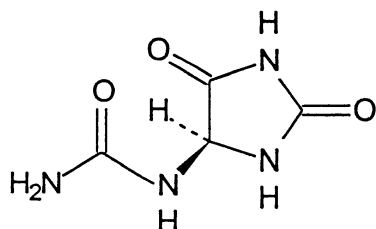
- E. N-{3-[(4-amino-6,7-dimethoxychinazolin-2-yl)(methyl)amino]propyl}formamid.

3922 *Allantoinum***Allantoinum**

Alantoin



1999



a enantiomer

 $C_4H_6N_4O_3$ $M, 158,12$

CAS 97-59-6

Je to (*RS*)-(2,5-dioxoimidazolidin-4-yl)močovina. Obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_4H_6N_4O_3$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96 %.
Taje asi při 225 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: *A*.

Alternativní sestava zkoušek: *B, C a D*, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *alantoinu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** 20 mg se vaří se směsí 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 1 ml *vody R*. Po ochlazení se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. K 0,1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml roztoku *bromidu draselného R* (100 g/l), 0,1 ml roztoku *resorcinolu R* (20 g/l) a 3 ml *kyseliny sírové R*. Zahřívá se 5 min až 10 min na vodní lázni; vzniká tmavě modré zbarvení, které se mění na červené po ochlazení a smíchání s asi 10 ml *vody R*.
- D.** Asi 0,5 g se zahřívá; vznikají páry amoniaku, které barví *papír lakmusový červený R* modře.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5,0 ml roztoku S se přidá 5,0 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 0,1 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Po přidání 0,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* je roztok červený.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Redukující látky. 1,0 g se třepe 2 min s 10 ml vody R. Zfiltruje se a přidá se 1,5 ml manganistanu draselného 0,02 mol/l VS. Vzniklé fialové zbarvení je stálé nejméně 10 min.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy celulosy pro chromatografii R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se zahřátím rozpustí v 5,0 ml vody R. Po ochlazení se zředí methanolem R na 10 ml. Připraví se těsně před použitím.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů methanolu R a vody R na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg allantoinu CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu R a vody R a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg močoviny R se rozpustí v 10 ml vody R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). Smíchá se 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Na vrstvu se nanese odděleně 10 μ l zkoušeného roztoku (a) a po 5 μ l zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (a), porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c) a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (15 + 25 + 60) po dráze 10 cm. Po usušení na vzduchu se postříká roztokem dimethylaminobenzaldehydu R (5 g/l) ve směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a methanolu R (1 + 3). Vrstva se usuší v proudu horkého vzduchu a za 30 min se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,1 %. 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

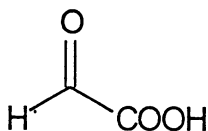
Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,1200 g se rozpustí ve 40 ml vody R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 15,81 mg C₄H₆N₄O₃.

Nečistoty



- A. kyselina glyoxylová,
B. močovina.

3924 *Allii sativi bulbus pulveratum*

Allii sativi bulbus pulveratum

Cibule česneku práškováná



1999

Synonymum. Bulbus alii sativi pulveratum

Získává se z cibule druhu *Allium sativum* L. řezáním, vymrazováním nebo sušením při teplotě nepřevyšující 65 °C a práškováním. Obsahuje nejméně 0,45 % allicinu ($C_6H_{10}OS_2$; M_r 162,3), počítáno na vysušenou drogu.

Vlastnosti

Světle nažloutlý prášek.

Mikroskopický popis, viz Zkouška totožnosti A.

Zkoušky totožnosti

A. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Jsou patrné četné úlomky parenchymu a skupiny šroubovitě nebo kruhovitě ztlustlých cév, provázených tenkostěnným parenchymem.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se smíchá s 5,0 ml *methanolu R*, protřepává se 60 s a pak se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 5 mg *alaninu R* se rozpustí v 10 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku. Vytvoří se směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *1-propanolu R*, *vody R* a *ethanolu R* (20 + 20 + 20 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *ninhydrinu R* (2 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *1-butanolu R* (5 + 95), suší se 5 min až 10 min při 105 °C až 110 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části fialová skvrna (alanin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku fialově až hnědočerveně zbarvená skvrna (alliin) odpovídá polohou skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku; nad a pod touto skvrnou jsou další slabě fialové skvrny.

Zkoušky na čistotu

Škrob. Práškováná droga se pozoruje pod mikroskopem ve *vodě R*; po přidání *jodu RS1* nevznikne modré zbarvení.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 7,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 5,0 %.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití *butylparabenu R* jako vnitřního standardu. Stanovení se provádí co nejrychleji.

Roztok vnitřního standardu. 20,0 mg *butylparabenu R* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 0,800 g se smíchá s 20,0 ml vody R a směs se homogenizuje 5 min na ultrazvukové lázni při 4 °C. Pak se nechá stát 30 min při pokojové teplotě a 30 min se odstředí. 10,0 ml supernatantní tekutiny se zředí na 25,0 ml směsí objemových dílů roztoku kyseliny mravenčí bezvodé R 1% (V/V) a methanolu R (40 + 60) (zásobní roztok). Protřepe se a 5 min se odstředí. Do odměrné baňky se převede 0,50 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se zásobním roztokem na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm, naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm), spojené s nerezovou ocelovou předkolonou délky 20 mm a vnitřního průměru 4 mm, naplněnou silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku kyseliny mravenčí bezvodé R 1% (V/V) a methanolu R (40 + 60); průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- injektorové smyčky,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se odděleně 1 μl roztoku vnitřního standardu a 10 μl zkoušeného roztoku. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku butylparabenu na chromatogramu zkoušeného roztoku byla asi 50 % celé stupnice zapisovače.

Vypočítá se obsah allicinu (C₆H₁₀OS₂) v procentech podle vzorce:

$$\frac{S_1 \cdot m_2 \cdot 22,75}{S_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

S₁ - plochu píku allicinu (nejvýraznější pík),

S₂ - plochu píku butylparabenu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

m₁ - hmotnost drogy v gramech,

m₂ - hmotnost butylparabenu v gramech ve 100,0 ml roztoku vnitřního standardu. 1 mg butylparabenu odpovídá 8,65 mg allicinu.

Uchovávání

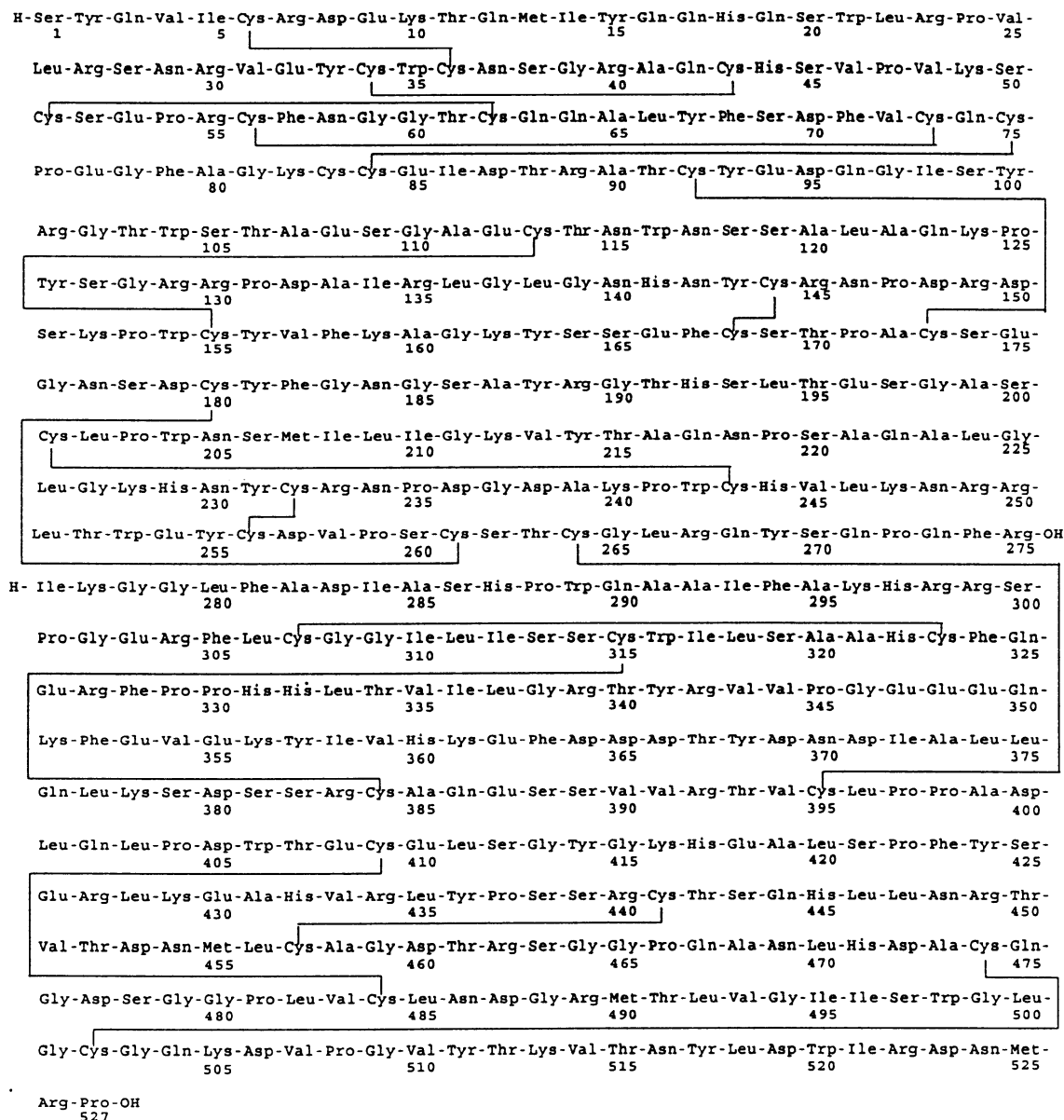
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

3926 † *Alteplasm ad iniectabile*† **Alteplasm ad iniectabile**

Alteplasa pro injekci



1999



CAS 105857-23-6

Je to sterilní lyofilizovaná alteplasa, tkáňový plazminogenný aktivátor vyrobený technologií založenou na rekombinaci DNK. Její účinnost je nejméně 500 000 m.j. v miligramu bílkoviny.

Tkáňový plazminogenný aktivátor se váže na fibrinová vlákna a aktivuje plazminogen k tvorbě plazminu a k rozpouštění fibrinových vláken nebo krevních sraženin.

Alteplasa se skládá z 527 aminokyselin a má relativní molekulovou hmotnost 59 050 bez uvažování uhlovodíků z poloviny vázaných v polohách Asn 117, Asn 184 a Asn 448. Celková relativní molekulová hmotnost je asi 65 000.

Alteplasa se plazminem štěpí mezi aminokyselinami v polohách 275 a 276 na dva řetězce (řetězec A a B), které jsou spojeny disulfidovou vazbou mezi Cys 264 a Cys 395. Jednořetězcová i dvouřetězcová forma mají srovnatelnou fibrinolytickou účinnost *in vitro*.

Výroba

Připravuje se biotechnologicky v buněčné kultuře metodou založenou na rekombinaci DNK; kultivace probíhá v médiu bez séra. Přípravek vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

Postup čištění je zaměřen na účinné odstranění možných nečistot, jako jsou antibiotika, DNK a kontaminace bílkoviny pocházejícími z hostitelské buňky a z výrobního média a možná virová kontaminace.

Je-li uchovávána nerozplněná, dokáže se její stabilita (udržení účinnosti) v zamýšlených podmínkách uchovávání.

Výroba, čištění a stejnorodost přípravku se kontrolují dále popsány analytickými metodami běžně prováděnými při mezioperační kontrole.

Obsah bílkovin. Koncentrace bílkovin ve zkoušeném přípravku se stanoví změřením absorbance (2.2.25) při 280 nm a 320 nm proti předepsanému tlumivému roztoku. Je-li třeba, zředí se vzorky předepsaným tlumivým roztokem. Při výpočtu obsahu bílkovin se absorbance tlumivého roztoku odečte od absorbance roztoků vzorků. Pro výpočet koncentrace alteplasy se hodnota rozdílu absorbancí $A_{280} - A_{320}$ dělí specifickým absorpčním koeficientem, jehož hodnota pro alteplasu je 1,9.

Účinnost. Účinnost se stanoví *in vitro* z času potřebného k rozpuštění fibrinových vláken, jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti. Specifická účinnost nerozplněné alteplasy je přibližně 580 000 m.j. v miligramu zkoušené látky.

N-terminální sekvence. Studium N-terminální sekvence se používá k ověření správného N-terminálního pořadí a k semikvantitativnímu určení dodatečného rozštěpení molekuly alteplasy, např. v poloze AA 275 - 276 nebo v poloze AA 27 - 28. N-terminální sekvence odpovídá sekvenci lidského buněčného aktivátoru plazminogenu.

Izoelektrická fokusace. Mikroheterogenní stejnorodost šarží zkoušeného přípravku vzniklá glykosylací molekuly alteplasy se může dokázat izoelektrickou fokusací (IEF). Vzorek se rozdělí při hodnotě pH mezi 6,5 a 8,5 do deseti hlavních a několika vedlejších zón. Podmínek denaturace se využije ke zřetelnému rozdělení různě nabitých variant alteplasy. Šířka distribuce náboje závisí na populaci molekul, které se liší jemnou strukturou dvou a tří postranních řetězců komplexů uhlovodíkových zbytků s různým stupněm substituce sialovými kyselinami. Zóny zkoušených roztoků odpovídají zónám porovnávacího roztoku alteplasy.

Stanovení jednořetězcové alteplasy. Alteplasa vyrobená z buněk vaječnicku čínské křečka v kultivačním médiu bez séra má převážně jeden řetězec. Jednořetězcová formace může být oddělena od dvouřetězcové gelovou permeační chromatografií za redukčních podmínek, které jsou popsány v odstavci Stanovení obsahu jednořetězcové látky, viz Zkoušky na čistotu. Obsah jednořetězcové alteplasy v nerozplněném přípravku je vyšší než 60 %.

Tryptické mapování peptidů. Primární struktura molekuly alteplasy se ověří tryptickým mapováním peptidů, jak je popsáno ve zkoušce totožnosti B. Redukovaná a karboxymetylovaná

3928 † *Alteplasm ad iniectabile*

molekula je štěpena trypsinem asi na padesát peptidů, které se stanoví kapalinovou chromatografií na reverzní fázi. Získá se charakteristický chromatogram (otisk palce). Totožnost tryptického záznamu vzorku zkoušené látky s profilem dobře charakterizovaného referenčního přípravku je nepřímým potvrzením sekvence aminokyselin, neboť tímto citlivým postupem mohou být zjištěny i ojedinělé výměny aminokyselin v jednotlivých peptidech. Případně z peptidové mapy může být izolován komplex složek glykopeptidů a rozdělen v druhém směru buď kapalinovou chromatografií na reverzní fázi, nebo kapilární elektroforézou. Touto dvojrozměrnou separací glykopeptidových variant se může ověřit mikroheterogenní stejnorodost glykosylace mezi šaržemi.

Tryptická peptidová mapa vzorků zkoušené látky má odpovídat tryptické peptidové mapě referenčního přípravku.

Obsah monomeru. Obsah monomeru se stanoví gelovou permeační chromatografií za neredukujících podmínek, jak je popsáno ve zkoušce Obsah monomeru (viz Zkoušky na čistotu). Obsah monomeru v přípravku je vyšší než 95 %.

Obsah alteplasy typu I a typu II. Buňky vaječníku čínského křečka produkují dvě glykosylační varianty alteplasy. Typ I obsahuje jednu polymannosní glykosylaci v poloze Asn 117 a dva glykosylační komplexy umístěné v polohách Asn 184 a Asn 448. Typ II je glykosylován pouze v polohách Asn 117 a Asn 448.

Poměr obou typů je stálý: 45 % až 65 % typu I a 35 % až 55 % typu II. Obsah typu I a typu II se může stanovit denzitometricky odečtením z gelu SDS-PAGE (elektroforéza na polyakrylamidovém gelu s dodecylsíránem sodným). Plazminem upravené vzorky alteplasy, které jsou redukovány a karboxymethylovány před nanesením na gel, se rozdělí do tří zón: A-řetězcová alteplasa typu I (AA 1-275), A-řetězcová alteplasa typu II (AA 1-275) a B-řetězcová alteplasa (AA 276-527). Poměr alteplas typu I a typu II se stanoví z kalibrační křivky, která se získá denzitometricky z definovaných směsí standardů purifikovaných alteplas typu I a typu II.

SDS-PAGE. SDS-PAGE (barvené stříbrem) se používá k důkazu čistoty přípravku nerozplněné zkoušené látky a neporušenosti její molekuly. Na gelech SDS-PAGE se vzorky nerozplněné zkoušené látky nejsou v porovnání s referenční látkou patrné zóny odpovídající dalším bílkovinám nebo rozkladným produktům při nanáše 2,5 µg bílkoviny zkoušené látky a prahu detekce 5 ng pro bílkoviny (hovězího sérumalbuminu).

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 1 m.j. endotoxinu v miligramu zkoušené látky.

Sialové kyseliny. Nejdříve se dialyzují vzorky a referenční látka tlumivým roztokem (roztok *chloridu sodného R* (8,9 g/l) a roztok *octanu sodného R* (4,1 g/l), hodnota pH 5,5) za použití membrány, jejíž práh propustnosti pro globuliny odpovídá relativní molekulové hmotnosti 10 000. Po dialyze se stanoví koncentrace bílkovin. Na 1 ml roztoku bílkoviny se přidá 5 µl roztoku *chloridu vápenatého R* 19,98% a na miligram bílkoviny se přidá 10 milijednotek neuraminidasy. Tento roztok se asi 17 h inkubuje při 37 °C.

Připraví se řada roztoků o koncentracích 1,56 mg/ml až 25,0 mg/ml za použití roztoku *kyseliny N-acetylneuraminové R* (50 mg/ml). Duplicitně se pipetou odměří po 0,2 ml každého vzorku přípravku a porovnávacího vzorku bílkoviny do každé zkumavky. Také se do každé zkumavky odměří po 0,2 ml od každé koncentrace porovnávacího roztoku *kyseliny N-acetylneuraminové R*. Přidá se 0,25 ml jodistanového zkoumadla (roztok *jodistanu sodného R* (5,4 g/l) v *kyselině sírové R* 1,25% (V/V)), promíchá se a inkubuje 30 min při 37 °C. Přidají se 2,0 ml arsenitanového zkoumadla (roztoku *arsenitanu sodného R* (20 g/l) v *kyselině chlorovodíkové R* 1,55% (V/V)) a promíchá se. Vznikne žlutohnědé zbarvení, které mizí. Přidají se 2,0 ml roztoku *kyseliny thio-barbiturové R* (28,9 g/l) a promíchá se. Uzavřené zkumavky se zahřívají ve vroucí vodní lázni

7,5 min a pak se 5 min chladí v ledové lázni. Přidají se 2,0 ml směsi *1-butanolu R* a *kyseliny chlorovodíkové R* (95 : 5) a promíchá se. Zkumavky se odstředí 3 min při 3000 ot/min. Absorbance vrstvy butanolu s kyselinou chlorovodíkovou se do 30 min měří při 552 nm proti směsi butanolu s kyselinou chlorovodíkovou. Pomocí lineární regresní analýzy se vytvoří kalibrační křivka porovnávacího vzorku *N-acetylneuraminové kyseliny*. Z kalibrační křivky se vypočítá počet molů *N-acetylneuraminové kyseliny* ve zkoušených vzorcích a v referenční látce *alteplasy*. Obsah sialových kyselin ve zkoušeném vzorku má být v rozmezí 70 % až 130 % sialových kyselin referenční látky, která obsahuje asi 3 moly *kyseliny sialové* v 1 molu *alteplasy*.

Neutrální cukry. Vzorky zkoušené a referenční látky se naředí v tlumivém roztoku (obsahujícím *arginin R* (34,8 g/l), *polysorbát 80 R* (0,1 g/l) a *kyselinu fosforečnou R* k nastavení hodnoty pH na 7,4) na koncentraci bílkoviny 50 µg/ml. Pro kalibrační křivku se ve stejném tlumivém roztoku připraví roztoky *mannosy* o následujících koncentracích: 20 µg/ml, 30 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml a 60 µg/ml. Do zkumavek se duplicitně odpipetuje po 2 ml těchto roztoků: zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku a z každé koncentrace *mannosy*. Do každé zkumavky se přidá 50 µl *fenolu R* a potom 5 ml *kyseliny sírové R*. Směs se promíchá a nechá se 30 min stát při pokojové teplotě. Absorbance každé zkumavky se měří při 492 nm. Obsah neutrálních cukrů se odečte z kalibrační křivky *mannosy* a udává se v molech neutrálního cukru na mol *alteplasy*. K výpočtu se uvažují zředovací faktory zkoušeného a porovnávacího roztoku a relativní molekulové hmotnosti *mannosy* (M_r 180,2) a *alteplasy* (M_r 59 050). Obsah neutrálních cukrů ve vzorcích zkoušené látky má být v rozmezí 70 % až 130 % obsahu neutrálních cukrů v referenční látce, která obsahuje asi 12 molů neutrálního cukru v molu *alteplasy*.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý prášek nebo tuhá drobná hmota.

Přípravek se ředí podle doporučení v označení na obalu bezprostředně před provedením zkoušek totožnosti, zkoušek na čistotu (kromě stanovení rozpustnosti a obsahu vody) a stanovením účinnosti.

Zkoušky totožnosti

A. Stanovení účinnosti slouží k ověření totožnosti přípravku.

B. Provede se tryptické mapování peptidů za použití kapalinové chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se zředí *vodou R* tak, aby v 1 ml obsahoval 1 mg *alteplasy*. Asi 2,5 ml tohoto roztoku se dialyzuje přes membránu, jejíž práh propustnosti pro globuliny odpovídá relativní molekulové hmotnosti 10 000, nejméně 12 h roztokem obsahujícím *močovinu R* (480 g/l), *tris(hydroxymethylamino)methan R* (44 g/l) a *edetan disodný R* (1,5 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 8,6. Změří se objem roztoku, převede se do čisté zkumavky a na mililitr roztoku se přidá 10 µl roztoku *dithiothreitolu R* (156 g/l). Nechá se stát 4 h, ochladí se v ledové lázni a na mililitr roztoku se přidá 25 µl čerstvě připraveného roztoku *kyseliny jodocto-vé R* (190 g/l). Nechá se stát na temném místě 30 min. Pak se na mililitr roztoku přidá 50 µl roztoku *dithiothreitolu*, aby se ukončila reakce. Opět se dialyzuje po dobu 24 h roztokem *hydrogenuhlčitanu amon-ného R* (8 g/l). Smíchá se 1 díl *trypsinu pro peptidové mapování R* na 100 dílů bílkoviny a nechá se 6 h až 8 h stát. Přidá se opět *trypsin* a nechá se stát celkem 24 h.

Porovnávací roztok. Připraví se stejně jako zkoušený roztok, avšak místo zkoušeného přípravku se použije *alteplasy CRL*.

3930 † *Alteplasm ad iniectionabile*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm až 10 µm),
- *mobilní fáze A*, kterou je zfiltrovaný a odplyněný roztok *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (8 g/l), jehož hodnota pH byla upravena *kyselinou fosforečnou R* na 2,85,
- *mobilní fáze B*, kterou je *acetonitril R* 75% (V/V) v mobilní fázi A,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Kolona se ustaluje mobilní fází A při průtokové rychlosti 1 ml/min. Po nástřiku vzorku se zvyšuje podíl mobilní fáze B o 0,44 % za minutu, dokud poměr mobilní fáze A ku mobilní fázi B nebude 60 : 40, a pak se zvyšuje o 1,33 % za minutu, dokud poměr mobilní fáze A ku mobilní fázi B nebude 20 : 80, a pak se nechá promývat touto směsí 10 min. Zaznamenaná se chromatogram porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi 6. píkem (peptidy 268 až 275) a 7. píkem (peptidy 1 až 7) je nejméně 1,5; $b_{0,5a}$ a $b_{0,5b}$ jsou menší než 0,4 min. Nastříkne se asi 100 µl zkoušeného roztoku a zaznamenaná se chromatogram. Totožnost píků se ověří srovnáním s píky porovnávacího roztoku. Neměly by být zjevné žádné další významné píky ani prodlevy. Významný pík je definován jednou plochou rovnající se nebo přesahující 5 % 19. píku (peptidy 278 až 296); nepřihlíží se k nevýznamným píkům. Chromatogram totožnosti citovaných píků je uveden na konci článku (obr. 1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Rekonstituovaný přípravek je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok \check{Z}_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 7,1 až 7,5.

Rozpustnost. Přidá se množství kapaliny uvedené v označení na obalu. Přípravek se při teplotě 20 °C až 25 °C zcela rozpustí do 2 min.

Obsah bílkovin. Připraví se roztok zkoušené látky o přesně známé koncentraci asi 1 g/l. Roztokem *argininu R* (34,8 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 7,3, se naředí přesně odměřený objem roztoku zkoušené látky tak, aby absorbance měřená v maximu při asi 280 nm byla od 0,5 do 1,0 (*zkoušený roztok*). Měří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximech při 280 nm a 320 nm proti roztoku *argininu* jako porovnávací tekutině. Obsah bílkovin ve zkoušeném vzorku se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{V(A_{280} - A_{320})}{1,9},$$

v němž značí:

V - objem roztoku *argininu* potřebného k přípravě zkoušeného roztoku,

A_{280} - absorbanci v maximu při 280 nm,

A_{320} - absorbanci v maximu při 320 nm.

Obsah jednořetězcové alteplasy. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se rozpustí ve *vodě R* tak, aby výsledná koncentrace byla asi 1 mg alteplasy v mililitru. Do zkumavky se odměří 1 ml tohoto roztoku, přidají se 3 ml roztoku *dithiothreitolu R* (3 g/l) v mobilní fázi, zkumavka se uzavře a zahřívá se 3 min až 5 min při 80 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

† *Alteplasm ad iniectabile* 3931

- kolony délky 0,6 m a vnitřního průměru 7,5 mm naplněné hydrofilním silikagelem se sférickými částicemi o průměru 10 µm až 13 µm určeným pro vylučovací chromatografii,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,5 ml/min, kterou je směs roztoků *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (30 g/l) a *dodecylsíranu sodného R* (1 g/l), jejíž pH bylo upraveno zředěným hydroxidem sodným RS na hodnotu 6,8,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se asi 50 µl zkoušeného roztoku a zaznamená se chromatogram. Chromatogram vykazuje dva hlavní píky odpovídající jednořetězcové a dvouřetězcové alteplase. Relativní množství jednořetězcové alteplasy se vypočítá z hodnot ploch píků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater vypočtený na základě píku jednořetězcové alteplasy je nejméně 1000. Obsah jednořetězcové alteplasy má být nejméně 60 % z celkového nalezeného množství látek příbuzných alteplase.

Obsah monomeru. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se rozpustí a zředí tak, aby se získala koncentrace asi 1 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,6 m a vnitřního průměru 7,5 mm naplněné hydrofilním silikagelem se sférickými částicemi o průměru 10 µm až 13 µm vhodnými pro vylučovací chromatografii,
- mobilní fáze, kterou je roztok *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (30 g/l) a *dodecylsíranu sodného R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno zředěným hydroxidem sodným RS na hodnotu 6,8,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se zkoušený roztok a zaznamená se chromatogram. Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater přepočtený na pik monomeru alteplasy je nejméně 1000. Měří se odezva pro všechny píky, tj. pro píky odpovídající molekulovým hmotnostem různých typů alteplas. Vypočítá se relativní množství monomeru z hodnot ploch těchto píků. Obsah monomeru alteplasy je nejméně 95 %.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 4,0 %.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 1 m.j. bakteriálního endotoxinu v miligramu bílkoviny.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním schopnosti zkoušeného přípravku aktivovat plazminogen k přeměně na plazmin se stejnou schopností referenčního přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách. Tvorba plazminu se měří stanovením doby rozpouštění fibrinových vláken za daných podmínek.

Mezinárodní jednotkou je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu alteplasy. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu alteplasy v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Tlumivý roztok. Je to roztok obsahující *dihydrogenfosforečnan sodný monohydrát R* (1,38 g/l), *hydrogenfosforečnan sodný bezvodý R* (7,10 g/l), *azid sodný R* (0,20 g/l) a *polysorbát 80 R* (0,10 g/l); používá se k rozpouštění.

3932 † *Alteplasm ad iniectabile*

Roztok lidského trombinu. Roztok *trombinu lidského R* obsahující 33 m.j. v mililitru výše uvedeného tlumivého roztoku.

Roztok lidského fibrinogenu. Roztok *fibrinogenu R* (2 g/l) ve výše uvedeném tlumivém roztoku.

Roztok lidského plazminogenu. Roztok *lidského plazminogenu R* (1 g/l) ve výše uvedeném tlumivém roztoku.

Zkoušené roztoky. Zkoušená látka se rozpustí ve výše uvedeném tlumivém roztoku na koncentraci 1 g/l a stejným tlumivým roztokem se vzorky naředí v poměrech např.: 1 : 5000, 1 : 10 000 a 1 : 20 000.

Porovnávací roztoky. Použije se roztok *alteplasy CRL* o přesně známé koncentraci asi 1 g/l (580 000 m.j. *alteplasy* v mililitru) a ředěním *vodou R* se připraví pět postupně naředěných roztoků o známých koncentracích 9,0 m.j./ml až 145 m.j./ml.

Do každé z řady označených skleněných zkumavek se přenese 0,5 ml roztoku lidského trombinu a pro každou zkumavku se určí některý ze zkoušených nebo porovnávacích roztoků, které se do zkumavek přidají po 0,5 ml. Do každé z další řady označených zkumavek se odpipetuje 20 μ l roztoku lidského plazminogenu a 1 ml roztoku lidského fibrinogenu, směs se promíchá a nechá se stát v ledové lázni. Začíná se se směsí, která obsahuje trombin a porovnávací roztok o nejnižší koncentraci, měří se čas a odděleně se přidá po 200 μ l z každé z trombinových směsí do zkumavek obsahujících směs plazminogenu a fibrinogenu. Po celkovou dobu 15 s se vířením přerušovaně míchá obsah každé zkumavky a opatrně se umístí do stojánku v cirkulující vodní lázni při 37 °C. Do 30 s se objeví viditelné zakalení tvořící se sraženiny a současně ve sraženině vznikají bublinky.

Měří se čas rozpuštění sraženiny jako doba mezi prvním přidavkem roztoku *alteplasy* a okamžikem, kdy stoupá k hladině poslední bublinka. Použitím metody nejmenších čtverců se stanoví závislost logaritmu koncentrací referenčního přípravku v m.j./ml proti logaritmu doby rozpuštění sraženiny v sekundách, podle rovnice:

$$\log t = a + b (\log U_S),$$

v níž značí:

t - dobu rozpuštění sraženiny,

U_S - účinnost referenčního přípravku v m.j./ml,

b - je směrnice přímky,

a - je průsečík osy y a přímky.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže korelační koeficient je v rozsahu $-0,9900$ až $-0,1000$. Z rovnice a doby rozpuštění sraženiny ve zkoušeném roztoku se vypočítá logaritmus účinnosti U_A podle vztahu:

$$\log U_A = \frac{[(\log t) - a]}{b}.$$

Účinnost *alteplasy* v mezinárodních jednotkách v mililitru se vypočítá podle vzorce:

$$D \cdot U_A,$$

v němž značí:

D - zředovací faktor zkoušeného roztoku.

Specifická účinnost v navážce zkoušené látky se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{U_A}{P},$$

v němž značí:

P - koncentraci bílkoviny stanovenou v odstavci Obsah bílkovin, viz Zkoušky na čistotu.

Stanovená účinnost je v rozmezí 90 % až 110 % deklarované účinnosti.

Uchovávání

V bezbarvých skleněných obalech pod vakuem nebo pod inertním plynem při teplotě 2 °C až 30 °C, chráněna před světlem.

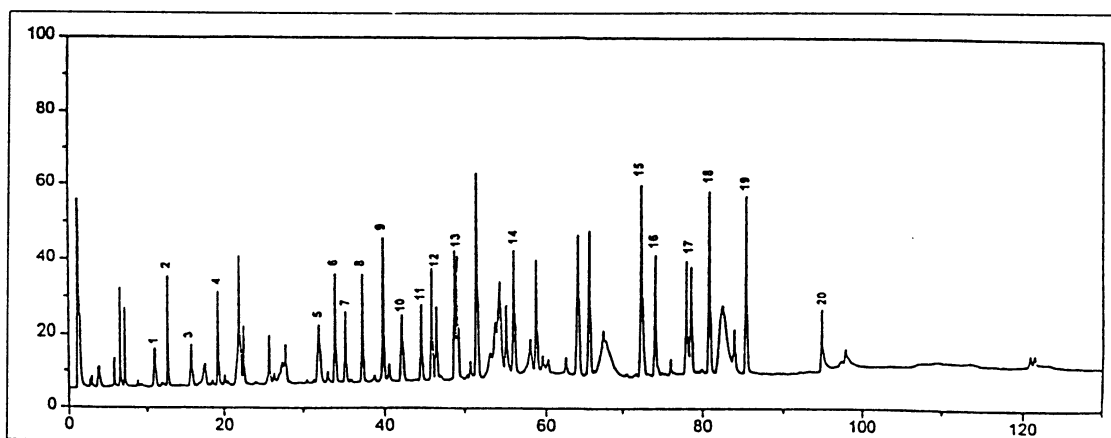
Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet m.j. v obalu,
- množství bílkoviny v obalu.

Následující typ chromatogramu je jen informační, je vodítkem a netvoří závaznou část článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram pro tryptické mapování peptidu alteplasy

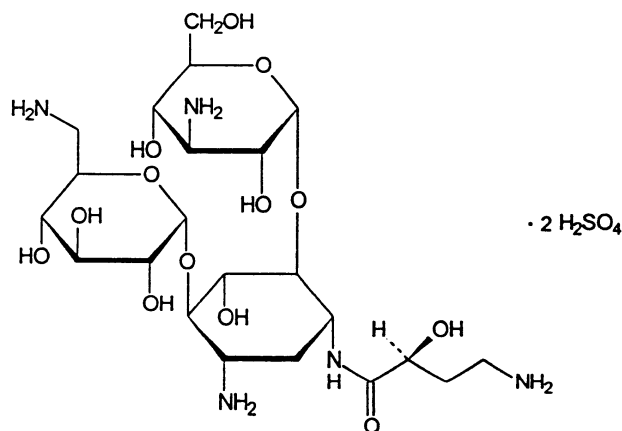
3934 † Amikacini disulfas

† Amikacini disulfas

Amikaciniumdisulfat

1999

Synonymum. Amikacini sulfas

 $C_{22}H_{47}N_5O_{21}S_2$ M_r 781,76

CAS 36831-55-5

Je to 6-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyrano-syl)-N¹-[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-D-streptamin-bis(hydrogensulfat), antibiotikum získané z kanamycinu A. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 72,3 % až 76,8 % sloučeniny $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem amikaciniumdisulfatu CRL.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) s použitím desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg amikaciniumdisulfatu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg kanamyciniummonosulfatu CRL se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se vodou R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se spodní vrstvou směsí stejných objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R a dichlormethan R po dráze 15 cm. Deska se suší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS1 a pak se 5 min zahřívá při teplotě 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou

a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

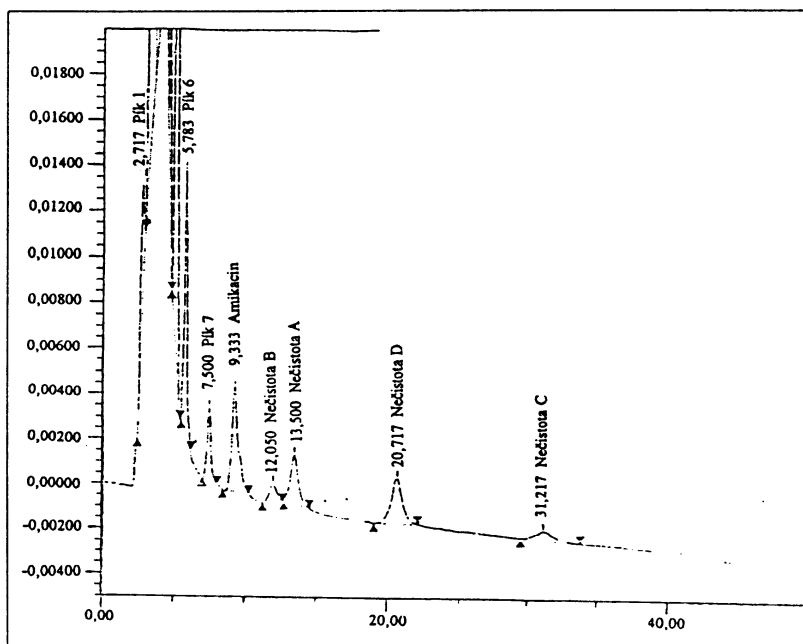
Hodnota pH (2.2.3). 2,0 až 4,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +76° až +84°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem uvedeným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky amikacinu a nečistoty A nejméně 3,5. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času amikacinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch takových píků není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům z kontrolního roztoku a k píkům, jejichž plocha je menší než desetina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky

3936 † *Amikacini disulfas*

Sírany. 23,3 % až 25,8 % síranů (SO₄), počítáno na vysušenou látku. 0,250 g se rozpustí ve 100 ml *vody R* a *amoniakem 26% R* se upraví pH na hodnotu 11. Přidá se 10,0 ml *chloridu barnatého 0,1 mol/l VS* a asi 0,5 mg *faleinpurpuru R*. Titruje se *edetanem disodným 0,1 mol/l VS*. Když se barva roztoku začne měnit, přidá se 50 ml *lihu 96% R* a pokračuje se v titraci, dokud fialovo-modré zbarvení nezmizí.

1 ml *chloridu barnatého 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,606 mg síranů (SO₄).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 13,0 %; 0,500 g se 3 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne 5 ml roztoku obsahujícího 25 mg zkoušené látky rozpuštěné ve *vodě na injekci R*.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 0,100 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml. Do kulaté skleněné baňky se zabroušenou zátkou se přidá 0,2 ml tohoto roztoku ke 2,0 ml roztoku *kyseliny 2,4,6-trinitrobenzensulfonové R* (10 g/l). Potom se přidají 3,0 ml *pyridinu R* a baňka se dobře uzavře. Důkladně se třepe 30 s a zahřívá se 45 min na vodní lázni při 75 °C. Potom se 2 min chladí ve studené *vodě*, přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R* a důkladně se 30 s třepe.

Zkoušený roztok (b). 50,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg *amikacinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (b). 50,0 mg *amikaciniumpdisulfatu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (c). 5 mg *amikaciniumpdisulfatu CRL* a 5 mg *amikacinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Kontrolní roztok. Připraví se způsobem předepsaným pro zkoušený roztok (a) s použitím 0,2 ml *vody R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (2,7 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 6,5 roztokem *hydroxidu draselného R* (22 g/l) a *methanolu R* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 340 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C a roztoky se uchovávají při teplotě 10 °C.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Porovnávací roztok (b) se nastříkne

šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka ploch píku amikacinu je 2,0 %. Nastříkne se zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (b).

Uchovávání

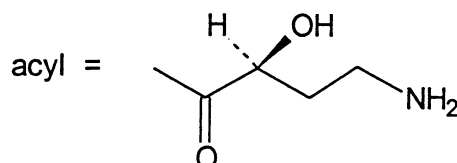
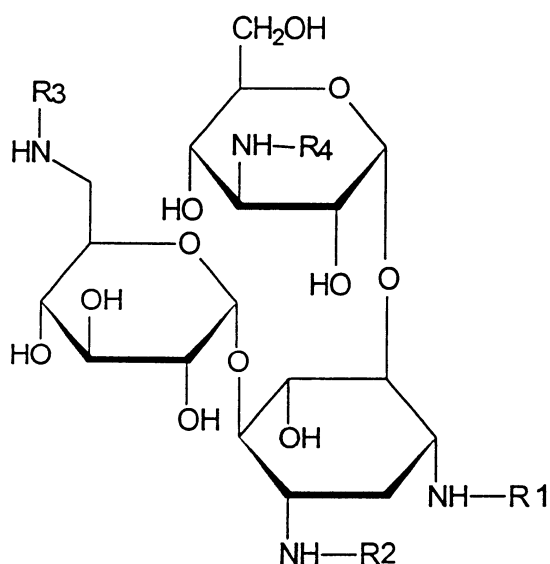
Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá pyrogenních látek.

Nečistoty

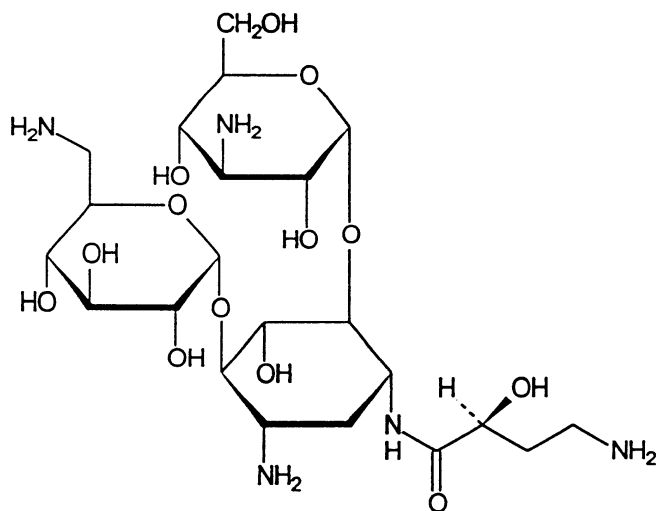


- A. $R^1 = R^3 = R^4 = H$, $R^2 = \text{acyl}$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-N¹-[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin,
- B. $R^1 = R^2 = \text{acyl}$, $R^3 = R^4 = H$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-N¹,N³-bis[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin,
- C. $R^1 = R^2 = R^3 = H$, $R^4 = \text{acyl}$: 4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-{3-[[[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]amino]-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl]}-2-deoxy-D-streptamin,
- D. $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-2-deoxy-L-streptamin (kanamycin).

3938 † *Amikacinum*† **Amikacinum**

Amikacin

1999

 $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ M_r 585,62

CAS 37517-28-5

Je to 6-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)- N^1 -[(2*S*)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-D-streptamin, antibiotikum získané z kanamycinu A. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,5 % až 102,5 % sloučeniny $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *amikacinu CRL*.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) s použitím *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *amikacinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *kanamyciniummonosulfatu CRL* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se *vodou R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se spodní vrstvou směsi stejných objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* po dráze 15 cm. Deska se suší na vzduchu a postříká se *ninhydrinem RS1*. 5 min se zahřívá při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní

skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 9,5 až 11,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +97° až +105°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g ve vodě *R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky amikacinu a nečistoty A nejméně 3,5. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času amikacinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch těchto píků není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům z kontrolního roztoku a k píkům, jejichž plocha je menší než desetina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 8,5 %, stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,5 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 0,100 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 10,0 ml. Do kulaté skleněné baňky se zabroušenou zátkou se přidá 0,2 ml tohoto roztoku ke 2,0 ml roztoku kyseliny 2,4,6-trinitrobenzensulfonové *R* (10 g/l). Potom se přidají 3,0 ml pyridinu *R* a baňka se dobře uzavře. Důkladně se 30 s třepe a zahřívá se 45 min ve vodní lázni při 75 °C. Potom se 2 min chladí ve studené vodě, přidají se 2 ml kyseliny octové ledové *R* a důkladně se 30 s třepe.

Zkoušený roztok (b). 50,0 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 50,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg amikacinu nečistoty A CRL se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (b). 50,0 mg amikacinu CRL se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 50,0 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (c). 5 mg amikacinu CRL a 5 mg nečistoty amikacinu A CRL se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 50 ml. Dále se postupuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Kontrolní roztok. Připraví se způsobem předepsaným pro zkoušený roztok (a) s použitím 0,2 ml vody *R*.

3940 † Amikacinum

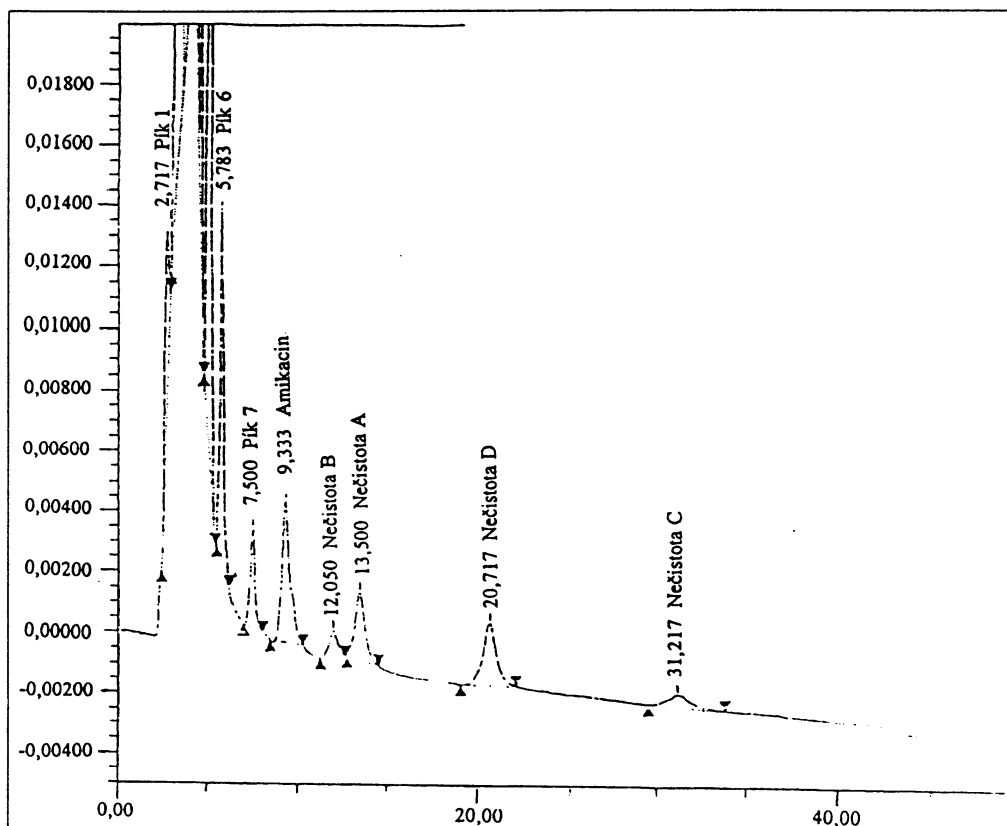
Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (2,7 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 6,5 roztokem *hydroxidu draselného R* (22 g/l), a *methanolu R* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 340 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C a roztoky se uchovávají při teplotě 10 °C.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Porovnávací roztok (b) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch píku amikacinu 2,0 %. Nastříkne se zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (b).

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.

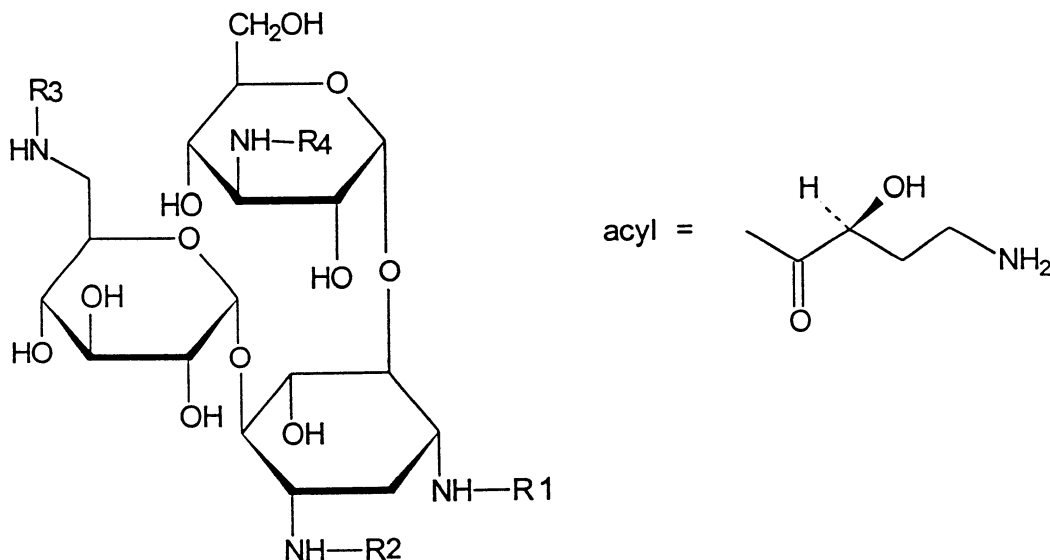


Obr. 1. Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky

Uchování

Separandum.

Nečistoty



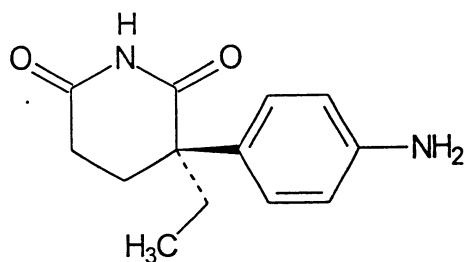
- A. $R^1 = R^3 = R^4 = H$, $R^2 = \text{acyl}$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-N¹-[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin,
- B. $R^1 = R^2 = \text{acyl}$, $R^3 = R^4 = H$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-N¹,N³-bis[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-L-streptamin,
- C. $R^1 = R^2 = R^3 = H$, $R^4 = \text{acyl}$: 4-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-{3-[[[(2S)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]amino]-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl]}-2-deoxy-D-streptamin,
- D. $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$: 4-O-(3-amino-3-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-6-O-(6-amino-6-deoxy- α -D-glukopyranosyl)-2-deoxy-L-streptamin (kanamycin).

† Aminoglutethimidum

Aminoglutethimid



1999



a enantiomer

 $C_{13}H_{16}N_2O_2$ M_r 232,27

CAS 125-84-8

3942 † Aminoglutethimidum

Je to (3*RS*)-3-(4-aminofenyl)-3-ethylpiperidin-2,6-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,5 % sloučeniny C₁₃H₁₆N₂O₂.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 150 °C až 154 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *aminoglutethimidu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *aminoglutethimidu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *aminoglutethimidu CRL* a 25 mg *glutethimidu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (0,5 + 15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). –0,10° až +0,10°; měří se roztok S.

3-Aminoglutethimid a jiné příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku octanového o pH 5,0* a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg *aminoglutethimidu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku octanového o pH 5,0* a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku octanového o pH 5,0* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku octanového o pH 5,0* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (4 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku octanového o pH 5,0* (27 + 73), s průtokovou rychlostí 1,3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: aminoglutethimidu asi 9 min a aminoglutethimidu nečistoty A asi 12 min. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) byla nejméně 60 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky aminoglutethimidu a aminoglutethimidu nečistoty A nejméně 2,0.

Postupně se nastříkne 10 μl zkoušeného roztoku, 10 μl porovnávacího roztoku (b) a 10 μl porovnávacího roztoku (c). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty A větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %); součet obsahu všech nečistot není větší než 2,0 %. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Azo-glutethimid. Nejvýše 300 $\mu\text{g/g}$, stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkouška se provádí za ochrany před světlem. K rozpuštění porovnávací látky a zkoušené látky se použije třepání, nikoliv ultrazvuková lázeň nebo zahřívání.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. 3,0 mg *aminoglutethimidu nečistoty D CRL* se rozpustí v *dimethylsulfoxidu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dimethylsulfoxidem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je připravena následujícím způsobem: 0,285 g *edetanu disodného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 7,5 ml *kyseliny octové zředěné RS* a 50 ml *hydroxidu draselného 0,1 mol/l VS* a zředí se *vodou R* na 1000 ml, pH se upraví *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 5,0, 350 ml tohoto roztoku se smíchá s 650 ml *methanolu R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 328 nm.

Postupně se nastříkne 10 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu zkoušeného roztoku je počet teoretických pater vypočtený pro hlavní pík alespoň 3300, kapacitní faktor hlavního píku je 2,0 až 5,0 a faktor symetrie hlavního píku je menší než 1,2. Plocha píku nečistoty D na chromatogramu zkoušeného roztoku není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Sírany (2.4.13). 6 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 $\mu\text{g/g}$).

3944 † *Aminoglutethimidum*

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí v 15 ml *acetonu R* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml *základního roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

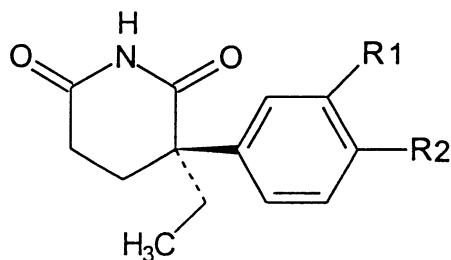
Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 23,23 mg $C_{13}H_{16}N_2O_2$.

Uchovávání

Separandum.

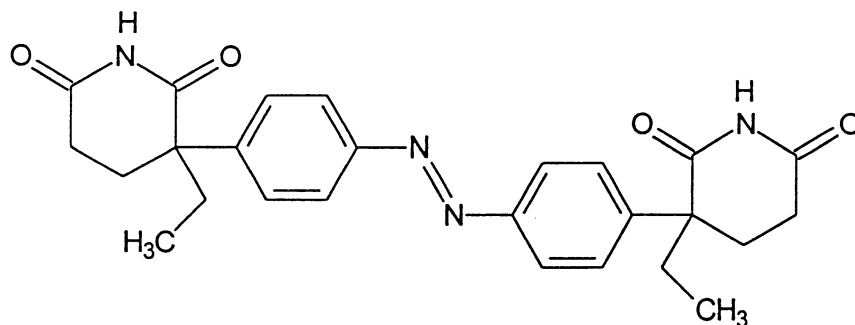
Nečistoty

a enantiomer

A. $R^1 = NH_2$, $R^2 = H$: (3*RS*)-3-(3-aminofenyl)-3-ethylpiperidin-2,6-dion (3-aminoglutethimid),

B. $R^1 = NO_2$, $R^2 = H$: (3*RS*)-3-ethyl-3-(3-nitrofenyl)piperidin-2,6-dion,

C. $R^1 = H$, $R^2 = NO_2$: (3*RS*)-3-ethyl-3-(4-nitrofenyl)piperidin-2,6-dion,



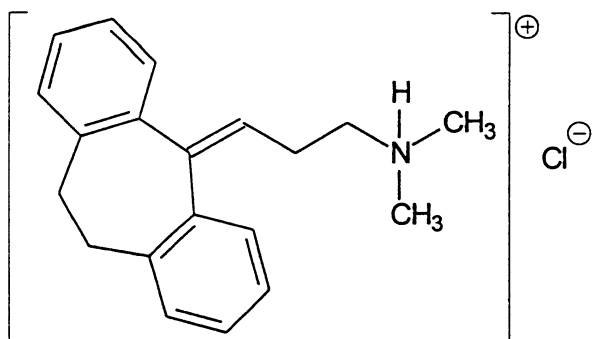
D. 3,3'-[diazendiy]bis(4,1-benzendiy)]bis(3-ethylpiperidin-2,6-dion) (azoglutethimid).

† Amitriptylini hydrochloridum 3945

† Amitriptylini hydrochloridum¹⁾

Amitriptyliniumchlorid

Synonymum. Amitriptylinium chloratum

C₂₀H₂₄ClNM_r 313,87

CAS 549-18-8

Je to N,N-dimethyl-N-[3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-yliden)propyl]amoni-umchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₂₀H₂₄ClN.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 195 °C až 199 °C.

B. 25,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 239 nm. Specifická absorbance v maximu je 435 až 475.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s *referenčním spektrem Ph. Eur. amitriptyliniumchloridu*.

D. 0,1 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a přidají se 2 ml nasyceného roztoku *manganistanu draselného R*; fialové zbarvení roztoku rychle zmizí. Roztok se zahřeje na vodní lázni do téměř úplného rozpuštění hnědé sraženiny, pak se ochladí, vytřepe se 15 ml *etheru R*, aby se odstranil bílý zákal, a etherová vrstva se odstraní. K vodné vrstvě se přidá 5 ml

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 308 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

3946 † *Amitriptylini hydrochloridum*

amoniaku 26% R, třepe se 2 min, pak se přidají 3 ml *dichlormethanu R* a opět se protřepe; dichlormethanová vrstva se zbarví fialově červeně.

E. 50 mg vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,25 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 0,20 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, zředí se jí na 10 ml, přidá se 0,1 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý. Přidá se 0,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je červený.

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Při zkoušce se roztoky a vyvíjející se chromatogramy chrání před přímým světlem.

Zkoušený roztok. 0,20 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *dibenzosuberonu CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *cyklobenzapriniumchloridu CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 50 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se v nenasyčené komoře směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *ethylacetatu R* a *cyklohexanu R* (3 + 15 + 85) po dráze 14 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu a rovnoměrně se postříká čerstvě připravenou směsí objemových dílů *formaldehydu R* a *kyseliny sírové R* (4 + 96), zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou skvrny odpovídající *dibenzosuberonu* a *cyklobenzapriniumchloridu* intenzivnější než odpovídající skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %) a chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících *dibenzosuberonu* a *cyklobenzapriniumchloridu*, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova (10 μ g Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve 30 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

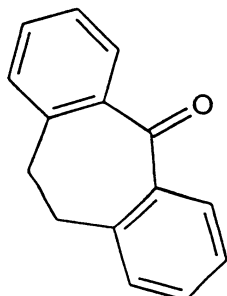
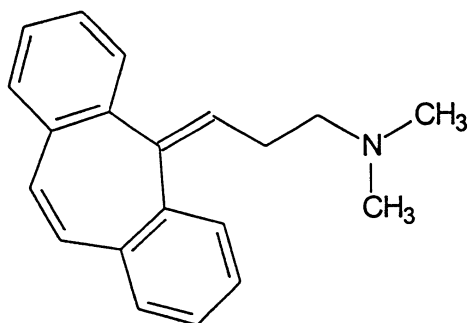
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 31,39 mg $C_{20}H_{24}ClN$.

Uchovávání

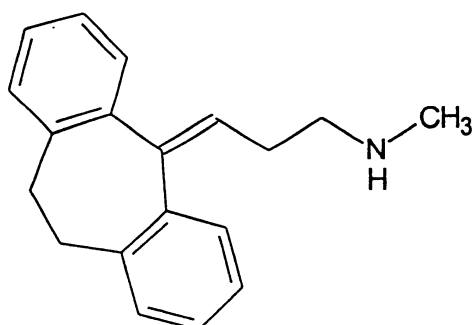
Chráněn před světlem.

Separandum.

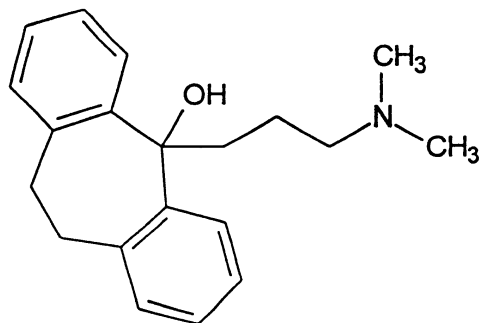
Nečistoty

A. dibenzosuberon (dibenzo[*a,d*]cykloheptanon),

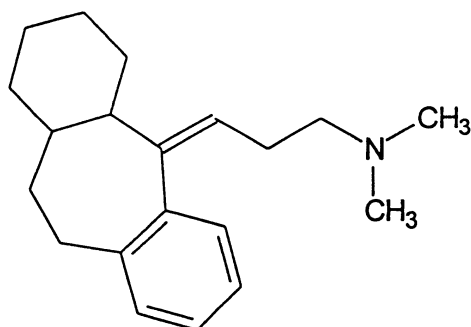
B. cyklobenzaprin,

C. 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-yliden)-*N*-methylpropylamin,

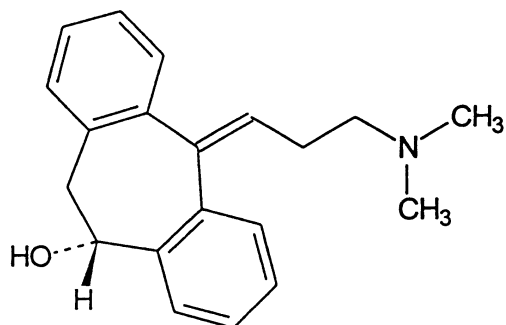
3948 † Amitriptylini hydrochloridum



D. 5-[3-(dimethylamino)propyl]-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-ol,



E. 3-(1,2,3,4,4*a*,10,11,11*a*-oktahydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-yliden)-*N,N*-dimethyl-propylamin,



a enantiomer

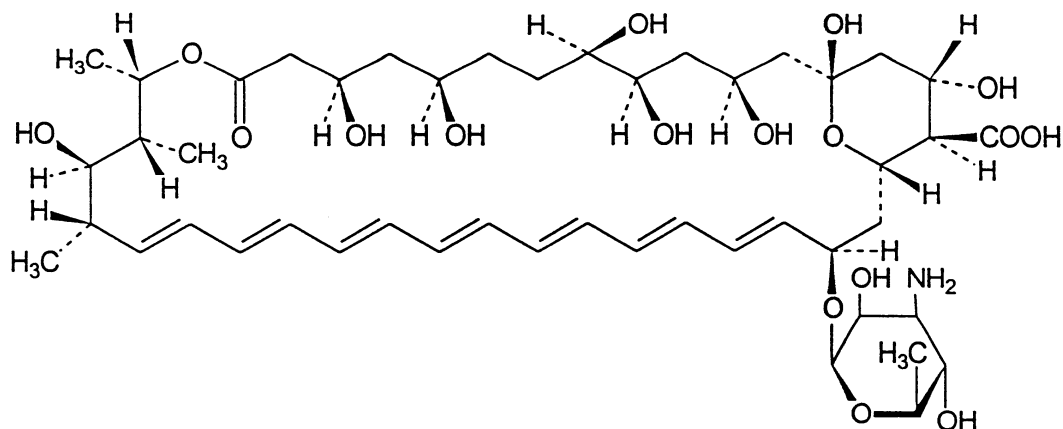
F. (*RS*)-5-[3-(dimethylamino)propyliden]-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-10-ol.

† *Amphotericinum B* 3949† **Amphotericinum B**

Amfotericin B



1999

 $C_{47}H_{73}NO_{17}$ M_r 924,09

CAS 1397-89-3

Je to směs antimykotických polyenů produkovaných při růstu určitých kmenů mikroorganismu *Streptomyces nodosus* nebo získaná jinými způsoby. Obsahuje převážně amfotericin B, tj. kyselinu (19*E*,21*E*,23*E*,25*E*,27*E*,29*E*,31*E*)-(1*R*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*,11*R*,15*S*,16*R*,17*R*,18*S*,33*R*,35*S*,36*R*,37*S*)-33-[(3-amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyl)oxy]-1,3,5,6,9,11,17,37-oktahydroxy-15,16,18-trimethyl-13-oxo-14,39-dioxabicyclo[33,3,1]nonatriakonta-19,21,23,25,27,29,31-heptaen-36-karboxylovou. Účinnost je nejméně 750 m.j. v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

Vlastnosti

Žlutý nebo oranžový prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dimethylsulfoxidu a v propylenglykolu, těžce rozpustný v dimethylformamidu, velmi těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v lihu 96 %.

Ve zředěných roztocích je citlivý na světlo a při nízkých hodnotách pH je inaktivován.

Zkoušky totožnosti

- 25 mg se rozpustí v 5 ml *dimethylsulfoxidu R* a zředí se *methanolem R* na 50 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 200 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 300 nm až 450 nm. Roztok vykazuje tři absorpční maxima, při 362 nm, 381 nm a 405 nm. Poměr absorbance naměřené při 362 nm k absorbanci naměřené při 381 nm je 0,57 až 0,61. Poměr absorbance naměřené při 381 nm k absorbanci naměřené při 405 nm je 0,87 až 0,93.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *amfotericinu B CRL*. Jestliže spektra vykazují rozdíly, zkoušená látka se 1 h suší při 60 °C a tlaku nepřesahujícím 0,7 kPa a zaznamená se nové spektrum.
- K 1 ml roztoku 0,5 g/l zkoušené látky v *dimethylsulfoxidu R* se přidá 5 ml *kyseliny fosforečné R*, která vytvoří spodní vrstvu. Na styku obou vrstev vznikne ihned modrý prstenec a po

3950 † *Amphotericinum B*

promíchání vznikne intenzivně modré zbarvení. Přidá se 15 ml vody R a promíchá se; roztok je bledě žlutý.

Zkoušky na čistotu

Obsah tetraenů. Nejvýše 10,0 % a nejvýše 5,0 %, jestliže je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků. Stanoví se následující metodou.

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v 5 ml *dimethylsulfoxidu R* a zředí se *methanolem R* na 50,0 ml. 4,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg *amfotericinu B CRL* se rozpustí v 5 ml *dimethylsulfoxidu R* a zředí se *methanolem R* na 50,0 ml. 4,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 25,0 mg *nystatinu CRL* se rozpustí ve 25 ml *dimethylsulfoxidu R* a zředí se *methanolem R* na 250,0 ml. 4,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

Měří se absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (a) a (b) v maximu při 282 nm a při 304 nm za použití roztoku *dimethylsulfoxidu R* 0,8 % (V/V) v *methanolu R* jako kontrolního roztoku. Vypočítá se specifická absorbance zkoušené látky, *nystatinu CRL* a *amfotericinu B CRL* při obou vlnových délkách, vztaženo na vysušenou látku. Obsah tetraenů se vypočítá podle následujícího vzorce:

$$F + \frac{100(B_1S_2 - B_2S_1)}{(N_2B_1 - N_1B_2)},$$

v němž značí:

S_1, S_2 - specifickou absorbanci zkoušené látky při 282 nm, resp. při 304 nm,

N_1, N_2 - specifickou absorbanci *nystatinu CRL* při 282 nm, resp. při 304 nm,

B_1, B_2 - specifickou absorbanci *amfotericinu B CRL* při 282 nm, resp. při 304 nm,

F - deklarovaný obsah tetraenů v *amfotericinu B CRL*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší při 60 °C a při tlaku nepřesahujícím 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 3,0 % a nejvýše 0,5 %, jestliže je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků. Stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 1,0 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení účinnosti

60 mg se rozetře s *dimethylformamidem R* a zředí se jím za stálého třepání na 100 ml. 10 ml tohoto roztoku se zředí *dimethylformamidem R* na 100 ml. Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

Amylum pregelificatum 3951

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- prostá bakteriálních endotoxinů,
- sterilní,
- vhodná k výrobě parenterálních přípravků.

Nečistoty

A. amfotericin A (tetraen).

Amylum pregelificatum

Předbobtnalý škrob



1999

Je to škrob, který se nechal za studena nebo po zahřátí nabobtnat ve vodě do úplného nebo částečného popraskání škrobových zrn a pak byl usušen. Neobsahuje pšeničný škrob ani žádné další přídavné látky. Může však být upraven tak, aby bylo možno jej lisovat a zlepšily se jeho reologické vlastnosti.

Vlastnosti

Bílý nebo žlutavě bílý prášek, bobtnající ve studené vodě.

Zkoušky totožnosti

- A. Pozoruje se pod mikroskopem ve směsi stejných objemových dílů *glycerolu R* a *vody R*; jsou patrné nepravidelné průhledné bílé nebo žlutavě bílé vločky nebo kousky, na povrchu nerovné. V polarizovaném světle (mezi příčnými Nikolovými hranoly) mohou být vidět škrobová zrna se zřetelným černým křížem ve středu.
- B. 0,5 g se bez zahřívání disperguje ve 2 ml *vody R*, přidá se 0,05 ml *jodu RS1*; vznikne červeno-fialové až modré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 7,0; 5,0 g se 60 s protřepává s 25,0 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a pak se 15 min nechá stát.

Železo (2.4.9). 0,75 g se protřepe s 15 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zfiltruje se. Filtrát vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 µg/g).

Oxidanty (2.5.30). Vyhovuje požadavkům zkoušky Oxidanty.

Oxid siřičitý (2.5.29). Nejvýše 50 µg/g.

Cizí příměsi (2.8.2). Pozoruje se pod mikroskopem ve směsi stejných objemových dílů *glycerolu R* a *vody R*; mohou být přítomny jen stopy buněčných stěn a zbytků cytoplazmatu.

3952 *Arachidis oleum hydrogenatum*

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 1,000 g se suší 90 min v sušárně při 130 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,6 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění. Nejvýše 10³ bakterií v gramu a nejvýše 10² hub v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- druh škrobu (matečná rostlina, z níž byl škrob získán),
- že je škrob předbobtnalý.

Arachidis oleum hydrogenatum**Hydrogenovaný podzemnicový olej**

Je to čištěný bělený hydrogenovaný olej, zbavený pachu, získaný z loupaných semen druhu *Arachis hypogaea* L. Každý druh hydrogenovaného podzemnicového oleje je charakterizován deklarovanou teplotou skápnutí.

Vlastnosti

Bílá nebo slabě nažloutlá měkká hmota, která zahřátím taje na čirou, světle žlutou tekutinu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu a v etheru petrolejovém (t.v. 65 °C až 70 °C), velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Teplota skápnutí, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Proveďte se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušeného roztoku se shoduje s charakteristickým chromatogramem pro podzemnicový olej.

C. Zkouška Cizí mastné oleje, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Teplota skápnutí (2.2.17). 32 °C až 43 °C; odchylka od deklarované hodnoty není větší než 3 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; 10,0 g se rozpustí v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel zahřátím na vodní lázni.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 5,0; 5,0 g se rozpustí ve 30 ml předepsané směsi rozpouštědel zahřátím na vodní lázni.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7) Nejvýše 1,0 %.

Zásaditě reagující látky v mastných olejích (2.4.19). Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

Cizí mastné oleje. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm, se stěnou pokrytou 0,2 μm vrstvou *poly(kyanopropyl)siloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 0,7 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem (1 : 100).

Teplota kolony se udržuje 20 min na 180 °C, teploty nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Podíl mastných kyselin má toto složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než C_{14} : nejvýše 0,5 %,
- kyselina myristová: nejvýše 0,5 %,
- kyselina palmitová: 7,0 % až 16,0 %,
- kyselina stearová: 3,0 % až 19,0 %,
- kyselina olejová a izomery ($\text{C}_{18:1}$, délkou řetězce odpovídá *poly(kyanopropyl)siloxanu* 18,5 až 18,8): 54,0 % až 78,0 %,
- kyselina linolová a izomery ($\text{C}_{18:2}$, délkou řetězce odpovídá *poly(kyanopropyl)siloxanu* 19,4 až 19,8): nejvýše 10,0 %,
- kyselina arachidová: 1,0 % až 3,0 %,
- kyseliny eikosenové ($\text{C}_{20:1}$, délkou řetězce odpovídají *poly(kyanopropyl)siloxanu* 20,4 až 20,7): nejvýše 2,1 %,
- kyselina behenová: 1,0 % až 5,0 %,
- kyselina eruková a izomery ($\text{C}_{22:1}$, délkou řetězce odpovídá *poly(kyanopropyl)siloxanu* 22,4 až 22,6): nejvýše 0,5 %,
- kyselina lignocerová: 0,5 % až 3,0 %.

Nikl. Nejvýše 1 $\mu\text{g/g}$; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. 5,0 g se odváží do předem zvažného vyžihaného platinového nebo křemenného kelímku. Opatrně se zahřeje a do zkoušené látky se vloží knot připravený ze stočeného bezpopelového filtračního papíru a zapálí se. Po spálení zkoušené látky se zahřívání ukončí a žihá se v muflové peci při asi 600 °C tak dlouho, dokud popel není bílý. Po vychladnutí se ke zbytku přidají dvakrát 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a směs se převede do 25ml odměrné baňky, přidá se 0,3 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou R* na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se tři roztoky smícháním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku *niklu* (0,2 $\mu\text{g Ni/ml}$) se 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředěním *vodou R* na 10,0 ml.

Změří se absorbance při 232 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece jako atomového generátoru a *argonu R* jako nosného plynu.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

3954 † *Argenti diacetyltannas albuminatus*

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede deklarovaná teplota skápnutí.

† *Argenti diacetyltannas albuminatus*

N

Diacetyltaninoalbuminat stříbra

Synonymum. Argentum diacetyltannicum albuminatum

Je to komplexní sloučenina proteinátu stříbra s diacetyltaninem. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 5,6 % až 6,5 % stříbra (Ag; A_r 107,87). Obsahuje přídavek tetraboritanu sodného.

Vlastnosti

Tmavohnědý sypký prášek nebo kovově lesklé, v dopadajícím světle červenohnědé krystaly. Slabě páchne po kyselině octové, je hygroskopický. Je prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru. Ve vodě tvoří koloidní roztoky.

Zkoušky totožnosti

- A. 25 mg se nejprve slabě, později silněji zahřívá; vzniká zápach po spáleném rohu. Po vyžihání zůstane šedobílý zbytek, ke kterému se přidá 1,5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, směs se zahřeje a promíchá. Po zfiltrování se filtrát zředí *vodou R* na 10 ml; roztok vyhovuje zkoušce na stříbro (2.3.1).
- B. K 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidají 2 ml *vody R* a 1 ml *chloridu železitého RS1*. Roztok se pomalu barví zeleně a kalí se; po delší době se vylučuje šedo zelená vločkovitá sraženina.
- C. 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se třepe s 0,3 g *kyanidu draselného R* do vzniku hnědožlutého roztoku. Po přidavku 0,9 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (85 g/l) se stále protřepává, až se vytvoří načervenalá pěna, jejíž zbarvení stáním mizí a při obnovení třepání opět vzniká.
- D. K 1 g se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R* a 5 ml *methanolu R*. Směs se zapálí; plamen se zbarví zeleně.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se v malých dávkách nasype za opatrného míchání (nakláněním a kroužením nádobky) do 40 ml *vody R* a nechá se rozpustit. Po rozpuštění se roztok zředí *vodou R* na 50 ml.

Vzhled roztoku S. Roztok S je tmavohnědý a v dopadajícím světle nefluoreskuje zeleně.

Hodnota pH. 5,0 až 7,5. Měří se roztok S.

Elektrolytická citlivost. K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml roztoku *chloridu sodného R* (100 g/l); nezačne se ihned tvořit sraženina.

Volný tanin. 5 ml roztoku S se třepe s 0,3 g *kyanidu draselného R* do vzniku hnědožlutého roztoku; vzniklá pěna není zbarvena červeně.

Volné stříbro. 0,50 g se protřepává 1 min s 5,0 ml *lihu 96% R* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 5 kapek *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Tento roztok ihned po přípravě neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

Bor. Nejvýše 1,0 %. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. Přesně zvážené množství zkoušené látky se zředí *hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS* tak, aby jeho koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku boru (5 mg B/ml).

Měří se absorbance při 249,7 nm za použití borové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene acetylenoxid dusný. Metoda je velmi citlivá na nastavení stechiometrie plamene, doporučuje se redukční plamen s červenou zónou 2 cm až 2,5 cm. Správnost výsledku se kontroluje standardním přídatkem.

Filtrovatelnost. 10 ml roztoku S se přefiltruje přes membránový filtr nejvýše 0,22 µm a průměru 26 mm.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15 %. 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

Asi 1,200 g se rozpustí ve 20,0 ml *vody R*. K roztoku se opatrně přidá 20,0 ml *kyseliny sírové R* a po malých dávkách 2,0 g jemně upráškovaného *manganistanu draselného R*. Nechá se stát 15 min, potom se směs opatrně zahřívá k varu do odbarvení. Roztok se ochladí, zředí se asi 100 ml *vody R* a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda) (2.2.20).

1 ml *thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l VS* odpovídá 10,79 mg Ag.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +21,0° až +23,5°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *argininiumchloridu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *argininiumchloridu CRL* a 10 mg *lysiniiumchloridu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku, vysuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *2-propanolu R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší při 100 °C až 105 °C do úplného vymizení pachu amoniaku, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia* (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Připraví se porovnávací roztok za použití základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 1,000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

3958 *Argininum***Stanovení obsahu**

0,180 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a za použití 0,1 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru se titruje *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 21,07 mg $C_6H_{15}ClN_4O_2$.

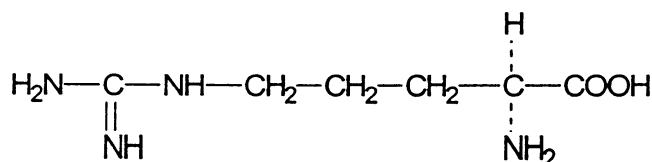
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Argininum¹⁾

Arginin

Synonyma. L-Argininum, L-arginin

 $C_6H_{14}N_4O_2$ M_r 174,20

CAS 74-79-3

Je to kyselina (*S*)-2-amino-5-guanidinopentanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{14}N_4O_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz *Zkoušky na čistotu*, je zároveň zkouškou totožnosti.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 566 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

- B.** Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, je silně alkalický (2.2.4).
- C.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *argininu CRL*.
- D.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- E.** Asi 25 mg se rozpustí ve 2 ml *vody R*, přidá se 1 ml *1-naftolu RS* a 2 ml směsi stejných objemových dílů *chlornanu sodného RS* a *vody R*; vzniká červené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+25,5^\circ$ až $+28,5^\circ$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *argininu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *argininu CRL* a 10 mg *lysiniu chloridu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku, vysuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *2-propanolu R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší při 100 °C až 105 °C do úplného vymizení pachu amoniaku, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). K 5 ml roztoku S se přidá 0,5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Sírany (2.4.13). K 10 ml roztoku S se přidá 1,7 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklička o průměru 60 mm a umístí se vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklička se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové skličko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Skličko s lakmusovým papírem se překlopí na skličko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír

3960 *Aurantii amari floris etheroleum*

není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 50 ml vody R a za použití 0,2 ml červeně methylové směsného indikátoru RS se titruje kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS do změny zbarvení ze zeleného na fialově červené.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS odpovídá 17,42 mg C₆H₁₄N₄O₂.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Aurantii amari floris etheroleum

Silice květů citroníku hořkého



1998

Synonyma. Aurantii amari floris aetheroleum, Oleum aurantii amari floris aetheroleum, Oleum aurantii amari floris

Je to silice získaná z čerstvých květů druhu *Citrus aurantium* L. subsp. *aurantium* (*C. aurantium* L. subsp. *amara* ENGL.) destilací s vodní párou.

Vlastnosti

· Čirá světle žlutá nebo tmavě žlutá kapalina charakteristického pachu po květech citroníku hořkého. Je mísitelná s lihem 96%, s etherem, s etherem petrolejovým, s mastnými oleji a s tekutým parafínem.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Bergapten, viz Zkoušky na čistotu, pozorováním v ultrafialovém světle při 365 nm. Před postřikáním činidlem je na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající polohou a fluorescencí skvrně methylantranilatu na chromatogramu porovnávacího roztoku; mohou být patrné i další skvrny. Po postřikání činidlem se chromatogramy pozorují v ultrafialovém světle při 365 nm; na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní polovině hnědooranžově fluoreskující skvrna odpovídající linalylacetatu, v dolní polovině hnědooranžově fluoreskující skvrna odpovídající linalolu a těsně pod ní žlutozeleně fluoreskující skvrna odpovídající bergaptenu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám linalylacetatu a linalolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Mohou být patrné i další skvrny.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přibližně shodné s retenčními časy hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,866 až 0,880.

Index lomu (2.2.6). 1,468 až 1,474.

Optická otáčivost (2.2.7). +1,5° až +11,5°.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0.

Bergapten. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,1 g se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok. 5 µl *methylantranilatu R*, 10 µl *linalolu R*, 20 µl *linalylacetatu R* a 10 mg *bergaptenu R* se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části modře fluoreskující skvrna (*methylantranilat*) a pod ní zelenožlutě fluoreskující skvrna (*bergapten*). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna odpovídající skvrně *bergaptenu* (silice z citroníku hořkého) na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Chromatografický profil. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok. 20 µl *β-pinenu R*, 5 µl *sabinenu R*, 40 µl *limonenu R*, 40 µl *linalolu R*, 20 µl *linalylacetatu R*, 5 µl *α-terpineolu R*, 5 µl *nerylacetatu R*, 5 µl *geranylacetatu R*, 5 µl *trans-nerolidolu R* a 5 µl *methylantranilatu R* se rozpustí v 1 ml *hexanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m až 60 m a vnitřního průměru asi 0,25 mm, se stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100.

3962 *Aurantii amari floris etheroleum*

Teplota kolony se udržuje po dobu 4 min na 75 °C, pak se zvyšuje rychlostí 4 °C/min až na 230 °C, při níž se udržuje 20 min, teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 270 °C.

Nastříkne se asi 0,1 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek se eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater je nejméně 30 000, počítáno pro pík limonenu při teplotě 110 °C, a rozlišení mezi píky β-pinenu a sabinenu je nejméně 1,5.

Nastříkne se asi 0,2 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky přítomné ve zkoušeném roztoku (nepřihlíží se k píku odpovídajícímu hexanu).

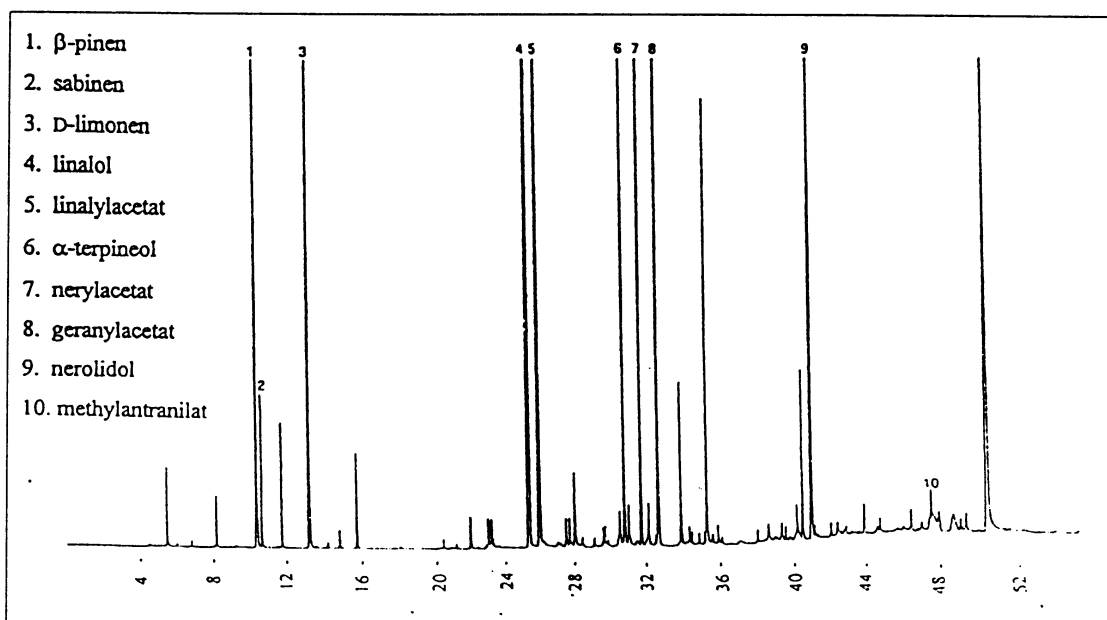
Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou vnitřní normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

β-pinén	7,0 % až 17,0 %,
limonen	9,0 % až 18,0 %,
linalol	18,0 % až 42,0 %,
linalylacetat	3,0 % až 16,0 %,
α-terpineol	2,0 % až 7,0 %,
nerylacetat	1,0 % až 3,0 %,
geranylacetat	1,5 % až 4,0 %,
trans-nerolidol	1,0 % až 9,0 %,
methylantranilat	0,1 % až 1,0 %.

Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.



Obr. 1. Vzor chromatogramu silice květů citroníku hořkého

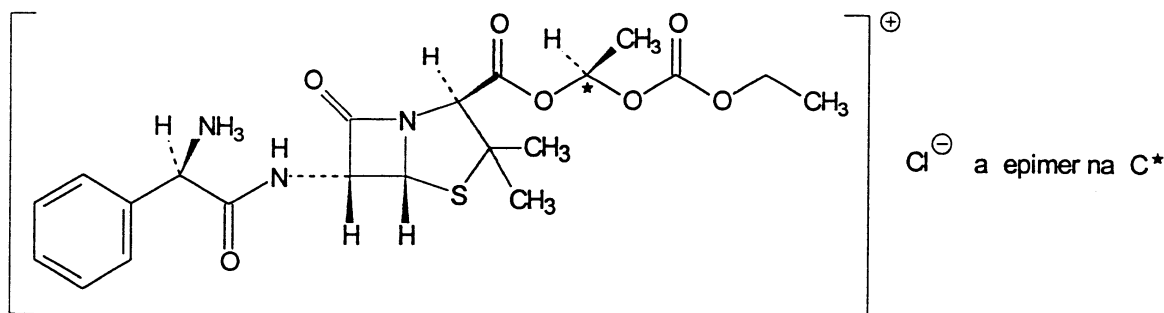
Vzor chromatogramu je uveden pro informaci a jako návod při aplikaci analytické metody. Netvoří součást požadavků článku.

† *Bacampicillini hydrochloridum* 3963† **Bacampicillini hydrochloridum**

Bakampiciliniumchlorid



1999

 $C_{21}H_{28}ClN_3O_7S$ M_r 501,98

CAS 37661-08-8

Je to (1*RS*)-1-[(ethoxykarbonyl)oxy]ethyl-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[(2*R*)-2-amonio-2-fenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylat-chlorid. Počítáno na bezvodou a rozpouštědla prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{21}H_{28}ClN_3O_7S$.

Výroba

Je-li vyroben postupem, který může v látce zanechat zbytky dimethylanilinu a/nebo postupem, při němž výchozí látky nebo meziproducty obsahují dimethylanilin, vyhovuje následující zkoušce: *N,N*-Dimethylanilin (2.4.26, *Metoda A*). Nejvýše 20 µg/g.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek nebo granule. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *bakampiciliniumchloridu CRL*.

B. Provede se *tenkovrstvá chromatografie (2.2.27)* za použití *desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *bakampiciliniumchloridu CRL* se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *bakampiciliniumchloridu CRL*, 10 mg *talampiciliniumchloridu CRL* a 10 mg *pivampicilinu CRL* se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

3964 † *Bacampicillini hydrochloridum*

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (272 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 5,0, *vody R* a *lihu 96%* (10 + 40 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší proudem teplého vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS1* a zahřívá se 10 min při 60 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou tři zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 2 mg se převedou do zkumavky dlouhé asi 150 mm a průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu* v *kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá kroužením; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká tmavožluté zbarvení.
- D. Asi 25 mg se rozpustí ve 2 ml *vody R*. Přidají se 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a protřepe se. Po několika minutách se přidají 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 0,5 ml *dusičnanu stříbrného RS1*; vzniká bílá sraženina, která se rozpustí po přidání 0,5 ml *amoniaku 26% R*.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,200 g se rozpustí ve 20 ml *vody R*; roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1). 0,500 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Absorbance (2.2.25) roztoku měřená při 430 nm není větší než 0,10.

Hodnota pH (2.2.3). 3,0 až 4,5. Měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +175° až +195°, počítáno na bezvodou látku prostou rozpouštědlem. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Butylacetat a ethylacetat. Nejvýše 2,0 % butylacetatu, nejvýše 4,0 % ethylacetatu a nejvýše 5,0 % obou rozpouštědel celkem. Stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28) za použití metody standardního přídatku.

Roztok vzorku. 50,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití Systému A zkoušky na zbytková rozpouštědla (2.4.24) a následujících head-space podmínek:

- teplota ustavování rovnováhy 60 °C,
- doba ustavování rovnováhy 20 min.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) postupem uvedeným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže pík odpovídající ampicilinu je oddělen od piků rozpouštědla. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %); součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího

roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,8 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok a porovnávací roztoky (a), (b) a (d) se připraví těsně před použitím.

Fosforečnanový tlumivý roztok A. 1,4 g dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na asi 800 ml. Upraví se pH roztoku kyselinou fosforečnou zředěnou RS na hodnotu 3,0 a doplní se vodou R do 1000,0 ml.

Fosforečnanový tlumivý roztok B. 2,75 g dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R a 2,3 g hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na asi 1800 ml. Je-li nutno, upraví se pH roztoku kyselinou fosforečnou zředěnou RS nebo hydroxidem sodným zředěným RS na hodnotu 6,8 a doplní se vodou R do 2000,0 ml.

Zkoušený roztok. 30,0 mg se rozpustí ve fosforečnanovém tlumivém roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 30,0 mg bakampiciliniumchloridu CRL se rozpustí ve fosforečnanovém tlumivém roztoku A a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí fosforečnanovým tlumivým roztokem A na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 30 mg zkoušené látky se rozpustí ve fosforečnanovém tlumivém roztoku B a zředí se jím na 100 ml. Roztok se zahřívá asi 30 min při 80 °C.

Porovnávací roztok (d). 20 mg amplicilinu trihydrátu CRL se rozpustí ve fosforečnanovém tlumivém roztoku A a zředí se jím na 250 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí fosforečnanovým tlumivým roztokem A na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,05 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a roztoku tetrahexylamoniumhydrogensulfátu R (0,06 %) ve fosforečnanovém tlumivém roztoku B (30 + 70), s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

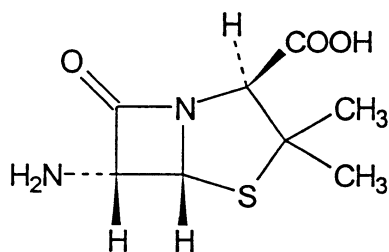
Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní retenční čas rozkladného produktu, jehož pík následuje po píku bakampicilinu, je 1,12 až 1,38, vztaženo k bakampicilinu. Je-li nutno, upraví se koncentrace tetrahexylamoniumhydrogensulfátu R v mobilní fázi. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku bakampicilinu je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a). Vypočítá se obsah bakampiciliniumchloridu v procentech.

3966 † *Bacampicillini hydrochloridum*

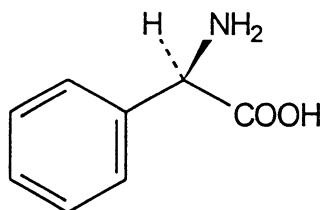
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.
Separandum.

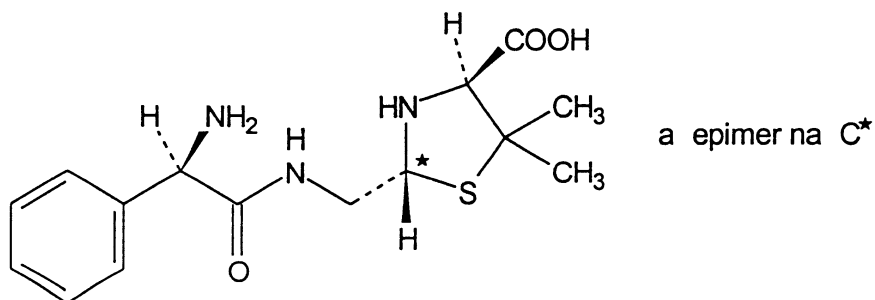
Nečistoty



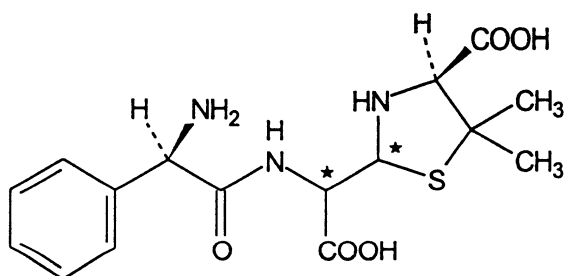
A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (kyselina 6-aminopenicilanová),



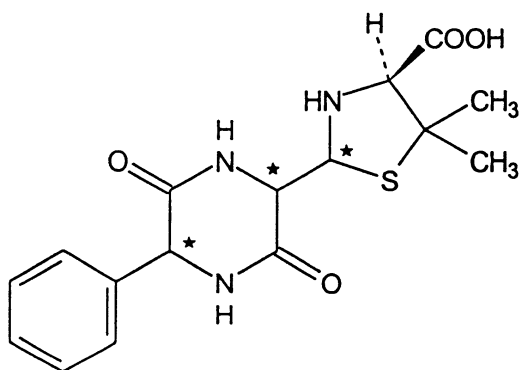
B. kyselina (2*R*)-2-amino-2-fenylactová (D-fenylglycin),



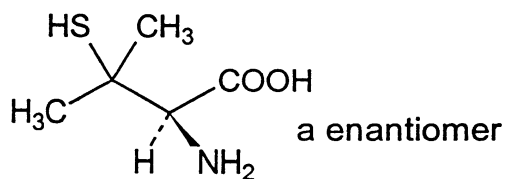
C. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamidomethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny ampicilinu),



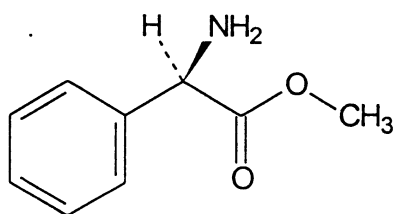
D. kyselina (4*S*)-2-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamidokarboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny ampicilinu),



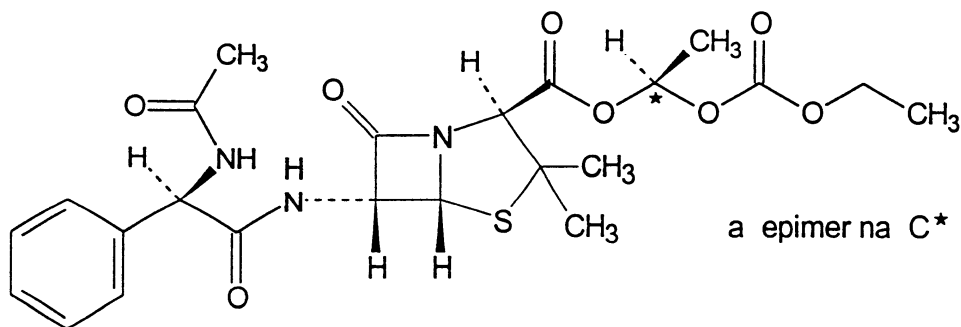
E. kyselina (4*S*)-2-(5-fenyl-3,6-dioxopiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (diketopiperaziny ampicilinu),



F. kyselina (2*RS*)-2-amino-3-methyl-3-merkaptobutanová (DL-penicilamin),



G. methyl-(2*R*)-2-amino-2-fenylacetat (methyl-D-fenylglycinat),

3968 † *Bambuteroli hydrochloridum*

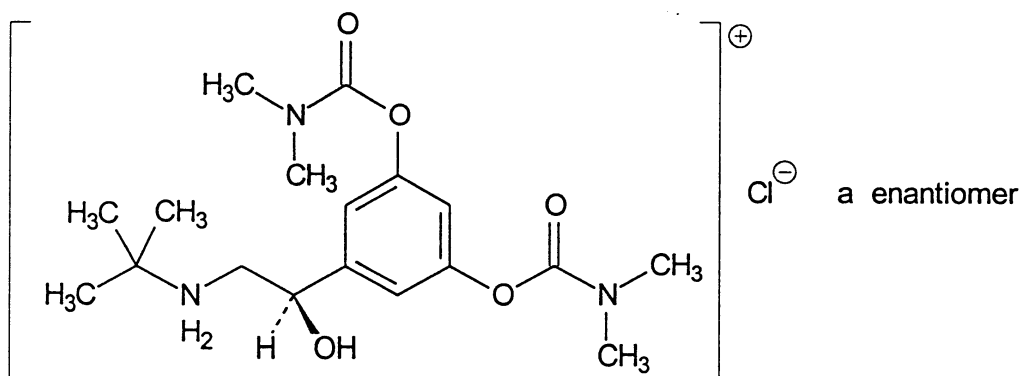
H. (1*RS*)-1-[(ethoxykarbonyl)oxy]ethyl-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-acetylamino-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylat (N-acetylbakampicilin),
I. ampicilin.

† **Bambuteroli hydrochloridum**

Bambuteroliumchlorid



1999

C₁₈H₃₀ClN₃O₅M_r 403,91

CAS 81732-46-9

Je to {(*RS*)-2-hydroxy-2-[3,5-bis(*N,N*-dimethylkarbamoyloxy)fenyl]-ethyl} terc.butylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C₁₈H₃₀ClN₃O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *bambuteroliumchloridu CRL*. Pokud spektra vykazují rozdíly, rozpustí se zkoušená látka i referenční látka ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 6), chladí se v ledu do vzniku sraženiny, obě sraženiny se suší ve vakuu při 50 °C do konstantní hmotnosti a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 4,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20,0 ml.

Kyselie nebo zásaditě reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 0,2 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je červený. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý.

Optická otáčivost (2.2.7). –0,10° až +0,10°. Měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 10 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 5,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 mg *formoterolfumaratu dihydrátu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml. 0,8 ml tohoto roztoku se smíchá s 0,4 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená následujícím způsobem: 1,3 g *oktansulfonanu sodného R* se rozpustí ve 430 ml směsi objemových dílů *acetonitrilu R1* a *methanolu R* (25 + 75); tento roztok se pak smíchá s 570 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,0 (0,050 mol/l)* [6,90 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml, pH se upraví na hodnotu 3,0 roztokem *kyseliny fosforečné zředěné R* (50 g/l)]. Průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla přibližně 50 % celého rozsahu zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: formoterolu asi 7 min a bambuterolu asi 9 min. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píky odpovídajícími formoterolu a bambuterolu je nejméně 5,0. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu 1,5násobku retenčního času bambuterolu. Pokud je nutné, upraví se složení mobilní fáze. Zvýšením obsahu fosforečnanového *tlumivého roztoku* se zvýší retenční časy.

Odděleně se nastříkne 20 μl mobilní fáze, 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %);

3970 † *Bambuteroli hydrochloridum*

součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,6 %). Nepřihlíží se k píkům mobilní fáze a k píkům s plochou menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

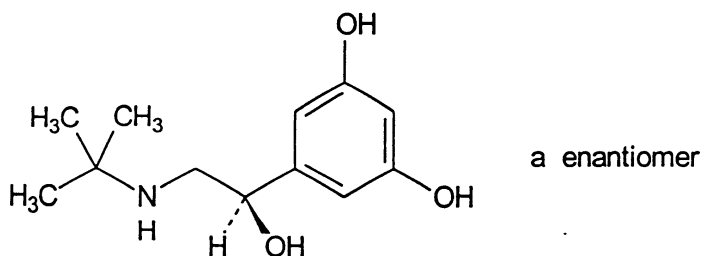
0,320 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* a přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*. Proveďte se potenciometrická titrace (2.2.20) s použitím *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Odečítá se objem přidaný mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 40,39 mg $C_{18}H_{30}ClN_3O_5$.

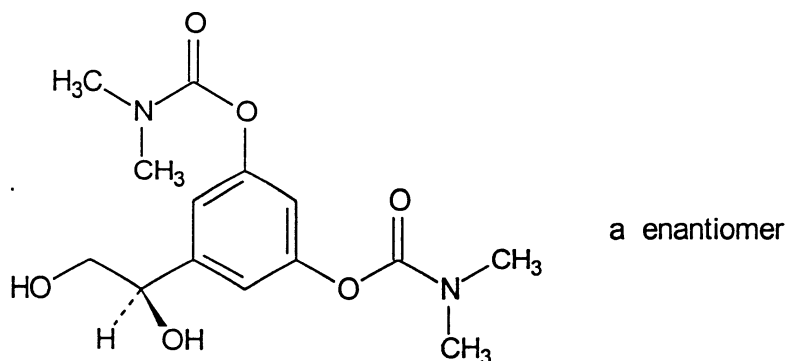
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

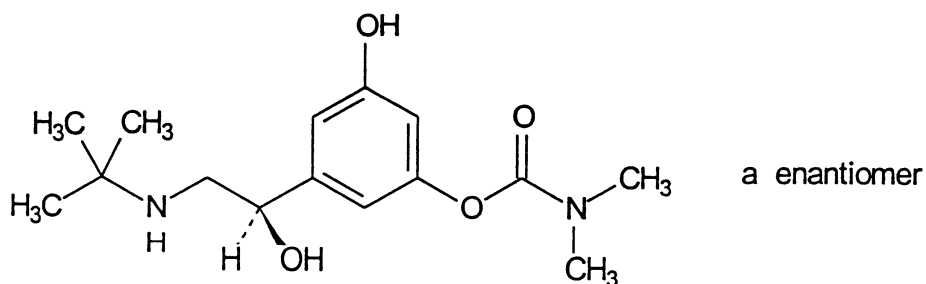
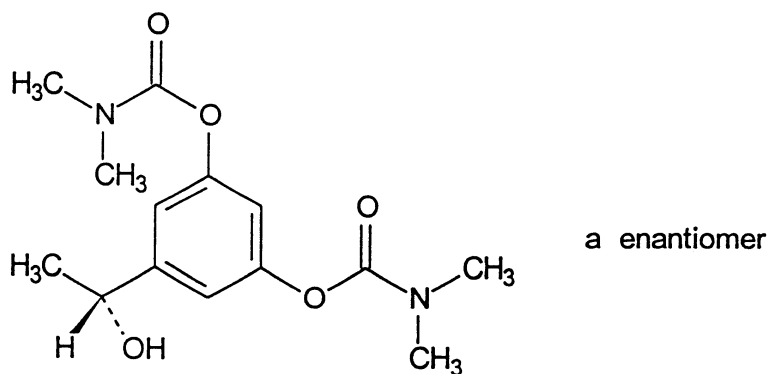
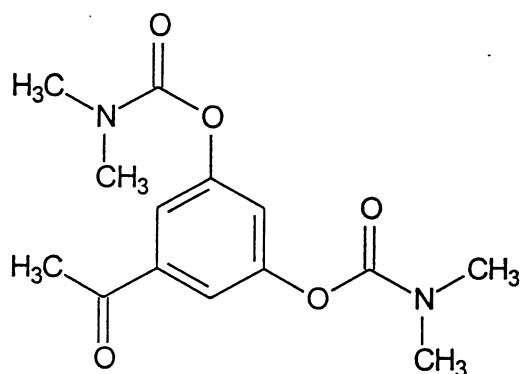
Separandum.

Nečistoty

A. (1*RS*)-1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-(terc.butylamino)ethanol (terbutalin),

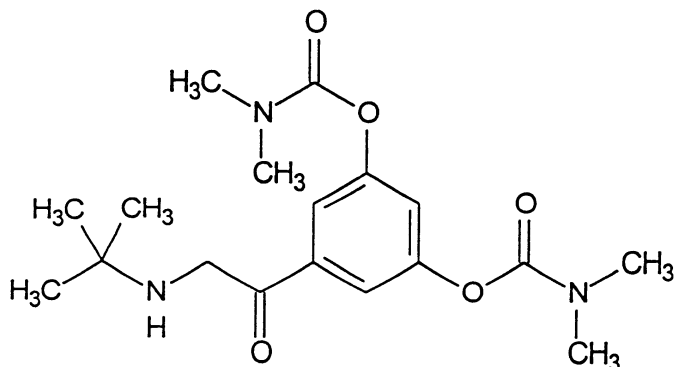


B. 5-[(1*RS*)-1,2-dihydroxyethyl]-1,3-benzendiyl-bis(dimethylkarbamát),

† *Bambuteroli hydrochloridum* 3971C. 3-[(1*RS*)-2-terc.butylamino-1-hydroxyethyl]-5-hydroxyfenyl-dimethylkarbamát,D. 5-[(1*RS*)-1-hydroxyethyl]-1,3-benzendiyl-bis(dimethylkarbamát),

E. 5-acetyl-1,3-benzendiyl-bis(dimethylkarbamát),

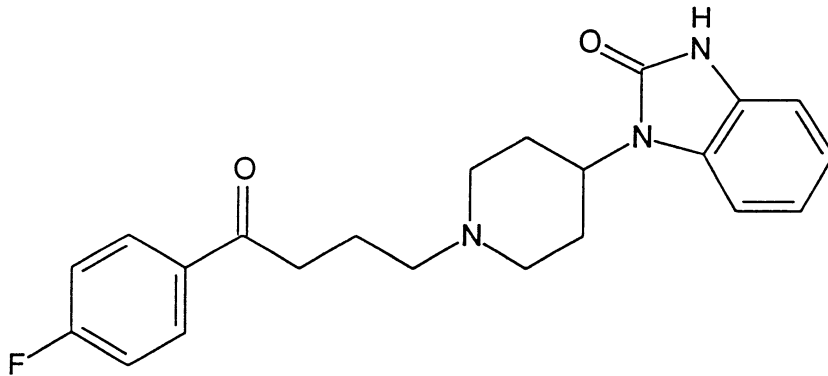
3972 †† Benperidolum



F. 5-(terc.butylaminoacetyl)-1,3-benzendiyl-bis(dimethylkarbamát).

†† Benperidolum

Benperidol

1998  $C_{22}H_{24}FN_3O_2$ M_r 381,45

CAS 2062-84-2

Je to 1-{1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]-4-piperidyl}-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{22}H_{24}FN_3O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylformamidu, dobře rozpustný v dichlormethanu a těžce rozpustný v lihu 96%. Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *benperidolu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v minimálním množství *isobutylmethylketonu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 30 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg *benperidolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 30 mg *benperidolu CRL* a 30 mg *droperidolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 10 mg se rozpustí v 5 ml *ethanolu R*, přidá se 0,5 ml *dinitrobenzenu RS* a 0,5 ml *hydroxidu draselného v líhu 2 mol/l RS*; vznikne fialové zbarvení, které se po 20 min mění na hnědočervené.
- D. Asi 5 mg se smíchá se 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do téměř bílého zbarvení (obvykle do 5 min). Nechá se ochladit, přidá se 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolftaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* (roztok se odbarví) a zfiltruje se. K 1,0 ml filtrátu se přidá čerstvě připravená směs 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS*, smíchá se a nechá se 5 min stát. Zbarvení roztoku se porovná se zbarvením kontrolního roztoku připraveného stejným způsobem. Zkoušený roztok je žlutý a kontrolní roztok je červený.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se připraví těsně před použitím.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg *benperidolu CRL* a 2,5 mg *droperidolu CRL* se rozpustí v *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *dimethylformamidem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *dimethylformamidem R* na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 µm),

3974 †† *Benperidolum*

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (10,0 g/l),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	100 → 60	0 → 40	lineární gradient
15 - 20	60	40	izokraticky
20 - 25	100	0	přepnutí na původní podmínky
25 = 0	100	0	začátek dalšího chromatogramu

- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrilem R* a pak nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 µl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: benperidolu asi 6,5 min a droperidolu asi 7 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími benperidolu a droperidolu je nejméně 2,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 µl *dimethylformamidu R* jako kontrolní tekutina, 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému ve slepé zkoušce a k žádnému píku s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

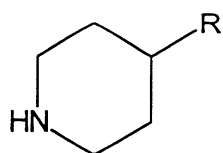
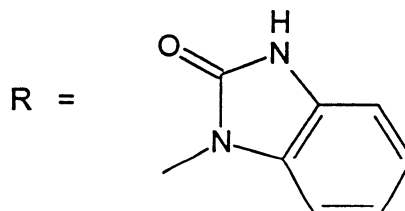
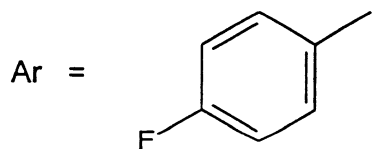
. 1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 38,14 mg $C_{22}H_{24}FN_3O_2$.

Uchování

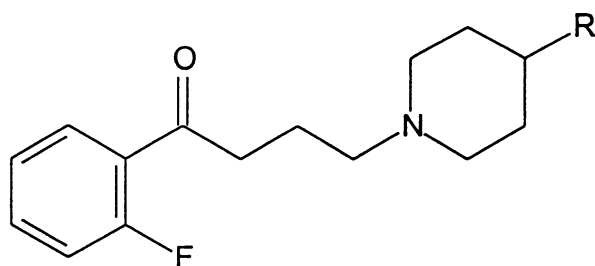
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Venenum.

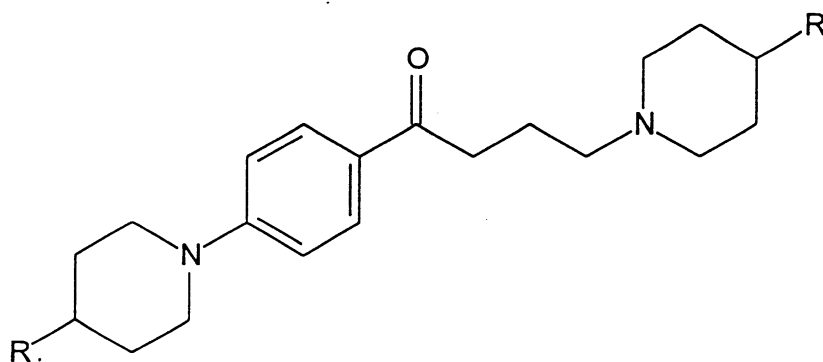
Nečistoty



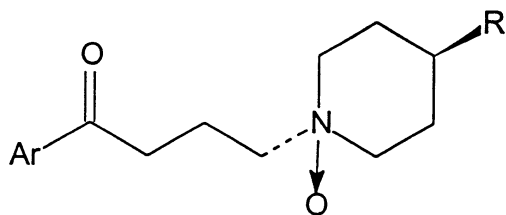
A. 1-(4-piperidyl)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on,



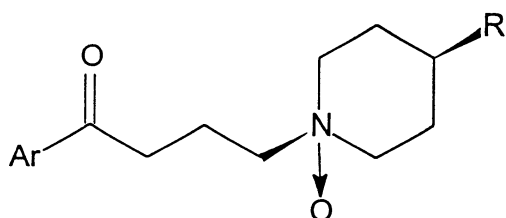
B. 1-{1-[4-(2-fluorfenyl)-4-oxobutyl]-4-piperidyl}-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on,



C. 1-{1-{4-oxo-4-[4-[4-(2,3-dihydro-2-oxo-1H-benzimidazol-1-yl)-1-piperidyl]fenyl]butyl}-4-piperidyl}-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-on,

3976 † *Benserazidi hydrochloridum*

D. *cis*-4-(2-oxo-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-1-yl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-1-oxid,

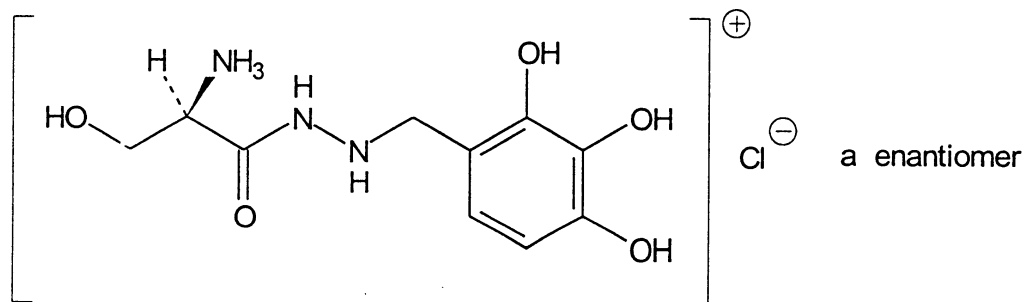


E. *trans*-4-(2-oxo-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-1-yl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-1-oxid.

† **Benserazidi hydrochloridum**

Benserazidiumchlorid

1998

C₁₀H₁₆ClN₃O₅M_r 293,71

CAS 14919-77-8

Je to (*RS*)-2-hydroxy-1-[(2,3,4-trihydroxybenzyl)hydrazinokarbonyl]ethylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₁₀H₁₆ClN₃O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo žlutobílý či oranžovobílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu a těžce rozpustný v ethanolu.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *benserazidiumchloridu CRL*.
- B. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než barevný porovnávací roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,0; měří se roztok S.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,05^\circ$ až $+0,05^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

K přípravě roztoků se použije mobilní fáze ochlazená na 4 °C a vzorky se nastříkují ihned po přípravě.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. 5,0 mg *benserazidiumchloridu nečistoty A CRL* a 5,0 mg *benserazidiumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí připravenou následujícím způsobem: 4,76 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 800 ml *vody R*; přidá se 200 ml *acetonitrilu R* a 1,22 g *dekansulfonanu sodného R*; hodnota pH se upraví na 3,5 *kyselinou fosforečnou R*; průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A (první pík) a *benserazidiumchloridu* (druhý pík) je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 9násobku retenčního času *benserazidiumchloridu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku nečistoty A není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než plocha píku *benserazidiumchloridu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než dvojnásobek plochy píku *benserazidiumchloridu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy píku *benserazidiumchloridu* na chromatogramu porovnávacího roztoku.

3978 † *Benserazidi hydrochloridum*

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

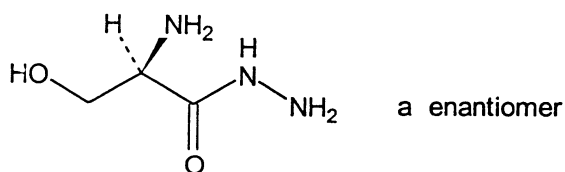
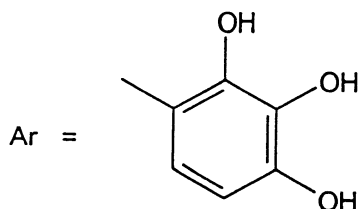
Aby se zabránilo přehřátí během titrace, je nutno roztok pečlivě míchat a titraci ukončit ihned po dosažení bodu ekvivalence.

0,250 g se rozpustí v 5 ml kyseliny mravenčí bezvodé R. Přidá se 70 ml kyseliny octové bezvodé R a ihned se titruje kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

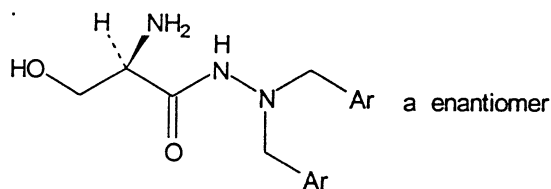
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 29,37 mg C₁₀H₁₆ClN₃O₅.

Uchovávání

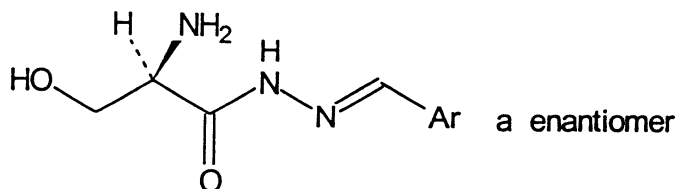
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

A. (RS)-2-amino-3-hydroxypropionohydrazid,



B. (RS)-2-amino-3-hydroxy-2',2'-bis(2,3,4-trihydroxybenzyl)propionohydrazid,



C. (*RS*)-2-amino-3-hydroxy-2'-(2,3,4-trihydroxybenzylidene)propionohydrazid.

Benzalkonii chloridi solutio

Roztok benzalkoniumchloridu



1999

Je to vodný roztok směsi alkylbenzylidimethylamoniumchloridů, jejichž alkylové skupiny mají délku řetězců C_8 až C_{18} . Obsahuje 475 g/l až 525 g/l alkylbenzylidimethylamoniumchloridů, počítaných jako $C_{22}H_{40}ClN$ (M_r 354,02). Roztok může obsahovat ethanol.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá tekutina, mísitelná s vodou a lihem 96%. Při třepání silně pění.

Zkoušky totožnosti

- A. 0,3 ml se zředí vodou *R* na 100 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku v rozmezí při 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje absorpční maxima při 257 nm, 263 nm a 269 nm a prodlěvu při asi 250 nm.
- B. K 0,05 ml se přidají 2 ml vody *R*, 0,1 ml kyseliny octové ledové *R* a po kapkách 1 ml tetrafenylboritanu sodného *RS*; vznikne bílá sraženina. Směs se zfiltruje a sraženina se rozpustí ve směsi 1 ml acetonu *R* a 5 ml lihu 96% *R* zahřátím nejvýše na 70 °C. K teplému roztoku se po kapkách přidává voda *R*, až se vytvoří slabá opalescence. Potom se znovu opatrně zahřívá do vyjasnění roztoku a nechá se ochladit. Vzniknou bílé krystaly, které se odfiltrují, promyjí třikrát 10 ml vody *R* a usuší se ve vakuu nad oxidem fosforečným *R* nebo silikagelem bezvodým *R* při teplotě nepřevyšující 50 °C; krystaly tají (2.2.14) při 127 °C až 133 °C.
- C. K 5 ml hydroxidu sodného zředěného *RS* se přidá 0,1 ml modři bromfenolové *RS1*, 5 ml chloroformu *R* a protřepe se. Chloroformová vrstva je bezbarvá. Přidá se 0,05 ml zkoušeného roztoku a protřepe se; vznikne modré zbarvení chloroformové vrstvy.
- D. K 0,05 ml se přidá 1 ml kyseliny dusičné zředěné *RS*; vznikne bílá sraženina, která se po přidání 5 ml lihu 96% *R* rozpustí. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g se zředí vodou prostou oxidu uhličitého *R* na 100 ml.

3980 Benzalkonii chloridum

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 50 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně bromkresolové RS. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS nebo 0,1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Aminy a amonné soli. 10,0 g se zahřátím smíchá s 20 ml směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a methanolu R (3 + 97) a přidá se 100 ml 2-propanolu R. Roztok se nechá pomalu probublávat proudem dusíku R. Postupně se přidá 12,0 ml tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS a zaznamená se potenciometricky (2.2.20) titrační křivka. Vykazuje-li titrační křivka dva inflexní body, objem titračního roztoku přidáný mezi těmito body není větší než 5,0 ml. Nevykazuje-li titrační křivka žádný inflexní bod, zkoušený roztok této zkoušce nevyhovuje. Vykazuje-li titrační křivka jeden inflexní bod, zkouška se opakuje, ale před titrací se přidají 3,0 ml roztoku dimethyldecylaminu R (25 g/l) v 2-propanolu R. Vykazuje-li titrační křivka po přidání 12,0 ml stejného titračního činidla pouze jeden inflexní bod, zkoušená látka této zkoušce nevyhovuje.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se hustota (2.2.5) zkoušeného roztoku. 4,000 g se zředí vodou R na 100,0 ml. 25,0 ml tohoto roztoku se přenesou do dělicí nálevky, přidá se 25 ml chloroformu R, 10 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku jodidu draselného R (50 g/l). Dobře se protřepe, nechají se oddělit vrstvy a chloroformová vrstva se odstraní. Vodná vrstva se protřepe třikrát 10 ml chloroformu R a chloroformové vrstvy se odstraní. K vodné vrstvě se přidá 40 ml kyseliny chlorovodíkové R, nechá se ochladit a titruje se jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS, pokud se tmavě hnědý roztok téměř neodbarví. Potom se přidají 2 ml chloroformu R a pokračuje se v titraci za intenzivního třepání, dokud se barva chloroformové vrstvy již dále nemění. Současně se provede slepá zkouška se směsí 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku jodidu draselného R (50 g/l), 20 ml vody a 40 ml kyseliny chlorovodíkové R.

1 ml jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS odpovídá 35,40 mg C₂₂H₄₀CIN.

Označování

V označení na obalu se uvede obsah ethanolu, pokud je v přípravku přítomen.

Benzalkonii chloridum

Benzalkoniumchlorid



1999

CAS 8001-54-5

Je to směs alkylbenzyltrimethylamoniumchloridů, jejichž alkylové skupiny mají délky řetězců C₈ až C₁₈. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 104,0 % alkylbenzyltrimethylamoniumchloridů, počítaných jako C₂₂H₄₀CIN (M_r 354,02).

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý prášek nebo nažloutlé želatinové kousky, hygroskopické, na dotyk mazlavé. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%. Při zahřívání se tvoří čirá mazlavá hmota. Vodný roztok při třepání silně pění.

Zkoušky totožnosti

- A. 80 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku v rozmezí 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje absorpční maxima při 257 nm, 263 nm a 269 nm a prodlužku při asi 250 nm.
- B. Ke 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml kyseliny octové ledové R a po kapkách 1 ml tetrafenylboritanu sodného RS; vznikne bílá sraženina. Směs se zfiltruje a sraženina se rozpustí ve směsi 1 ml acetonu R a 5 ml lihu 96% R zahřátím nejvýše na 70 °C. K teplému roztoku se po kapkách přidává voda R, až se vytvoří slabá opalescence. Potom se znovu opatrně zahřívá do vyjasnění roztoku a nechá se ochladit. Vzniknou bílé krystaly, které se odfiltrují, promyjí třikrát 10 ml vody R a usuší se ve vakuu nad oxidem fosforečným R nebo silikagelem bezvodým R při teplotě nepřevyšující 50 °C; krystaly tají (2.2.14) při 127 °C až 133 °C.
- C. K 5 ml hydroxidu sodného zředěného RS se přidá 0,1 ml modři bromfenolové RS1, 5 ml chloroformu R a protřepe se. Chloroformová vrstva je bezbarvá. Přidá se 0,1 ml roztoku S a protřepe se; vznikne modré zbarvení chloroformové vrstvy.
- D. Ke 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml kyseliny dusičné zředěné RS; vznikne bílá sraženina, která se po přidání 5 ml lihu 96% R rozpustí. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 50 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně bromkresolové RS. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS nebo 0,1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Aminy a amonné soli. 5,0 g se zahřátím rozpustí ve 20 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a methanolu R (3 + 97) a přidá se 100 ml 2-propanolu R. Roztok se nechá pomalu probublávat proudem dusíku R. Postupně se přidá 12,0 ml tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS a zaznamená se potenciometricky (2.2.20) titrační křivka. Vykazuje-li titrační křivka dva inflexní body, objem titračního roztoku přidaný mezi těmito body není větší než 5,0 ml. Nevykazuje-li titrační křivka žádný inflexní bod, zkoušená látka nevyhovuje této zkoušce. Vykazuje-li titrační křivka jeden inflexní bod, zkouška se opakuje, ale před titrací se přidají 3,0 ml roztoku dimethyldecylaminu R (25 g/l) v 2-propanolu R. Vykazuje-li titrační křivka po přidání 12,0 ml stejného titračního činidla pouze jeden inflexní bod, zkoušená látka nevyhovuje této zkoušce.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 10 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

3982 Biotinum

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2,00 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 25,0 ml tohoto roztoku se přenese do dělicí nálevky, přidá se 25 ml chloroformu R, 10 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku jodidu draselného R (50 g/l). Dobře se protřepe, nechají se oddělit vrstvy a chloroformová vrstva se odstraní. Vodná vrstva se protřepe třikrát 10 ml chloroformu R a chloroformové vrstvy se odstraní. K vodné vrstvě se přidá 40 ml kyseliny chlorovodíkové R, nechá se ochladit a titruje se jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS, pokud se tmavě hnědý roztok téměř neodbarví. Potom se přidají 2 ml chloroformu R a pokračuje se v titraci za intenzivního třepání, dokud se barva chloroformové vrstvy již dále nemění. Současně se provede slepá zkouška se směsí 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku jodidu draselného R (50 g/l), 20 ml vody R a 40 ml kyseliny chlorovodíkové R.

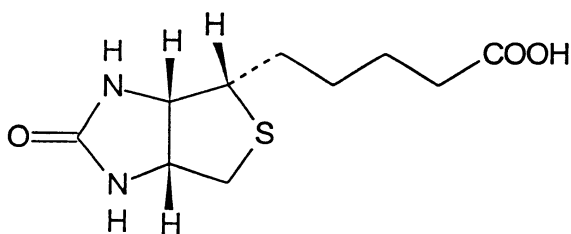
1 ml jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS odpovídá 35,40 mg C₂₂H₄₀CIN.

Biotinum

Biotin



1999

C₁₀H₁₆N₂O₃SM_r 244,31

CAS 58-85-5

Je to kyselina 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]pentanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₁₀H₁₆N₂O₃S.

Vlastnosti

· Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem biotinu CRL.

- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** Asi 10 mg se rozpustí zahřátím ve 20 ml vody R. Po ochlazení se smíchá s 0,1 ml bromové vody R; zbarvení bromové vody zmizí.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,250 g se rozpustí v roztoku *hydroxidu sodného R* (4 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +89° až +93°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu (5 µm).

Roztoky se připravují těsně před použitím a při zkoušce je nutno chránit je před světlem.

Zkoušený roztok (a). 50 mg se rozpustí v *kyselině octové ledové R* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *kyselinou octovou ledovou R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *biotinu CRL* se rozpustí v *kyselině octové ledové R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *kyselinou octovou ledovou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *kyselinou octovou ledovou R* na 40 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R*, *kyseliny octové ledové R* a *toluenu R* (5 + 25 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a po ochlazení se postříká *4-dimethylaminocinnamaldehydem RS* a ihned se pozoruje v denním světle. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a nejvýše jedna z takových skvrn je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,25 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 10 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

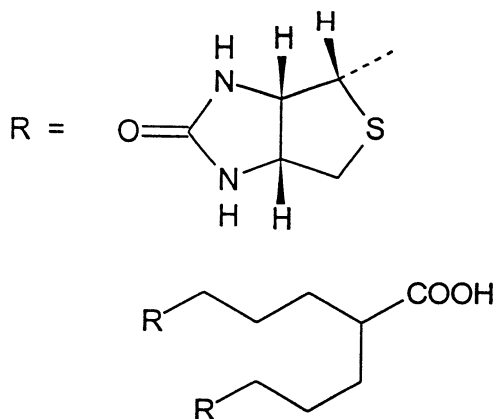
Stanovení obsahu

0,200 g se suspenduje v 5 ml *dimethylformamidu R* a zahřívá se až do úplného rozpuštění látky. Přidá se 50 ml *ethanolu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem* 0,1 mol/l VS za potencio-metrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

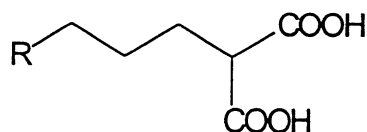
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu* 0,1 mol/l VS odpovídá 24,43 mg C₁₀H₁₆N₂O₃S.

3984 *Biotinum***Uchovávání**

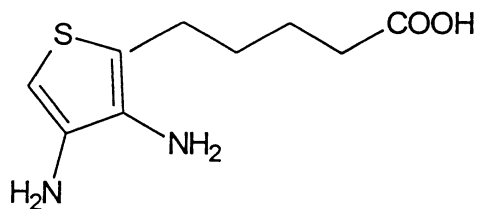
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

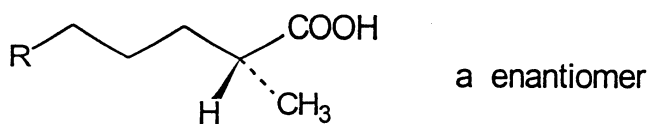
A. kyselina bis{3-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]propyl} octová,



B. kyselina 4-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]butan-1,1-dikarboxylová,

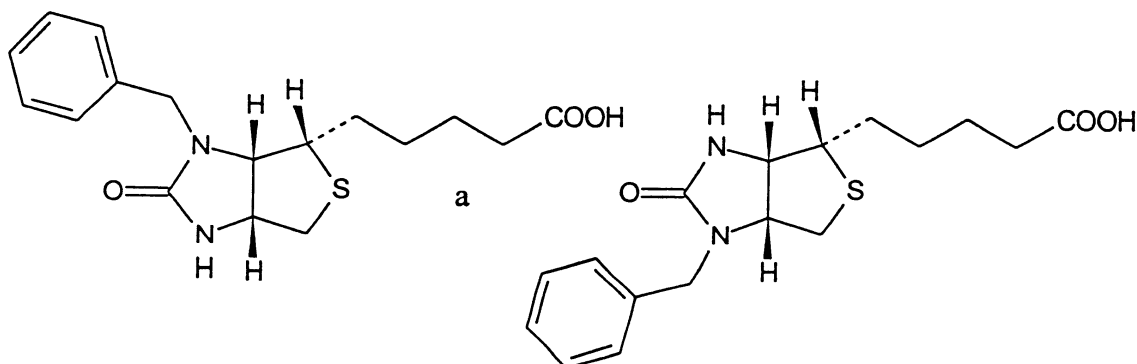


C. kyselina 5-(3,4-diamino-2-thienyl)pentanová,



D. kyselina 2-methyl-5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]pentanová,

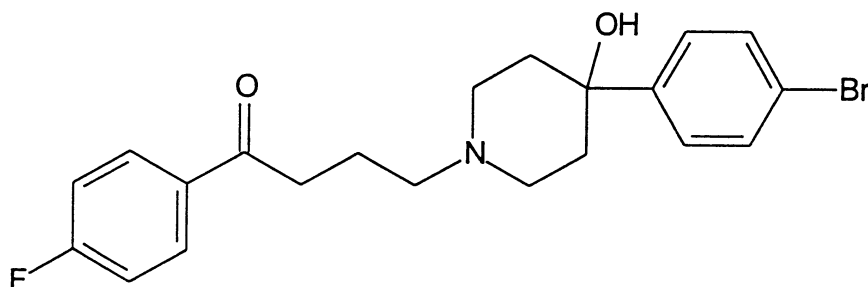
† Bromperidolum 3985



E. kyselina 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-1-benzyl-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]pentanová
a kyselina 5-[(3a*S*,4*S*,6a*R*)-3-benzyl-2-oxohexahydrothieno[3,4-*d*]imidazol-4-yl]pentanová.

† Bromperidolum

Bromperidol

1998  $C_{21}H_{23}BrFNO_2$ M_r 420,32

CAS 10457-90-6

Je to 4-[4-(4-bromofenyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-(4-fluorofenyl)-1-butanon. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{21}H_{23}BrFNO_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu a v dichlormethanu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

3986 † Bromperidolum

- A. Teplota tání (2.2.14). 156 °C až 159 °C.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *bromperidolu CRL*.
- C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *bromperidolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *bromperidolu CRL* a 10 mg *haloperidolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R*, *methanolu R* a roztoku *chloridu sodného R* (58 g/l) (10 + 45 + 45) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou patrné dvě skvrny, které nemusí být úplně oddělené.

- D. 10 mg se rozpustí v 5 ml *ethanolu R*, přidá se 0,5 ml *dinitrobenzenu RS* a 0,5 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*; vznikne fialové zbarvení, které se po 20 min mění na hnědočervené.
- E. K 0,1 g zkoušené látky umístěné v porcelánovém kelímku se přidá 0,5 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R*. Zahřívá se 10 min na otevřeném plameni a nechá se zchladnout. Ke zbytku se přidá *kyselina dusičná zředěná RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*; roztok vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,2 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *kyseliny mléčné R* (1% V/V); roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg *bromperidolu CRL* a 5,0 mg *haloperidolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (17 g/l),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*.
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

† *Bromperidolum* 3987

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	90 → 50	10 → 50	lineární gradient
15 - 20	50	50	izokraticky
20 - 25	90	10	přepnutí na původní podmínky
25 = 0	90	10	začátek dalšího chromatogramu

- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrem R* a pak nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 µl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenávání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: haloperidolu asi 5,5 min a bromperidolu asi 6 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky haloperidolu a bromperidolu je nejméně 3,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 µl *methanolu R* jako slepá zkouška, 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému ve slepé zkoušce a k žádnému píku s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 42,03 mg $C_{21}H_{23}BrFNO_2$.

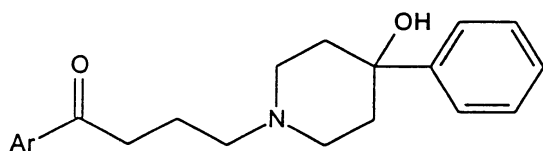
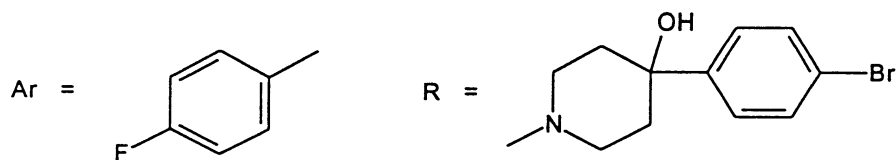
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

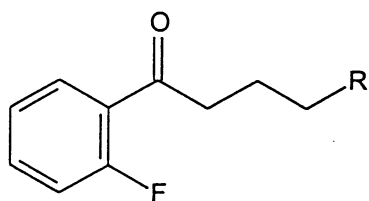
Separandum.

3988 † *Bromperidolum*

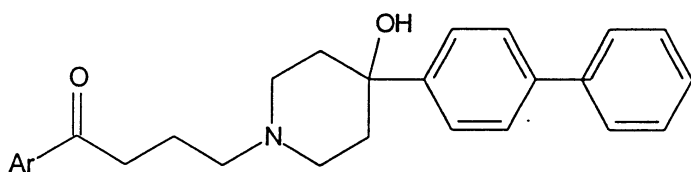
Nečistoty



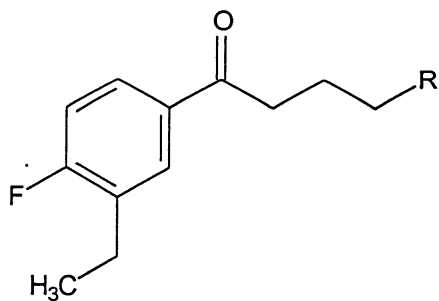
A. 1-(4-fluorfenyl)-4-(4-fenyl-4-hydroxy-1-piperidyl)-1-butanon,



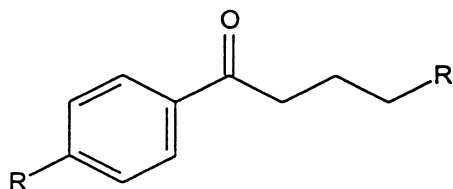
B. 4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-(2-fluorfenyl)-1-butanon,



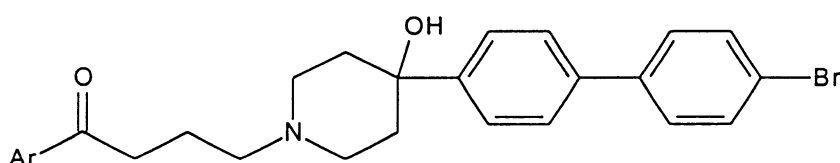
C. 4-[4-(4-bifenylyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-(4-fluorfenyl)-1-butanon,



D. 4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-(3-ethyl-4-fluorfenyl)-1-butanon,



E. 4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-{4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxy-1-piperidyl]fenyl}-1-butanon,



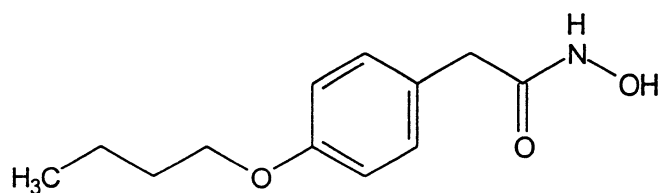
F. 4-[4-(4'-brombifenyl-4-yl)-4-hydroxy-1-piperidyl]-1-(4-fluorfenyl)-1-butanon.

Bufexamacum

Bufexamak



1998



$C_{12}H_{17}NO_3$

M_r 223,27

CAS 2438-72-4

Je to 2-(4-butoxyfenyl)-N-hydroxyacetamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{12}H_{17}NO_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dimethylformamidu, těžce rozpustný v ethylacetatu a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

3990 *Bufexamacum*

- A. 20 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku (2.2.25) při 210 nm až 360 nm; roztok vykazuje tři absorpční maxima: při 228 nm, 277 nm a 284 nm.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *bufexamaku CRL*.
- C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *bufexamaku CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *kyseliny salicylové R* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku. Vyvijí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *dioxanu R* a *toluenu R* (4 + 20 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *bufexamaku CRL* a 5 mg *kyseliny salicylové R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m) se specifickým povrchem 350 m²/g a velikostí pórů 10 nm,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min, která je směsí objemových dílů roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (1,4 g/l) a *methanolu R* (30 + 70), jejíž hodnota pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na 3,6,
- spektrofotometrického detektoru, 275 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky *kyseliny salicylové* a *bufexamaku* nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 4násobku retenčního času *bufexamaku*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

§† Buprenorphini hydrochloridum 3991

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se 3 h suší ve vakuu při 80 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

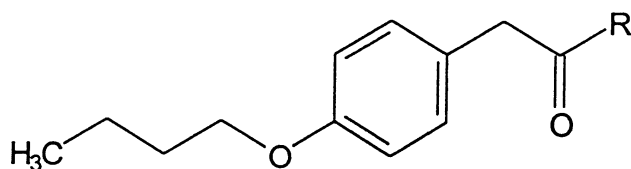
0,200 g se rozpustí v 50 ml *dimethylformamidu R*. Titruje se *methoxidem lithným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *methoxidu lithného 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,33 mg $C_{12}H_{17}NO_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

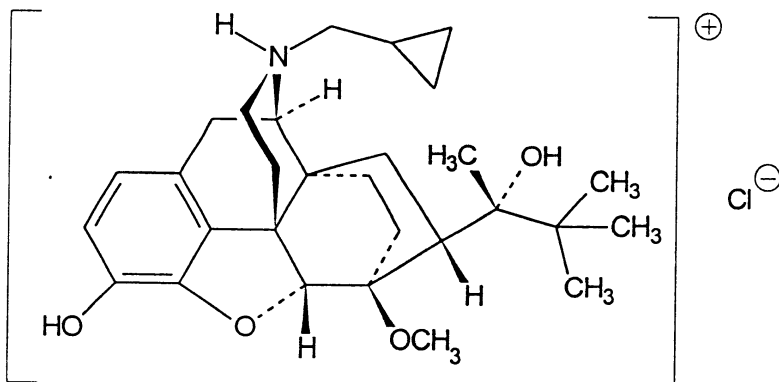


- A. R = OH: kyselina 2-(4-butoxyfenyl)octová,
 B. R = OCH₃: methyl-2-(4-butoxyfenyl)acetat,
 C. R = OC₄H₉: butyl-2-(4-butoxyfenyl)acetat,
 D. R = NH₂: 2-(4-butoxyfenyl)acetamid.

§† Buprenorphini hydrochloridum

Buprenorfiniumchlorid

1998 



$C_{29}H_{42}ClNO_4$

M_r 504,11

CAS 53152-21-9

3992 §7 *Buprenorphini hydrochloridum*

Je to (2*S*)-17-(cyklopropylmethyl)-7 α -(3,3-dimethyl-2-hydroxy-2-butyl)-4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfiniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₂₉H₄₂ClNO₄.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. pro buprenorfiumchlorid*.

B. 3,0 ml roztoku S (viz Zkoušky na čistotu) vyhovují zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,250 g se rozpustí v 5,0 ml *methanolu R* a zředí se za míchání vodou prostou oxidu uhličitého *R* na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10,0 ml roztoku S se přidá 0,05 ml *methylčerveně RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -92° až -98° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg se rozpustí ve 2,0 ml *methanolu R*. Přidá se 0,25 ml *kyseliny chlorovodíkové 2 mol/l RS*.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,65 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 4,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *octanu amonného R* (10 g/l) a *methanolu R* (10 + 60); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 288 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Průtok se upraví tak, aby retenční čas píku buprenorfinu byl asi 15 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dva píky, první s relativním retenčním časem 0,93 vzhledem k druhému píku (buprenorfin).

Nastříkne se odděleně po 20 μ l každého roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se znamená po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku; plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,65 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 115 °C až 120 °C.

Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a přidá se 10 ml *acetanhydridu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

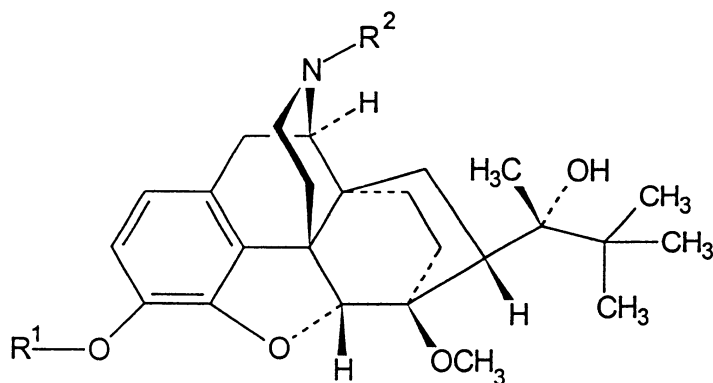
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 50,41 mg $C_{29}H_{42}ClNO_4$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

Nečistoty

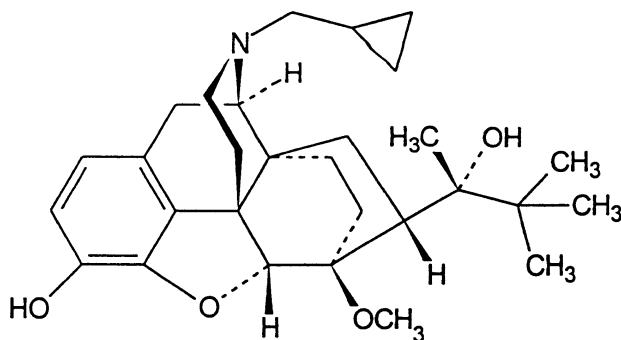


- A. $R^1 = H$, $R^2 = CH_2-CH_2-CH=CH_2$: (2*S*)-2-[17-(3-butenyl)-4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl]-3,3-dimethyl-2-butanol,
- B. $R^1 = H$, $R^2 = H$: (2*S*)-2-(4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl)-3,3-dimethyl-2-butanol,
- C. $R^1 = CH_3$, $R^2 = CN$: 4,5 α -epoxy-7 α -[(2*S*)-3,3-dimethyl-2-hydroxy-2-butyl]-3,6-dimethoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-17-karbonitril.

3994 §† Buprenorphinum

§† Buprenorphinum

Buprenorfin

1998  $C_{29}H_{41}NO_4$ M_r 467,64

CAS 52485-79-7

Je to (2*S*)-2-[17-(cyklopropylmethyl)-4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl]-3,3-dimethyl-2-butanol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{29}H_{41}NO_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v methanolu a těžce rozpustný v cyklohexanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích kyselin.

Taje při asi 217 °C.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur.* pro buprenorfin.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,250 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -103° až -107° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v *mobilní fázi* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg se rozpustí ve 2,0 ml *methanolu R*. Přidá se 0,25 ml *kyseliny chlorovodíkové 2 mol/l RS*.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí *mobilní fází* na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,65 ml zkoušeného roztoku se zředí *mobilní fází* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 4,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *octanu amonného R* (10 g/l) a *methanolu R* (10 + 60); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 288 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Průtok se upraví tak, aby retenční čas píku buprenorfinu byl asi 15 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dva píky, první s relativním retenčním časem 0,93 vzhledem k druhému píku (buprenorfin).

Nastříkne se odděleně po 20 μ l každého roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se znamená po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku; plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,65 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* do změny fialovomodrého zbarvení na zelené za použití 0,1 ml *violeti krystalové RS* jako indikátoru.

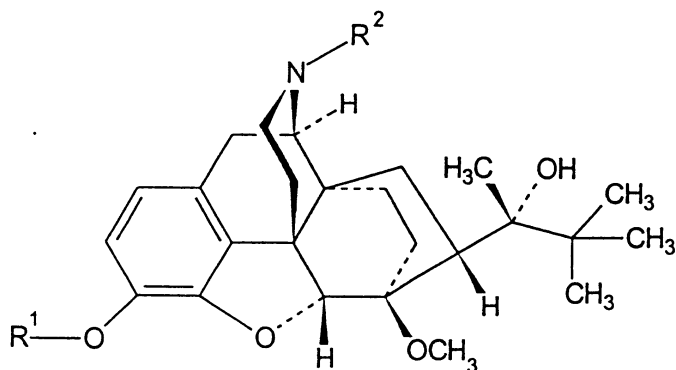
.1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 46,76 mg $C_{29}H_{41}NO_4$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

Nečistoty

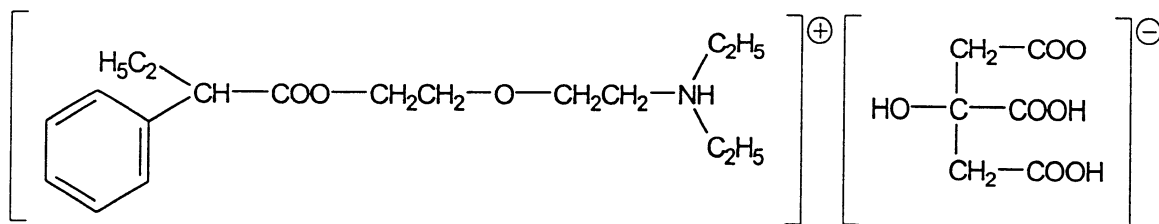


3996 *Butamirati dihydrogenocitras*

- A. $R^1 = H$, $R^2 = CH_2-CH_2-CH=CH_2$: (2*S*)-2-[17-(3-butenyl)-4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl]-3,3-dimethyl-2-butanol,
 B. $R^1 = H$, $R^2 = H$: (2*S*)-2-(4,5 α -epoxy-3-hydroxy-6-methoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-7 α -yl)-3,3-dimethyl-2-butanol,
 C. $R^1 = CH_3$, $R^2 = CN$: 4,5 α -epoxy-7 α -[(2*S*)-3,3-dimethyl-2-hydroxy-2-butyl]-3,6-dimethoxy-6 α ,14-ethano-14 α -morfinan-17-karbonitril.

Butamirati dihydrogenocitras**N**

Butamiraciumdihydrogencitrat

 $C_{24}H_{37}NO_{10}$ M_r 499,56

CAS 18109-81-4

Je to N-[2-(2-fenylbutyryloxyethoxy)ethyl]-N,N-diethylamoniumdihydrogencitrat. Vysušen pře-
 depšným způsobem, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{24}H_{37}NO_{10}$.

Vlastnosti

Bílý až slabě nažloutlý hrudkovitý voskovitý prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a dobře roz-
 pustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). 74 °C až 78 °C.
 B. 0,10 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto
 . roztoku při 220 nm až 300 nm; roztok vykazuje čtyři absorpční maxima; při 247 nm, 252 nm,
 258 nm a 264 nm.
 C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem
butamiraciumhydrogencitratu CRL. Měří se tablety látek s bromidem draselným R.
 D. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu,
 v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se
 polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
 E. Vyhovuje zkoušce na citronany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,25 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 4,0; měří se roztok S.

Cizí organické látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ R.

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,50 g butamiraciumdihydrogencitrátu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí methanolem R na 100 ml (roztok A). 1 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 2 ml roztoku A připraveného v odstavci porovnávací roztok (b) se zředí methanolem R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R a ethylacetátu R (5 + 10 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se 20 min zahřívá v sušárně při 100 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm; chromatogramy se použijí ke zkoušce totožnosti D. Potom se vrstva vystaví na 24 h působení par jodu a ihned po vyjmutí z komory s jodem se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,4 %) a pouze jedna z těchto skvrn je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

Chloridy (2.4.4). 1,50 g se rozpustí v 15 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se zředí vodou R na 24 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Cizí snadno zuhelnitelné organické látky. 0,050 g se rozpustí v 5 ml kyseliny sírové R; roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ₅ (2.2.2, Metoda II).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se 4 h suší ve vakuu při 50 °C. Vysušená látka se použije ke Stanovení obsahu.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,400 g ze zkoušky Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, se rozpustí ve 30 ml kyseliny octové bezvodé R, přidá se 5 ml acethydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Proveďte se slepá zkouška.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 49,96 mg C₂₄H₃₇NO₁₀.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

3998 *Butylparabenum*

Nečistoty

 $(C_2H_5)_2N-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-OH$

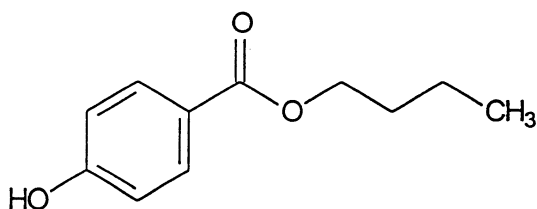
A. diethylaminoethoxyethanol.

Butylparabenum

Butylparaben

Synonymum. Butylis parahydroxybenzoas

1999

 $C_{11}H_{14}O_3$ M_r 194,23

CAS 94-26-8

Je to butyl-4-hydroxybenzoat. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{11}H_{14}O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 68 °C až 71 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *butylparabenu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

D. K asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*, zahřeje se k varu na 30 s a ochladí se (roztok a). K dalším asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*; látka se částečně rozpustí (roztok b). K roztokům (a) a (b) se současně přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakynoželezitanu draselného RS* a promíchá se; roztok (b) je žlutý až

oranžově hnědý; roztok (a) je oranžový až červený a jeho zbarvení je zřetelně intenzivnější než zbarvení získané s roztokem (b).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. Ke 2 ml roztoku S se přidají 3 ml *lihu 96% R*, 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *zeleně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *butylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *propylparabenu R* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

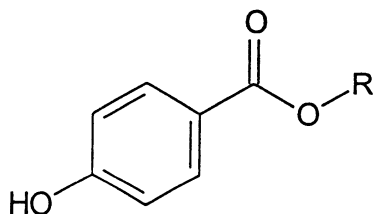
2,000 g se odváží do baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 40,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zpětný chladič propláchně *vodou R*. Nadbytek hydroxidu sodného se titruje *kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS* do druhého bodu inflexe za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 194,2 mg C₁₁H₁₄O₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

4000 Butylparabenum

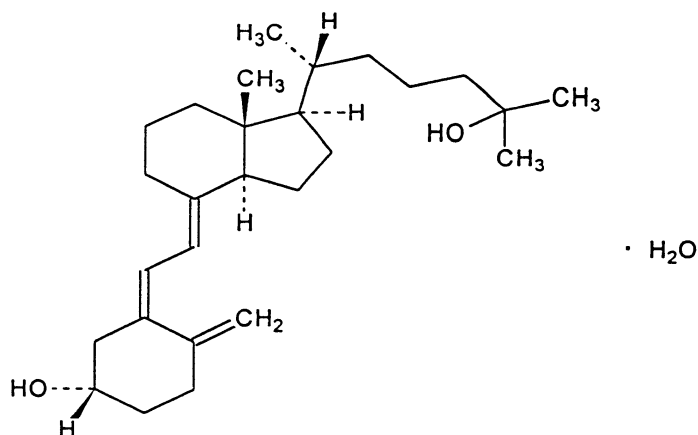
Nečistoty

- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
- B. R = CH₃: methyl-4-hydroxybenzoat (methylparaben),
- C. R = CH₂-CH₃: ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben),
- D. R = CH₂-CH₂-CH₃: propyl-4-hydroxybenzoat (propylparaben).

†† *Calcifediolum monohydricum* 4001†† **Calcifediolum monohydricum**

Monohydrát kalcifediolu

1999

Synonymum. Calcifediolum $C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$ M_r 418,66

CAS 63283-36-3

Je to monohydrát (5*Z*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β,25-diolu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny C₂₇H₄₄O₂.

Vlastnosti

Bílé nebo téměř bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, dobře rozpustný v mastných olejích. Je citlivý na vzduch, teplo a světlo.

V roztoku může docházet v závislosti na teplotě a času k izomerizaci na pre-kalcifediol.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. kalcifediolu*. Tableta se připraví ze 2 mg zkoušené látky a 225 mg bromidu draselného R.
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčním časem a přibližnou velikostí hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Metodou normalizace se z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku vypočte procentuální obsah příbuzných látek, kromě pre-kalcifediolu, které jsou eluovány během dvojnásobku retenčního času kalcifediolu. Obsah žádné individuální příbuzné látky není větší než 0,5 % a součet příbuzných látek není větší než 1,0 %. Nepřihlíží se k píkům pod 0,1 %.

4002 †† *Calcifediolum monohydricum*

Voda, semimikrostanovení (2.5.32). 2,8 % až 5,0 %, stanoví se s 10,0 mg zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanovení se provádí co nejrychleji, aby se zabránilo vlivu světla a vzduchu.

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 1,0 mg se rozpustí bez zahřívání v 10,0 ml mobilní fáze.

Porovnávací roztok (a). 1,0 mg *calcifediolu CRL* se rozpustí bez zahřívání v 10,0 ml mobilní fáze.

Porovnávací roztok (b). Porovnávací roztok (a) se stokrát zředí mobilní fází.

Porovnávací roztok (c). 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zahřívají 2 h na vodní lázni pod zpětným chladičem při 80 °C a ochladí se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (200 + 800), s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se šestkrát po 50 μl porovnávacího roztoku (c). Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, je relativní retenční čas pre-kalcifediolu vzhledem ke *calcifediolu* 1,3. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka odezvy *calcifediolu* je nejvýše 1 % a rozlišení mezi píky pre-kalcifediolu a *calcifediolu* je alespoň 5,0; pokud je nutné, upraví se poměr složek mobilní fáze, aby se dosáhlo tohoto rozlišení.

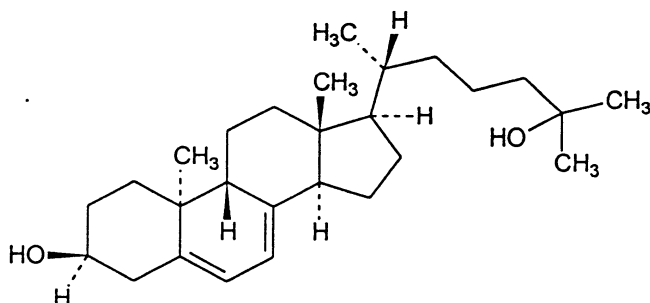
Nastříkne se 50 μl porovnávacího roztoku (a) a 50 μl porovnávacího roztoku (b) a zaznamenají se chromatogramy. Nastříkne se 50 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamená stejným způsobem, po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku.

Uchovávání

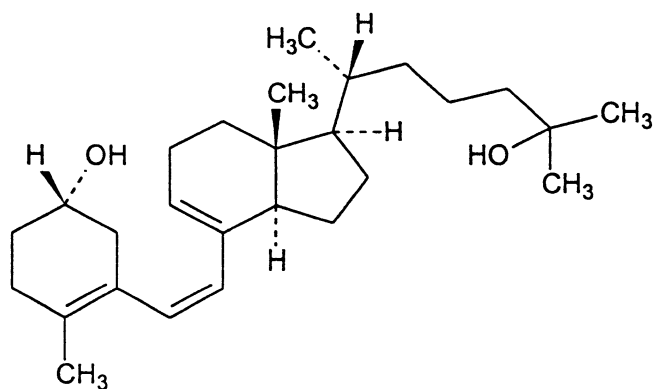
Uchovává se pod dusíkem ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Po otevření se ihned spotřebuje.

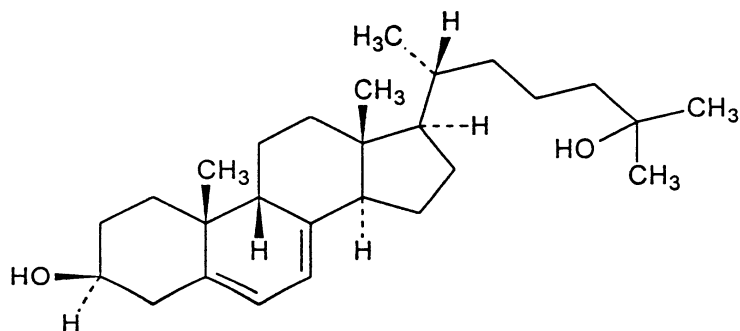
Venenum.

Nečistoty

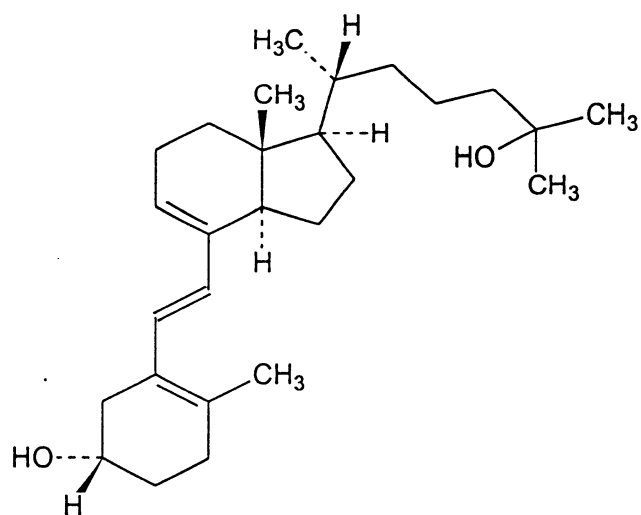
A. 10α-cholesta-5,7-dien-3β,25-diol,

†† *Calcifediolum monohydricum* 4003

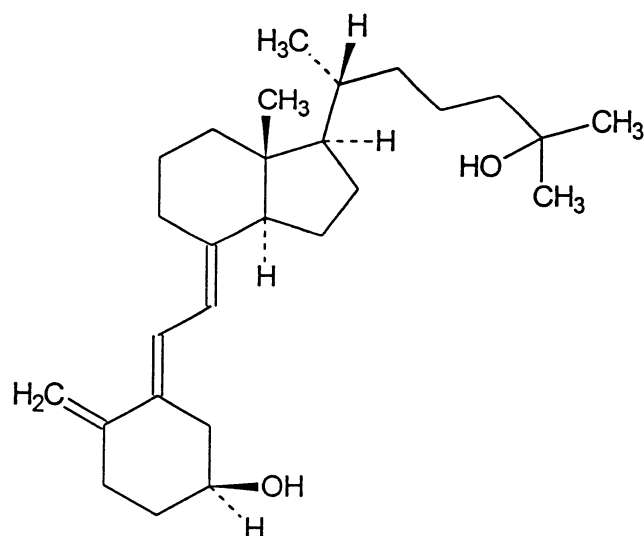
B. (6Z)-9,10-sekcholesta-5(10),6,8-trien-3β,25-diol (pre-kalcifediol),



C. cholesta-5,7-dien-3β,25-diol,



D. (6E)-9,10-sekcholesta-5(10),6,8-trien-3β,25-diol,

4004 *Calcii ascorbas*

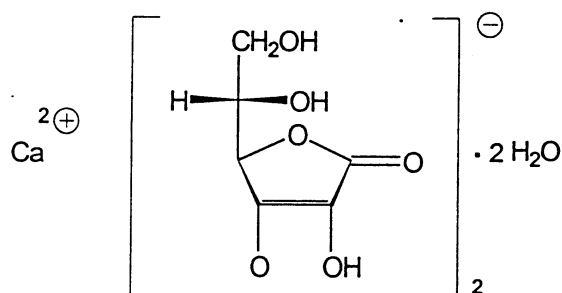
E. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3β,25-diol.

Calcii ascorbas

Askorban vápenatý



1998



$C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$

M_r 426,35

CAS 5743-28-2

Je to dihydrát kalcium-bis{(R)-2-[(S)-1,2-dihydroxyethyl]-4-hydroxy-5-oxo-2H-furan-3-olatu}. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{12}H_{14}CaO_{12} \cdot 2H_2O$.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. askorbanu vápenatého*.
- C. 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí vodou R na 10 ml. Ke 2 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml roztoku síranu železnatého R (100 g/l); vzniká tmavě fialové zbarvení.
- D. K 1 ml roztoku S se přidá 0,2 ml kyseliny dusičné zředěné RS a 0,2 ml dusičnanu stříbrného RS₂; vznikne šedá sraženina.
- E. Vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,00 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, *Metoda II*). Hodnotí se barva roztoku ihned po jeho přípravě.

Hodnota pH (2.2.3). 6,8 až 7,4; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +95° až +97°, počítáno na vysušenou látku; měří se čerstvě připravený roztok S.

Fluoridy. Nejvýše 10 µg/g; stanoví se potenciometricky (2.2.36, *Metoda I*) za použití fluorido-selektivní indikační elektrody a argentchloridové srovnávací elektrody.

Zkoušený roztok. 1,000 g se rozpustí v 50ml odměrné baňce v roztoku kyseliny chlorovodíkové R (10,3 g/l), přidá se 5,0 ml základního roztoku fluoridů (1 µg F/ml) a zředí se roztokem kyseliny chlorovodíkové R (10,3 g/l) na 50,0 ml. K 20,0 ml tohoto roztoku se přidá 20,0 ml tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly a 3 ml roztoku octanu sodného bezvodého R (82 g/l), upraví se pH na hodnotu 5,2 amoniakem R a zředí se vodou destilovanou R na 50,0 ml.

Porovnávací roztoky. K 0,25 ml, 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml a 5,0 ml základního roztoku fluoridů (10 µg F/ml) R se přidá po 20,0 ml tlumivého roztoku k úpravě celkové iontové síly a zředí se vodou destilovanou R na 50,0 ml.

Změří se všechny roztoky. Koncentrace fluoridů se vypočítá z kalibrační křivky; v úvahu je nutno brát přidání fluoridu ke zkoušenému roztoku.

Měď. Nejvýše 5 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 2,0 g se rozpustí v roztoku kyseliny dusičné R (9,7 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku mědi (10 µg Cu/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné R (9,7 g/l).

Změří se absorbance při 324,8 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Železo. Nejvýše 2 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 5,0 g se rozpustí v roztoku kyseliny dusičné R (9,7 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku železa (10 µg Fe/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné R (9,7 g/l).

4006 *Calcii folinas hydricus*

Změří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Těžké kovy. (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,0 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením. (2.2.32). Nejvýše 0,1 %; 1,000 g se 2 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

80,0 mg se rozpustí ve směsi 10 ml kyseliny sírové zředěné RS a 80 ml vody prosté oxidu uhličitého R, přidá se 1 ml škrobu RS a titruje se jodem 0,05 mol/l VS do vzniku trvalého fialovomodrého zbarvení.

1 ml jodu 0,05 mol/l VS odpovídá 10,66 mg C₁₂H₁₄CaO₁₂ · 2H₂O.

Uchovávání

V dobře uzavřených nekovových obalech, chráněn před světlem.

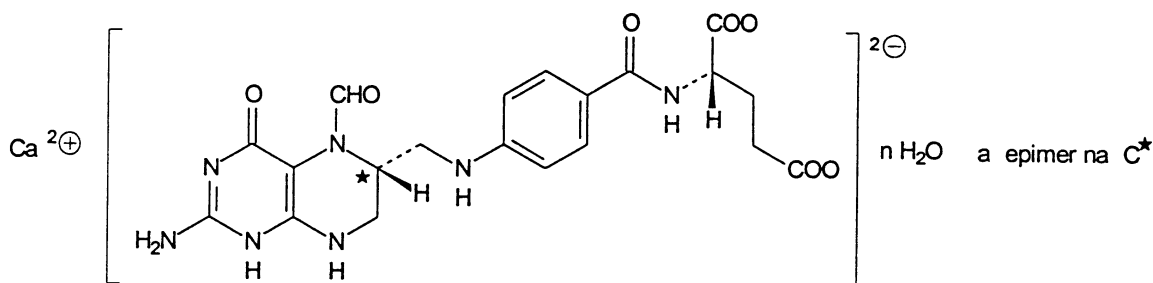
Calcii folinas hydricus

Hydrát vápenaté soli kyseliny folinové

Synonymum. Calcii folinas



1999



C₂₀H₂₁CaN₇O₇ · nH₂O

M_r bezvodé 511,51

CAS 1492-18-8

Je to n-hydrát kalcium-(2S)-2-[[4-[(6RS)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]methylamino]benzamido}pentandioátu. Obsahuje 7,54 % až 8,14 % Ca a 97,0 % až 102,0 % sloučeniny C₂₀H₂₁CaN₇O₇, obojí počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku.

Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý amorfnní nebo krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%. Amorfnní forma může tvořit ve vodě přesycené roztoky.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety hydrátu vápenaté soli kyseliny folinové CRL. Pokud spektra vykazují rozdíly, zkoušená látka a referenční látka se odděleně rozpustí v co nejmenších objemech vody R a po kapkách se přidává takové množství acetonu R, aby vznikla sraženina. Směsi se nechají 15 min stát, sraženiny se oddělí odstředěním, promyjí se dvakrát malým množstvím acetonu R, vysuší se a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy celulosy pro chromatografii F_{254} R.

Zkoušený roztok. 15 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů amoniaku 17,5% RS a vody R (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok. 15 mg hydrátu vápenaté soli kyseliny folinové CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů amoniaku 17,5% RS a vody R (3 + 97) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se spodní vrstvou směsi objemových dílů isoamylalkoholu R a roztoku kyseliny citronové R (50 g/l), jehož pH bylo předem upraveno amoniakem 17,5% RS na hodnotu 8, (1 + 10) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

- D.** Vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1).

Zkoušky na čistotu a Stanovení obsahu se provedou co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,25 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím na 40 °C, ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 420 nm za použití vody R jako kontrolní tekutiny není vyšší než 0,60.

Hodnota pH (2.2.3). 6,8 až 8,0; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +14,4° až +18,0°; počítáno na látku bezvodou a prostou rozpouštědel; měří se roztok S.

Aceton, ethanol a methanol. Nejvýše 0,5 % acetonu, nejvýše 3,0 % ethanolu a nejvýše 0,5 % methanolu. Stanoví se plynovou chromatografií head-space metodou standardního přidání (2.2.28, Metoda b).

Zkoušený roztok. 0,25 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 0,125 g acetonu R, 0,750 g ethanolu R a 0,125 g methanolu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml.

4008 *Calcii folinas hydricus*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 10 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou *styrendivinylbenzen-kopolymerem R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 4 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se zvyšuje z 80 °C na 220 °C rychlostí 10 °C/min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 110 °C a teplota detektoru na 270 °C. Vzorky se vloží do komory s řízenou teplotou na dobu 20 min při 80 °C a tlakují se 30 s. Nástříky se opakují nejméně třikrát.

Příbuzné látky. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího kyselině formyllové větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,0 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku kyseliny formyllové, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %); součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,5 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Chloridy (2.4.4). 67 mg se rozpustí v 10 ml *vody R* a přidají se 3 ml *kyseliny octové R*. Sraženina se odfiltruje a postupně se pětkrát promyje 5 ml *vody R*. Filtrát a promývací tekutiny se spojí a zředí se *vodou R* na 100 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,5 %).

Těžké kovy (2.4.8). K 0,80 g ve vhodném žihacím kelímku se přidá takové množství *kyseliny sírové R*, aby byla látka dostatečně zvlhčena, a opatrně se zahřívá při nízké teplotě až do úplného zuhelnatění. Ke zbytku se přidají 2 ml *kyseliny dusičné R* a 0,25 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se zahřívá, až přestanou unikat bílé dýmy. Pak se žihá při 500 °C až 600 °C až do úplného spálení uhlíku. Po vychladnutí se přidají 4 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Kelímek se přikryje, zahřívá se 15 min na vodní lázni, pak se odkryje a obsah kelímku se pomalu odpaří na vodní lázni do sucha. Ke zbytku se přidá 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 10 ml horké *vody R*. Nechá se 2 min stát a pak se po kapkách přidává *amoniak zředěný RS1* do alkalické reakce na *papír laknusový červený R*. Roztok se zředí *vodou R* na 25 ml a *kyselinou octovou zředěnou RS* se upraví pH roztoku na hodnotu 3,0 až 4,0. Je-li třeba, zfiltruje se, kelímek i filtr se promyjí 10 ml *vody R* a filtrát spojený s promývací tekutinou se zředí *vodou R* na 40 ml.

K 12 ml roztoku získaného výše uvedeným způsobem se přidají 2 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5*, směs se promíchá a přidá se 1,2 ml *zkoumadla thioacetamidového R* a ihned se opět promíchá. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací roztok připravený takto: 4 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)* se zředí *vodou R* na 25 ml, hodnota pH se upraví *kyselinou octovou zředěnou RS* na 3,0 až 4,0 a zředí se *vodou R* na 40 ml; k 12 ml tohoto roztoku se přidají 2 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5*, promíchá se, přidá se 1,2 ml *zkoumadla thioacetamidového R* a ihned se opět promíchá (50 µg/g).

Platina. Nejvýše 20 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *platiny (30 µg Pt/ml)* a zředí se, pokud bude třeba, směsí objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R* (1 + 99).

Měří se absorbance při 265,9 nm za použití platinové lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 17,0 %; stanoví se s 0,200 g velmi jemně upráškované látky, která se před vlastní titrací 6 min míchá v rozpouštědle. Použije se vhodné titrační činidlo, které neobsahuje pyridin.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,5 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Vápník. 0,400 g se rozpustí ve 150 ml vody R, zředí se jí na 300 ml a provede se chelatometrická titrace vápníku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 4,008 mg Ca.

Vápenatá sůl kyseliny folinové. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg hydrátu vápenaté soli kyseliny folinové CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 mg kyseliny formyllové CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí vodou R na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí porovnávacím roztokem (b) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: 220 ml methanolu R se smíchá se 780 ml roztoku obsahujícího 2,0 ml tetrabutylamoniumhydroxidu RS a 2,2 g hydrogēfosforečnanu sodného R, jehož pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou R na hodnotu 7,8; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru při 280 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Odděleně se nastříkne po 10 μl každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími hydrátu vápenaté soli kyseliny folinové a kyselině formyllové na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) je nejméně 2,2 a když relativní směrodatná odchylka ploch hlavního píku pro šest opakovaných nástřiků porovnávacího roztoku (a) je nejvýše 2,0 %.

Obsah $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ v procentech se vypočte z ploch píků a deklarovaného obsahu hydrátu vápenaté soli kyseliny folinové CRL.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

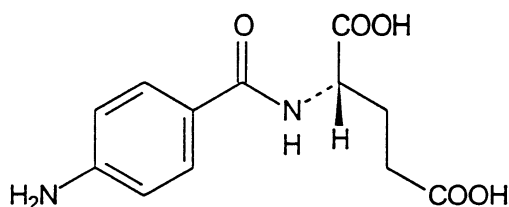
4010 *Calcii folinas hydricus*

Označování

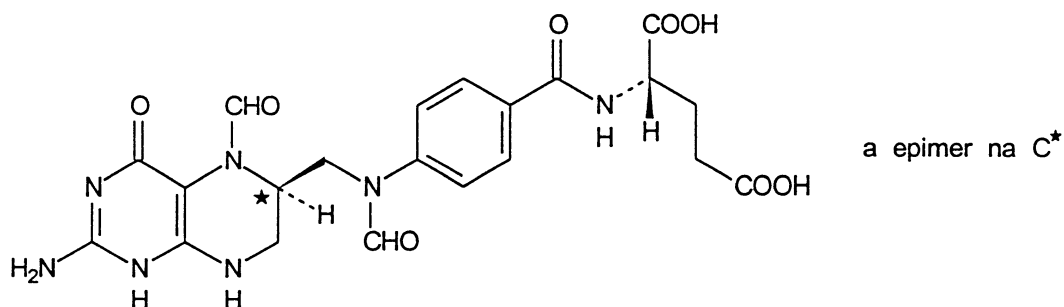
V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

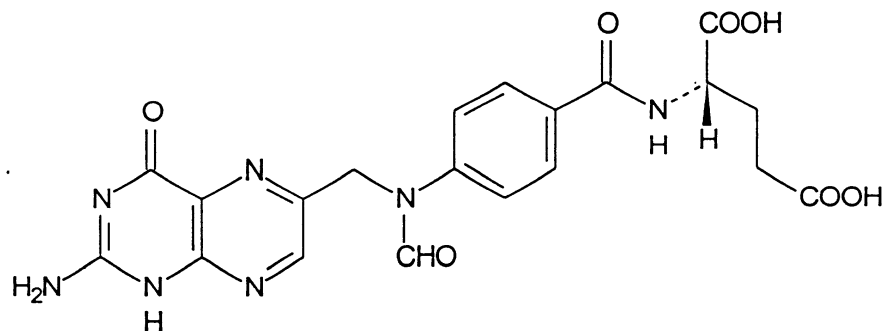


A. kyselina (2*S*)-2-(4-aminobenzamido)pentandiová,

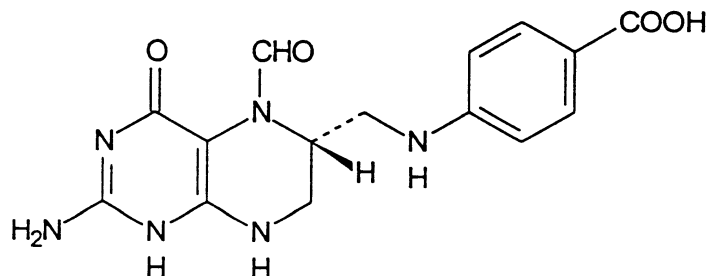


B. kyselina (2*S*)-2-{4-[[[(6*RS*)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]methyl]formylamino]benzamido}pentandiová (kyselina 5,10-diformyltetrahydrolistová),

C. kyselina listová,

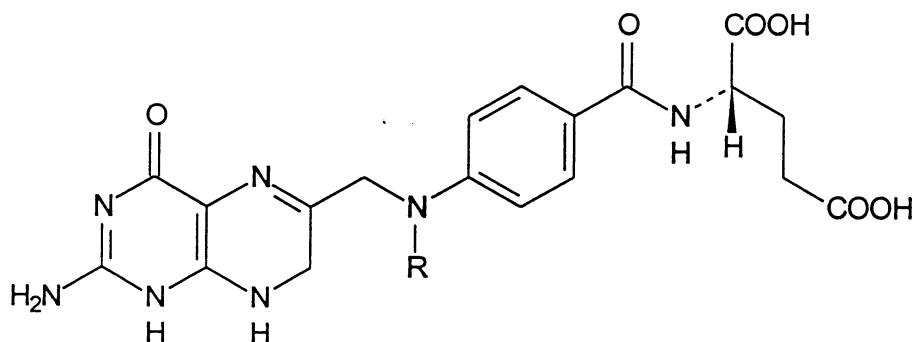


D. kyselina (2*S*)-2-{4-[[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)-methyl]formylamino]benzamido}pentandiová (kyselina 10-formyllistová),



a enantiomer

E. kyselina 4-{{[(6*RS*)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]-methylamino}benzoová (kyselina 5-formyltetrahydropteroová),



F. R = CHO: kyselina (2*S*)-2-{{4-[[2-amino-4-oxo-1,4,7,8-tetrahydropteridin-6-yl]-methyl]formylamino}benzamido}pentandiová (kyselina 10-formyldihydrolistová),

G. R = H: kyselina (2*S*)-2-{{4-[[2-amino-4-oxo-1,4,7,8-tetrahydropteridin-6-yl]-methylamino]benzamido}pentandiová (kyselina dihydrolistová).

† *Calcii hydroxidum*¹⁾

Hydroxid vápenatý



RR99

Ca(OH)₂

*M*_r 74,10

CAS 1305-62-0

Obsahuje 95,0 % až 100,5 % sloučeniny Ca(OH)₂.

Vlastnosti

Bílý jemný prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 309 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4012 † Calcii hydroxidum**Zkoušky totožnosti**

- A.** K 0,80 g v třecí misce se přidá 10 ml vody R, 0,5 ml fenolftaleinu RS a promíchá se; suspenze zčervená. Po přidání 17,5 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS se suspenze odbarví bez šumění. Suspenze se 1 min roztírá; červené zbarvení se znovu objeví. Přidá se 6 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a znovu se rozetře; směs se odbarví.
- B.** Asi 0,1 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou R na 10 ml. 5 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Látky nerozpustné v kyselině chlorovodíkové. 2,0 g se rozpustí ve 30 ml kyseliny chlorovodíkové R, povaří se a roztok se zfiltruje. Zbytek se promyje horkou vodou R, vysuší se a zváží se; hmotnost zbytku je nejvýše 10 mg (0,5 %).

Uhličitany. Nejvýše 5,0 % CaCO₃. Ke ztitrovanému roztoku ze zkoušky Stanovení obsahu se přidá 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS a titruje se hydroxidem sodným 1 mol/l VS za použití 0,5 ml oranže methylové RS jako indikátoru.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS odpovídá 50,05 mg CaCO₃.

Chloridy (2.4.4). 0,30 g se rozpustí ve směsi 2 ml kyseliny dusičné R a 10 ml vody R a zředí se vodou R na 30 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (330 µg/g).

Sírany (2.4.13). 0,15 g se rozpustí ve směsi 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 10 ml vody R a zředí se vodou destilovanou R na 60 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,4 %).

Arsen (2.4.2). 0,50 g se rozpustí v 5 ml kyseliny chlorovodíkové s bromem RS a zředí se vodou R na 50 ml. 25 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na arsen (4 µg/g).

Hořčík a alkalické kovy. 1,0 g se rozpustí ve směsi 10 ml kyseliny chlorovodíkové R a 40 ml vody R, povaří se a přidá se 50 ml roztoku kyseliny šťavelové R (63 g/l). Zneutralizuje se amoniakem 17,5% RS, zředí se vodou R na 200 ml, nechá se 1 h stát a zfiltruje se přes vhodný filtr. Ke 100 ml filtrátu se přidá 0,5 ml kyseliny sírové R, opatrně se odpaří do sucha a vyžihá se. Zbytek váží nejvýše 20 mg (4,0 %, počítáno jako sírany).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se rozpustí v 10 ml kyseliny chlorovodíkové RS a odpaří se na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí ve 20 ml vody R a zfiltruje se. 12 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

Stanovení obsahu

K 1,500 g v třecí misce se přidá 20 ml až 30 ml vody R a 0,5 ml fenolftaleinu RS. Titruje se kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS za roztírání látky do odstranění červeného zbarvení. Ztitrovaný roztok se použije ve zkoušce Uhličitany, viz Zkoušky na čistotu.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS odpovídá 37,05 mg Ca(OH)₂.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

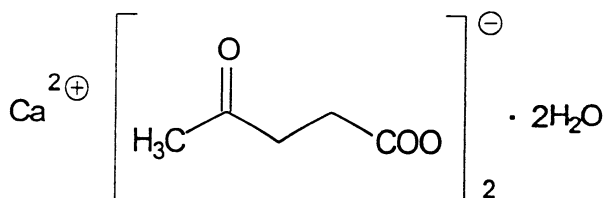
Separandum.

Calcii laevulinas dihydricus

Dihydrát vápenaté soli kyseliny levulinové



1999

 $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{CaO}_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M_r 306,33

CAS 5743-49-7

Je to dihydrát kalcium-bis(4-oxopentanoátu). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{CaO}_6$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *dihydrátu vápenaté soli kyseliny levulinové CRL*.
- B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.
Zkoušený roztok. 60 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1 ml.
Porovnávací roztok. 60 mg *dihydrátu vápenaté soli kyseliny levulinové CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1 ml.
 Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *ethylacetatu R*, *vody R* a *lihu 96% R* (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 20 min při 100 °C až 105 °C a po ochlazení se postříká roztokem *manganistanu draselného R* (30 g/l), poté se suší 5 min v proudu teplého vzduchu nebo do zežloutnutí skvrn. Pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C.** K 1 ml roztoku S, viz *Zkoušky na čistotu*, se přidá 20 ml roztoku *dinitrofenylhydrazinu R* (2,5 g/l) v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a nechá se 15 min stát. Zfiltruje se a sraženina se promyje vodou R. Zbytek vysušený při 100 °C až 105 °C taje (2.2.14) při 203 °C až 210 °C.
- D.** Vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1).
- E.** Zkouška Ztráta sušením, viz *Zkoušky na čistotu*, je zároveň zkouškou totožnosti.

4014 *Calcii laevulinas dihydricus***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž_6 (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,8 až 7,8; měří se roztok S.

Oxidovatelné látky. K 1 ml roztoku S se přidá 10 ml *vody R*, 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,25 ml roztoku *manganistanu draselného R* (3,0 g/l), promíchá se. Po 5 min je fialové zbarvení stále viditelné.

Sacharosa a redukující cukry. K 5 ml roztoku S se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové RS1* a zředí se *vodou R* na 10 ml. Roztok se zahřívá k varu po dobu 5 min a po ochlazení se přidá 10 ml *uhličitanu sodného RS*. Po 5 min stání se zředí *vodou R* na 25 ml a zfiltruje se. K 5 ml filtrátu se přidají 2 ml *vinanu měďnatého RS* a roztok se zahřívá k varu po dobu 1 min; nevznikne červená sraženina.

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 $\mu\text{g/g}$).

Sírany (2.4.13). 7,5 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200 $\mu\text{g/g}$).

Hořčík a alkalické kovy. K 10 ml roztoku S se přidá 80 ml *vody R*, 10 ml *chloridu amonného RS*, 1 ml *amoniaku 17,5% RS* a zahřeje se k varu. K vroucímu roztoku se přidá po kapkách 50 ml teplého *šřavelanu amonného RS* a nechá se 4 h stát. Poté se zředí *vodou R* na 200 ml a zfiltruje se. Ke 100 ml filtrátu se přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R*, odpaří se na vodní lázni do sucha a vyžihá se do konstantní hmotnosti při 600 °C. Zbytek váží nejvýše 5,0 mg (1,0 %).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 $\mu\text{g/g}$). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (1 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Ztráta sušením (2.2.32). 11,0 % až 12,5 %; 0,200 g se zahřívá v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Pyrogenní látky (2.6.8). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se vstříkují na 1 kg hmotnosti králíka 4 ml roztoku obsahujícího v mililitru 50 mg zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,240 g se rozpustí v 50 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace vápníku (2.5.11).
1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 27,03 mg $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{CaO}_6$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka prostá pyrogenních látek.

Calendulae flos

Měsíčkový květ

Synonymum. Flos calendulae sine calyce



1999

Jsou to celé nebo řezané usušené zcela rozkvetlé květy plnokvětých odrůd druhu *Calendula officinalis* L., květy jsou oddělené od lůžka. Obsahuje nejméně 0,4 % flavonoidů, počítáno jako hyperosid ($C_{21}H_{20}O_{12}$, M_r 464,4), vztaženo na vysušenou drogu.

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Jazykovité květy se žlutým nebo oranžově žlutým třízubým jazykem asi 3 mm až 5 mm širokým, ve střední části až 7 mm širokým, a s chlupatou, poněkud srpkovitou žlutohnědou až oranžově hnědou trubkou s vyniklou čnělkou a dvojklannou bliznou, někdy s poněkud ohnutým žlutohnědým až oranžově hnědým semeníkem. Trubkovité květy asi 5 mm dlouhé se žlutou, oranžově červenou nebo červenofialovou pěticipou korunou a žlutohnědou nebo oranžově hnědou trubkou, na spodní části chlupatou, většinou s mírně ohnutým žlutohnědým až oranžově hnědým semeníkem.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je žlutohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky koruny s buňkami se světle žlutými olejovými kapkami, některé s poměrně velkými anomocytickými průduchy (2.8.3), jiné s krystaly a velmi malými drúžami šřavelanu vápenatého; krycí chlupy mnohobuněčné, dvouřadé, kuželovité, žláznaté chlupy s mnohobuněčnou jednořadou nebo dvouřadou nohou a velkou vejčitou mnohobuněčnou dvouřadou hlavičkou; pylová zrna kulovitá o průměru asi 40 μm s ostře ostnitou exinou a třemi klíčovými póry; někdy úlomky blizny s krátkými bradavčitými papilami.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g práškové drogy (500) se smíchá s 10 ml *methanolu R* a zahřívá se 10 min pod zpětným chladičem na vodní lázni. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 1,0 mg *kyseliny kávové R*, 1,0 mg *kyseliny chlorogenové R* a 2,5 mg *rutinu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R* a *ethylacetatu R* (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší při 100 °C až 105 °C a ještě teplá se postříká roztokem *difenyloboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*. Vrstva se suší 30 min na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní části skvrna se žlutohnědou fluorescencí (rutin), ve střední části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina chlorogenová) a v horní části skvrna se světle modrou fluorescencí (kyselina kávová). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající polohou a zbarvením

4016 *Calendulae flos*

fluorescence skvrnám rutinu a kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku, pod i nad skvrnou odpovídající rutinu je skvrna se žlutozelenou fluorescencí. Nad skvrnou odpovídající kyselině kávové je další skvrna se žlutozelenou fluorescencí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna se světle modrou fluorescencí v poloze nižší než skvrna odpovídající kyselině kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsí (2.8.2). Nejvýše 5 % zákrovních listů a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškové drogy (500) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Stanovení obsahu

Základní roztok. 0,800 g práškové drogy (500) se ve 100ml baňce smíchá s 1 ml roztoku *methenaminu R* (5 g/l), 20 ml *acetonu R* a 7 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Zfiltruje se přes chomáček vaty do 100ml odměrné baňky. Droga i chomáček vaty se vaří 10 min ještě dvakrát s 20 ml *acetonu R* pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje filtračním papírem do téže odměrné baňky. Roztok v odměrné baňce se zředí *acetonem R* použitým k promytí baňky a filtru na 100,0 ml. 20,0 ml roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 20 ml *vody R* a protřepává se nejprve 15 ml a pak třikrát 10 ml *ethylacetatu R*, spojené ethylacetatové vrstvy se protřepávají dvakrát 50 ml *vody R* a zfiltrují se přes 10 g *síranu sodného bezvodého R* do 50ml odměrné baňky. Roztok v baňce se zředí *ethylacetatem R* na 50,0 ml.

Zkoušený roztok. 10,0 ml základního roztoku se smíchá s 1 ml *chloridu hlinitého RS1* a zředí se roztokem *kyseliny octové ledové R 5% (V/V)* v *methanolu R* na 25,0 ml.

Kontrolní roztok. 10,0 ml základního roztoku se zředí roztokem *kyseliny octové ledové R 5% (V/V)* v *methanolu R* na 25,0 ml.

Po 30 min se měří absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku při 425 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid ($C_{21}H_{20}O_{12}$), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 1,25}{m},$$

v němž značí:

A - absorbanci roztoku při 425 nm,

m - navážku drogy v gramech.

. Specifická absorbance hyperosidu je 500.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

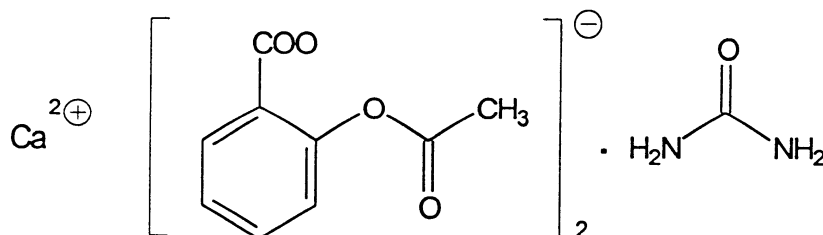
Carbasalatum calcicum 4017

Carbasalatum calcicum

Vápenatá sůl karbasalatu



1998

 $C_{19}H_{18}CaN_2O_9$ M_r 458,44

CAS 5749-67-7

Je to ekvimolární sloučenina kalcium-bis[2(acetyloxy)benzoatu] a močoviny. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{18}CaN_2O_9$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě a v dimethylformamidu, prakticky nerozpustná v acetonu a v bezvodém methanolu.

Látku je nutno chránit před vlhkostí. Zkoušky ve vodných roztocích musí být prováděny bezprostředně po přípravě roztoků.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** 0,250 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 75 ml vody *R* a 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné *RS*, zamíchá se a zředí se vodou *R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku ihned po jeho přípravě při 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 228 nm a 276 nm. Specifická absorbance v maximu při 228 nm je 363 až 379 a v maximu při 276 nm je 49 až 53.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. vápenaté soli karbasalatu*.
- C.** 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody *R*, vaří se 2 min a ochladí se. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na salicylany (2.3.1).
- D.** 0,2 g se zahřívá s 0,2 g hydroxidu sodného *R*; vzniká žlutohnědé zbarvení a vznikající výpary barví papír lakmusový červený *R* modře.
- E.** Vyhovuje zkoušce (a) na vápník (2.3.1).

4018 Carbasalatum calcicum**Zkoušky na čistotu**

Vzhled roztoku. 2,5 g se rozpustí v 50 ml vody R; roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Příbuzné látky. 0,150 g se rozpustí ve 100ml odměrné baňce v 10 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu* v *propanolu 0,1 mol/l RS*, nechá se stát 10 min a občas se protřepe. Pak se přidá 8,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a 20,0 ml roztoku *tetraboritanu sodného R* (19 g/l) a zamíchá se. Za stálého míchání se přidají 2,0 ml roztoku *aminopyrazolonu R* (10 g/l) a 2,0 ml roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (10 g/l), nechá se stát 2 min, zředí se *vodou R* na 100,0 ml, zamíchá se a nechá se stát 20 min. Měří se absorpance roztoku (2.2.25) v maximu při 505 nm za použití vody R jako kontrolní tekutiny. Absorpance není větší než 0,125 (0,1%, vyjádřeno jako kyselina acetylsalicylová).

Kyselina salicylová. 0,200 g se rozpustí ve 100ml odměrné baňce v 80 ml vody R a přidá se 10 ml roztoku *dusičnanu železitého R* (10 g/l) v roztoku *kyseliny dusičné zředěné RS* (80 g/l) a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Ihned po přípravě se měří absorpance roztoku (2.2.25) v maximu při 525 nm za použití vody R jako kontrolní tekutiny. Absorpance není větší než 0,115 (0,5 %, vyjádřeno jako kyselina salicylová).

Sodík. Nejvýše 0,1 %; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, Metoda I). Měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g v 500,0 ml vody R.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí zahřátím v 8 ml vody R, ochladí se a přidá se 12 ml *acetonu R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky rozpuštěné ve směsi 15 ml *methanolu bezvodého R* a 15 ml *dimethylformamidu R*.

Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v baňce se zabroušenou zátkou v 25 ml vody R. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*, baňka se uzavře a nechá se 2 h stát. Titruje se přebytek hydroxidu *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *fenolftaleinu RS*. Provede se slepá zkouška.

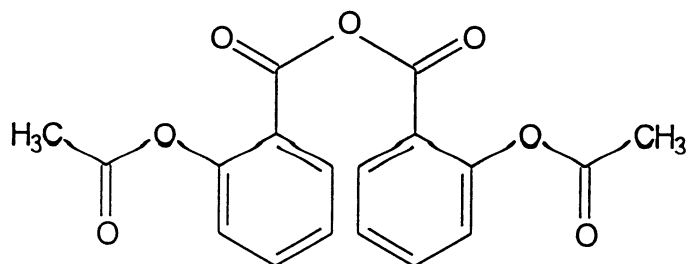
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,92 mg $C_{19}H_{18}CaN_2O_9$.

Uchovávání

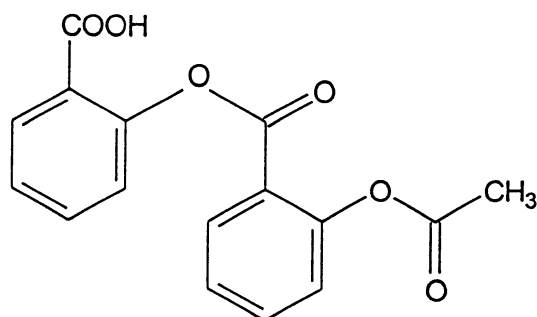
Ve vzduchotěsných obalech.

† *Carbencillinum natricum* 4019

Nečistoty



A. anhydrid kyseliny 2-(acetyloxy)benzoové,



B. kyselina 2-{[2-(acetyloxy)benzoyl]oxy}benzoová (kyselina acetylsalicylsalicylová),

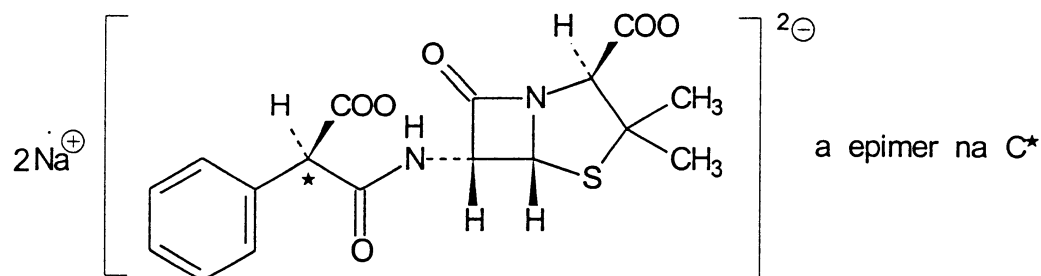
C. kyselina 2-hydroxybenzoová (kyselina salicylová).

† *Carbencillinum natricum*

Sodná sůl karbencilinu



1999

 $C_{17}H_{16}N_2Na_2O_6S$ M_r 422,36

CAS 4800-94-6

4020 † *Carbenicillinum natricum*

Je to dinatrium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(*RS*)-2-fenylacetamido-2-karboxylato]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 89,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₇H₁₆N₂Na₂O₆S.

Výroba

Je-li vyrobena postupem, který může v látce zanechat zbytky dimethylanilinu, a/nebo postupem, při němž výchozí látka nebo meziprodukt obsahují zbytky dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce:

Dimethylanilin (2.4.26, *Metoda B*). Nejvýše 20 µg/g.

Je-li vyrobena postupem, který může v látce zanechat zbytky kyseliny 2-ethylhexanové, vyhovuje následující zkoušce:

Kyselina 2-ethylhexanová. Nejvýše 0,5 %, stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý hygroskopický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *sodné soli karbenicilinu CRL*.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 25 mg zkoušené látky se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *sodné soli karbenicilinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *sodné soli karbenicilinu CRL* a 25 mg *sodné soli ampicilinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amonného R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 5,0 *kyselinou octovou ledovou R*, (10 + 90) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a vystaví se působení par jodu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 2 mg se vloží do zkumavky asi 150 mm dlouhé a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká žlutohnědé zbarvení.

† *Carbenicillinum natricum* 4021

D. Zkoušená látka vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₅ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 5,5 až 7,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +182° až +196°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,200 g ve vodě R a zředěním vodou R na 20,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b) a začne se izokratická eluce. Ihned po eluci píku karbenicilinu se začne lineární gradientová eluce. Pokud bylo složení mobilní fáze upraveno, aby se dosáhlo požadovaného rozlišení, upravené složení se použije v čase 0 gradientu.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	85 → 0	15 → 100	lineární gradient izokraticky nastavení na počáteční podmínky
30 - 45	0	100	
45 - 60	0 → 85	100 → 15	

Kolona se ustaluje 15 min původní mobilní fází. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a použije se stejná gradientová eluce. Nastříkne se 20 µl rozpouštěcí směsi jako slepá zkouška a použije se stejná gradientová eluce. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b): plocha žádného píku odpovídajícího sodné soli benzylpenicilinu není větší než 5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího benzylpenicilinu, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 11násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (11 %). Nepřihlíží se k žádnému píku rozpouštědla a k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,5 %; stanoví se s 0,150 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,05 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. 7,8 g dihydrogenfosforečnanu sodného R se rozpustí v 900 ml vody R. Upraví se pH na hodnotu 6,4 hydroxidem sodným zředěným RS a zředí se vodou R na 1000 ml.

4022 † *Carbenicillinum natricum*

Zkoušený roztok (a). 25,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (b). Připraví se bezprostředně před použitím. 60,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *sodné soli carbenicilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 30,0 mg *sodné soli benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí na 50,0 ml stejnou rozpouštěcí směsí.

Porovnávací roztok (c). 2,0 mg *cefiximu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - připraví se smícháním 980 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l), jehož pH bylo případně upraveno na hodnotu 4,3 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS*, a 20 ml *acetonitrilu R*,
 - *mobilní fáze B* - připraví se smícháním 600 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l), jehož pH bylo případně upraveno na hodnotu 4,3 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS*, a 400 ml *acetonitrilu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Kolona se ustaluje promýváním mobilní fází, v níž poměr fází A : B je 85 : 15. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c) a 20 μl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 9,0 (je-li nutno, upraví se poměr A : B mobilní fáze) a kapacitní faktor druhého píku (carbenicilin) je 3,5 až 4,8. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) pro hlavní pík je poměr signálu k šumu nejméně 3.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a) šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy hlavního píku je nejvýše 1,0 %. Střídavě se nastříkuje 20 μl zkoušeného roztoku (a) a 20 μl porovnávacího roztoku (a).

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

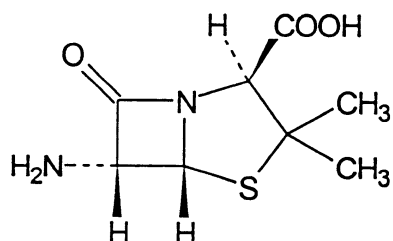
Separandum.

Označování

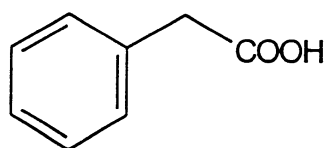
V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

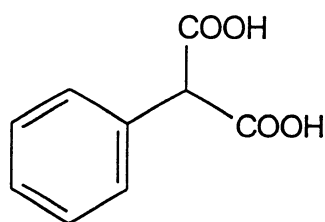
Nečistoty



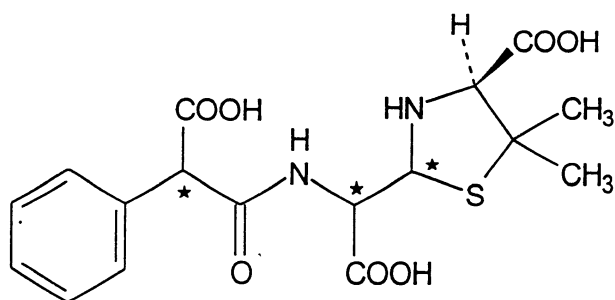
A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (kyselina 6-aminopenicilánová),



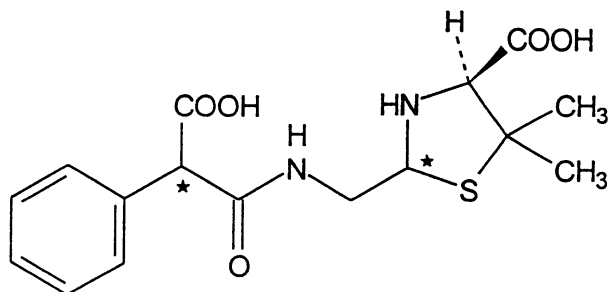
B. kyselina fenyloctová,



C. kyselina 2-fenylpropandiová (kyselina fenylmalonová),

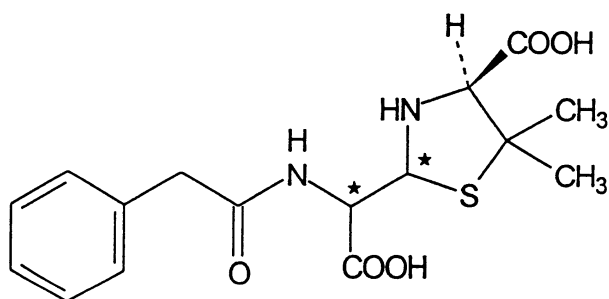


D. kyselina (4*S*)-2-[(2-fenyl-2-karboxyacetamido)karboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniciloové kyseliny karbenicilinu),

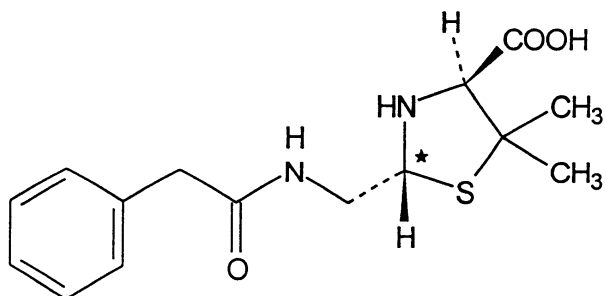
4024 † *Carbenicillinum natricum*

E. kyselina (4*S*)-2-[(2-fenyl-2-karboxyacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny karbenicilinu),

F. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-(fenylacetamido)-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]-heptan-2-karboxylová (benzylpenicilin),

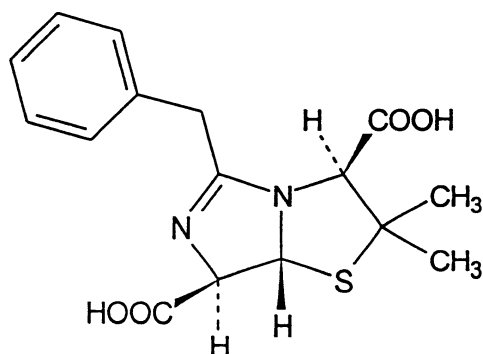


G. kyselina (4*S*)-2-[(fenylacetamido)karboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniciloové kyseliny benzylpenicilinu),



a epimer na C*

H. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenylacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny benzylpenicilinu),



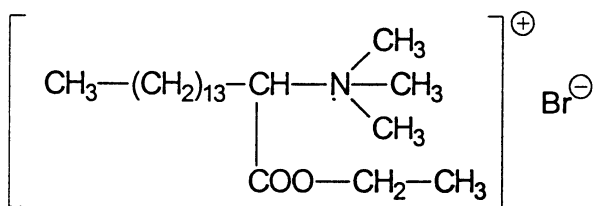
I. kyselina (3*S*,7*R*,7*aR*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7*a*-tetrahydroimidazo[5,1-*b*]thiazol-3,7-dikarboxylová (penilová kyselina benzylpenicilinu).

Carbathopendecinií bromidum

N

Karbathopendeciniumbromid

Synonymum. Carbathopendecinium bromatum



$C_{21}H_{44}BrNO_2$

M_r 422,49

CAS 10567-02-9

Je to [1-(ethoxykarbonyl)pentadecyl]trimethylamoniumbromid. Vysušen předepsaným způsobem, obsahuje 98,5 % až 100,5 % sloučeniny $C_{21}H_{44}BrNO_2$.

Vlastnosti

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek. Vodný roztok při třepání silně pěni. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v chloroformu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 153 °C až 156 °C.

4026 Carbethopendecinii bromidum

- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *carbethopendeciniumbromidu CRL*.
- C.** Asi 0,1 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Roztok se použije také ke zkoušce totožnosti D. K 5 ml tohoto roztoku se přidají 2 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS*; vylučuje se žlutá sraženina.
- D.** 2 ml roztoku ze zkoušky totožnosti C vyhovují zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2 g se rozpustí v 1 ml *vody R*. Tento roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze I (2.2.1).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml. K tomuto roztoku se přidá 0,1 ml *červeně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* nebo 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Amonné soli. 5,0 g se rozpustí ve 30 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS a methanolu R (1 + 99)* a přidá se 100 ml *2-propanolu R*. Roztokem se nechá pomalu probublávat *dusík R* a postupně se přidá 15,0 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* a zaznamená se potenciometrická titrační křivka (2.2.20). Jestliže křivka vykazuje dva inflexní body, není potřeba odměrného roztoku mezi těmito body větší než 2,0 ml.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %, 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C. Vysušená látka se použije ke stanovení obsahu.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,3000 g vysušené látky ze zkoušky Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, se rozpustí ve 20 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 6 ml *octanu rtuťnatého RS* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití *violeti krystalové RS* jako indikátoru do změny fialového zbarvení na modré.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 42,25 mg $C_{21}H_{44}BrNO_2$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Carbo activatus 4027

Carbo activatus¹⁾

Aktivní uhlí

Synonyma. Carbo adsorbens, carbo medicinalis, adsorpční uhlí, medicínální uhlí



CAS 7440-44-0

Získává se z rostlinných materiálů vhodným karbonizačním postupem, kterým se dosáhne vysoké adsorpční schopnosti.

Vlastnosti

Černý lehký prášek bez hrudek. Je prakticky nerozpustný ve všech běžných rozpouštědlech.

Zkoušky totožnosti

A. V červeném žáru hoří pomalu bez plamene.

B. Zkouška Adsorpční mohutnost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. K 2,0 g se v kuželové baňce se zabroušenou zátkou přidá 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, vaří se 1 h pod zpětným chladičem a zfiltruje se. Filtr se promyje *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* a spojené filtráty se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 50,0 ml.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. Ke 2,0 g se přidá 40 ml *vody R* a 5 min se vaří. Po ochlazení se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na původní objem a zfiltruje se. Prvních 20 ml se odstraní. K 10 ml filtrátu se přidá 0,25 ml *modři bromthymolové RS1* a 0,25 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*; roztok je modrý. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,75 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS*.

Látky rozpustné v kyselinách. K 1,0 g se přidá 25 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 5 min se vaří. Směs se za horka zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (10) a filtr se promyje 10 ml *horké vody R*. Spojené filtráty se odpaří do sucha na vodní lázni. Ke zbytku se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, znovu se odpaří do sucha a suší se do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 30 mg (3 %).

Barevné látky rozpustné v zásadách. K 0,25 g se přidá 10 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 1 min se vaří. Po ochlazení se zfiltruje a zředí se *vodou R* na 10 ml. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok ZŽ₄ (2.2.2, Metoda II).

Látky rozpustné v lihu 96%. K 2,0 g se přidá 50 ml *lihu 96% R* a vaří se 10 min pod zpětným chladičem. Směs se ihned zfiltruje, ochladí a zředí se *lihem 96% R* na 50 ml. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₆ nebo HŽ₆ (2.2.2, Metoda II). 40 ml roztoku se odpaří do sucha a suší se do konstantní hmotnosti při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 8 mg (0,5 %).

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 311 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4028 *Carbo activatus*

Fluoreskující látky. 10,0 g se v zařízení pro diskontinuální extrakci extrahuje 2 h 100 ml *cyklohexanu R1*. Spojené výtřepky se zředí *cyklohexanem R1* na 100 ml a pozorují se v ultrafialovém světle při 365 nm. Fluorescence tohoto roztoku není intenzivnější než fluorescence porovnávacího roztoku obsahujícího 83 µg *chininu R* v 1000 ml *kyseliny sírové 0,005 mol/l RS* zkoušeného za stejných podmínek.

Sulfidy. K 1,0 g v kuželové baňce se přidá 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, 20 ml *vody R* a zahřeje se k varu. Unikající páry nezbarví *papír s octanem olovnatým R* do hněda.

Měď. Nejvýše 25 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. Použije se roztok S.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *mědi (0,1 % Cu)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se absorbance při 325,0 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Olovo. Nejvýše 10 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. Použije se roztok S.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *olova (100 µg Pb/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. V závislosti na přístroji lze použít i rezonanční čáru při 217,0 nm.

Zinek. Nejvýše 25 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. Použije se roztok S.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *zinku (100 µg Zn/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se absorbance při 214,0 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 120 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Adsorpční mohutnost. K 0,300 g ve 100ml kuželové baňce se zabroušenou zátkou se přidá 25,0 ml čerstvě připraveného roztoku 0,5 g *fenazonu R* v 50 ml *vody R*, 15 min se důkladně třepe a zfiltruje se. Prvních 5 ml filtrátu se odstraní a k 10,0 ml filtrátu se přidá 1,0 g *bromidu draselného R* a 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Za použití 0,1 ml *červeně methylové RS* jako indikátoru se titruje *bromičnanem draselným 0,0167 mol/l VS* do odbarvení červeného zbarvení. Před koncem titrace se titruje pomalu (1 kapka/15 s). Provede se slepá zkouška za použití 10,0 ml roztoku *fenazonu*.

Množství *fenazonu* adsorbovaného 100 g adsorpčního uhlí se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{2,353 \cdot (a - b)}{m},$$

v němž značí:

a - spotřebu *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* ve slepé zkoušce v mililitrech,

b - spotřebu *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* na titraci zkoušené látky v mililitrech,

m - navážku zkoušené látky v gramech.

100 g zkoušené látky adsorbuje nejméně 40 g *fenazonu*, počítáno na vysušenou látku.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Celkový počet živých aerobních mikroorganismů je nejvýše 10^3 živých mikroorganismů v gramu; stanoví se metodou počítání na pevných půdách.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Carbomera

Karbomery



1999

Jsou to vysokomolekulární polymery kyseliny akrylové síťované s polyalkenylethery cukrů nebo polyalkoholů. Počítáno na vysušenou látku, obsahují 56,0 % až 68,0 % karboxylových skupin (-COOH). Zdánlivá viskozita je 70,0 % až 130,0 % hodnoty uvedené na označení karbomerů s nominální zdánlivou viskozitou 20 000 mPa.s nebo více a 50,0 % až 150,0 % hodnoty uvedené na označení karbomerů s nominální zdánlivou viskozitou menší než 20 000 mPa.s.

Vlastnosti

Bílý vločkovitý hygroskopický prášek. Po dispergaci ve vodě a v dalších polárních rozpouštědlech a neutralizaci roztokem hydroxidu sodného bobtnají.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky má hlavní pásy při 2960 cm^{-1} , 1720 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1415 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} , 1175 cm^{-1} a 800 cm^{-1} , s nejvýraznějším pásem při 1720 cm^{-1} .
- B. Disperze o koncentraci 10 g/l se upraví *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* na hodnotu pH asi 7,5; vznikne velmi viskózní gel.
- C. K 10 ml gelu ze zkoušky B se za stálého míchání přidají 2 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (100 g/l). Ihned se vytvoří bílá sraženina.
- D. K 10 ml disperze (10 g/l) se přidá 0,5 ml *modři thymolové RS*; vznikne oranžové zbarvení. K 10 ml disperze (10 g/l) se přidá 0,5 ml *červeně kresolové RS*; vznikne žluté zbarvení.
- E. Nalezená viskozita odpovídá viskozitě deklarované.

Zkoušky na čistotu

Zdánlivá viskozita. Před stanovením se látka suší 1 h ve vakuu při 80 °C . 2,50 g takto vysušené látky se opatrně přidá za stálého míchání rychlostí (1000 ± 50) ot/min do 500 ml *vody R* v kádince objemu 1000 ml, přičemž tyč míchadla svírá s jednou stranou kádinky úhel 60° . Vysušená látka se přidává během 45 s až 90 s konstantní rychlostí tak, aby se rozrušily volné shluky prášku,

4030 *Carbomera*

a v míchání se pokračuje 15 min při (1000 ± 50) ot/min. Míchadlo se pak vyjme a kádinka s disperzí se umístí na 30 min do vodní lázně teploty $(25 \pm 0,2)$ °C. Pak se zavede opět míchadlo, a to tak hluboko, aby při míchání rychlostí (300 ± 25) ot/min nedocházelo k zavádění vzduchu do disperze, a za míchání se směs upraví přidávkem roztoku *hydroxidu sodného R* (180 g/l) zaváděným pod povrch na hodnotu pH 7,3 až 7,8, přičemž bod ekvivalence se stanoví potenciometricky (2.2.20) s použitím skleněné a kalomelové elektrody. Celkový objem použitého roztoku *hydroxidu sodného R* (180 g/l) je asi 6,2 ml. Před konečným stanovením pH se vyčká 2 min až 3 min. Jestliže konečná hodnota pH převyšuje 7,8, stanovení se ukončí a opakuje se znovu s použitím menšího množství hydroxidu sodného při titraci. Zneutralizovaná směs se vloží na 1 h do vodní lázně teploty 25 °C a pak se ihned provede stanovení viskozity, protože po 75 min po neutralizaci se již objevují menší změny viskozity. Viskozita (2.2.10) se stanoví rotačním viskozimetrem s tělískem rotujícím rychlostí 20 ot/min, které je vhodné pro předpokládané rozmezí zdánlivé viskozity. Zdánlivá viskozita je 300 mPa.s až 115 000 mPa.s.

Volná kyselina akrylová. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,125 g se smíchá s roztokem *síranu draselno-hlinitého R* (25 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml. Suspenze se zahřívá 20 min při 50 °C za občasného protřepání. Pak se suspenze nepřetržitě třepe 60 min při pokojové teplotě. Odstředí se a čirý roztok nad sedlinou se použije jako zkoušený roztok.

Porovnávací roztok. 62,5 mg *kyseliny akrylové R* se rozpustí v roztoku *síranu draselno-hlinitého R* (25 g/l) a zředí se jím na 100,0. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí na 50,0 ml roztokem *síranu draselno-hlinitého R* (25 g/l).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanisovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min a s následujícím gradientovým programem:
 - mobilní fáze A - roztok *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (1,361 g/l),
 - mobilní fáze B - směs stejných objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (1,361 g/l) a *acetonitrilu pro chromatografii R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0	100	0
8	100	0
9	0	100
20	0	100
21	100	0
30	100	0

- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

Nastříkne se po asi 20 µl každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas kyseliny akrylové asi 6,0 min.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího kyselině akrylové větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,025 %).

Benzen. Nejvýše 2 µg/g. Stanoví se způsobem pro stanovení zbytkových rozpouštědel (2.4.24) s použitím systému A.

Roztok rozpouštědel. 0,100 g benzenu R se rozpustí v dimethylsulfoxidu R a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. Do lahvičky pro opakovaný odběr se naváží 50,0 mg zkoušené látky a přidá se 5,0 ml vody R a 1,0 ml dimethylsulfoxidu R.

Porovnávací roztok. Do lahvičky pro opakovaný odběr se naváží 50,0 mg zkoušené látky a přidají se 4,0 ml vody R, 1,0 ml dimethylsulfoxidu R a 1,0 ml roztoku rozpouštědel.

Lahvičky se uzavřou pomocí pryžové zátky pokryté polytetrafluorethylenovou fólií a zajistí se hliníkovým uzávěrem. Obsah lahvičky se protřepe, aby vznikla homogenní suspenze.

Mohou být použity následující podmínky head-space nástříku:

- teplota ustavování rovnováhy: 80 °C,
- čas ustavování rovnováhy: 60 min,
- teplota spojovacího vedení: 90 °C.

Nastříkne se 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku na kolonu popsanou v systému A. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška píku odpovídajícího benzenu byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače.

Na kolonu se odděleně nastříkne 1 ml plynné fáze zkoušeného roztoku a 1 ml plynné fáze porovnávacího roztoku. Tyto nástříky se opakují ještě dvakrát.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není průměrná plocha píku odpovídajícího benzenu větší než polovina průměrné plochy píku odpovídajícího benzenu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka ploch ze tří opakovaných nástříků zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku je nejvýše 15 %.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší ve vakuu 60 minut při 80 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 4,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,120 g se pomalu a za míchání přidá ke 400 ml vody R a v míchání se pokračuje 15 min. Pak se intenzita míchání sníží a titruje se hydroxidem sodným 0,2 mol/l VS až do hodnoty pH 10,0 za potenciometrického stanovení bodu ekvivalence (2.2.20) s použitím skleněné a kalomelové elektrody. Po každém přidavku hydroxidu sodného 0,2 mol/l VS a před odečtením hodnoty pH se směs 1 min míchá.

1 ml hydroxidu sodného 0,2 mol/l VS odpovídá 9,0 mg karboxylových (-COOH) skupin.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede nominální hodnota zdánlivé viskozity.

4032 *Carmellosum natricum substitutum humile*

Carmellosum natricum substitutum humile

Částečně substituovaná sodná sůl karmelosy

1998



Je to sodná sůl částečně O-(karboxymethylované) celulosy. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 2,0 % až 4,5 % Na.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo krátká vlákna. Je prakticky nerozpustná v acetonu, v ethanolu a v toluenu. Ve vodě bobtná za vzniku gelu.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se protřepe se 100 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (100 g/l); vzniká suspenze.
- B. 1 g se protřepe s 50 ml *vody R*. 1 ml této směsi se přenese do zkumavky, přidá se 1 ml *vody R* a 0,05 ml čerstvě připraveného roztoku *1-naftolu R* (40 g/l) v *methanolu R*. Zkumavka se nakloní a opatrně se po spodní stěně přidají 2 ml *kyseliny sírové R* tak, aby vytvořila spodní vrstvu. Na rozhraní obou vrstev vzniká červeně fialové zbarvení.
- C. Zkouška Síranový popel (2.4.14), viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D. Roztok připravený ze síranového popelu pro zkoušku Těžké kovy, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,0 až 8,5; 1 g se třepe 5 min se 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a pak se odstředí. Měří se vzniklá suspenze.

Chlorid sodný a glykolat sodný. Součet nalezeného množství chloridu sodného a glykolatu sodného v procentech je nejvýše 0,5 %, počítáno na vysušenou látku.

Chlorid sodný. 5,00 g se naváží do 250ml kuželovité baňky, přidá se 50 ml *vody R* a 5 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a zahřívá se 20 min na vodní lázni za občasného míchání, aby došlo k úplné hydrataci. Pak se ochladí, přidá se 100 ml *vody R* a 10 ml *kyseliny dusičné R* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,05 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití stříbrné indikační elektrody a dvouplášťové srovnávací elektrody obsahující roztok *dusičnanu draselného R* (100 g/l) ve vnějším plášti a obvyklý roztok ve vnitřním plášti elektrody.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,05 mol/l VS* odpovídá 2,922 mg NaCl.

Glykolat sodný. Do kádinky se naváží množství odpovídající 0,500 g vysušené látky, přidá se 5 ml *kyseliny octové ledové R* a 5 ml *vody R* a míchá se, aby došlo k úplné hydrataci (asi 30 min). Potom se přidá 80 ml *acetonu R* a 2 g *chloridu sodného R*, několik minut se míchá, až dojde k úplnému vysrážení karboxymethylcelulosy, zfiltruje se přes řídký papírový filtr impregnovaný *acetonem R* do odměrné baňky, kádinka a filtr se promyjí *acetonem R* a filtrát se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. Nechá se 24 h stát bez promíchávání. Čirá supernatantní kapalina se použije jako zkoušený roztok.

Carmellosum natricum substitutum humile 4033

Připraví se porovnávací roztoky následovně: 0,100 g *kyseliny glykolové R* předem vysušené ve vakuu nad *oxidem fosforečným R* se rozpustí ve 100ml odměrné baňce ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Do 4 odměrných baněk se odděleně přenesou 0,5 ml, 1,0 ml, 1,5 ml a 2,0 ml tohoto roztoku, obsah každé baňky se zředí *vodou R* na 5,0 ml, přidá se po 5 ml *kyseliny octové ledové R*, zředí se *acetonem R* na 100,0 ml a promíchá se.

Do 25ml odměrných baněk se přenesou odděleně 2,0 ml zkoušeného roztoku a 2,0 ml každého porovnávacího roztoku. Neuzavřené baňky se zahřívají ve vodní lázni do odpaření acetonu a po ochlazení se do každé baňky přidá 5,0 ml *2,7-dihydroxynaftalenu RS*, promíchá se a přidá se dalších 15,0 ml *2,7-dihydroxynaftalenu RS* a opět se promíchá. Baňky se uzavřou hliníkovou fólií a zahřívají se 20 min ve vodní lázni. Po ochlazení se zředí *kyselinou sírovou R* na 25,0 ml.

Měří se absorpance (2.2.25) každého roztoku při 540 nm. Připraví se kontrolní roztok za použití 2,0 ml roztoku obsahujícího po 5 % (V/V) *kyseliny octové ledové R* a *vody R* v *acetonu R*. Pomocí absorpací porovnávacích roztoků se sestaví kalibrační křivka. Z kalibrační křivky a absorpance zkoušeného roztoku se zjistí množství (*a*) *kyseliny glykolové* v miligramech a vypočítá se obsah glykolatu sodného podle vzorce:

$$\frac{10 \cdot 1,29 \cdot a}{(100 - b)m}$$

v němž značí:

1,29 - přepočítací faktor *kyseliny glykolové* na glykolat sodný,

b - ztrátu sušením v %,

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Látky rozpustné ve vodě. Nejvýše 70,0 %; 5,00 g se disperguje ve 400,0 ml *vody R* a během 30 min se vždy po 10 min míchá 1 min, potom se nechá 1 h stát, a je-li třeba, odstředí se. 100,0 ml supernatantní tekutiny se zfiltruje ve vakuu přes řídký papírový filtr, 75,0 ml filtrátu se odpaří do sucha a zbytek po odpaření se suší 4 h při 100 °C až 105 °C.

Těžké kovy (2.4.8). Ke zbytku ze zkoušky *Síranový popel* se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, odpaří se na vodní lázni a zbytek se rozpustí ve 20 ml *vody R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). 6,5 % až 13,5 %, což odpovídá 2,0 % až 4,5 % Na, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi stejných objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R*.

Následující zkouška (Sedimentace) hodnotící farmaceuticko-technologické vlastnosti se provádí v závislosti na uvažovaném složení. Tato zkouška není povinná.

Sedimentace. 15,0 ml až 35,0 ml. 5,0 g se přidá k 20 ml *2-propanolu R* ve 100ml odměrném válci a silně se protřepe. Zředí se *2-propanolem R* na 30 ml a potom *vodou R* na 50 ml a opět se silně protřepe. Třepání se provede ještě třikrát během 15 min, pak se nechá 4 h stát a odečte se objem usazeniny.

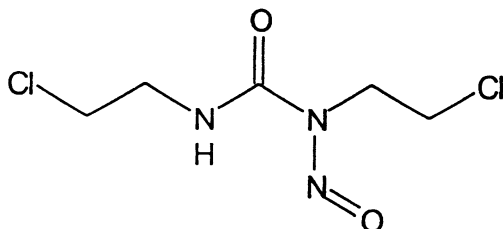
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

4034 † *Carmustinum*† **Carmustinum**

Karmustin

1998

 $C_5H_9Cl_2N_3O_2$ M_r 214,05

CAS 154-93-8

Je to 1,3-bis(2-chlorethyl)-1-nitrosomočovina. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_5H_9Cl_2N_3O_2$.

Vlastnosti

Nažloutlý, zrnitý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v etheru a v dichlormethanu, snadno rozpustný v ethanolu.

Taje při asi 31 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. karmustinu*. Měří se roztavená látka ve formě filmu.

Zkoušky na čistotu

1,3-Bis(2-chlorethyl)močovina (nečistota A). Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 2 mg *karmustinu nečistoty A CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 90) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *diethylaminem R* a 10 min se zahřívá při 125 °C. Po vychladnutí se postříká *dusičnanem stříbrným RS2* a vrstva se vystaví působení ultrafialového světla 365 nm, dokud se neobjeví hnědé až černé skvrny. Žádná skvrna odpovídající *karmustinu nečistotě A* na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %).

† *Cefiximum trihydricum* 4035

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

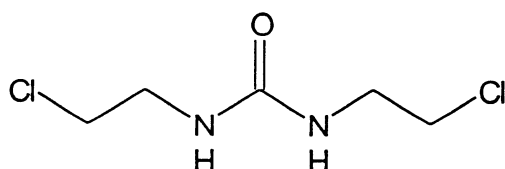
0,100 g se rozpustí v 30 ml *ethanolu R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximu při 230 nm.

Vypočítá se obsah $C_5H_9Cl_2N_3O_2$; specifický absorpční koeficient je 270.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.
Separandum.

Nečistoty



A. 1,3-bis(2-chlorethyl)močovina.

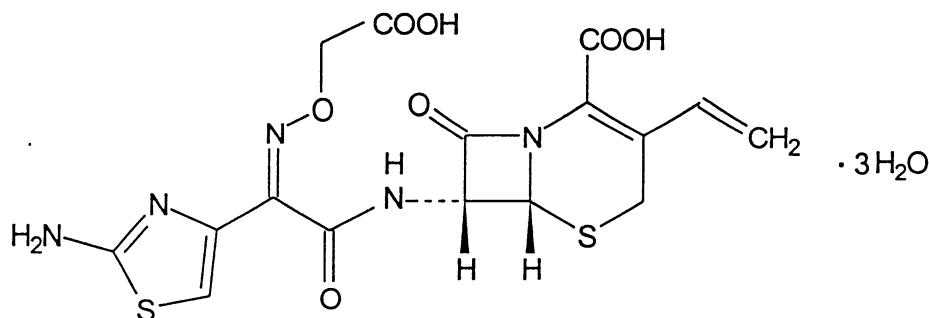
† *Cefiximum trihydricum*

Trihydrát cefiximu

Synonymum. Cefiximum



1999



$C_{16}H_{15}N_5O_7S_2 \cdot 3H_2O$

M_r 507,51

CAS 125110-14-7

4036 † Cefiximum trihydricum

Je to trihydrát kyseliny (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(karboxymethoxy)imino]aceta-mido]-8-oxo-5-thia-3-vinyl-1-azabicyclo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylové. Počítáno na bezvodou a ethanolu prostou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₆H₁₅N₅O₇S₂.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, mírně hygroskopický. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v ethanolu a prakticky nerozpustný v ethylacetatu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *cefiximu CRL*.

Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *methanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ silanizovaného pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v 5 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,067 mol/l)*.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *cefiximu CRL* se rozpustí v 5 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,067 mol/l)*.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *cefiximu CRL* a 20 mg *sodné soli ceftriaxonu CRL* se rozpustí v 5 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,067 mol/l)*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 μl každého roztoku. Vyuvíjí se směsí objemových dílů *methylacetatu R* a roztoku *octanu amonného R (154 g/l)*, jehož pH se nejprve upraví *kyselinou octovou R* na hodnotu 6,2, (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Asi 2 mg se umístí do zkumavky délky asi 150 mm a průměru asi 15 mm. Zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá krouživým pohybem; roztok je žlutý. Zkumavka se zahřívá 1 min na vodní lázni; vzniká oranžové zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 2,6 až 4,1; měří se suspenze připravená tímto způsobem: 0,5 g se suspenduje ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se porovnávací roztok (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se zkoušený roztok a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního

† *Cefiximum trihydricum* 4037

času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ethanol (2.4.24). Nejvýše 1,0 %; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28) metodou standardního přídávku.

Roztok vzorku. 0,250 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *dimethylacetamidu R* a *vody R* (1 + 4) a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 25,0 ml.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 9,0 % až 12,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *cefiximu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *cefiximu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zahřívá se 45 min na vodní lázni. Ochladí se a ihned se nastříkne.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *tetrabutylamoniumhydroxidu R*, připraveného takto: rozpustí se 8,2 g *tetrabutylamoniumhydroxidu R* ve *vodě R* a zředí se jí na 800 ml, pH se upraví na hodnotu 6,5 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* a zředí se *vodou R* na 1000 ml (250 + 750); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky, 10 μl.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se porovnávací roztok (c) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma hlavními píky (*cefixim* a *E-izomer*) je nejméně 2,0. Podle potřeby se upraví obsah acetonitrilu v mobilní fázi. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku *cefiximu* nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

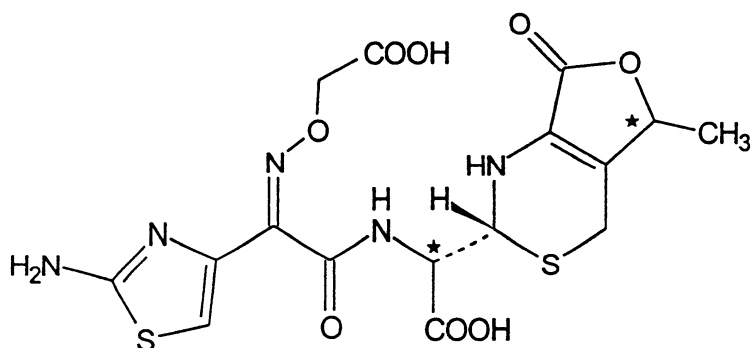
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

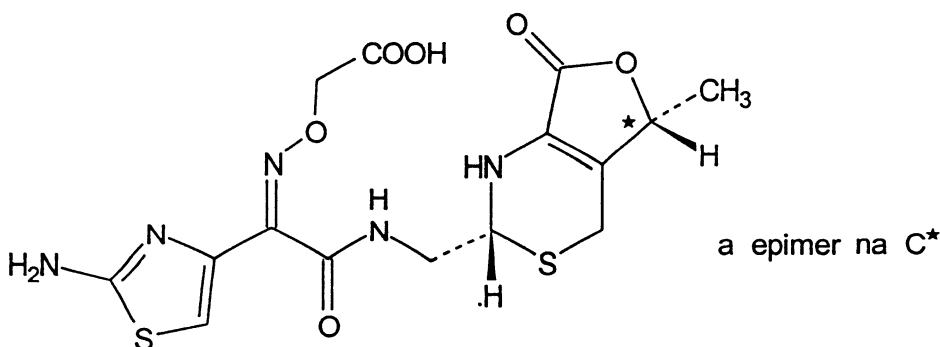
Separandum.

4038 † *Cefiximum trihydricum*

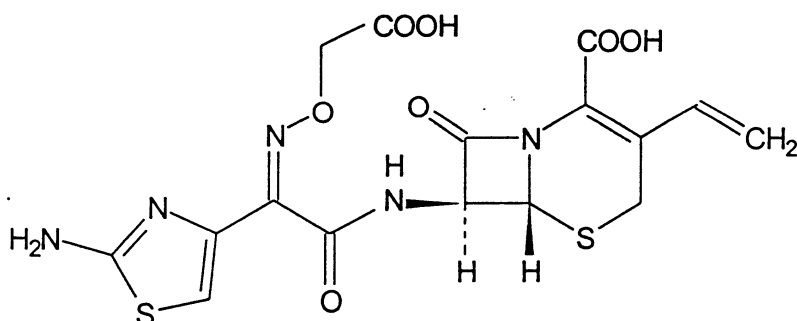
Nečistoty



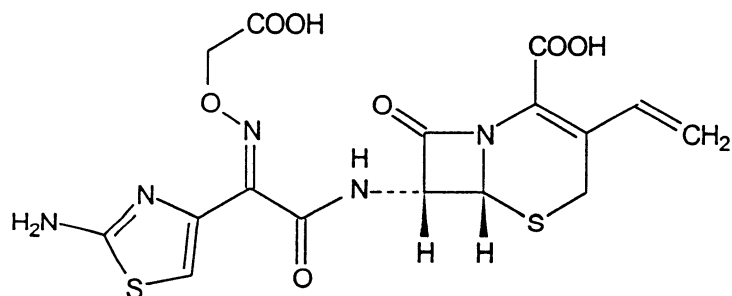
A. kyselina 2-{{(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(karboxymethoxy)imino]acetamido}-2-[(2R)-5-methyl-7-oxo-1,2,5,7-tetrahydro-4H-furo[3,4-d][1,3]thiazin-2-yl]octová,



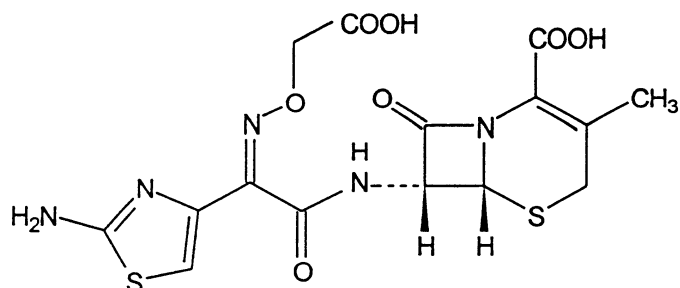
B. kyselina 2-{{(Z)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[[[(2R,5RS)-5-methyl-7-oxo-1,2,5,7-tetrahydro-4H-furo[3,4-d][1,3]thiazin-2-yl]methylamino]-2-cxoethyliden]aminooxy}octová,



C. kyselina (6R,7S)-7-{{(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(karboxymethoxy)imino]acetamido}-8-oxo-5-thia-3-vinyl-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (7-epimer cefiximu),

† *Cefuroximum axetili* 4039

D. kyselina (6*R*,7*R*)-7-{{(*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(karboxymethoxy)imino]acetamido}-8-oxo-5-thia-3-vinyl-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (*E*-izomer cefiximu),

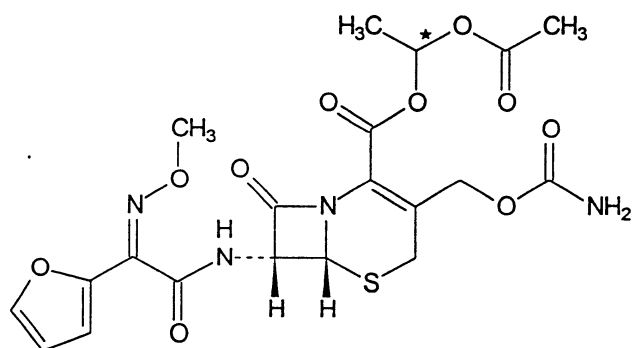


E. kyselina (6*R*,7*R*)-7-{{(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(karboxymethoxy)imino]acetamido}-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová.

† *Cefuroximum axetili*

Cefuroximiumaxetil

1999



C₂₀H₂₂N₄O₁₀S

M_r 510,48

CAS 64544-07-6

4040 † Cefuroximum axetili

Je to směs dvou diastereoizomerů (1*RS*)-1-(acetoxy)ethyl-(6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-furyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylatu. Počítáno na bezvodou a acetonu prostou látku, obsahuje 96,0 % až 102,0 % směsi dvou diastereoizomerů sloučeniny C₂₀H₂₂N₄O₁₀S.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, v ethylacetatu a v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *cefuroximumaxetilu CRL*.
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční časy a velikosti hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům a velikosti hlavních píků diastereoizomerů A a B cefuroximumaxetilu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Zkoušky na čistotu

Poměr diastereoizomerů. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) popsanou ve Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je poměr píku diastereoizomeru A cefuroximumaxetilu k součtu píků diastereoizomerů A a B cefuroximumaxetilu 0,48 až 0,55; stanoví se metodou vnitřní normalizace.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) popsanou ve Stanovení obsahu. Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se metodou vnitřní normalizace vypočítá procentuální obsah příbuzných látek. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy dvou hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Součet procent páru píků odpovídajících (*E*)-izomerům určeným srovnáním s chromatogramem porovnávacího roztoku (c) není větší než 1,0 %, součet procent páru píků odpovídajících Δ^3 -izomerům určeným srovnáním s chromatogramem porovnávacího roztoku (b) není větší než 1,5 % a plocha žádného dalšího vedlejšího píku není větší než 0,5 %. Součet příbuzných látek je nejvýše 3,0 %.

Aceton (2.4.24). Nejvýše 1,1 %.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,5 %, stanoví se s 0,400 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. Roztok se připraví bezprostředně před použitím. 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku se zahřívá 1 h při 60 °C (příprava Δ^3 -izomerů).

Porovnávací roztok (c). 5 ml zkoušeného roztoku se na 24 h vystaví působení ultrafialového světla při 254 nm (příprava (*E*) izomerů).

Porovnávací roztok (d). Roztok se připraví bezprostředně před použitím. 10,0 mg cefuroximumaxetilu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem trimethylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (23 g/l) (38 + 62); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 278 nm.

Postupně se nastříkne po 20 μl porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d). Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou relativní retenční časy vzhledem k diastereoizomeru A cefuroximumaxetilu (druhý pík) přibližně 0,9 pro diastereoizomer B cefuroximumaxetilu, 1,2 pro Δ³-izomery cefuroximumaxetilu a 1,7 a 2,1 pro (*E*)-izomery. Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky diastereoizomerů A a B cefuroximumaxetilu nejméně 1,5. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky diastereoizomeru A cefuroximumaxetilu a Δ³-izomeru cefuroximumaxetilu nejméně 1,5.

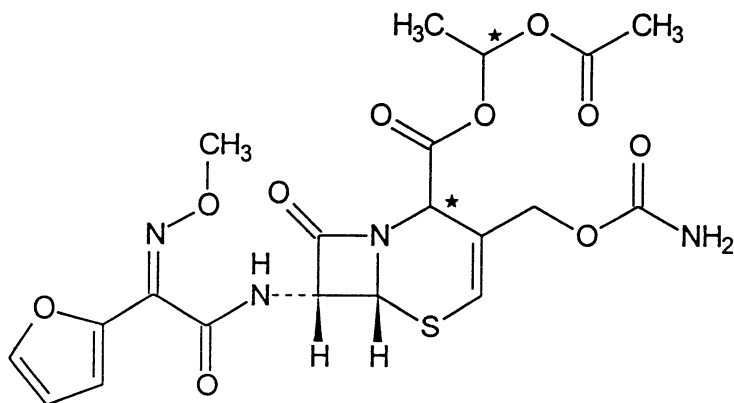
Šestkrát se nastříkne porovnávací roztok (d). Zkoušku lze hodnotit, pokud relativní směrodatná odchylka součtu píků diastereoizomerů A a B cefuroximumaxetilu je nejvýše 2,0 %.

Obsah C₂₀H₂₂N₄O₁₀S v procentech se vypočítá ze součtu ploch dvou píků diastereoizomerů a deklarovaného obsahu C₂₀H₂₂N₄O₁₀S v *cefuroximumaxetilu CRL*.

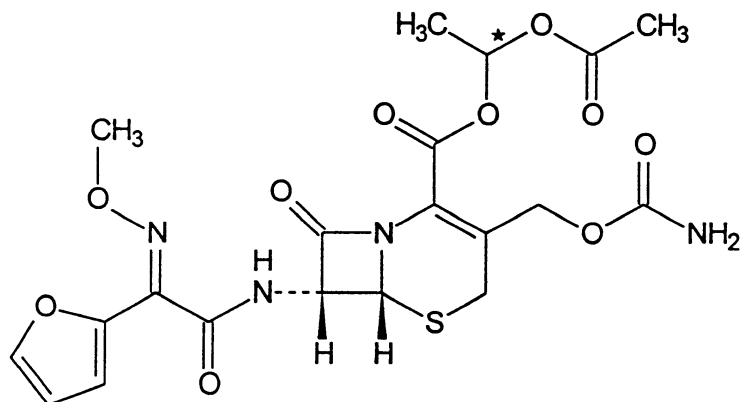
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

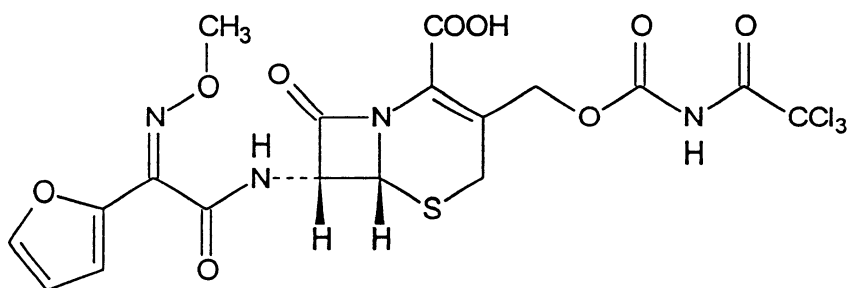
Nečistoty



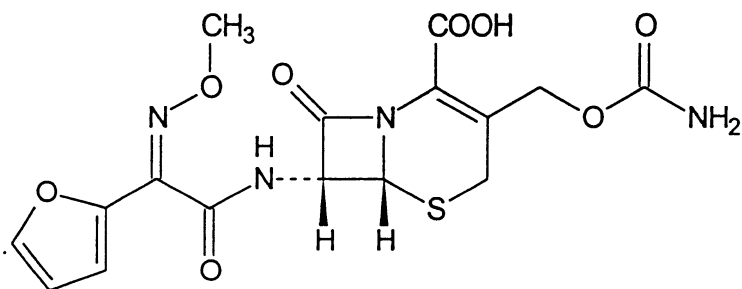
A. (1*RS*)-1-(acetoxymethyl)ethyl-(2*RS*,6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-furyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]okt-3-en-2-karboxylat (Δ³-izomery),

4042 † *Cefuroximum axetili*

B. (1*RS*)-1-(acetoxymethyl)-(6*R*,7*R*)-7-[(*E*)-2-(2-furyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-3-en-2-karboxylát ((*E*)-izomery),



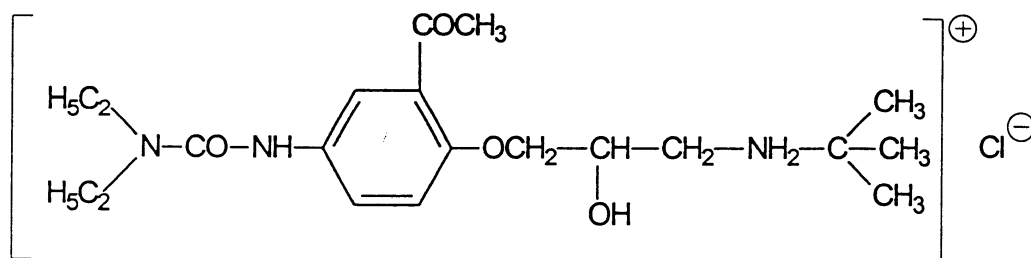
C. kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-furyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-8-oxo-3-[[trichloroacetyl]karbamoyloxy]methyl}-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová,



D. kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-furyl)-2-(methoxyimino)acetamido]-3-[(karbamoyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (cefuroxim).

† *Celiprololi hydrochloridum* 4043† **Celiprololi hydrochloridum****N**

Celiprololiumchlorid

 $C_{20}H_{34}ClN_3O_4$ M_r 415,96

CAS 57470-78-7

Je to (*RS*)-*N*-terc.butyl-*N*-3-[2-acetyl-4-(3,3-diethylureido)fenoxy]-2-hydroxypropylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{20}H_{34}ClN_3O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, mírně rozpustný v lihu 96%, je těžce rozpustný v chloroformu.

Vykazuje polymorfismus.

Teplota tání je asi 198 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: *A* a *C*.

Alternativní sestava zkoušek: *B* a *C*, viz *Obecné zásady* (2.1).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *celiprololiumchloridu* *CRL*. Jestliže se spektrum zkoušené látky v pevném stavu liší od spektra referenční látky, rozpustí se odděleně obě látky v co nejmenším množství *methanolu R*, odpaří se při 60 °C do sucha a zaznamenají se nová spektra.
- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).
- C.** Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

4044 † *Celiprololi hydrochloridum*

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 3,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 25,0 mg *celiprololiumchloridu CRL* se rozpustí ve směsí stejných objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se přidá 5,0 mg *celiprololiumchloridu* nečistoty B (*N'*-[3-acetyl-4-(3-terc.butylamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]-*N*-terc.butylmočovina *R*), rozpustí se a zředí se směsí stejných objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm), např. Symmetry C18,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,9 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - k 900 ml *vody R* se přidá 3,12 g *dihydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R*. Po rozpuštění se pH upraví na hodnotu 6,0 *hydroxidem sodným zředěným RS* a doplní se *vodou R* na 1000 ml,
 - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,
- gradientového programu:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0	90	10
15	76,5	23,5
30	54	46
35	54	46

- spektrofotometrického detektoru, 234 nm.

Před každou analýzou se kolona promývá mobilní fází počátečního složení do ustavení rovnováhy.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy *celiprololiumchloridu* 15 min a *celiprololiumchloridu* nečistoty B 18 min. Nastříkne se 5 μl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *celiprololiumchloridu* a *celiprololiumchloridu* nečistoty B je nejméně 4.

Nastříkne se 5 μl zkoušeného roztoku a 5 μl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku, viz vzorový chromatogram, plocha píku nečistoty A a plocha píku nečistoty D není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %), přičemž plocha píku nečistoty A se násobí odezvoým faktorem 1,22; plocha píku nečistoty B a plocha píku nečistoty C není větší než 1,7násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %), přičemž plocha píku nečistoty C se násobí odezvoým faktorem 1,46; plocha píku ostatních nečistot jednotlivě není větší než třetina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků rozpouštědel, není větší než pětina násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova* (10 μg *Pb/ml*).

† *Celiprololi hydrochloridum* 4045

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

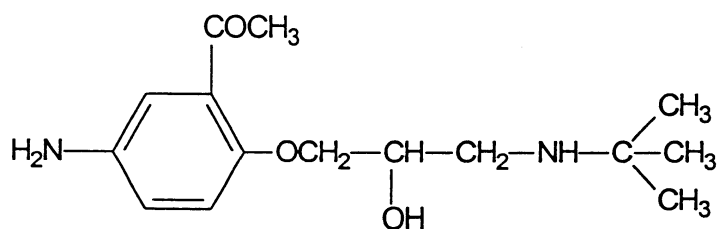
Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 15 ml *octanu rtuťnatého RS* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

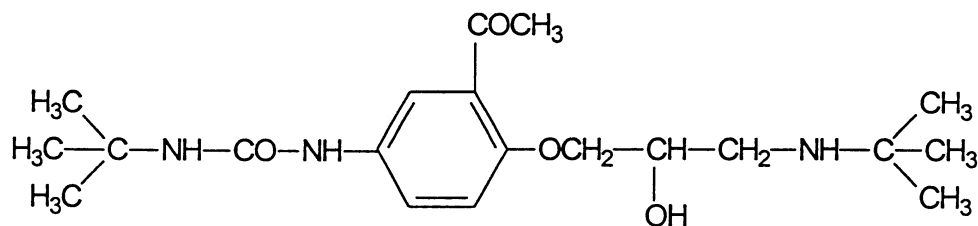
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 41,596 mg $C_{20}H_{34}ClN_3O_4$.

Uchovávání

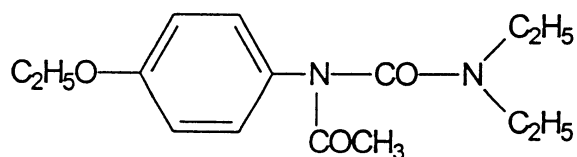
V dobře uzavřených obalech.
Separandum.

Nečistoty

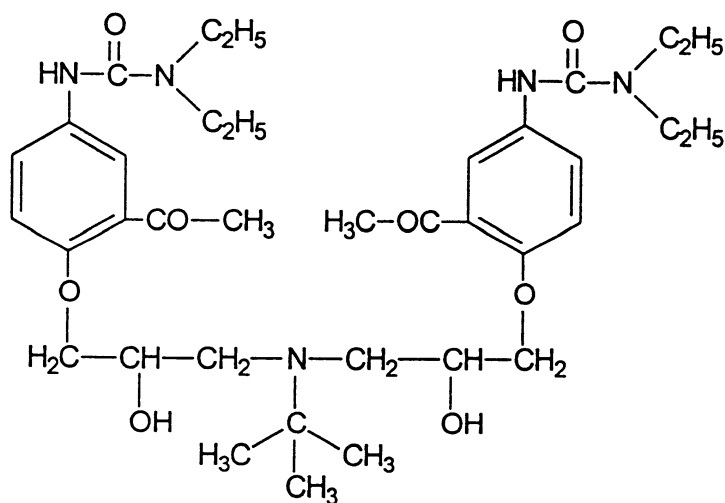
A. 5-amino-2-[(3-*terc.*butylamino-2-hydroxy)propoxy]acetofenon,



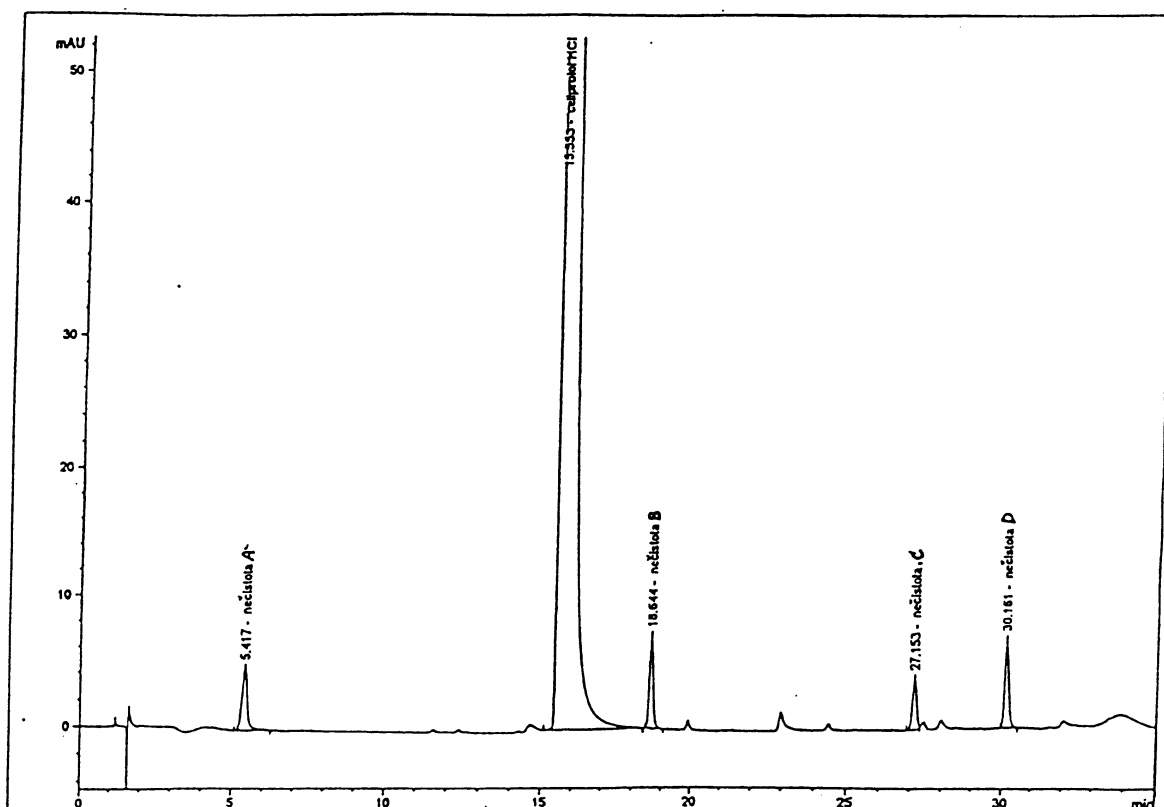
B. N'-[3-acetyl-4-(3-*terc.*butylamino-2-hydroxypropoxy)fenyl]-N-*terc.*butylmočovina,



C. N'-acetyl-N'-(4-ethoxyfenyl)-N,N-diethylmočovina,

4046 † *Celiprololi hydrochloridum*

D. N,N-bis{3-[2-acetyl-4-(3,3-diethylureido)fenoxy]-2-hydroxypropyl} terc. butylamin.



Obr. 1. Vzorový chromatogram ke zkoušce Příbuzné látky

Cellacefatum 4047

Cellacefatum¹⁾

Celacefat



Synonyma. Cellulosi acetas phthalas, Cellacephatum, Celophthalmum

Je to částečně O-acetylovaná a O-ftalylovaná celuloza. Obsahuje 30,0 % až 36,0 % hydrogenftaloylových skupin ($C_8H_5O_3$, relativní hmotnost skupiny 149,13) a 21,5 % až 26,0 % acetylových skupin (C_2H_3O , relativní hmotnost skupiny 43,05), u obou počítáno na bezvodou a kyselin prostou látku.

Vlastnosti

Bílý sypký prášek nebo bezbarvé vločky, hygroskopický. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v diethylenglykolu, prakticky nerozpustný v ethanolu a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných alkalických roztocích.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. celacefatu*.
- B. Asi 150 mg se rozpustí v 1 ml *acetonu R*. Tento roztok se naleje na skleněnou desku a vysuší se; vznikne tenký průsvitný lesklý film.

Zkoušky na čistotu

Zdánlivá viskozita (2.2.8). 45 mPa.s až 90 mPa.s; měří se roztok při 25 °C připravený rozpuštěním 15 g (počítáno na bezvodou látku) v 85 g směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (1 + 249).

Volné kyseliny. Nejvýše 3,0 % (S), počítáno jako kyselina ftalová na bezvodou látku. 3,0 g se třepou 2 h se 100 ml směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (35 + 65) a směs se zfiltruje. Baňka a filtr se promyjí dvakrát 10 ml stejné směsi a promývací tekutina se spojí s filtrátem. Takto připravený roztok se titruje *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru do vzniku slabě růžového zbarvení. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,3 mg volných kyselin, počítáno jako kyselina ftalová.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky. Zkouška se provede v prostředí směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *ethanolu R* (2 + 3).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 310 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4048 *Centaurii herba***Stanovení obsahu**

Ftaloylové skupiny. 1,000 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *acetonu R* a *lihu 96% R* (2 + 3). Přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě růžového zbarvení. Provede se slepá zkouška.

Obsah ftaloylových skupin vyjádřený v procentech (*P*) se vypočte podle vzorce:

$$\frac{14\,900 \cdot n}{(100 - a) \cdot (100 - S)m} - \frac{179,5 \cdot S}{(100 - S)},$$

v němž značí:

- a* - obsah vody v procentech, viz Zkoušky na čistotu,
- m* - navážku zkoušené látky v gramech,
- n* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* v mililitrech,
- S* - obsah volných kyselin v procentech, viz Zkoušky na čistotu.

Acetylové skupiny. K 0,100 g se přidá 25,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* do odbarvení. Provede se slepá zkouška.

Obsah acetylových skupin vyjádřený v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\left[\frac{4300 \cdot (n_2 - n_1)}{(100 - a) \cdot (100 - S) \cdot m} - \frac{51,8 \cdot S}{(100 - S)} \right] - 0,578P,$$

v němž značí:

- a* - obsah vody v procentech,
- m* - navážku zkoušené látky v gramech,
- n*₁ - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* v mililitrech,
- n*₂ - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* zjištěnou při slepé zkoušce v mililitrech,
- P* - obsah ftaloylových skupin v procentech,
- S* - obsah volných kyselin v procentech (viz Zkoušky na čistotu).

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Centaurii herba

Zeměžlučová nať

Synonymum. Herba centaurii



1999

Je to celá nebo řezaná usušená kvetoucí nať druhu *Centaurium erythraea* RAFN. (*synonyma: Centaurium minus* MOENCH, *Centaurium umbellatum* GILIB., *Erythraea centaurium* (L.) PERS.).

Vlastnosti

Droga intenzivně hořké chuti.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Stonek dutý, válcovitý, světle zelený až tmavě hnědý, podélně rýhovaný, jen v horní části větvený. Listy přisedlé, celokrajné, vstřícné, podlouhle vejčité až kopinaté, až 3 cm dlouhé; na obou stranách lysé, zelené až hnědavě zelené. Květy uspořádány ve vrcholíkovitých vidlanech. Kalich trubkovitý, pětičetný, zelený, kališní ušty kopinaté. Koruna pětičetná, řepicovitá, růžová, korunní cípy asi 5 mm až 8 mm dlouhé, korunní trubka bělavá. Tyčinek pět, nitky srostlé s korunou. Semeník svrchní s krátkou čnělkou, široce dvojkřannou bliznou a četnými vajíčky. Často jsou přítomné válcovité tobolky asi 7 mm až 10 mm dlouhé, s malými, hnědými výrazně drsnými semeny.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenožlutý až nahnědlý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: četné úlomky stonku se sklerenchymatickými vlákny a tečkovaně, šroubovitě a síťovitě ztlustlými cévami s úzkým lumenem; buňky dřevě a dřevňových paprsků pravoúhlé s tečkovanými stěnami; úlomky listů s buňkami pokožky vlnitě zprohýbanými a s rýhovanou kutikulou zejména na okraji čepele a v okolí průduchů s anisocytickými průduchy (2.8.3) a buňkami mezofylu s krystaly šťavelanu vápenatého různých typů; úlomky kalicha a koruny, pokožkové buňky kalicha s přímými stěnami, koruna s buňkami pokožky tupě papilózními a s kutikulou paprscitě zvrásněnou; části endothecia se síťovitě nebo žebříčkovitě ztlustlými stěnami; pylová zrna zaobleně trojhranná až oválná, žlutá, o průměru asi 30 μm, s jemně zrnitou exinou a třemi klíčovými póry; úlomky stěn tobolky složené ze vzájemně se křížících vrstev vláknitých buněk; malá, žlutohnědá semena s vyniklou tmavohnědou, síťovitou strukturou, tvořenou hrubými bočními stěnami buněk pokožky.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 1,0 g práškové drogy (355) se smíchá s 20 ml *methanolu R* a zahřívá se 10 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 10 mg *rutinu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů 30 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku. Využívají se směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *vody R* a *ethylacetátu R* (16 + 16 + 68) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší v proudu studeného vzduchu a vyvíjí se stejným způsobem ještě jednou. Usuší se v proudu studeného vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna (swertiamarin) na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou skvrně *rutinu* na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být i další slabě zbarvené skvrny. Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je skvrna swertiamarinu zbarvena fialovohnědě, těsně nad ní je slabá, žlutohnědá skvrna, mezi touto skvrnou a čelem chromatogramu je několik většinou šedých, velmi slabě zbarvených skvrn, na čele chromatogramu je červenofialová skvrna. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Skvrna swertiamarinu na chromatogramu zkoušeného rozto-

4050 Centaurii herba

ku vykazuje intenzivně hnědou až hnědožlutou fluorescenci, těsně nad ní je skvrna s modrou až žlutozelenou fluorescencí, mezi touto skvrnou a čelem chromatogramu je několik skvrn s namodralou nebo nažloutlou fluorescencí, na čele chromatogramu je skvrna se slabě červenofialovou fluorescencí. Pod skvrnou swertiamarinu jsou intenzivní skvrny se světle zelenou až žlutozelenou fluorescencí a skvrny se slabě hnědou fluorescencí.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 3 %.

Číslo hořkosti. Nejméně 2000. Provádí se srovnáním s chininiumchloridem, jehož číslo hořkosti je 200 000. Číslo hořkosti je definováno jako reciproká hodnota zředění, které chutná ještě hořce.

Základní roztok chininiumchloridu. 0,100 g chininiumchloridu *R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 1,00 g práškované drogy (355) se přelije 1000 ml vroucí vody *R* a za nepřetržitého míchání se zahřívá 30 min na vodní lázni. Po ochlazení se zředí vodou *R* na 1000 ml. Důkladně se promíchá, pak se zfiltruje a prvních 20 ml filtrátu se odstraní.

Připraví se řada porovnávacích roztoků tak, že v první zkumavce jsou 4,2 ml základního roztoku chininiumchloridu a v každé následující zkumavce se objem tohoto roztoku zvyšuje o 0,2 ml až do konečného objemu 5,8 ml. Objem každé zkumavky se zředí vodou *R* na 10,0 ml. Určí se roztok nejnižší koncentrace, který chutná ještě hořce. 10,0 ml roztoku nejnižší koncentrace se převaluje v ústech 30 s tak, aby roztok přišel do styku s kořenem jazyka. Jestliže roztok nechutná hořce vyplivne se a po 1 min se ústa vypláchnou vodou *R*. Po 10 min se zkouší stejným způsobem roztok následující vyšší koncentrace.

Korekční faktor *k* se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{5,00}{n},$$

v němž značí:

n - počet ml základního roztoku chininiumchloridu, který chutnal ještě hořce.

10/*k* ml zkoušeného roztoku se zředí vodou *R* na 20,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku chutná hořce.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 6,0 %.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Cera alba 4051

Cera alba

Bílý vosk



1999

CAS 8012-89-3

Je to včelí vosk získaný bělením žlutého včelího vosku.

Vlastnosti

Bílé nebo nažloutlé kousky nebo destičky, v tenké vrstvě průsvitné, na lomu jemně zrnité, matné, nikoli krystalické; pach nevýrazný, medový, jemnější než u žlutého vosku, nikdy není žluklý. Vosk bez chuti, nelepí se na zuby, zahřátím v dlani měkne a stává se tvárným.

Je prakticky nerozpustný ve vodě, částečně se rozpouští v horkém lihu 90% (V/V), zcela se rozpouští v mastných olejích a silicích.

Relativní hustota je asi 0,960.

Zkoušky totožnosti

Teplota skápnutí (2.2.17). 61 °C až 65 °C. Zkoušená látka se rozpustí zahřátím na vodní lázni, nalije se na skleněnou desku a nechá se vychladnout na polotuhou hmotu. Kovový kelímek se vtlačí širším koncem do zkoušené látky, postup se opakuje tak dlouho, dokud není zkoušená látka vytlačována úzkým otvorem. Přebytek vosku se odstraní kopistkou a dovnitř se okamžitě vloží teploměr. Vytlačený vosk se odstraní. Po 12 h stání při obyčejné teplotě se stanoví teplota skápnutí.

Číslo kyselosti. 17,0 až 24,0. 2,00 g se v 250ml kuželové baňce smíchají se 40 ml *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 20 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *fenolftaleinu RS1* a ještě horký roztok se titruje *hydroxidem draselným* v lihu 0,5 mol/l VS až do vzniku červeného zbarvení, které je stále nejméně 10 s. Provede se slepá zkouška.

Číslo kyselosti (x) se vypočítá podle vzorce:

$$x = \frac{28,05(n_1 - n_2)}{m},$$

v němž značí:

n_1 - spotřebu *hydroxidu draselného* v lihu 0,5 mol/l VS v mililitrech (vlastní stanovení),

n_2 - spotřebu *hydroxidu draselného* v lihu 0,5 mol/l VS v mililitrech (slepá zkouška),

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Číslo esterové (2.5.2). 70 až 80.

Poměr čísel. Poměr čísla esterového k číslu kyselosti je 3,3 až 4,3.

Číslo zmýdelnění. 87 až 104. 2,00 g se v 250ml kuželové baňce smíchají se 30 ml směsi stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu draselného* v lihu 0,5 mol/l VS a vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Přidá se 1 ml *fenolftaleinu RS1*; ještě horký roztok se ihned titruje

4052 Cera flava

kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS. Roztok se během titrace několikrát zahřeje k varu. Provede se slepá zkouška.

Číslo zmýdelnění (x) se vypočítá podle vzorce:

$$x = \frac{28,05 (n_2 - n_1)}{m},$$

v němž značí:

n_1 - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* v mililitrech (vlastní stanovení),

n_2 - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* v mililitrech (slepá zkouška),

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Ceresin, parafíny a některé další vosky. 3,0 g se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchají s 30 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (40 g/l) v *lihu 96% prostém aldehydů R* a mírně se vaří 2 h pod zpětným chladičem. Zpětný chladič se odstraní a do baňky se ihned vloží teploměr. Baňka se vloží do vody 80 °C teplé a za stálého míchání se roztok nechá chladnout. Nevzniká sraženina při teplotě 59 °C až 65 °C; roztok může opalizovat.

Glycerol a jiné polyoly. 0,20 g se smíchá s 10 ml *hydroxidu draselného v lihu RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Pak se přidá 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a po ochlazení se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí *kyselinou sírovou zředěnou RS*. Spojené filtráty a promývací tekutiny se zředí *kyselinou sírovou zředěnou RS* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se ve zkumavce smíchá s 0,5 ml roztoku *jodistanu sodného R* (10,7 g/l) a nechá se 5 min stát. Přidá se 1,0 ml *fuchsínu RS* a *promíchá se*. Případně vzniklá sraženina zmizí. Zkumavka se vloží do kádinky naplněné vodou 40 °C teplou. Nechá se chladnout a pozoruje se 10 min až 15 min. Modrofialové zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 1,0 ml roztoku *glycerolu R* (0,01 g/l) v *kyselině sírové zředěné RS* (0,5 %, počítáno jako glycerol).

Cera flava

Žlutý vosk



1999

Je to včelí vosk získaný roztavením stěn pláství vytvořených včelou medonosnou, *Apis mellifera* L., v horké vodě, zbavený cizích příměsí.

Vlastnosti

Žluté nebo světle hnědé kousky nebo destičky, na lomu jemně zrnité, matné, nikoli krystalické; pach nevýrazný, medový. Vosk bez chuti, nelepí se na zuby. Zahřátím v dlani měkne a stává se tvárným.

Je prakticky nerozpustný ve vodě; částečně se rozpouští v horkém lihu 90% (V/V) a v etheru, zcela se rozpouští v mastných olejích a silicích.

Relativní hustota je asi 0,960.

Zkoušky totožnosti

Teplota skápnutí (2.2.17). 61 °C až 65 °C. Zkoušená látka se rozpustí zahřátím na vodní lázni, nalije se na skleněnou desku a nechá se vychladnout na polotuhou hmotu. Kovový kelímek se vtlačí širším koncem do zkoušené látky, postup se opakuje tak dlouho, dokud není zkoušená látka vytlačována úzkým otvorem. Přebytek vosku se odstraní kopistkou a dovnitř se okamžitě vloží teploměr. Vytlačený vosk se odstraní. Po 12 h stání při obvyčejné teplotě se stanoví teplota skápnutí.

Číslo kyselosti. 17 až 22. 2,00 g se v 250ml kuželové baňce smíchají se 40 ml *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 20 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *fenolftaleinu RS1* a ještě horký roztok se titruje *hydroxidem draselným v lihu 0,5 mol/l VS* až do vzniku červeného zbarvení, které je stále nejméně 10 s. Provede se slepá zkouška.

Číslo kyselosti (x) se vypočítá podle vzorce:

$$x = \frac{28,05 \cdot (n_1 - n_2)}{m},$$

v němž značí:

n_1 - spotřebu *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* v mililitrech (vlastní stanovení),

n_2 - spotřebu *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* v mililitrech (slepá zkouška),

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Číslo esterové (2.5.2). 70 až 80.

Poměr čísel. Poměr čísla esterového k číslu kyselosti je 3,3 až 4,3.

Číslo zmydlnění. 87 až 102. 2,00 g se v 250ml kuželové baňce smíchají s 30 ml směsi stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *xylenu R*, přidá se několik varných kamínků a zahřívá se pod zpětným chladičem do rozpuštění. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* a vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Přidá se 1 ml *fenolftaleinu RS1*; ještě horký roztok se ihned titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS*. Roztok se během titrace několikrát zahřeje k varu. Provede se slepá zkouška.

Číslo zmydlnění (x) se vypočítá podle vzorce:

$$x = \frac{28,05 \cdot (n_2 - n_1)}{m},$$

v němž značí:

n_1 - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* v mililitrech (vlastní stanovení),

n_2 - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* v mililitrech (slepá zkouška),

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Ceresin, parafíny a některé další vosky. 3,0 g se ve 100ml baňce smíchají s 30 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (40 g/l) v *lihu 96% prostém aldehydů R* a mírně se vaří 2 h pod zpětným chladičem. Zpětný chladič se odstraní a do baňky se ihned umístí teploměr. Baňka se vloží do vody 80 °C teplé a za stálého míchání se roztok nechá chladnout. Nevzniká sraženina při teplotě 59 °C až 65 °C; roztok může opalizovat.

Glycerol a jiné polyoly. K 0,20 g se přidá 10 ml *hydroxidu draselného v lihu RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Pak se přidá 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS*; po ochlazení se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí *kyselinou sírovou zředěnou R*. Spojené filtráty a promývací tekutiny se zředí *kyselinou sírovou zředěnou RS* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se

4054 *Cetylis palmitas*

ve zkumavce smíchá s 0,5 ml roztoku *jodistanu sodného R* (10,7 g/l) a nechá se 5 min stát. Přidá se 1,0 ml *fuchsínu RS* a promíchá se; nevznikne sraženina. Zkumavka se vloží do kádinky naplněné vodou 40 °C teplou. Nechá se chladnout a pozoruje se 10 min až 15 min. Modrofialové zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 1,0 ml roztoku *glycerolu R* (0,01 g/l) v *kyselině sírové zředěné RS* (0,5 %, počítáno jako glycerol).

Cetylis palmitas**N**

Cetylpalmitat

CAS 540-10-3

Je to směs esterů nasycených mastných kyselin a nasycených alkoholů. Obsahuje především hexadecyldekanooat (C₃₂H₆₄O₂).

Vlastnosti

Bílé, na omak mastné lístky nebo kousky nebo prášek bez pachu a chuti. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, snadno rozpustný v benzínu a chloroformu a dobře rozpustný ve vroucím lihu 96%.

Zkouška totožnosti

- A. Zkouška Teplota skápnutí, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
B. Zkouška Index lomu, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *chloroformu R* a zředí se jím na 10 ml. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Zásaditě reagující látky. K 2,0 g v baňce se zabroušenou zátkou se přidá 15 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, baňka se uzavře a zahřívá se ve vodní lázni při 60 °C do roztavení zkoušené látky a potom se 2 min silně třepa a po ochlazení se pomocí skleněné tyčinky a tlaku zfiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Index lomu (2.2.6). 1,431 až 1,437, stanoví se při 75 °C.

Teplota skápnutí (2.2.14). 46 °C až 49 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 1,5; 10,00 g se zahřívá 5 min s 50 ml předepsaného rozpouštědla na vodní lázni pod zpětným chladičem.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 5,0; 5,00 g se rozpustí mírným zahřátím v 18 ml *chloroformu R*, přidá se 12 ml *kyseliny octové ledové R* a v případě vzniku zákalu se opět mírně zahřeje.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 114 až 129; ke stanovení se použijí 2,00 g zkoušené látky a baňka se 2 h zahřívá na vodní lázni pod zpětným chladičem.

Cetylpyridinii chloridum monohydricum 4055

Parafiny. 0,250 g se rozpustí v *lihu 96% R* na čirou tekutinu bez zbytků neroztavených částic.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 4,0 ml základního roztoku olova (10 µg/ml).

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,05 %; stanoví se s 2,000 g.

Uchovávání

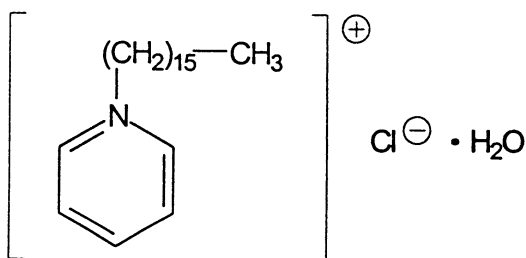
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Cetylpyridinii chloridum monohydricum

Monohydrát cetylpyridiniumchloridu

1999

Synonymum. Cetylpyridinii chloridum



$C_{21}H_{38}ClN \cdot H_2O$

M_r 358,01

CAS 6004-24-6

Je to monohydrát 1-hexadecylpyridiniumchloridu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{21}H_{38}ClN$.

Vlastnosti

Bílý prášek, slabě mýdlový na dotek. Je dobře rozpustný ve vodě a v *lihu 96%*, velmi těžce rozpustný v etheru. Vodné roztoky při třepání silně pěňí.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 0,10 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 240 nm až 300 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 259 nm a dvě prodlevy při asi 254 nm a při asi 265 nm. Specifická absorbance v maximu je 126 až 134, počítáno na bezvodou látku.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *monohydrátu cetylpyridiniumchloridu CRL*. Měří se látky v pevném stavu.

4056 *Cetylpyridinii chloridum monohydricum*

C. K 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* se přidá 0,1 ml *modři bromfenolové RS1*, 5 ml *chloroformu R* a protřepe se; chloroformová vrstva je bezbarvá. Přidá se 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, a protřepe se; chloroformová vrstva se zbarví modře.

D. Roztok S vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. K 50 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se použije nejvýše 2,5 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

Aminy a amonné soli. 5,0 g se rozpustí zahřátím ve 20 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* a *methanolu R* (3 + 97) a přidá se 100 ml *2-propanolu R*. Roztokem se nechá pomalu probublávat *dusík R* a postupně se přidává 12,0 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* a zaznamenává se potenciometrická titrační křivka (2.2.20). Jestliže křivka vykazuje dva inflexní body, není spotřeba odměrného roztoku mezi těmito body větší než 5,0 ml. Jestliže křivka nevykazuje inflexní bod, zkoušená látka nevyhovuje zkoušce. Jestliže křivka vykazuje jeden inflexní bod, zkouška se opakuje, s tím, že před titrací se přidají 3,0 ml roztoku *dimethyl-tetradecylaminu R* (25 g/l) v *2-propanolu R*. Pokud titrační křivka po přidání 12 ml titračního činidla vykazuje jen jeden inflexní bod, látka nevyhovuje zkoušce.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 4,5 % až 5,5 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2,000 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 25,0 ml tohoto roztoku se převede do dělicí nálevky, přidá se 25 ml *chloroformu R*, 10 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R* (50 g/l). Směs se protřepe, chloroformová vrstva se oddělí a odstraní se. Vodná vrstva se protřepe třikrát s 10 ml *chloroformu R* a chloroformová vrstva se vždy odstraní. Potom se přidá 40 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, nechá se ochladit a titruje se *jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS* do vymizení tmavě hnědého zbarvení. Přidají se 2 ml *chloroformu R* a pokračuje se v titraci za silného protřepávání, dokud se barva chloroformové vrstvy dále nemění. Proveďte se slepá zkouška za použití směsi 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R* (50 g/l), 20 ml *vody R* a 40 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

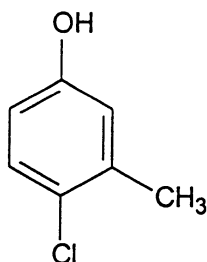
1 ml *jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS* odpovídá 34,0 mg $C_{21}H_{38}ClN$.

† *Chlorocresolum* 4057† **Chlorocresolum**

Chlorkresol



1999

 C_7H_7ClO M_r 142,58

CAS 59-50-7

Je to 4-chlor-3-methylfenol. Obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny C_7H_7ClO .

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo kompaktní krystalická hmota ve formě granulí nebo bezbarvé či bílé krystaly. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96%, snadno rozpustný v etheru a v mastných olejích. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

- A. Teplota tání (2.2.14). 64 °C až 67 °C.
- B. K 0,1 g se přidá 0,2 ml *benzoylchloridu R* a 0,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*. Roztok se důkladně protřepává do vzniku bílé krystalické sraženiny. Potom se přidá 5 ml *vody R* a zfiltruje se. Sraženina se překrystalizuje z 5 ml *methanolu R* a usuší se při 70 °C; taje (2.2.14) při 85 °C až 88 °C.
- C. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml *chloridu železitého RS1*; vznikne namodralé zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 3,0 g se jemně upráškuje, 2 min se protřepávají s 60 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a směs se zfiltruje.

Vzhled roztoku. 1,25 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselce reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS*. Roztok je oranžový nebo červený. Ke změně zbarvení na čistě žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

4058 † Chlorpropamidum

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 1,80 m a vnitřního průměru 3 mm až 4 mm naplněné *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* impregnovanou 3 % až 5 % *polyfenylmethylsiloxanu R*,
- *dusíku pro plynovou chromatografii R* s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 125 °C, teplota vstřikovacího prostoru na 210 °C, teplota detektoru na 230 °C.

Zaznamenává se chromatogram po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času (asi 8 min) píku odpovídajícího chlorkresolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě plochy píku odpovídajícího chlorkresolu, není větší než 1 % celkové plochy všech píků. Nepřihlíží se k píku rozpouštědla.

Netěkavé látky. 2,0 g se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek vysušený při 100 °C až 105 °C váží nejvýše 2 mg (0,1 %).

Stanovení obsahu

V kuželové baňce se zabroušenou zátkou se rozpustí 70,0 mg v 30 ml *kyseliny octové ledové R*, přidá se 25,0 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS*, 20 ml roztoku *bromidu draselného R* (150 g/l) a 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Roztok se nechá 15 min stát chráněn před světlem. Po přidání 1,0 g *jodidu draselného R* a 100 ml *vody R* se titruje za intenzivního promíchávání *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS*. Před koncem titrace se přidá 1 ml *škrobu RS* jako indikátor. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 3,565 mg C₇H₇ClO.

Uchovávání

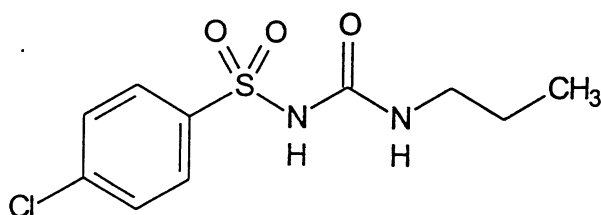
Chráněn před světlem.
Separandum.

† Chlorpropamidum

Chlorpropamid



1999

C₁₀H₁₃ClN₂O₃SM_r 276,74

CAS 94-20-2

Je to 1-[(4-chlorfenyl)sulfonyl]-3-propylmočovina. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{10}H_{13}ClN_2O_3S$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a v dichlormethanu, dobře rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). 126 °C až 130 °C.
- B. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 100,0 ml. 10,0 ml získaného roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 220 nm až 350 nm. Absorpční maximum roztoku je při 232 nm. Specifická absorbance v maximu je 570 až 630.
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *chlorpropamidu CRL*. Pokud jsou spektra získaná se vzorky v tuhém stavu rozdílná, rozpustí se odděleně zkoušená i referenční látka v *dichlormethanu R*, odpaří se do sucha a se získanými zbytky se zaznamenají spektra znovu.
- D. 0,1 g se zahřívá 10 min se 2 g *uhličitanu sodného bezvodého R* do vzniku matně červeného zbarvení. Po ochlazení se zbytek extrahuje asi 5 ml *vody R*, zředí se *vodou R* na 10 ml a zfiltruje se. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 15 mg 4-chlorbenzensulfonamidu *R* (chlorpropamid nečistota A) se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 15 mg *chlorpropamidu nečistoty B CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,3 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (d). 5 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí *acetonem R* na 15 ml.

Porovnávací roztok (e). 0,10 g zkoušené látky, 5 mg 4-chlorbenzensulfonamidu *R* a 5 mg *chlorpropamidu nečistoty B CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *cyklohexanu R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (11,5 + 30 + 50 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu studeného vzduchu a pak se zahřívá 10 min při 110 °C. Na dno komory se vloží odpařovací miska obsahující směs objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*,

4060 † *Chlorpropamidum*

vody R a roztoku *manganistanu draselného R* (50 g/l) (1 + 1 + 2) a komora se na 15 min uzavře. Suchá horká vrstva se vloží na 2 min do komory nasycené parami chloru. Pak se vrstva vyjme a nechá se v proudu studeného vzduchu až do vymizení chloru a tak dlouho, až vrstva pod body nanášky reaguje s kapkou *škrobu s jodidem draselným RS* za vzniku modrého zbarvení. Postříká se *škrobem s jodidem draselným RS*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající nečistotě A není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %); skvrna odpovídající nečistotě B není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %). Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících nečistotě A a nečistotě B, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %) a nejvýše dvě takové skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou patrné tři zřetelně od sebe oddělené skvrny s hodnotami R_F přibližně 0,4, 0,6 a 0,9, odpovídající chlorpropamidu, nečistotě A a nečistotě B.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (15 + 85) a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 $\mu\text{g/g}$). Připraví se porovnávací roztok (2 $\mu\text{g Pb/ml}$) za použití základního roztoku *olova* (100 $\mu\text{g Pb/ml}$) ředěním směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (15 + 85).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

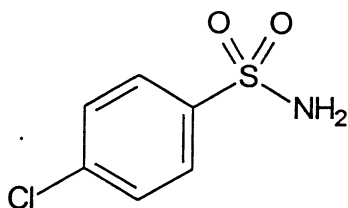
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného za použití *fenolftaleinu RS1* jako indikátoru, přidá se 25 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* až do vzniku růžového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 27,67 mg $\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$.

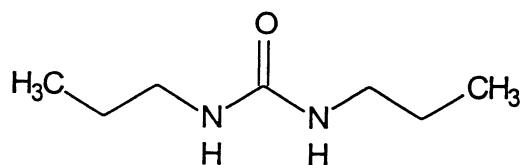
Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

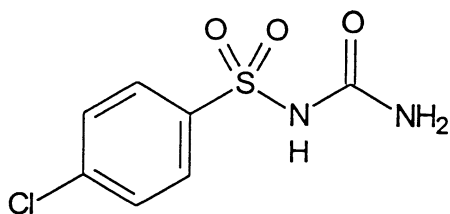
Nečistoty

A. 4-chlorbenzensulfonamid,

† Chlorprothixeni hydrochloridum 4061



B. 1,3-dipropylmočovina,

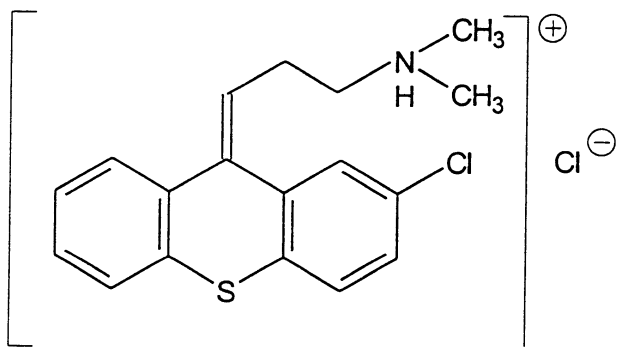


C. [(4-chlorfenyl)sulfonyl]močovina.

† Chlorprothixeni hydrochloridum¹⁾

Chlorprothixeniumchlorid

Synonymum. Chlorprothixenium chloratum

 $C_{18}H_{19}Cl_2NS$ M_r 352,32

CAS 6469-93-8

Je to [(Z)-3-(2-chlor-9H-thioxanthen-9-yliden)propyl]dimethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{18}H_{19}Cl_2NS$.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 312 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4062 † *Chlorprothixeni hydrochloridum***Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v dichlormethanu.

Taje při asi 220 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *chlorprothixeniumchloridu CRL*.
- B.** 0,2 g se rozpustí ve směsi 5 ml *dioxanu R* a 5 ml roztoku *dusitanu sodného R* (1,5 g/l) a pak se přidá 0,8 ml *kyseliny dusičné R*. Po 10 min se tento roztok přidá ke 20 ml *vody R* a po 1 h stání se vzniklá sraženina odfiltruje. Filtrát se ihned použije ke zkoušce totožnosti C. Sraženina se zahřátím rozpustí v asi 15 ml *lihu 96% R* a roztok se přidá k 10 ml *vody R*. Sraženina se opět zfiltruje a suší se 2 h při 100 °C až 105 °C. Sraženina taje (2.2.14) při 152 °C až 154 °C.
- C.** K 1 ml filtrátu ze zkoušky B se přidá 0,2 ml suspenze 50 mg *červeně pravé B R* v 1 ml *lihu 96% R* a 1 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l RS*; vznikne tmavě červené zbarvení. Současně se provede slepá zkouška.
- D.** Asi 20 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny dusičné R*; vznikne červené zbarvení. Potom se přidá 5 ml *vody R* a roztok se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok vykazuje zelenou fluorescenci.
- E.** Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,25 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,4 až 5,2; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Zkouška se provede za ochrany před přímým světlem. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *chlorprothixeniumchloridu CRL* (obsahujícího 2 % *E*-izomeru) se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 μm nebo 5 μm),
- mobilní fáze, kterou je roztok obsahující *dihydrogenfosforečnan draselný R* (6,0 g/l), *laurylsíran sodný R* (2,9 g/l) a *tetrabutylamoniumbromid R* (9 g/l) ve směsi objemových dílů *methanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody destilované R* (50 + 400 + 550); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

† *Chlorprothixeni hydrochloridum* 4063

Při průtoku mobilní fáze 1,5 ml/min se kolona promývá do ustavení rovnováhy po dobu asi 30 min.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 10 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní retenční čas *E*-izomeru vztahovaný k hlavnímu píku je asi 1,35 a retenční čas hlavního píku je asi 10 min.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času chlorprothixenu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku odpovídajícího *E*-izomeru není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2 %); plocha píku s relativním retenčním časem asi 1,55 (nečistota *E*) není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 % nečistoty *E*, počítáno na hodnotu odezvového faktoru 3); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku *E*-izomeru a píku nečistoty *E*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, píku *E*-izomeru a píku nečistoty *E*, není větší než 2,33násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,7 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h ve vakuu při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

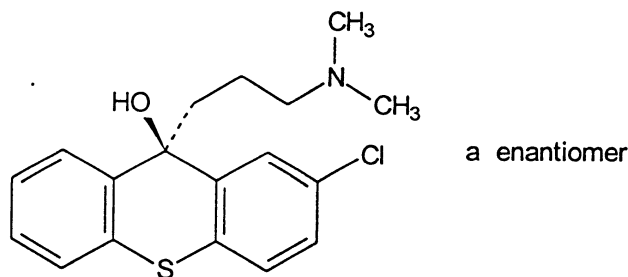
0,300 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 35,23 mg sloučeniny C₁₈H₁₉Cl₂NS.

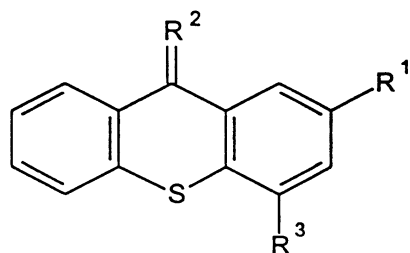
Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

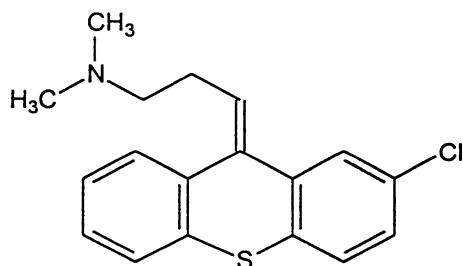
Nečistoty



A. (*RS*)-2-chlor-9-[3-(dimethylamino)propyl]-9*H*-thioxanthen-9-ol,

4064 *Cholesterolum*

- B. $R^1 = H$, $R^2 = CH-CH_2-CH_2-N(CH_3)_2$, $R^3 = H$: N,N-dimethyl-[3-(9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin,
 C. $R^1 = Cl$, $R^2 = CH-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $R^3 = H$: N-methyl-[(*Z*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin,
 D. $R^1 = H$, $R^2 = CH-CH_2-CH_2-N(CH_3)_2$, $R^3 = Cl$: N,N-dimethyl-[(*Z*)-3-(4-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin,
 E. $R^1 = Cl$, $R^2 = O$, $R^3 = H$: 2-chlorthioxanthon,



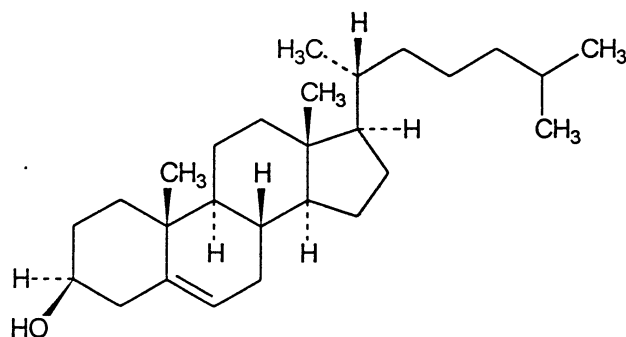
F. N,N-dimethyl-[(*E*)-3-(2-chlor-9*H*-thioxanthen-9-yliden)propyl]amin (*E*-izomer).

Cholesterolum

Cholesterol



1999

 $C_{27}H_{46}O$ M_r 386,66

CAS 57-88-5

Je to 5-cholesten-3 β -ol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje nejméně 95,0 % sloučeniny C₂₇H₄₆O a celkový obsah sterolů je 97,0 % až 103,0 %.

Výroba

Je-li cholesterol získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, např. tuku z vlny, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu a lihu 96%. Je citlivý na světlo.

Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 147 °C až 150 °C.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R. Roztoky se připraví těsně před použitím.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v dichlorethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg cholesterolu CRL se rozpustí v dichlorethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20 μ l každého roztoku a vyvíjí se ihned za ochrany před světlem směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (33 + 66) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a třikrát se postříká chloridem antimonitým RS. Chromatogramy se pozorují 3 min až 4 min po postřiku. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml dichlormethanu R, přidá se 1 ml acetanhydridu R, 0,01 ml kyseliny sírové R a protřepe se; vznikne růžové zbarvení, které se rychle mění na červené, potom na modré a nakonec na jasně zelené.

Zkoušky na čistotu

Rozpustnost v lihu 96%. 0,5 g se v uzavřené nádobě rozpustí v 50 ml lihu 96% R při 50 °C a nechá se 2 h stát; netvoří se zákal ani usazenina.

Kysele reagující látky. 1,0 g se rozpustí v 10 ml etheru R, přidá se 10,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS a asi 1 min se třepe. Směs se opatrně zahřívá do odpaření etheru a 5 min se vaří. Po ochlazení se přidá 10 ml vody R, 0,1 ml fenolftaleinu RS a titruje se za stálého míchání kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS do vymizení růžového zbarvení. Proveďte se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebou kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS potřebnou ke změně zbarvení indikátoru u slepé zkoušky a vlastní titrace není větší než 0,3 ml.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,3 %; 1,000 g se suší 4 h ve vakuu při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

4066 *Cholesterolum***Stanovení obsahu**

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *pregnenolonisobutyratu CRL* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,100 g *pregnenolonisobutyratu CRL* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztok. 25,0 mg *cholesterolu CRL* se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony z křemenného skla délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřním povrchem pokrytým *polydimethylsiloxanem R* (tloušťka filmu 1,5 μm),
- *helia pro chromatografii R* s průtokovou rychlostí 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 270 °C, teplota vstřikovacího prostoru na 280 °C a detektoru na 290 °C.

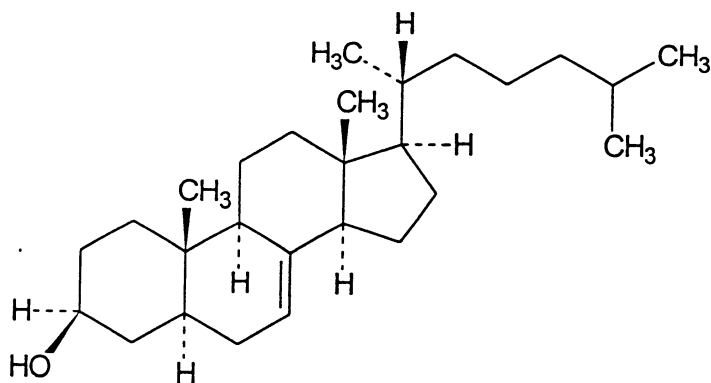
Nastříkne se odděleně po 0,5 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku rozlišení mezi píkem odpovídajícím *pregnenolonisobutyratu* a píkem odpovídajícím *5-cholesten-3 β -olu* je nejméně 3,5.

Vypočítá se procentuální obsah *5-cholesten-3 β -olu* za použití deklarovaného obsahu *5-cholesten-3 β -olu* v *cholesterolu CRL*.

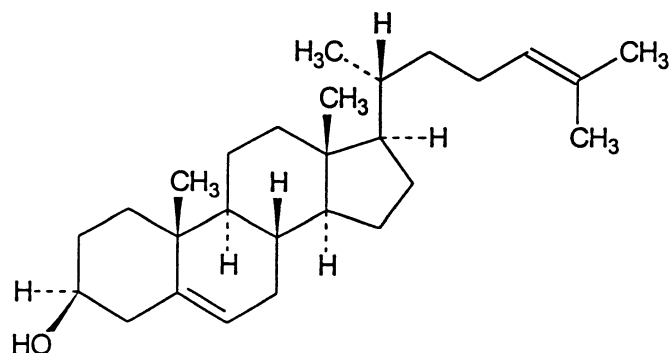
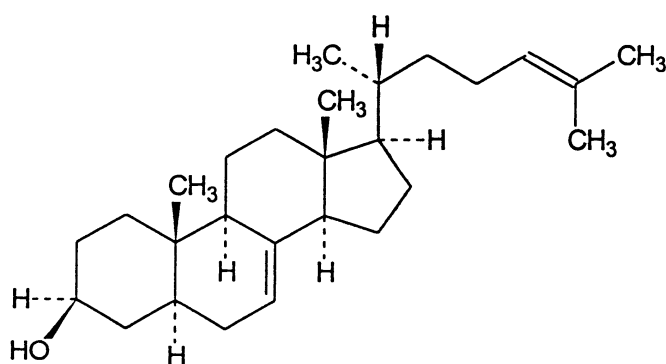
Vypočítá se procentuální celkový obsah sterolů sečtením obsahu *5-cholesten-3 β -olu* a látek s retenčním časem stejným nebo menším, než je 1,5násobek retenčního času *5-cholesten-3 β -olu*. Nepřihlíží se k píku roztoku vnitřního standardu a k píku rozpouštědla.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

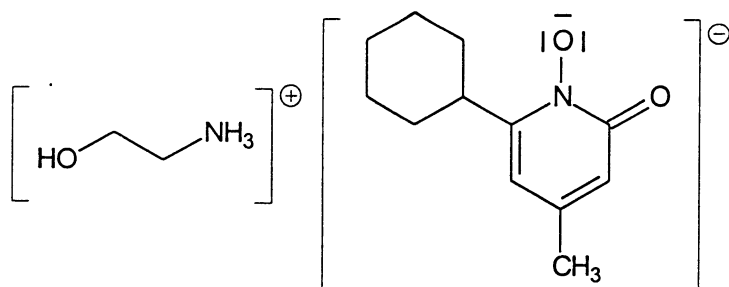
A. 7-cholesten-3 β -ol (lathosterol),

† *Ciclopiroxum olaminum* 4067B. 5,24-cholestadien-3 β -ol (desmosterol),C. 7,24-cholestadien-3 β -ol.† **Ciclopiroxum olaminum**

Ciklopiroxolamin



1999

 $C_{14}H_{24}N_2O_3$ M_r 268,35

CAS 41621-49-2

4068 † *Ciclopiroxum olaminum*

Je to 2-hydroxyethylamonium(6-cyklohexyl-4-methylpyridin-2(1*H*)-oxo-1-olat). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 76,0 % až 78,5 % ciklopiroxu (6-cyclohexyl-1-hydroxy-4-methylpyridin-2(1*H*)-on, C₁₂H₁₇NO₂; M_r 207,27) a 22,2 % až 23,3 % 2-aminoethanolu (C₂H₇NO; M_r 61,08).

Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96% a dichlormethanu, těžce rozpustný v ethylacetatu, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *ciklopiroxolaminu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se zkoušená látka i porovnávací látka v minimálním objemu *ethylacetatu R*, odpaří se do sucha na vodní lázni a zaznamenají se nová spektra zbytků.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 25 mg *ciklopiroxolaminu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Před použitím se promývají dvě vrstvy směsí objemových dílů *amoniaku 26 % R*, *vody R* a *ethanolu R* (10 + 15 + 75), dokud čelo rozpouštědla nedosáhne vrcholu desky. Vrstvy se nechají 5 min sušit na vzduchu.

Na vrstvy se odděleně nanese po 10 μl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26 % R*, *vody R* a *ethanolu R* (10 + 15 + 75) po dráze 15 cm. Vrstvy se suší 10 min na vzduchu a pozorují se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Jedna deska se postříká *chloridem železitým RS3*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Druhá deska se postříká *ninhydrinem RS*. Zahřívá se při 110 °C, dokud se neobjeví skvrny. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH. (2.2.3). 8,0 až 9,0. Měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a doplněním na 100 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Všechny postupy se provádějí tak, aby se zabránilo přístupu světla. Všechny materiály, které jsou v přímém kontaktu se zkoušenou látkou, jako je materiál kolony, činidla, rozpouštědla aj., by měly obsahovat jen malé množství extrahovatelných kationtů kovů.

Zkoušený roztok. 40,0 mg (odpovídá přibližně 30 mg ciklopiroxu) se rozpustí ve směsi 20 µl kyseliny octové bezvodé R, 2 ml acetonitrilu R a 15 ml mobilní fáze. Pokud je nutné, použije se ultrazvuková lázeň. Zředí se mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 15,0 mg ciklopiroxu nečistoty A CRL a 15,0 mg ciklopiroxu nečistoty B CRL se rozpustí v 1 ml acetonitrilu R a 7 ml mobilní fáze. Zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a mobilní fáze (1 + 9) na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a mobilní fáze (1 + 9) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 5 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 5 ml zkoušeného roztoku.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 80 mm a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R (5 µm),
- promývacího roztoku, který je směsí objemových dílů kyseliny octové bezvodé R, acetylacetonu R, vody R a acetonitrilu R (1 + 1 + 500 + 500),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,7 ml/min, kterou je směs objemových dílů kyseliny octové bezvodé R, acetonitrilu R a roztoku edetanu disodného R (0,96 g/l) (0,1 + 230 + 770); pokud retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku neleží mezi 8 min a 11 min, upraví se poměr roztoku edetanu sodného (0,96 g/l) k acetonitrilu,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm a 298 nm.

Aby se zabránilo uvolnění rušivých kovových kationtů, musí být nová kolona promývána promývacím roztokem po dobu alespoň 15 h a pak mobilní fází po dobu alespoň 5 h při průtokové rychlosti 0,2 ml/min.

Nastříkne se odděleně po 10 µl zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (b), (c) a (d) a zaznamenávají se chromatogramy při 220 nm a 298 nm po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku.

Relativní retenční časy jsou:

nečistota A: 0,5

nečistota C: 0,9

ciklopirox: 1,0

nečistota B: 1,3

Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky nečistoty B a ciklopiroxu alespoň 2,0; na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je při 298 nm patrný pík nečistoty B s poměrem signálu k šumu alespoň 3; na chromatogramu zkoušeného roztoku je faktor symetrie hlavního píku 0,8 až 2,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku při 220 nm není plocha píku nečistoty A větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při téže vlnové délce (0,5 %). Na chromatogramu zkoušeného roztoku při 298 nm není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při téže vlnové délce (0,5 %); součet ploch všech píků při 298 nm, kromě hlavního píku a píku nečistoty B, není větší než plocha píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Při vlnové délce 298 nm se nepřihlíží k pikům rozpouštědla a k pikům s plochou menší než plocha píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) při téže vlnové délce (0,1 %).

4070 † *Ciclopiroxum olaminum*

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 1,000 g se suší ve vakuu nad chloridem vápenatým bezvodým R při 45 °C až 50 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,0 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2-Aminoethanol. 0,250 g se rozpustí ve 25 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 6,108 mg C₂H₇NO.

Ciklopirox. 0,200 g se rozpustí ve 2 ml methanolu R. Přidá se 38 ml vody R, promíchá se a ihned se titruje hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Provede se slepá zkouška.

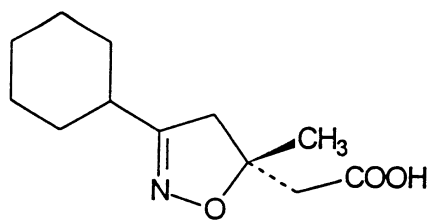
Použije se hydroxid sodný 0,1 mol/l VS, jehož titer byl stanoven za výše popsaných podmínek s použitím 0,100 g kyseliny benzoové VR.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 20,73 mg C₁₂H₁₇NO₂.

Uchovávání

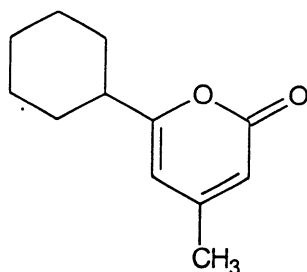
Chráněn před světlem.

Separandum.

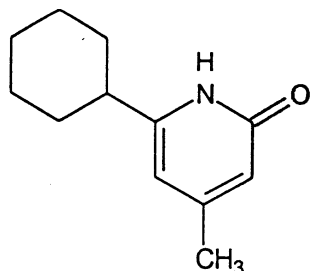
Nečistoty

a enantiomer

A. kyselina (RS)-2-(3-cyklohexyl-5-methyl-4,5-dihydroisoxazol-5-yl)octová,



B. 6-cyklohexyl-4-methyl-2H-pyran-2-on,



C. 6-cyklohexyl-4-methylpyridin-2(1*H*)-on.

Cinnamomi etheroleum

N

Skořicová silice

Synonyma. Cinnamomi aetheroleum, Oleum cinnamomi

Je to silice získaná z kůry druhu *Cinnamomum ceylanicum* BREYNE destilací s vodní párou. Obsahuje 65,0 % až 76,0 % cinnamaldehydu (C₉H₈O; *M_r* 132,16).

Vlastnosti

Žlutá čirá kapalina charakteristického pachu a chuti. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem, s etherem a s mastnými oleji. Působením světla a vzduchu se barví červenohnědě.

Zkoušky totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu *G R*.

Zkoušený roztok. 0,1 g se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 μl *eugenolu R* a 50 μl *cinnamaldehydu R* se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *toluenu R* (10 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další méně intenzivní skvrny.

Zkoušky na čistotu

Hustota (2.2.5). 1,018 g/cm³ až 1,042 g/cm³.

Index lomu (2.2.6). 1,581 až 1,592.

Optická otáčivost (2.2.7). 0° až -1°.

Voda v silicích (2.8.5). Vyhovuje požadavkům zkoušky Voda v silicích.

4072 Citronellae etheroleum

Cizí estery (2.8.6). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí estery v silicích.

Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice (2.8.7). Vyhovuje požadavkům zkoušky Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice v silicích.

Pach a chuť silic (2.8.8). Vyhovuje požadavkům zkoušky Pach a chuť silic.

Rozpustnost v lihu (2.8.10). Je rozpustná ve třech objemových dílech *lihu R 70% (V/V)*.

Silice z listů nebo jiných druhů skořicovníku. Hodnotí se chromatogram ze Zkoušky totožnosti. Skvrna odpovídající eugenolu na chromatogramu zkoušeného roztoku nepřevyšuje velikostí a intenzitou skvrnu eugenolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Stanovení obsahu

1,250 g se ve 100ml baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 20,0 ml *hydroxylamoniumchloridu v lihu RS1* a 20,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS*. Po 30 min stání se přidá 20 ml *vody R*, 0,5 ml *modři bromfenolové v lihu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* do olivově zeleného zbarvení.

1 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* odpovídá 66,08 mg C_9H_8O .

Uchovávání

Ve zcela naplněných, vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

Citronellae etheroleum**N****Citronelová silice**

Synonyma. Citronellae aetheroleum, Oleum citronellae

Je to silice získaná z nadzemní části druhu *Cymbopogon winterianus* JOWITT destilací s vodní párou. Obsahuje 80,0 % až 96,0 % acetylovatelných složek geraniolů, počítáno jako geraniol ($C_{10}H_{18}O$; M_r 154,25), z toho 32,0 % až 45,0 % aldehydů, počítáno jako citronellal ($C_{10}H_{18}O$; M_r 154,25).

Vlastnosti

Bezbarvá až nažloutlá čirá kapalina, charakteristického pachu a chuti. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem, s etherem a s mastnými oleji.

Zkoušky totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 0,1 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *geraniolu R* a 50 mg *citronellalu R* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (10 + 90) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další méně intenzivní skvrny.

Zkoušky na čistotu

Hustota (2.2.5). 0,880 g/cm³ až 0,896 g/cm³.

Index lomu (2.2.6). 1,463 až 1,475.

Optická otáčivost (2.2.7). +1,7° až -4°.

Voda v silicích (2.8.5). Vyhovuje požadavkům zkoušky Voda v silicích.

Cizí estery (2.8.6). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí estery v silicích.

Mastné oleje a zpřeskyřičnatělé silice (2.8.7). Vyhovuje požadavkům zkoušky Mastné oleje a zpřeskyřičnatělé silice v silicích.

Pach a chuť silic (2.8.8). Vyhovuje požadavkům zkoušky Pach a chuť silic.

Zbytek po odpaření silic (2.8.9). Nejvýše 4,0 %. 1,00 g se zahřívá 2 h na vodní lázni.

Rozpustnost v lihu (2.8.10). Je rozpustná ve 2 objemových dílech *lihu R* 80% (V/V).

Stanovení obsahu

Geraniol. 5,0 ml se smíchá v acetylační baňce se 7,5 ml *acetanhydridu R* a 1,0 g *octanu sodného bezvodého R* a vaří se 2 h. Pak se přidá 20,0 ml *vody R* a zahřívá se 15 min na vodní lázni pod zpětným chladičem za častého protřepávání. Po ochlazení se acetylovaná silice převede do dělicí nálevky, vodná vrstva se odstraní. Acetylovaná silice se protřepává *vodou R*, až vodná vrstva reaguje na navlhčený *papír lakmusový modrý R* jen slabě kyselé, vodná vrstva se vždy odstraní. Acetylovaná silice se vysuší *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se.

1,500 g acetylované silice se smíchá se 3 ml *lihu 96% R* a 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a po kapkách se přidává *hydroxid draselný v lihu 0,5 mol/l VS* do trvalého zbarvení. Pak se přidá 20,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* a vaří se 2 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* do změny zbarvení. Provede se slepá zkouška.

Obsah acetylovatelných složek v procentech, vyjádřeno jako geraniol (C₁₀H₁₈O), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{a \cdot 7,712}{m - a \cdot 0,021},$$

v němž značí:

a - rozdíl spotřeb *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS* ve zkoušce a slepé zkoušce v mililitrech,

m - navážku acetylované silice v gramech.

Aldehydy. 1,500 g se smíchá se 30,0 ml *hydroxylamoniumchloridu v lihu RS1* a 20,0 ml *hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS*. Po 30 min stání se přidá 0,1 ml *modři bromfenolové v lihu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* do olivově zeleného zbarvení. Během titrace se vyloučené soli rozpustí přidáním asi 20 ml *vody R*. Provede se slepá zkouška.

4074 † *Clebopridi hydrogenomas*

1 ml hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS odpovídá 77,12 mg citronellalu (C₁₀H₁₈O).

Uchovávání

Ve zcela naplněných, vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

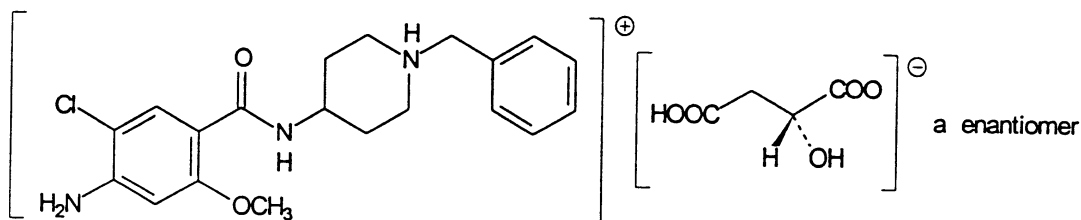
† **Clebopridi hydrogenomas**

Klebopridiumhydrogenmalat

Synonymum. Clebopridi malas



1999



C₂₄H₃₀ClN₃O₇

M_r 507,97

CAS 57645-91-7

Je to N-benzyl-4-(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzamido)piperidinium-(RS)-2-hydroxyhydrogenbutandioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₂₄H₃₀ClN₃O₇.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Taje při 164 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 20,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima při 270 nm a 307 nm. Specifická absorbance v maximu při 270 nm je 252 až 278 a v maximu při 307 nm je 204 až 226.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *clebopridiumhydrogenmalatu* CRL.
- C. 20 mg se rozpustí v 1 ml *kyseliny sírové* R, přidá se 1 ml *2-naftolu* RS1 a promíchá se. Roztok se pozoruje na denním světle; vznikne žluté zbarvení s modrou fluorescencí.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodné vrstvy silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 5 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *clebopridiumhydrogenmalatu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *clebopridiumhydrogenmalatu CRL* a 5 mg *metoklopramidiumchloridu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (10 mm x 3 mm) po 5 µl každého roztoku. Využívají se směsi objemových dílů *amoniaku 26% R*, *acetonu R*, *methanolu R* a *toluenu R* (2 + 14 + 14 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Vzhled roztoku. Bezprostředně po přípravě je roztok S čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*).

Hodnota pH (2.2.3.). 3,8 až 4,2; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *clebopridiumhydrogenmalatu CRL* a 10,0 mg *metoklopramidiumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *heptansulfonanu sodného R* (1 g/l) (20 + 80), jejíž pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Kolona se ustaluje promýváním mobilní fází po dobu 30 min. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výšky píků na chromatogramu byly nejméně 30 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže retenční čas druhého píku (*cleboprid*) je asi 15 min a relativní retenční čas prvního píku je asi 0,45. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku a dvou píků eluujících do 2 min, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a dvou píků eluujících do 2 min, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %). Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

4076 † *Clebopridi hydrogenomalas***Chloridy (2.4.4). Roztoky se připravují současně.**

Zkoušený roztok. 0,530 g se rozpustí ve 20,0 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 6 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. K 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* se přidá 20,0 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 6 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Oba čerstvě připravené roztoky se odděleně převedou do zkumavek. Do každé zkumavky se přidá 1 ml *dusičnanu stříbrného RS2* a roztoky se nechají stát po dobu 5 min chráněny před světlem. Zkumavky se pozorují kolmo k podélným osám proti černému pozadí. Zkoušený roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok (100 µg/g).

Sírany (2.4.13). Roztoky se připravují současně.

Zkoušený roztok. 3,00 g se rozpustí ve 20,0 ml *kyseliny octové ledové R*, je-li třeba, mírně se zahřeje. Ochladí se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. K 9 ml základního roztoku *síranů (10 µg SO₄/ml) (1)* se přidá 6 ml *kyseliny octové ledové R*.

Do dvou zkumavek se převede 1,5 ml základního roztoku *síranů (10 µg SO₄/ml) (1)* a přidá se 1 ml roztoku *chloridu barnatého R (250 g/l)*. Protřepe se a nechá se 1 min stát. Do jedné zkumavky se přidá 15 ml zkoušeného roztoku a do druhé 15 ml porovnávacího roztoku.

Po 5 min zkoušený roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací roztok (100 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,0 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %. 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

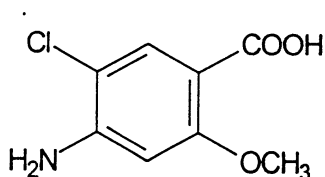
Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 50,80 mg C₂₄H₃₀ClN₃O₇.

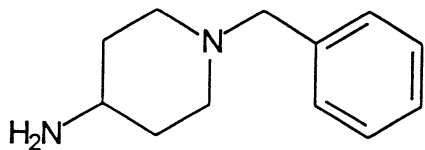
Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

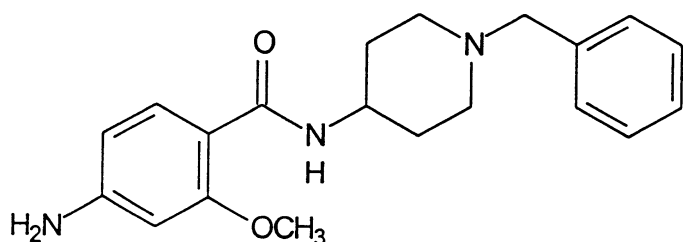
Nečistoty

A. kyselina 4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoová,

†† Clemastini hydrogenofumaras 4077



B. (1-benzylpiperidin-4-yl)amin,



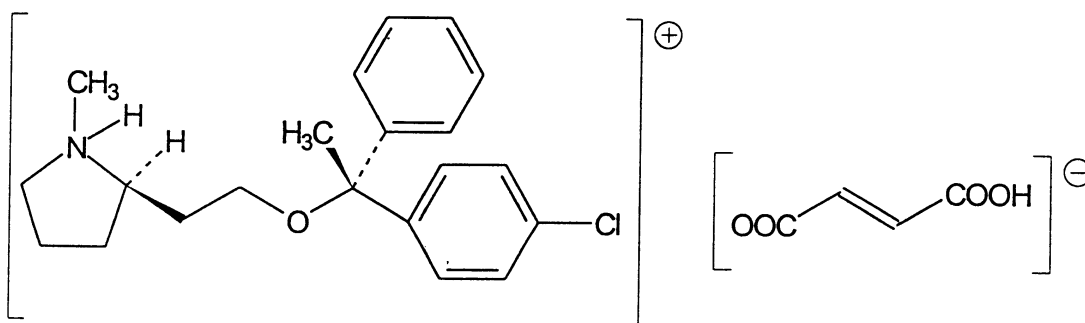
C. 4-amino-N-(1-benzylpiperidin-4-yl)-2-methoxybenzamid.

†† Clemastini hydrogenofumaras

Klemastiniumhydrogenfumarat

Synonymum. Clemastini fumaras

1998

 $C_{25}H_{30}ClNO_5$ M_r 459,98

CAS 14976-57-9

Je to (2*R*)-2-{2-[(*R*)-1-fenyl-1-(4-chlorofenyl)ethoxy]ethyl}-1-methylpyrrolidinium-(*E*)-hydrogenbutendioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{25}H_{30}ClNO_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 70% (V/V), těžce rozpustný v lihu 50% (V/V) a v methanolu.

4078 †† *Clemastini hydrogenofumaras*

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *klemastiniumhydrogenofumaratu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 2 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *kyseliny fumarové CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *diisopropyletheru R* (5 + 25 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se 30 min suší při 100 °C až 105 °C, nechá se ochladit, postříká se roztokem *manganistanu draselného R* (16 g/l) a pozoruje se na denním světle. Skvrna s nejvyšší hodnotou R_f na chromatogramu zkoušeného roztoku se shoduje polohou, barvou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,500 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_7$ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,2 až 4,2; měří se suspenze připravená suspendováním 1,0 g v 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +15,0° až +18,0°; měří se roztok S a přepočte se na vysušenou látku.

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok (a). 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *klemastiniumhydrogenofumaratu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10,0 mg *difenhydraminiumchloridu CRL* se rozpustí v 5,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R* (1 + 20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min v proudu studeného vzduchu, postříká se čerstvě připravenou směsí objemových dílů *jodobismutitanu draselného RS* a *kyseliny octové zředěné RS* (1 + 10) a potom *peroxidem vodíku*

zředěným RS. Vrstva se ihned přikryje skleněnou deskou stejné velikosti a po 2 min se pozoruje. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %) a nejvýše čtyři takové skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %). Nepřihlíží se ke skvrnám, které zůstaly na startu (kyselina fumarová). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

1-Fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethanol. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (25 + 75) a zředí se jí na 100 ml.

Porovnávací roztok (a). 6 mg *1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethanolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (25 + 75) a zředí se jí na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (25 + 75) na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (25 + 75) a zředí se jí na 100 ml. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (25 + 75) na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R*, *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (10 g/l) (0,1 + 45 + 55); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 100 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píky klemastinu a 1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethanolu je větší než 2,2. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, odpovídajícího 1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethanolu, větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí v 60 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 46,00 mg $C_{25}H_{30}ClNO_5$.

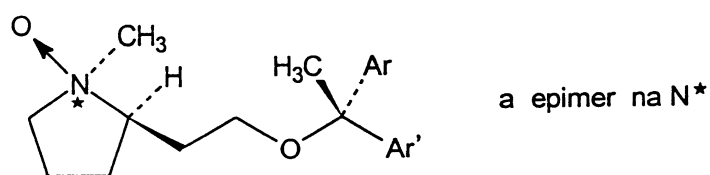
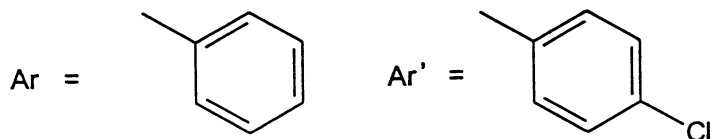
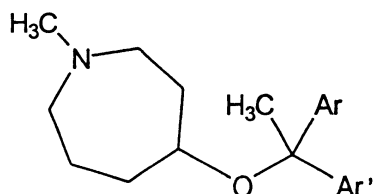
Uchovávání

Venenum.

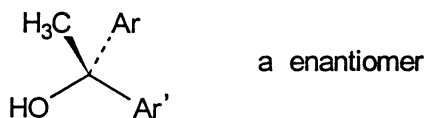
4080 †† *Clemastini hydrogenofumaras*

Nečistoty

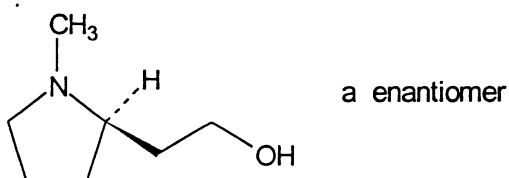
Hodnocené nečistoty:

A. (1*RS*,2*R*)-2-{2-[(*R*)-1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethoxy]ethyl}-1-methylpyrrolidin-1-oxid,

B. 4-[1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethoxy]-1-methylazepan,

C. (*RS*)-1-fenyl-1-(4-chlorfenyl)ethanol.

Ostatní detekovatelné nečistoty:

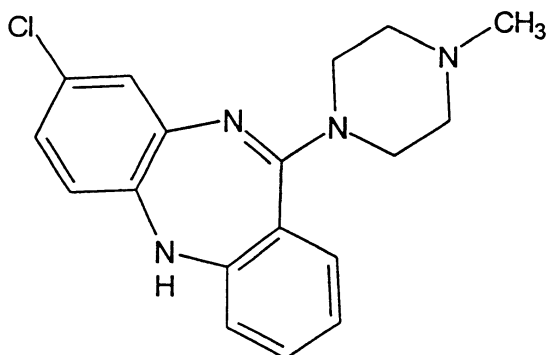
D. 2-[(2*RS*)-1-methyl-2-pyrrolidinyl]ethanol.

† Clozapinum 4081

† Clozapinum

Klozapin

1998

 $C_{18}H_{19}ClN_4$ M_r 326,83

CAS 5786-21-0

Je to 8-chlor-11-(4-methyl-1-piperazinyl)-5H-dibenzo[*b,e*][1,4]diazepin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{18}H_{19}ClN_4$.

Vlastnosti

Žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěné kyselině octové.

Zkoušky totožnosti

- A. Teplota tání (2.2.14). 182 °C až 186 °C.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety klozapinu CRL.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm. Před použitím se vrstva vyvíjí směsí objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R (25 + 75) a suší se 15 min na vzduchu.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg klozapinu CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí dichlormethanem R na 50 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí dichlormethanem R na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 5 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (e). 10 mg klozapinu CRL a 10 mg oxazepamu CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 5 ml.

4082 † Clozapinum

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (25 + 75) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %); nejvýše dvě takové skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou patrné dvě zřetelně oddělené skvrny a na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je zřetelně viditelná skvrna.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

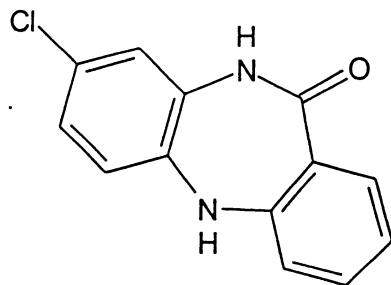
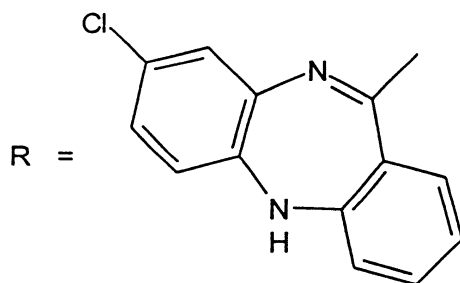
Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

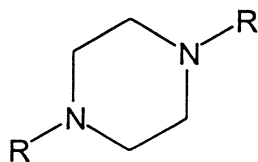
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,34 mg $C_{18}H_{19}ClN_4$.

Uchovávání

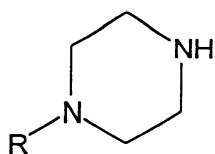
Separandum.

Nečistoty

A. 5,10-dihydro-8-chloro-11H-dibenzo[b,e][1,4]diazepin-11-on,



B. 11,11'-(1,4-piperazindiyli)-bis(8-chlor-5*H*-dibenzo[*b,e*][1,4]diazepin),



C. 8-chlor-11-(1-piperazinyli)-5*H*-dibenzo[*b,e*][1,4]diazepin.

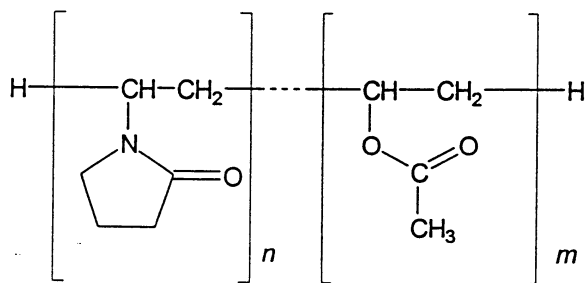
Copovidonum

Kopovidon

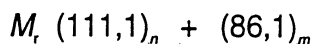
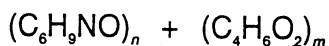
Synonymum. Copolyvidonum



1999



$$n = 1,2 m$$



CAS 8013-98-7

Je to kopolymer 1-vinyl-2-pyrrolidonu a vinylacetatu v hmotnostním poměru 3 : 2. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 7,0 % až 8,0 % dusíku a 35,3 % až 42,0 % vinylacetatové složky. K-hodnota je 90,0 % až 110,0 % deklarované hodnoty.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutle bílý hygroskopický prášek nebo vločky. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v etheru.

4084 Copovidonum

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. kopovidonu*.
- B.** K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 5 ml vody R a 0,2 ml jodu 0,05 mol/l RS; vznikne červené zbarvení.
- C.** 0,7 g *hydroxylamoniumchloridu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*, přidá se 20 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (40 g/l) a v případě potřeby se zfiltruje. K 5 ml roztoku se přidá 0,1 g zkoušené látky a 2 min se vaří. 50 µl se přenese na filtrační papír a přidá se 0,1 ml směsi stejných objemových dílů *chloridu železitého RS1* a *kyseliny chlorovodíkové R*; vznikne fialové zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. Zkoušená látka se přidává do vody R po malých dávkách za stálého míchání.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze III (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H₅, Č₅ nebo HŽ₅ (2.2.2, Metoda II).

Aldehydy. K 20,0 g se do kuželové baňky se zabroušenou zátkou přidá 180 ml vody R, vaří se 45 min pod zpětným chladičem a nechá se ochladit. Roztok se destiluje a asi 60 ml destilátu se jímá do 20,0 ml roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (70 g/l) chlazeného ve vodě s ledem a s pH předem upraveným na hodnotu 3,1 *hydroxidem sodným 1 mol/l RS*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*. K dosažení pH 3,1 se spotřebuje nejvýše 9,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* (0,2 % vyjádřeno jako acetaldehyd). Provede se slepá zkouška.

Peroxidy. 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 25 ml, přidají se 2 ml *zkoumadla chlorid titaniý - kyselina sírová R* a nechá se 30 min stát. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 405 nm za použití směsi 25 ml roztoku zkoušené látky (40 g/l) a 2 ml roztoku *kyseliny sírové R 13% (V/V)* jako kontrolní tekutiny. Absorbance není větší než 0,35 (400 µg/g, vyjádřeno jako H₂O₂).

Hydrazin. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu silanizovaného pro TLC R*.

Použijí se čerstvě připravené roztoky.

Zkoušený roztok. K 25 ml roztoku S se přidá 0,5 ml roztoku *salicylaldehydu R* (50 g/l) v *methanolu R*, promíchá se a zahřívá 15 min ve vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se přidají 2,0 ml *xylenu R*, 2 min se protřepává a odstředí se. Použije se čirý supernatant.

Porovnávací roztok. 9 mg *salicylaldazinu R* se rozpustí v *xylenu R* a zředí se jím na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *xylemem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 10 µl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R a *methanolu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší volně na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající *salicylaldazinu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 µg/g *hydrazinu*).

Monomery. 5,0 g se rozpustí v 15 ml *methanolu R*, pomalu se přidá 20,0 ml *bromidu jodného RS* a nechá se 30 min stát chráněno před světlem za občasného promíchání. Přidá se 10 ml roztoku

Coriandri fructus 4085

jodidu draselného R (100 g/l) a titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* do vzniku žlutého zbarvení a v titraci se pokračuje do odbarvení. Provede se slepá zkouška. Spotřeba *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* je nejvýše 3,6 ml (0,4 %).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

K-hodnota. 5,0 ml roztoku S se zředí vodou R na 50,0 ml, nechá se 1 h stát a stanoví se viskozita (2.2.9) při (25 ± 0,1) °C za použití viskozimetru č. 1 s minimální dobou průtoku 100 s.

K-hodnota se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{1,5 \cdot \log \eta - 1}{0,15 + 0,003 \cdot c} + \frac{\sqrt{300 \cdot c \cdot \log \eta + (c + 1,5 \cdot c \cdot \log \eta)^2}}{0,15 \cdot c + 0,003 \cdot c^2},$$

v němž značí:

c - obsah zkoušené látky v procentech (g/100 ml), počítáno na vysušenou látku,

η - relativní viskozitu roztoku.

Stanovení obsahu

Dusík. Provede se stanovení obsahu dusíku (2.5.9) s 30,0 mg zkoušené látky a s 1 g směsi 997 dílů *síranu draselného R* a 3 dílů *síranu měďnatého R*. Zahřívá se ještě 45 min po vzniku čiré světle zelené tekutiny.

Vinylacetatová složka. Stanoví se číslo zmýdelnění (2.5.6) s 2,00 g zkoušené látky. Výsledek se násobí číslem 0,1534 a získá se obsah vinylacetatové složky vyjádřený v procentech.

Uchovávání

Chráněn před vlhkostí.

Označování

V označení na obalu se uvede K-hodnota.

Coriandri fructus

Koriandrový plod

Synonymum. Fructus coriandri



1999

Je to usušená dvounažka druhu *Coriandrum sativum* L. Obsahuje nejméně 3 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na sušinu.

4086 *Coriandri fructus***Vlastnosti**

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Dvounažka hnědá nebo světle hnědá, skoro kulovitá o průměru asi 1,5 mm až 5 mm nebo vejčitá 2 mm až 6 mm dlouhá. Nažky jsou obvykle spolu těsně spojeny. Dvounažka je na povrchu lysá, s deseti zvlněnými málo vyniklými hlavními žebry a osmi přímými více vyniklými vedlejšími žebry. Na vrcholu plodu je stylopodium. Nažky jsou na vnitřní straně vyduté. Někdy nesou malý úlomek plodní stopky.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je hnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: četné kapky oleje; úlomky endospermu tvořeného malými ztlustlými pravidelnými buňkami, které obsahují mikrokristaly a malé drúzy šťavelanu vápenatého a kapky oleje; úlomky endokarpu z buněk velmi úzkých, parketovitě uspořádaných, které jsou obvykle spojeny s vrstvou tenkostěnných obdélníkovitých sklereid mezokarpu, úlomky sklerenchymatické vrstvy mezokarpu (stereomu) tvořené spleti příčné a kolmo položených krátkých silně ztlustlých, tečkovaných vláknitých buněk; úlomky parenchymu z malých tenkostěnných buněk, občas úlomky svazků cévních.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,50 g čerstvě práškové drogy (355) se smíchá s 5,0 ml *hexanu R*, protřepává se 2 min až 3 min a pak se zfiltruje přes 2 g *síranu sodného bezvodého R*.

Porovnávací roztok. 15 μ l *linalolu R* a 25 μ l *oleje olivového R* se těsně před použitím rozpustí v 5,0 ml *hexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetátu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a vyvíjí se ještě jednou za stejných podmínek. Po vysušení se postříká *anisaldehydem RS*, zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině fialová až šedofialová skvrna (*linalol*), v horní polovině modrofialová skvrna (*triacylglyceroly*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou patrné skvrny, které odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu jsou mezi startem a skvrnou odpovídající *linalolu* četné fialově šedé až nahnědlé skvrny, z nichž jedna odpovídá *geraniolu*. Mezi skvrnou odpovídající *linalolu* a skvrnou odpovídající *triacylglycerolům* mohou být četné slabě fialově šedé skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje požadavkům statí *Cizí příměsi*. Nažky nenesou stopy po napadení hmyzem.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %. 1,000 g práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 8,0 %.

Crataegi fructus 4087

Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12) v 500ml baňce s 30,0 g čerstvě práškované drogy a 200 ml vody R jako destilační tekutiny. Do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu R. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Crataegi fructus

Hlohový plod

Synonymum. Fructus crataegi



1998

Je to usušený nepravý plod (malvice) druhu *Crataegus monogyna* JACQ., (LINDM.) nebo *Crataegus laevigata* (POIR.) DC. (synonymum: *Crataegus oxyacantha* L.) nebo jejich kříženců nebo směs plodů výše uvedených druhů. Obsahuje nejméně 1,0 % procyanidinů, vyjádřeno jako cyanidiniumchlorid ($C_{15}H_{11}ClO_6$; M_r 322,7), počítáno na vysušenou drogu.

Vlastnosti

Droga sladké slizovité chuti.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

A. *Crataegus monogyna* - malvice vejčitá až kulovitá, 6 mm až 10 mm dlouhá a 4 mm až 8 mm široká, červenohnědá až tmavě červená, na povrchu jamkovitá nebo řidčeji síťkovaná. Nahoře je ukončena pěti vytrvalými nazpět ohnutými kališními ušty, obklopujícími malý vpadlý terč s nevýrazně vystouplým okrajem. Uprostřed terče je blizna na bázi s chomáčkem tuhých bezbarvých chlupů. Dole je malvice protažena v krátkou stopku, nebo častěji je naspodu patrná malá světlá okrouhlá jizva po odlomené stopce. Receptakulum je masité a uzavírá žlutohnědý vejčitý plod s tvrdým ztlustlým oplodím obsahujícím jedno protáhlé, světle hnědé hladké lesklé semeno.

Crataegus laevigata - malvice je až 13 mm dlouhá, uvnitř se dvěma až třemi z boku zploštělými plody s tvrdým ztlustlým oplodím, na vrcholu s krátkými chlupy. Uprostřed terče na vrcholu plodu jsou často patrné dvě blizny.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedočervený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: dlouhé jednobuněčné krycí chlupy na konci zúžené a často zakřivené, na povrchu hladké, se silně ztlustlými a zdřevnatělými stěnami ze středu terče; úlomky parenchymatického receptakula, zevní vrstva buněk obsahuje červeně zbarvenou hmotu, některé buňky vnitřní vrstvy obsahují malé drúzy šřavelanu vápenatého; příležitostně i úlomky včetně sklereid a cévních svazků s průvodními vlákny; úlomky oplodí

4088 *Crataegi fructus*

obsahující velké ztlustlé sklereidy s četnými tečkami, některé sklereidy jsou výrazně větvené; úlomky osemení s pokožkou složenou z šestihranných slizových buněk, pod nimi je vrstva buněk obsahujících žlutohnědé barvivo a četné protáhlé krystaly šťavelanu vápenatého; tenkostěnný parenchym endospermu a děloh obsahující aleuronová zrna a kapky oleje.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 10 ml *methanolu R* a zahřívá se 5 min ve vodní lázni při 65 °C za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje a filtrát se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok. 2 mg *kyseliny chlorogenové R*, 2 mg *kyseliny kávové R*, 5 mg *hyperosidu R* a 5 mg *rutinu R* se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 30 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R*, *2-butanonu R* a *ethylacetatu R* (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se suší při 100 °C až 105 °C a ještě horká se postříká roztokem *difenyloboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*. Vrstva se suší 30 min na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku v dolní polovině (v pořadí vzestupné hodnoty R_F) je žlutohnědě fluoreskující skvrna, odpovídající rutině, světle modře fluoreskující skvrna, odpovídající kyselině chlorogenové, a žlutohnědě fluoreskující skvrna, odpovídající hyperosidu, v horní třetině je světle modře fluoreskující skvrna, odpovídající kyselině kávové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny odpovídající polohou a fluorescencí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku (kyselina chlorogenová, hyperosid a kyselina kávová) a tři slabě červeně fluoreskující skvrny, z nichž jedna odpovídá polohou rutině na chromatogramu porovnávacího roztoku a dvě další jsou nad skvrnou hyperosidu. Nad a pod skvrnou kyseliny kávové jsou další světle modré skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 2 % a nejvýše 5 % znehodnocených plodů. Nejsou přítomny plody jiných druhů rodu *Crataegus* (*C. nigra* WALDST. et KIT., *C. pentagyna* WALDST. et KIT. ex WILLD. a *C. azarolus* L.), které jsou více než třisemenné.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 5,0 %.

Stanovení obsahu

2,50 g práškované drogy (355) se smíchá se 30 ml *lihu R* 70% (V/V), vaří se 30 min pod zpětným chladičem a pak se zfiltruje. Zbytek se promyje 10,0 ml *lihu R* 70% (V/V). Filtrát se smíchá s 15,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a 10,0 ml *vody R* a vaří se 80 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje a zbytek se promývá *lihem R* 70% (V/V), dokud není filtrát bezbarvý. Pak se zředí *lihem R* 70% (V/V) na 250,0 ml. 50,0 ml tohoto roztoku se odpaří v baňce s kulatým dnem asi na 3 ml a převede se do dělicí nálevky. Baňka se postupně promyje 10 ml a 5 ml *vody R* a promývací tekutiny se převedou do dělicí nálevky. Protřepává se třikrát 15 ml *1-butanolu R*. Spojené organické vrstvy se zředí *1-butanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 545 nm.

Crotamitonum 4089

Obsah procyanidinů v procentech, počítáno jako cyanidiniumchlorid ($C_{15}H_{11}ClO_6$), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 500}{75 \cdot m},$$

v němž značí:

A - absorbanci při 545 nm,

m - hmotnost drogy v gramech.

Specifická absorbance cyanidiniumchloridu je 75.

Uchovávání

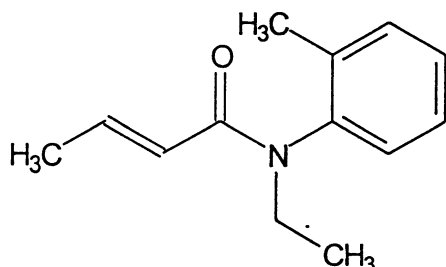
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Crotamitonum

Krotamiton



1998



a Z izomer

 $C_{13}H_{17}NO$
 M_r 203,27

CAS 483-63-6

Je to N-ethyl-N-(2-methylfenyl)-2-butenamid. Počítáno jako součet *E*-izomeru a *Z*-izomeru, obsahuje 96,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{13}H_{17}NO$ a nejvýše 15,0 % *Z*-izomeru.

Vlastnosti

Bezbarvá nebo světle žlutá olejovitá kapalina. Je těžce rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96%. Při nízkých teplotách částečně nebo zcela tuhne.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: *B*.

Alternativní sestava zkoušek: *A*, *C* a *D*, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. 25,0 mg se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *cyklohexanem R* na 10,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 220 nm až 300 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 242 nm. Specifická absorbance v maximu je 300 až 330.

4090 *Crotamitonum*

- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *krotamitonu CRL*.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.
- Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.
- Porovnávací roztok.* 25 mg *krotamitonu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 10 ml.
- Na vrstvu se nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí připravenou takto: směs objemových dílů *dichlormethanu R* a *amoniaku 26% R* (98 + 2) se protřepe, vysuší se *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se; smíchají se objemové díly filtrátu a *2-propanolu R* (97 + 3) a vyvíjí se po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- D.** K 10 ml nasyceného roztoku se přidá několik kapek roztoku *manganistanu draselného R* (3 g/l); vzniká hnědé zbarvení, stáním pak vzniká hnědá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 1,006 až 1,011.

Index lomu (2.2.6). 1,540 až 1,542.

Volné aminy. 5,00 g se rozpustí v 16 ml *dichlormethanu R*, přidají se 4,0 ml *kyseliny octové R*, pak se přidá 0,1 ml *žlutí metanilové RS* a 1,0 ml *kyseliny chloristé 0,02 mol/l RS*; roztok je červený (500 μ g/g jako ethylaminotoluen).

Chloridy. 5,0 g se vaří 1 h pod zpětným chladičem s 25 ml *lihu 96% R* a s 5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l), potom se ochladí, přidá se 5 ml *vody R* a protřepe se s 25 ml *etheru R*. Spodní vrstva se zředí *vodou R* na 20 ml, přidá se 5 ml *kyseliny dusičné R*, zředí se *vodou R* na 50 ml a přidá se 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dusičnanu stříbrného R* (50 g/l). Roztok neopalizuje intenzivněji než směs 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dusičnanu stříbrného R* (50 g/l) a roztoku připraveného zředěním 5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l) *vodou R* na 20 ml a přidáním 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*, 5 ml *kyseliny dusičné R* a zředěním *vodou R* na 50 ml (100 μ g/g).

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a), 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a 20 μ l porovnávacího roztoku (c) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): plocha píku odpovídajícího *krotamitonu* nečistotě A není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, píku odpovídajícího *Z-izomeru* a píku odpovídajícího *krotamitonu* nečistotě A, není větší než součet ploch píků odpovídajících *Z-izomeru* a *E-izomeru* na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší, než je 0,02násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg *krotamitonu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 15,0 mg *krotamitonu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 15 mg *krotamitonu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (a) na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R* a *cyklohexanu R* (8 + 92); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 242 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy vztahované k hlavnímu píku (*E*-izomer): *Z*-izomeru asi 0,5 a *krotamitonu nečistoty A* asi 0,8. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 70 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píkem *krotamitonu nečistoty A* a píkem *E*-izomeru nejméně 4,5.

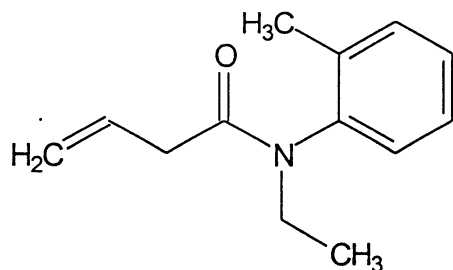
Nastříkne se odděleně zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a). Vypočítá se obsah $C_{13}H_{17}NO$ v procentech ze součtu ploch píků *Z*-izomeru a *E*-izomeru.

Vypočítá se obsah *Z*-izomeru v procentech z celkového množství *E*-izomeru a *Z*-izomeru na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

Uchovávání

V dobře uzavřených zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty



A. N-ethyl-N-(2-methylfenyl)-3-butenamid.

4092 *Cyamopsis seminis pulvis*

Cyamopsis seminis pulvis

Guar

1998



Je to mletý endosperm semen druhu *Cyamopsis tetragonolobus* (L.) TAUB. Obsahuje převážně guarový galaktomannan.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek, ze kterého rozpuštěním ve vodě vzniká sliz o různé viskozitě. Je prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Mikroskopický popis, viz Zkouška totožnosti A.

Zkoušky totožnosti

- A. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R*. Droga (125) je tvořena hruškovitými až vejčitými buňkami, obvykle jednotlivými, se silně ztlustlými stěnami, protáhlým lumenem a zrnitým obsahem a menšími mnohohrannými, tenkostěnnými buňkami, které jsou jednotlivé nebo shloučené.
- B. Ke 2 g v kuželové baňce se rychle přidá 45 ml *vody R* a 30 s se intenzivně promíchává. Po 5 min až 10 min se vytvoří lepkavý gel, který při obrácení baňky nevytéká.
- C. Suspenze 0,1 g v 10 ml *vody R* se smíchá s 1 ml roztoku *boritanu sodného R* (10 g/l); rychle se vytvoří gel.
- D. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. K 10 mg v tenkostěnné odstředovací zkumavce se přidají 2 ml roztoku *kyseliny trifluoroctové* (100 g/l) a intenzivně se protřepává, aby se rozpustil vznikající gel. Potom se zkumavka uzavře a směs se 1 h zahřívá při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí, čirá supernatantní tekutina se opatrně převede do 50ml baňky, přidá se 10 ml *vody R* a odpaří se do sucha za sníženého tlaku. K získanému čirému filmu se přidá 0,1 ml *vody R* a 0,9 ml *methanolu R*. Odstředěním se oddělí amorfni sraženina a supernatantní tekutina se zředí *methanolem R* na 1 ml, pokud je to nutné.

Porovnávací roztok. 10 mg *galaktosy R* a 10 mg *mannosy R* se rozpustí ve 2 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se postříká *zkoumadlem aminohippurovým R* a suší se 5 min při 120 °C. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou ve spodní části dvě zřetelně oddělené nahnědlé skvrny (odpovídající galaktose a mannose v pořadí zvyšující se hodnoty R_F). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny odpovídající galaktose a mannose.

† *Cyclizini hydrochloridum* 4093**Zkoušky na čistotu**

Tragant, slizy rostlin rodu *Sterculia*, agar, alginaty, karagen. K malému množství zkoušené látky se přidá 0,2 ml čerstvě připravené *červeně rutheniové RS*. Buněčné stěny se při pozorování pod mikroskopem nebarví červeně.

Bílkovina. Nejvýše 8,0 %; S 0,170 g se provede stanovení dusíku mineralizací s kyselinou sírovou (2.5.9). Výsledek se násobí faktorem 6,25.

Zjevná viskozita. 85 % až 115 % viskozity deklarované v označení na obalu. 1,00 g (počítáno na vysušenou látku) se zvlhčí 2,5 ml *2-propanolu R* a za míchání se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Po 1 h se stanoví viskozita (2.2.10) za použití rotačního viskozimetru při 20 °C a smykové rychlosti 100 s⁻¹.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %. 1,000 g se 5 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 1,8 %.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10⁴ živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

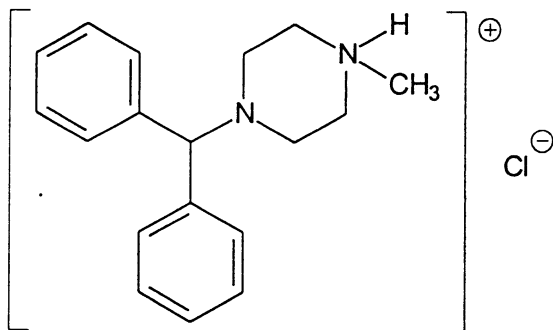
V označení na obalu se uvede zjevná viskozita roztoku (10 g/l) v milipascalsekundách.

† Cyclizini hydrochloridum

Cykliziniumchlorid



1999

C₁₈H₂₃ClN₂M_r 302,85

CAS 303-25-3

4094 † *Cyclizini hydrochloridum*

Je to 1-benzhydryl-4-methylpiperaziniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{18}H_{23}ClN_2$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

A. 20,0 mg se rozpustí v roztoku *kyseliny sírové R* (5 g/l) a zředí se jím na 100,0 ml (roztok A). Měří se absorbance (2.2.25) roztoku A při 240 nm až 350 nm. Roztok A vykazuje dvě absorpční maxima: při 258 nm a 262 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 262 nm k absorpenci naměřené při 258 nm je 1,0 až 1,1.

10,0 ml roztoku A se zředí roztokem *kyseliny sírové R* (5 g/l) na 100,0 ml (roztok B). Měří se absorbance roztoku B při 210 nm až 240 nm. Roztok B vykazuje absorpční maximum při 225 nm. Specifická absorbance v maximu je 370 až 410.

Ověří se rozlišovací schopnost přístroje (2.2.25); zkoušku lze hodnotit, jestliže poměr absorpencí je nejméně 1,7.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky s *chloridem draselným R* se shoduje se spektrem tablety *cykliziniumchloridu CRL* s *chloridem draselným R*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou, zbarvením a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

D. 0,5 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím, v 10 ml *lihu R* 60% (V/V) a ochladí se ve vodě s ledem. Přidá se 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 10 ml *vody R*. Vzniklá sraženina se odfiltruje, promyje se *vodou R* a suší se 2 h při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa; zbytek taje (2.2.14) při 105 °C až 108 °C.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 5,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g ve směsi objemových dílů *lihu 96% R* a *vody prosté oxidu uhličitého R* (40 + 60) a zředěním stejnou směsí na 25 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R. Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *cykliziniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

† *Cyclizini hydrochloridum* 4095

Porovnávací roztok (b). 5 mg *methylpiperazinu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *hydroxyziniumchloridu CRL* a 10 mg *cykliziniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 20 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (2 + 13 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 30 min na vzduchu a vystaví se na 10 min působení par jodu. Skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídající skvrně 1-methylpiperazinu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající 1-methylpiperazinu, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 130 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 15 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 40 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

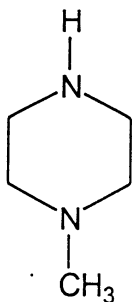
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 15,14 mg $C_{18}H_{23}ClN_2$.

Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty



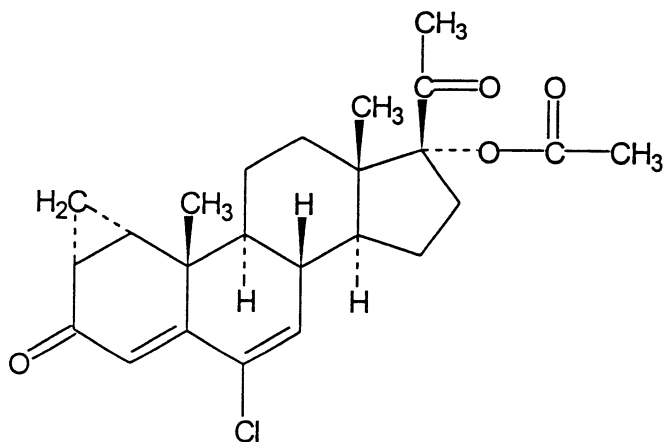
A. 1-methylpiperazin.

4096 † *Cyproteroni acetat*† **Cyproteroni acetat**

Cyproteronacetat



1999

 $C_{24}H_{29}ClO_4$ M_r 416,94

CAS 427-51-0

Je to 6-chlor-1 α ,2 α -metylen-3,20-dioxo-4,6-pregnadien-17-ylacetat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{24}H_{29}ClO_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v methanolu a mírně rozpustný v ethanolu.

Taje při teplotě asi 210 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *cyproteronacetatu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu F₂₅₄* pro TLC R.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *cyproteronacetatu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí stejných objemových dílů *cyklohexanu R* a *ethylacetatu R* po dráze 15 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu a vyvíjení se zopakuje. Vrstva se znovu usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle

- při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C. K asi 1 mg se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a roztok se zahřívá 2 min na vodní lázni; vzniká červené zbarvení. Po ochlazení se roztok opatrně přidá ke 4 ml *vody R* a protřepe se; zbarvení se změní na fialové.
- D. Asi 30 mg se smíchá s 0,3 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a spaluje se nad otevřeným plamenem po dobu asi 10 min. Zbytek se ochladí, rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- E. Vyhovuje zkoušce na acetyl (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +152° až +157°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v *acetonu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonitrem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *medroxyprogesteronacetatu CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (40 + 60), s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a) a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) rozlišení mezi píky odpovídajícími cyproteronacetatu a medroxyprogesteronacetatu je nejméně 3,0.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času cyproteronacetatu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 80 °C a při tlaku nepřekračujícím 0,7 kPa.

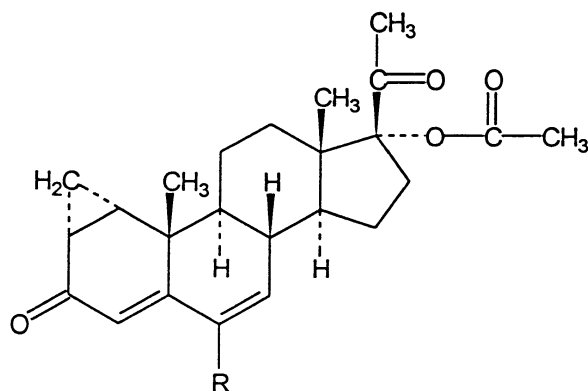
Síranový popel (2.2.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

50,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. Změří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximu při 282 nm a vypočítá se obsah $C_{24}H_{29}ClO_4$; specifický absorpční koeficient je 414.

4098 † *Cysteini hydrochloridum monohydricum***Uchovávání**

Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

A. R = H: 1 α ,2 α -metylen-3,20-dioxo-4,6-pregnadien-17-ylacetat,

B. R = OCH₃: 6-methoxy-1 α ,2 α -metylen-3,20-dioxo-4,6-pregnadien-17-ylacetat.

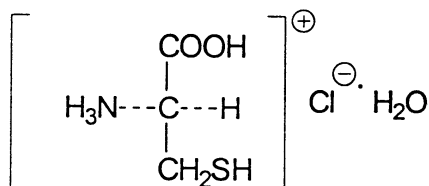
† **Cysteini hydrochloridum monohydricum**¹⁾

Monohydrát cysteiniumchloridu

Synonyma. Cysteini hydrochloridum, L-Cysteinium chloratum



RR99



C₃H₈ClNO₂S · H₂O

*M*_r 175,63
*M*_r bezvodého 157,61

CAS 7048-04-6

Je to monohydrát (*R*)-2-merkpto-1-karboxyethylamoniumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₃H₈ClNO₂S.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 554 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety monohydrátu *cysteiniumchloridu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- D. Asi 5 mg se rozpustí v 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a přidá se 1 ml roztoku *nitroprussidu sodného R* (30 g/l); vznikne intenzivní fialové zbarvení, které se změní na hnědočervené a potom na oranžové. Přidá se 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*; zbarvení roztoku se změní na zelené.
- E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). + 5,5° až + 7,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml roztoku *N-ethylmaleinimidu R* (20 g/l) v *lihu 96% R* a nechá se 5 min stát.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *cysteiniumchloridu CRL* se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 10 ml, přidá se 10 ml roztoku *N-ethylmaleinimidu R* (20 g/l) v *lihu 96% R* a nechá se 5 min stát.

Porovnávací roztok (b). 2 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *vodou R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *tyrosinu CRL* se rozpustí v 10 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *vodou R* na 25 ml.

4100 † *Cysteiini hydrochloridum monohydricum*

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (b), (c) a (d) a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a potom se zahřívá 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jsou-li na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) dvě zřetelně oddělené skvrny.

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepi čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K suspenzi se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se ihned překloupí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia* (100 μ g NH_4/ml), 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 μ g/g).

Železo (2.4.9). V dělicí nálevce se rozpustí 0,50 g v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vyřepává se třikrát po 3 min 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a 3 min se třepe. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve *vodě R*, upraví se pH na hodnotu 3 až 4 *amoniakem 26% R* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (1 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). 8,0 % až 12,0 %; 1,000 g se suší 24 h za tlaku nepřevyšujícího 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

V baňce se zabroušenou zátkou se rozpustí 0,300 g a 4 g *jodidu draselného R* ve 20 ml *vody R*. Roztok se ochladí ve *vodě* s ledem, přidají se 3 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a 25,0 ml *jodu 0,05 mol/l VS*. Baňka se uzavře a nechá se 20 min stát v temnu. Potom se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 3 ml *škrobu RS* jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 15,76 mg $C_3H_5ClNO_2S$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

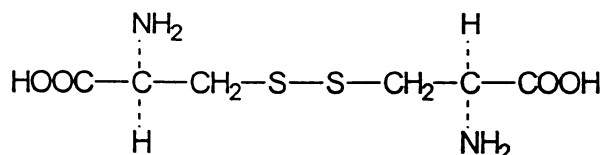
Cystinum 4101

Cystinum¹⁾

Cystin



RR99

 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$ M_r 240,29

CAS 56-89-3

Je to kyselina (*R,R*)-3,3'-dithiobis(2-aminopropionová). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *cystinu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** K 0,1 g se opatrně přidá 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a 0,1 ml *chloridu železitého RS1* a nechá se ochladit. Potom se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 5 ml *vody R*. Přidá se 1 ml *chloridu barnatého RS1*. Do 3 min vzniká zákal nebo bílá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž_7 (2.2.2, *Metoda II*).

¹⁾ Pharmedropa 10, 4, 564 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4102 Cystinum

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -218° až -224° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *cystinu CRL* se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *cystinu CRL* a 10 mg *argininiumchloridu CRL* se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *2-propanolu R (30 + 70)* po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká *ninhydrinem RS* a potom se zahřívá 15 min při 100°C až 105°C . Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 $\mu\text{g/g}$), bez dalšího přidání kyseliny dusičné.

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 $\mu\text{g/g}$).

Amonium (2.4.1). 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,2 ml základního roztoku *amonia (100 $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$)*.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova (10 $\mu\text{g Pb/ml}$)*.

Železo (2.4.9). V dělicí nálevce se rozpustí 1,0 g v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min 10 ml *isobutylmethyleketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a 3 min se třepe. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 $\mu\text{g/g}$).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100°C až 105°C .

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v baňce se zabroušenou zátkou ve směsi 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 10 ml *vody R*. Přidá se 10 ml roztoku *bromidu draselného R (200 g/l)*, 50,0 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* a 15 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Baňka se uzavře, ochladí ve vodě s ledem a nechá se 10 min stát v temnu. Potom se přidá 1,5 g *jodidu draselného R* a po 1 min se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 2 ml *škrobu RS* jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 2,403 mg $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{S}_2$.

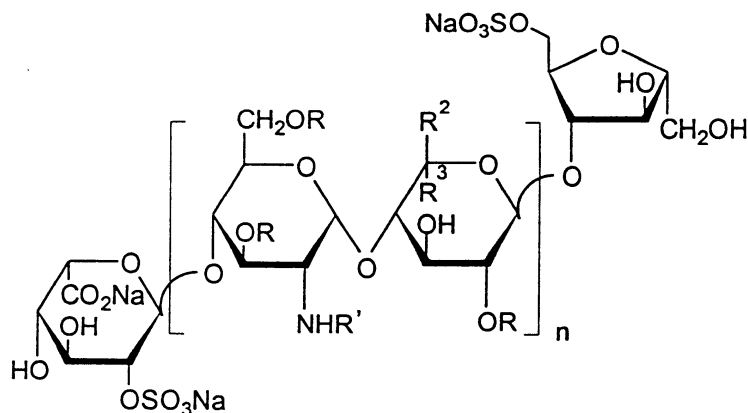
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† *Dalteparinum natricum* 4103† **Dalteparinum natricum**

Sodná sůl dalteparinu

1998



$n = 3$ až 20 , $R = H$ nebo SO_3Na , $R' = SO_3Na$ nebo $COCH_3$, $R^2 = H$ a $R^3 = CO_2Na$ nebo $R^2 = CO_2Na$ a $R^3 = H$

Je to sodná sůl nízkomolekulárního heparinu získaného depolymerizací heparinu působením kyseliny dusité z prasečí střešní sliznice. Většina složek má strukturu kyseliny 2-O-sulfo- α -L-idopyranosuronové na neredukujícím konci a strukturu 6-O-sulfo-2,5-anhydro-D-mannitolu na redukujícím konci jejich řetězce.

Vyhovuje článku *Heparina massae molecularis minoris s modifikacemi a dodatečnými následujícími požadavky*.

Průměrná molekulová hmotnost se pohybuje mezi 5600 a 6400 s charakteristickou hodnotou 6000. Stupeň sulfatace je 2,0 až 2,5 na disacharidovou jednotku.

Počítáno na vysušenou látku, je v miligramu 110 m.j. až 210 m.j. účinnosti protifaktoru Xa. Počítáno na vysušenou látku, je v miligramu 35 m.j. až 100 m.j. účinnosti protifaktoru IIa. Poměr účinnosti protifaktoru Xa k účinnosti protifaktoru IIa je 1,9 až 3,2.

Výroba

Sodná sůl dalteparinu je vyráběna validovaným výrobním a purifikačním procesem za podmínek minimalizujících přítomnost skupin N-NO.

Za použití vhodné validované kvantifikační metody se musí prokázat, že výrobním postupem dochází ke snížení kontaminace skupinami N-NO na schválené limity.

Zkoušky totožnosti

Provede se zkouška totožnosti C popsaná v článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími požadavky: průměrná molekulová hmotnost se pohybuje mezi 5600 a 6400; hmotnostní procento řetězců nižších než 3000 je nejvýše 13,0 %; hmotnostní procento řetězců vyšších než 8000 je 15,0 % až 25,0 %.

4104 † *Dalteparinum natricum***Zkoušky na čistotu**

Vzhled roztoku. 1 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než stupeň 5 porovnávacího barevného roztoku nejhodnější barvy (2.2.2, *Metoda II*).

Dusitany. Nejvýše 5 µg/g. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Před přípravou roztoků se všechny odměrné baňky nejméně třikrát propláchnou vodou R.

Zkoušený roztok. 80,0 mg se rozpustí ve *vodě R*, zředí se jí na 10,0 ml a nechá se nejméně 30 min stát.

Porovnávací roztok (a). 60,0 mg *dusitanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

Před přípravou porovnávacího roztoku (b) se pipeta propláchne porovnávacím roztokem (a).

Porovnávací roztok (b). 1,00 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50,0 ml.

Před přípravou porovnávacích roztoků (c), (d) a (e) se všechny pipety propláchnou porovnávacím roztokem (b).

Porovnávací roztok (c). 1,00 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 100,0 ml (1 µg/ml *dusitanu*).

Porovnávací roztok (d). 3,00 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 100,0 ml (3 µg/ml *dusitanu*).

Porovnávací roztok (e). 5,00 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 100,0 ml (5 µg/ml *dusitanu*).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,3 mm naplněné silným anexamem,
- mobilní fáze, kterou je roztok připravený následovně: 13,61 g *octanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R*, hodnota pH se upraví na 4,3 *kyselinou fosforečnou R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- vhodného elektrochemického detektoru s následujícími charakteristikami a nastavením: vhodná pracovní elektroda, potenciál detektoru +1,00 V proti Ag/AgCl referenční elektrodě a citlivost detektoru 0,1 µA plného rozsahu.

Nastříkne se 100 µl porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas *dusitanu* 3,3 min až 4,0 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- počet teoretických pater na metr kolony vypočtený pro pík *dusitanu* je nejméně 7000 (sodná sůl *dalteparinu* bude blokovat vazebná místa stacionární fáze, což způsobí zkrácení retenčních časů a nižší separační schopnost kolony; počáteční účinnost kolony může být částečně obnovena promýváním kolony roztokem *chloridu sodného R* (58 g/l) s průtokem 1,0 ml/min po dobu 1 h; po regeneraci je kolona promývána 200 ml až 400 ml *vody R*),
- symetrie píku *dusitanu* je menší než 3,
- relativní směrodatná odchylka ploch píků *dusitanu* při šesti nástřicích je menší než 3,0 %.

Nastříkne se po 100 µl porovnávacích roztoků (c) a (e). Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- korelační koeficient lineární závislosti koncentrace a odezvy porovnávacích roztoků (c), (d) a (e) je nejméně 0,995,
- poměr signálu k šumu pro porovnávací roztok (c) není menší než 5. Pokud je hladina šumu příliš vysoká, doporučuje se recalibrovat elektrodu,
- při nástřiku *vody R* nejsou zaznamenány falešné píky (slepá zkouška).

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku. Obsah *dusitanu* se vypočte z ploch píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (c), (d) a (e).

Bor. Nejvýše 1 µg/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou (ICP).

† *Daunorubicini hydrochloridum* 4105

Bor se stanoví měřením emise z indukčně vázané plazmy (ICP) při vlnové délce specifické pro bor. Používá se emisní čára při 249,733 nm a vhodný přístroj, jehož nastavení je optimalizováno podle pokynů výrobce.

Zkoušený roztok. 0,2500 g se rozpustí v asi 2 ml vody pro chromatografii R, přidá se 100 µl kyseliny dusičné R a zředí se vodou pro chromatografii R na 10,00 ml.

Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok kyseliny dusičné R 1% (V/V) ve vodě pro chromatografii R (slepá zkouška).

Porovnávací roztok (b). Připraví se roztok kyseliny borité R (11,4 µg/ml) v roztoku kyseliny dusičné R 1% (V/V) ve vodě pro chromatografii R (STD_{CAL}).

Porovnávací roztok (c). 0,2500 g referenční sodné soli dalteparinu, v níž nebyl detekován bor, se rozpustí v asi 2 ml vody pro chromatografii R, přidá se 100 µl kyseliny dusičné R a zředí se vodou pro chromatografii R na 10,00 ml (STD₀).

Porovnávací roztok (d). 0,2500 g referenční sodné soli dalteparinu, v níž nebyl detekován bor, se rozpustí v asi 2 ml roztoku kyseliny dusičné R 1% (V/V) ve vodě pro chromatografii R, přidá se 10 µl roztoku kyseliny borité R (5,7 mg/ml) a zředí se roztokem kyseliny dusičné R 1% (V/V) ve vodě pro chromatografii R na 10,00 ml (STD₁). Tento roztok obsahuje 1 µg boru/ml.

Obsah boru ve zkoušené látce se vypočte s použitím následujícího korekčního faktoru:

$$f = [\text{STD}_1 - \text{STD}_0] \cdot 2 / [\text{STD}_{\text{CAL}} - \text{slepá zkouška}].$$

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 60 °C nad oxidem fosforečným R při tlaku nepřevyšujícím 670 Pa.

Uchovávání

Separandum.

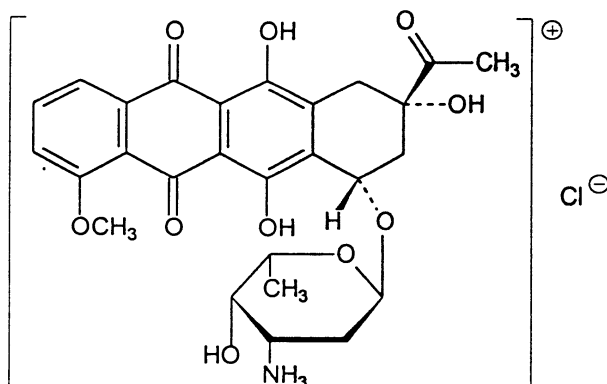
† **Daunorubicini hydrochloridum**

Daunorubiciniumchlorid

Synonymum. Daunorubicinium chloratum



1999



C₂₇H₃₀ClNO₁₀

M_r 563,99

CAS 23541-50-6

4106 † *Daunorubicini hydrochloridum*

Je to (8*S*,10*S*)-8-acetyl-10-[(3-amonio-2,3,6-trideoxy- α -*L*-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-tri-hydroxy-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion-chlorid. Tato látka je produkována určitými kmeny *Streptomyces coeruleorubidus* nebo *Streptomyces peucetius* nebo se získává jinými způsoby. Počítáno na bezvodou látku prostou rozpouštědel, obsahuje 95,0 % až 103,0 % sloučeniny C₂₇H₃₀ClNO₁₀.

Výroba

Připravuje se výrobními postupy vylučujícími nebo omezujícími přítomnost histaminu.

Vlastnosti

Oranžově červený krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *daunorubiciniumchloridu CRL*.

B. Asi 10 mg se rozpustí v 0,5 ml *kyseliny dusičné R*, přidá se 0,5 ml *vody R* a zahřívá se 2 min nad plamenem. Nechá se zchladnout a přidá se 0,5 ml *dusičnanu stříbrného RS1*; vzniká bílá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 50 mg ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se po 5 μ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (c) a porovnávacího roztoku (d). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamená po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plochy píků odpovídající aglykonu daunorubicinu, daunorubicinolu, doxorubicinu a feudomycinu B nejsou větší než odpovídající píky na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (aglykon daunorubicinu 0,5 %, daunorubicinol 1,5 %, doxorubicin 0,5 % a feudomycin B 0,7 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %) a součet ploch takových píků není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Aceton a butanol. Nejvýše 0,5 % acetonu a 1,0 % butanolu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *dioxanu R* jako vnitřního standardu.

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v roztoku obsahujícím *dioxan R* (1 g/l) a zředí se jím na 1,0 ml.

Porovnávací roztok. 0,50 g *1-butanolu R*, 0,25 mg *acetonu R* a 1,0 g *dioxanu R* se smíchá a zředí se *vodou R* na 100 ml. 10 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné *křemelinou pro plynovou chromatografii R1* impregnovanou 10 % *makrogolu 20 000 R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 70 °C.

Nastříkuje se po 1 µl z obou roztoků.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,100 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na kilogram hmotnosti králíka vstříkne 1 ml roztoku zkoušené látky (2,5 mg/ml) ve *vodě na injekci R*. Vstříknutí se provádí rychlostí 1 ml za 15 s. Použijí se králíci, kteří nebyli již dříve použiti u anthracyklinových derivátů ke zkoušce na pyrogenní látky.

Stanovení obsahu

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *daunorubiciniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *daunorubiciniumchloridu CRL* a 10,0 mg *daunorubicinolhydrochloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 mg *aglykonu daunorubicinu CRL* a 5,0 mg *doxorubiciniumchloridu CRL*, 7,0 mg *feudomycinu B CRL* a 15,0 mg *daunorubicinolhydrochloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku obsahujícího *laurylsíran sodný R* (2,88 g/l) a *kyselinu fosforečnou R* (2,25 g/l) (42 + 58); průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 5 µl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky daunorubicinu a daunorubicinolu je nejméně 8,0. Jestliže je třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Stanovení obsahu lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku daunorubicinu je nejvýše 1,0 %. Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah $C_{27}H_{30}ClNO_{10}$ v procentech.

4108 † *Daunorubicini hydrochloridum***Uchovávání**

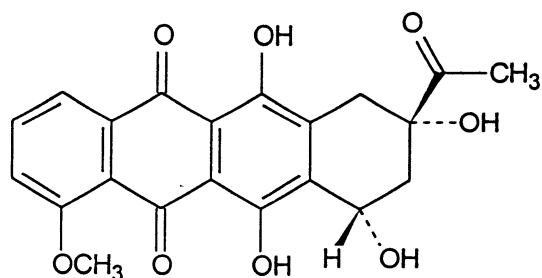
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

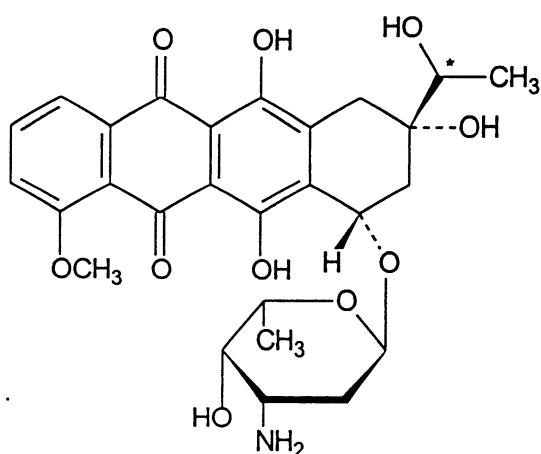
Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

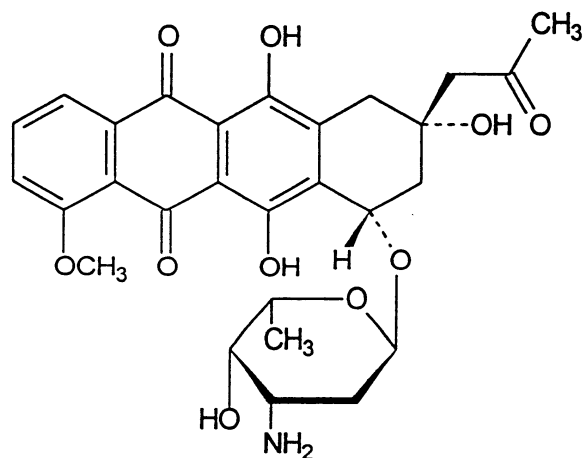
- sterilní,
- prostá pyrogenních látek.

Nečistoty

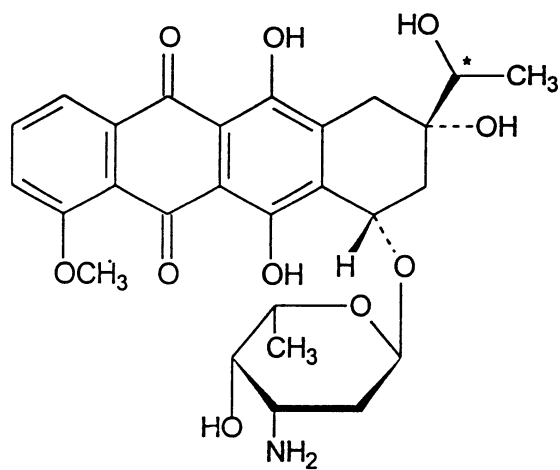
- A. (8*S*,10*S*)-8-acetyl-6,8,10,11-tetrahydroxy-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion (aglykon daunorubicinu),



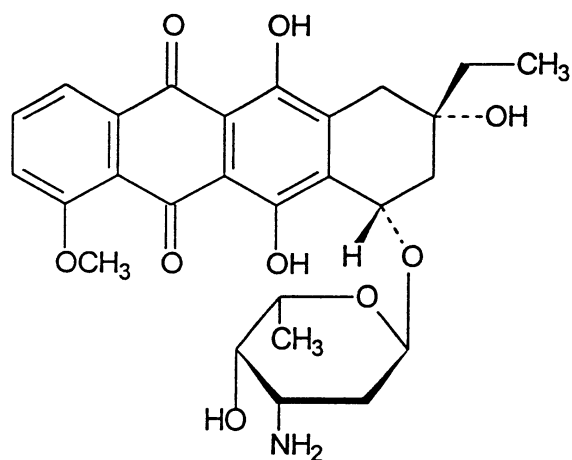
- B. (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-8-(1-hydroxyethyl)-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion (daunorubicinol),



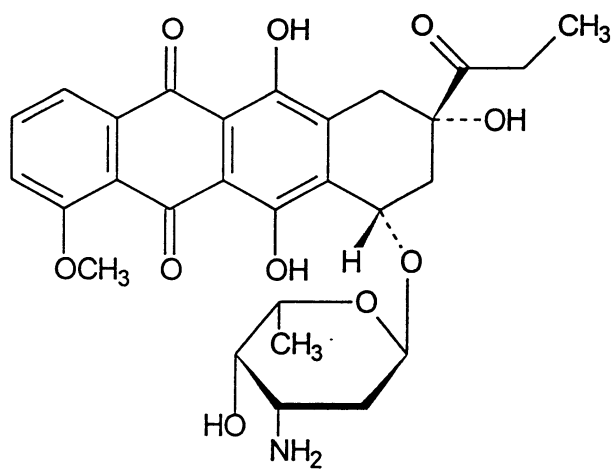
C. (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-8-(2-oxopropyl)-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion (feodomycin B),



D. (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxyacetyl)-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion (doxorubicin),

4110 † *Daunorubicini hydrochloridum*

E. (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-8-ethyl-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion (feodomycin A),



F. (8*S*,10*S*)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexopyranosyl)oxy]-6,8,11-trihydroxy-1-methoxy-8-(1-oxopropyl)-7,8,9,10-tetrahydronaftacen-5,12-dion.

Decylis oleas 4111

Decylis oleas

Decyloleat



1999

 $C_{28}H_{54}O_2$ M_r 422,73

CAS 3687-46-5

Je to směs obsahující decylestery mastných kyselin, převážně kyseliny olejové. Může být přidána vhodná antioxidační látka.

Výroba

Je-li dodecyloleat získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Čirá světle žlutá nebo bezbarvá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, je mísitelný s lihem 96%, s dichlormethanem a s etherem petrolejovým (40 °C až 60 °C).

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Relativní hustota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Obsah kyseliny olejové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,860 až 0,870.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 1,0; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). 55 až 70.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 130 až 140, stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

Obsah kyseliny olejové. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). Frakce mastných kyselin obsahuje nejméně 60,0 % kyseliny olejové.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

4112 † *Deptropini dihydrogenocitras***Označování**

V označení na obalu se uvede:

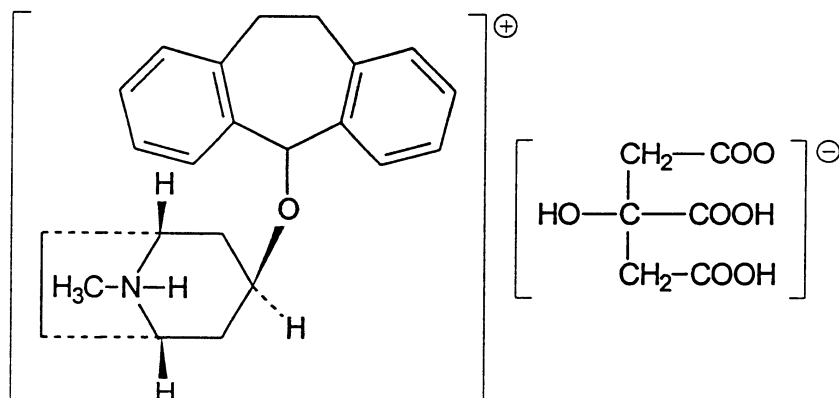
- název a koncentrace přidané antioxidační látky, pokud byla přidána.

† Deptropini dihydrogenocitras

Deptropiniumdihydrogencitrat

Synonymum. Deptropini citras

1999

 $C_{29}H_{35}NO_8$ M_r 525,60

CAS 2169-75-7

Je to (1*R*,3*R*,5*S*)-3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cykloheptadien-5-yloxy)tropanium-dihydrogencitrat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{29}H_{35}NO_8$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý mikrokrytalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě a v ethanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu a v etheru.

Taje při asi 170 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: *A*.

Alternativní sestava zkoušek: *B*, *C*, *D* a *E*, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum zkoušené látky (2.2.24) se shoduje se spektrem *deptropiniumdihydrogencitratu* CRL.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce na Příbuzné látky, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

- C. K asi 1 mg se přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R*; vzniká stálé červenooranžové zbarvení.
- D. Asi 1 mg se rozpustí v 0,25 ml *kyseliny chloristé R* a opatrně se zahřívá, dokud vzniká zákal. Přidá se 5 ml *kyseliny octové ledové R*; vznikne růžové zbarvení s intenzivní zelenou fluorescencí.
- E. K asi 5 mg se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 5 ml *pyridinu R*; vzniká purpurové zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 3,7 až 4,5; měří se roztok připravený suspendováním 0,25 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25 ml, roztok se zfiltruje.

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *deftropiniumdihydrogencitrátu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 2 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 mg *tropinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *deftropiniumdihydrogencitrátu CRL* a 10 mg *tropinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 40 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *1-butanolu R* (8 + 92) po dráze 10 cm. Deska se suší při 100 °C až 105 °C, dokud se amoniak úplně neodpaří, a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Vrstva se postříká *jodobismutitanem draselným zředěným RS* a pak roztokem *dusitanu sodného R* (10 g/l), vystaví se působení par jodu a pozoruje se na denním světle a v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) skvrna odpovídající *tropinu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající *tropinu*, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2,0; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

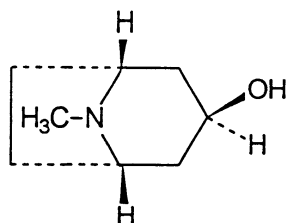
Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

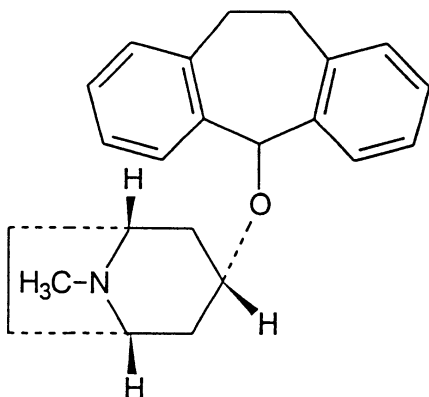
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 52,56 mg $C_{29}H_{35}NO_8$.

4114 † *Deptropini dihydrogenocitras***Uchování**

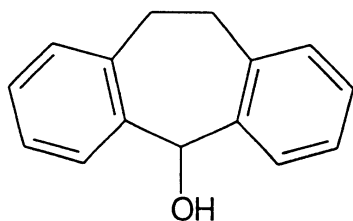
Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

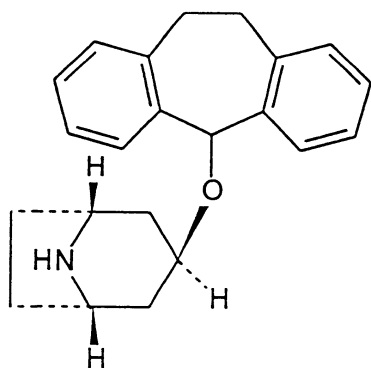
A. (1*R*,3*R*,5*S*)-tropan-3-ol (tropin),



B. (1*R*,3*S*,5*S*)-3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cykloheptadien-5-yloxy)tropan (pseudodeptropin),



C. 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cykloheptadien-5-ol (dibenzocykloheptadienol),

† *Dexchlorphenirami hydrogenomaleas* 4115

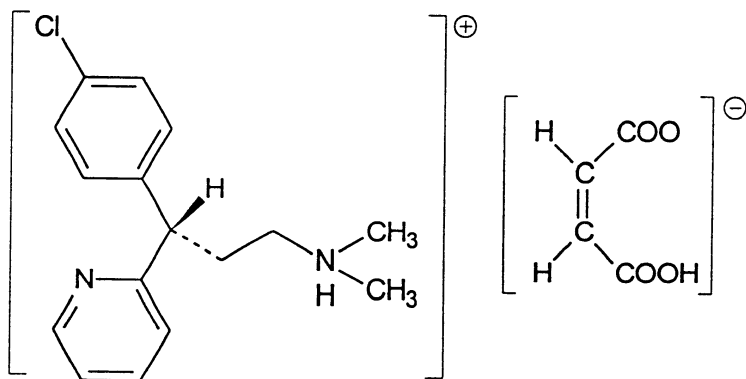
D. (1*R*,3*R*,5*S*)-3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cykloheptadien-5-yloxy)nortropan
(demethyldepropin).

† **Dexchlorphenirami hydrogenomaleas**

Dexchlorfeniraminiumhydrogenmaleinat

1999

Synonymum. Dexchlorphenirami maleas



$C_{20}H_{23}ClN_2O_4$

M_r 390,87

CAS 2438-32-6

Je to (3*S*)-[3-(4-chlorfenyl)-3-(2-pyridyl)propyl]dimethylamoniumhydrogenmaleinat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{20}H_{23}ClN_2O_4$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, v methanolu a v dichlormethanu.

4116 † Dexchlorpheniraminu hydrogenomaleas**Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A, C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Teplota tání (2.2.14). 110 °C až 115 °C.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dexchlorfeniraminiumhydrogenmaleinatu CRL*. Tablety se připraví za použití *bromidu draselného R*.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok. 56 mg *kyseliny maleinové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *methanolu R* a *diisopropyletheru R* (3 + 7 + 20 + 70) po dráze 12 cm. Vrstva se suší po několik minut v proudě vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny. Horní skvrna odpovídá polohou a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

E. K 0,15 g v porcelánovém kelímku se přidá 0,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R*. Zahřívá se nad plamenem po dobu 10 min a poté se nechá vychladnout. Zbytek se převede do 10 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 5,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,20 g ve 20 ml *vody R*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +22° až +23°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v 1,0 ml *dichlormethanu R*.

Porovnávací roztok. 5,0 mg *bromfeniraminiumhydrogenmaleinatu CRL* se rozpustí v 0,5 ml *dichlormethanu R* a přidá se 0,5 ml zkoušeného roztoku. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2,3 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* (135 µm až 175 µm) promytou kyselým a alkalickým práním impregnovanou 3 % směsí poly(dimethyl)siloxanu a poly(difenyl)siloxanu (50 % + 50 %),
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 20 ml/min,

- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 205 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi dvěma píky odpovídajícími dexchlorfeniraminu a bromfeniraminu nejméně 1,5. Nastříkne se 1 µl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamená po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 0,8násobek plochy píku odpovídajícího dexchlorfeniraminu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,4 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy píku odpovídajícího dexchlorfeniraminu na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %).

Enantiomerní čistota. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve 3 ml vody R. Přidá se několik kapek amoniaku 26% R do alkalické reakce. Protřepe se s 5 ml dichlormethanu R a vrstvy se oddělí. Spodní dichlormethanová vrstva se odpaří na vodní lázni do olejovitého zbytku, který se rozpustí v 2-propanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg dexchlorfeniraminiumhydrogenmaleinatu CRL se rozpustí ve 3 ml vody R. Přidá se několik kapek amoniaku 26% R do alkalické reakce. Protřepe se s 5 ml dichlormethanu R a vrstvy se oddělí. Spodní dichlormethanová vrstva se odpaří na vodní lázni do olejovitého zbytku, který se rozpustí v 2-propanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg chlorfenaminiumhydrogenmaleinatu CRL se rozpustí ve 3 ml vody R. Přidá se několik kapek amoniaku 26% R do alkalické reakce. Protřepe se s 5 ml dichlormethanu R a vrstvy se oddělí. Spodní dichlormethanová vrstva se odpaří na vodní lázni do olejovitého zbytku, který se rozpustí v 2-propanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí 2-propanolem R na 50 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem s navázanou amylosou pro chromatografii R,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů diethylaminu R, 2-propanolu R a hexanu R (3 + 20 + 980), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Za těchto podmínek se první objeví pík (*S*)-izomeru.

Nastříkne se po 10 µl všech roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky odpovídajícími (*R*)-enantiomeru a (*S*)-enantiomeru nejméně 1,5; retenční časy hlavních píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) jsou shodné ((*S*)-enantiomer). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího (*R*)-enantiomeru větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2 %) a plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku (*R*)-enantiomeru, není větší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 65 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

4118 † Dexchlorphenirami hydrogenomaleas**Stanovení obsahu**

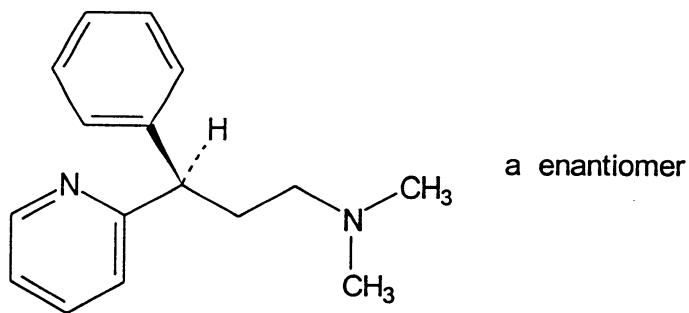
0,150 g se rozpustí v 25 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 19,54 mg $C_{20}H_{23}Cl N_2O_4$.

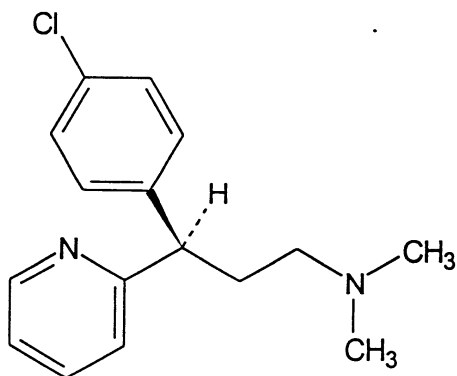
Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. (3*RS*)-3-fenyl-3-(2-pyridyl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin (feniramin),

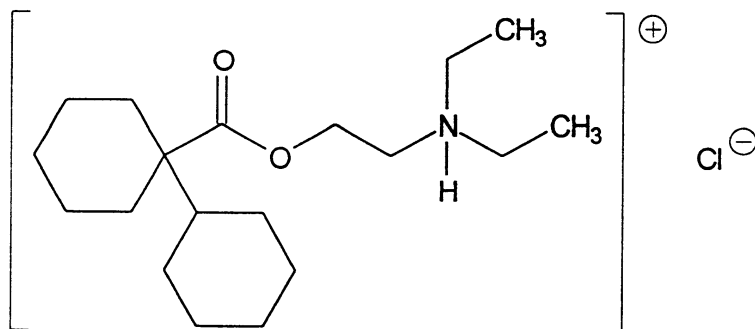


B. (3*R*)-3-(4-chlorofenyl)-3-(2-pyridyl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin.

† *Dicycloverini hydrochloridum* 4119† **Dicycloverini hydrochloridum**

Dicykloveriniumchlorid

1998

 $C_{19}H_{36}ClNO_2$ M_r 345,96

CAS 67-92-5

Je to 2-[1-bi(cyklohexyl)ylkarbonyloxy]ethyl-diethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{36}ClNO_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dicykloveriniumchloridu CRL*. Tablety se připraví za použití *chloridu draselného R*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *acetonu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- Ke 3 ml roztoku *laurylsíranu sodného R* (1,0 g/l) se přidá 5 ml *dichlormethanu R* a 0,05 ml roztoku *modři methylenové R* (2,5 g/l), opatrně se promíchá a nechá stát; spodní vrstva se zbarví modře. Přidají se 2 ml roztoku zkoušené látky (20 g/l), opatrně se promíchá a nechá stát; horní vrstva se zbarví modře a spodní vrstva je bezbarvá.
- Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

4120 † *Dicycloverini hydrochloridum***Zkoušky na čistotu**

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 5,5. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 50 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok (a). 0,25 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 5 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí methanolem R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí methanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg dicykloveriniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 mg tropikamidu CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (b) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, ethylacetatu R, vody R a 1-propanolu R (5 + 10 + 10 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a potom se postříká jodobismutitanem draselným zředěným RS. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

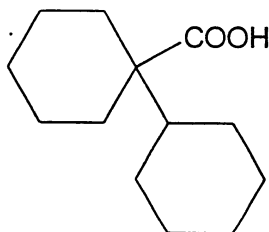
0,300 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) do druhé inflexe.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 34,60 mg C₁₉H₃₆ClNO₂.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Separandum.

Nečistoty

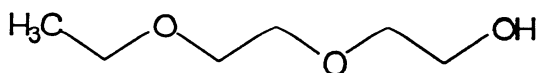
A. kyselina 1-bicyklohexylkarboxylová.

Diethylenglycoli monoethylicum etherum 4121

Diethylenglycoli monoethylicum etherum

Diethylenglykolmonoethylether

1998

*Synonymum.* Diethylenglycoli monoethylicum aetherum $C_6H_{14}O_3$ M_r 134,17

CAS 111-90-0

Je to 2-(2-ethoxyethoxy)ethanol. Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{14}O_3$. Vyrábí se kondenzací ethylenoxidu s ethanolem a následnou destilací.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá hygroskopická kapalina. Je mísitelný s vodou, s acetonem a s lihem 96%, v určitých poměrech s rostlinnými oleji, nemísitelný s minerálními oleji.

Relativní hustota je asi 0,991.

Zkoušky totožnosti

- A. Index lomu (2.2.6). 1,426 až 1,428.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *diethylenglykolmonoethyletheru* CRL. Zkoušená látka i referenční látka se měří mezi dvěma destičkami z bromidu draselného R.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku se shodují s hlavním píkem na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,1; 30,0 ml se rozpustí ve 30 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného *hydroxidem draselným 0,1 mol/l VS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru. Titruje se *hydroxidem draselným v lihu 0,01 mol/l VS*.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 8,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Ethoxyethanol, ethylenglykol a diethylenglykol. Nejvýše 0,20 % ethoxyethanolu a nejvýše 0,50 % součtu obsahů ethylenglykolu a diethylenglykolu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28), popsanou ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 0,1 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: ethoxyethanolu asi 1 min, ethylenglykolu asi 7 min a diethylenglykolu asi 14 min.

Nastříkne se 0,1 μ l zkoušeného roztoku. Vypočte se obsah ethoxyethanolu, ethylenglykolu a diethylenglykolu v procentech metodou vnitřní normalizace.

4122 *Diethylenglycoli monoethylicum etherum*

Zbytkový ethylenoxid (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 10,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok (a). 0,10 g *diethylenglykolu R*, 0,10 g *ethylenglykolu R* a 0,10 g *ethoxyethanolu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). *Diethylenglykolmonoethylether CRL*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,53 mm, s vnitřními stěnami pokrytými 0,5µm vrstvou *makroglu 20 000 2-nitrotereftalatu R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 2 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se zvyšuje z 60 °C na 200 °C rychlostí 5 °C/min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 240 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se 0,1 µl zkoušeného roztoku a z ploch piků na získaném chromatogramu se vypočte metodou vnitřní normalizace obsah $C_6H_{14}O_3$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech v atmosféře inertního plynu a při teplotě nepřevyšující 35 °C.

Označování

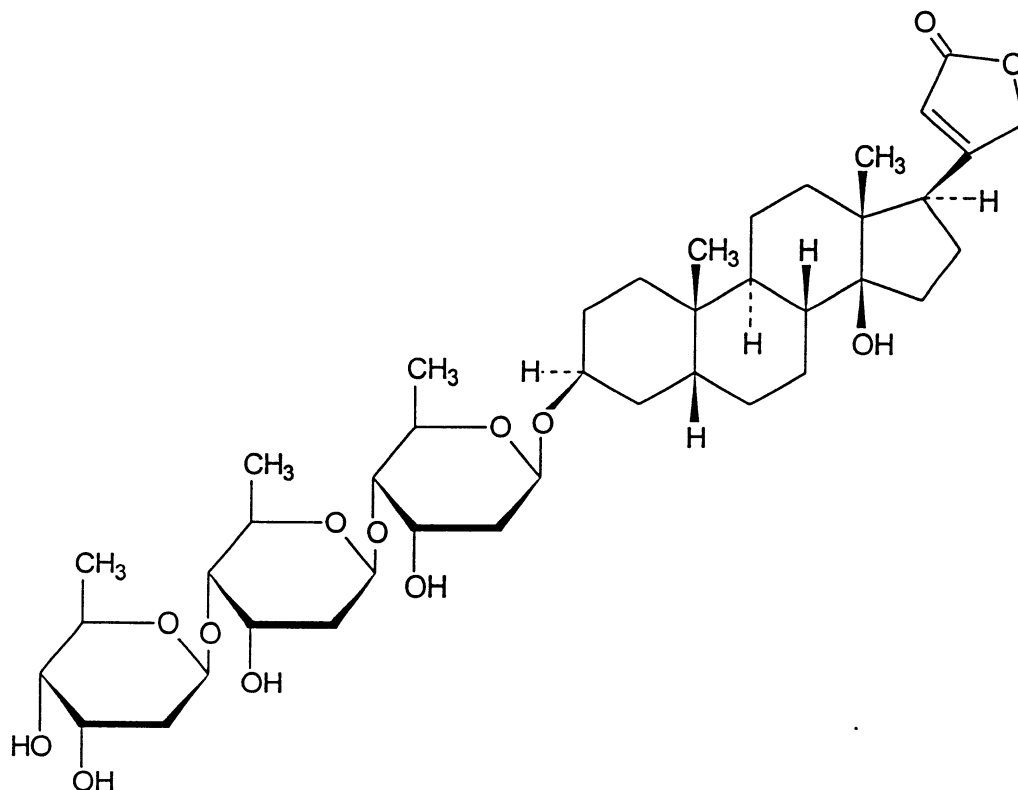
V označení na obalu se uvede, že látka je uchovávána v atmosféře inertního plynu.

†† *Digitoxinum* 4123†† **Digitoxinum**

Digitoxin



1999

 $C_{41}H_{64}O_{13}$ M_r 764,95

CAS 71-63-6

Je to 3 β -[(O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexapyranosyl-(1 \rightarrow 4)-O-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexapyranosyl-(1 \rightarrow 4)-2,6-dideoxy- β -D-ribo-hexapyranosyl)oxy]-14-hydroxy-5 β ,14 β -kard-20(22)-enolid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{41}H_{64}O_{13}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný ve směsi stejných objemových dílů chloroformu a methanolu, těžce rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *digitoxinu* CRL.

4124 *ff* *Digitoxinum*

- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** Asi 0,5 mg se suspenduje v 0,2 ml *lihu 60% (V/V) R*. Přidá se 0,1 ml *kyseliny dinitrobenzoové RS* a 0,1 ml *hydroxidu sodného zředěného PS*; vzniká fialové zbarvení.
- D.** Asi 0,5 mg se rozpustí opatrným zahřátím v 1 ml *kyseliny octové ledové R*, nechá se ochladit a přidá se 0,05 ml *chloridu železitého RSI*. Na tento roztok se opatrně navrství 1 ml *kyseliny sírové R* tak, aby nedošlo k promíchání obou vrstev, a nechá se stát. Na styku obou tekutin vznikne hnědý prstenec, který stáním přechází na zelené a pak na modré zbarvení, jež prolínají do horní vrstvy.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 50 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +16,0° až +18,5°; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v *chloroformu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *digitoxinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *gitoxinu CRL* se mícháním rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 1 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů *chloroformu R* a *methanolu R* na 2 ml.

Porovnávací roztok (e). 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchají.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a ihned se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R*, *cyklohexanu R* a *chloroformu R* (15 + 40 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min v proudě studeného vzduchu a vyvíjení se opakuje. Vrstva se 5 min suší v proudě studeného vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *lihu 96% R* (1 + 9), 15 min se zahřívá při 130 °C a pozoruje se v denním světle.

Gitoxin. Skvrna odpovídající gitoxinu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2,0 %).

Jiné glykosidy. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající gitoxinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou zřetelně oddělené skvrny odpovídající digitoxinu, gitoxinu a jiným glykosidům a skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je zřetelně viditelná.

† Dihydralazini sulfas dihemihydricus 4125

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 0,500 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se se zbytkem získaným ve zkoušce Ztráta sušením.

Stanovení obsahu

40,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Současně za stejných podmínek se připraví porovnávací roztok za použití 40,0 mg *digitoxinu CRL*. K 5,0 ml obou roztoků se přidají 3,0 ml *trinitrofenolatu sodného RS* a nechá se 30 min stát za chránění před světlem. Měří se absorbance (2.2.25) obou roztoků v maximu při 495 nm proti současně připravenému kontrolnímu roztoku, kterým je směs 5,0 ml *lihu 96% R* a 3,0 ml *trinitrofenolatu sodného RS*.

Obsah $C_{41}H_{64}O_{13}$ se vypočítá ze zjištěných absorbancí a koncentrací roztoků.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Venenum.

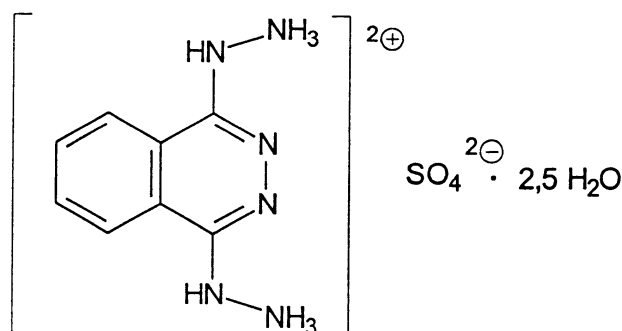
† Dihydralazini sulfas dihemihydricus

Dihemihydrát dihydralaziniiumsulfatu

Synonymum. Dihydralazini sulfas hydricus



1999



$C_8H_{12}N_6O_4S \cdot 2,5H_2O$

M_r 333,34

CAS 7327-87-9 pro bezvodý

Je to dihemihydrát 2,2'-(1,4-ftalazindiyl)di[hydrazinium(1+)]sulfatu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_8H_{12}N_6O_4S$.

4126 † Dihydralazini sulfas dihemihydricus**Vlastnosti**

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v ethanolu. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. pro dihemihydrát dihydralaziniumsulfatu*.
- B. Asi 50 mg se rozpustí v 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,20 g se rozpustí v kyselině dusičné zředěné RS a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v roztoku kyseliny octové ledové R (6 g/l) a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází obsahující edetan disodný R (0,5 g/l) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází obsahující edetan disodný R (0,5 g/l) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg dihydralazinu nečistoty A CRL se rozpustí v mobilní fázi obsahující edetan disodný R (0,5 g/l) a zředí se jí na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází obsahující edetan disodný R (0,5 g/l) na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 2 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází obsahující edetan disodný R (0,5 g/l) na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (b) na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R (5 μm až 10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a roztoku obsahujícího laurylsíran sodný R (1,44 g/l) a tetrabutylamoniumbromid R (0,75 g/l) (22 + 78), pH se upraví na hodnotu 3,0 kyselinou sírovou 0,05 mol/l RS; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška dvou píků na chromatogramu byla alespoň 50 % celé stupnice zapisovače. Pokud je chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, je relativní retenční čas nečistoty A vzhledem k dihydralazinu přibližně 0,8. Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu je rozlišení mezi píky nečistoty A a dihydralazinu nejméně 2,0. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času dihydralazinu. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty A větší než plocha píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a)

(0,1 %); součet ploch těchto píků není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Hydrazin. Provede se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Zkoušený roztok. 40,0 mg *hydraziniumsulfatu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 25,0 ml. K 0,50 ml tohoto roztoku se přidá 0,200 g zkoušené látky a rozpustí se v 6 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a pak se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Do centrifugační zkumavky se zabroušenou zátkou se ihned přenese 0,50 ml tohoto roztoku a 2,0 ml roztoku *benzaldehydu R* (60 g/l) ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*. Třepe se 90 s. Přidá se 1,0 ml *vody R* a 5,0 ml *heptanu R*. Třepe se 1 min a odstředí se. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok. 40,0 mg *hydraziniumsulfatu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 25,0 ml. K 0,50 ml tohoto roztoku se přidá 6 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a pak se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Do centrifugační zkumavky se zabroušenou zátkou se přenese 0,50 ml tohoto roztoku a 2,0 ml roztoku *benzaldehydu R* (60 g/l) ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*. Třepe se 90 s. Přidá se 1,0 ml *vody R* a 5,0 ml *heptanu R*. Třepe se 1 min a odstředí se. Použije se horní vrstva.

Kontrolní roztok. Připraví se stejným způsobem jako porovnávací roztok, ale 0,50 ml roztoku *hydraziniumsulfatu* se nahradí 0,50 ml *vody R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *edetanu disodného R* (0,3 g/l) a *acetonitrilu R* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 305 nm.

Nastříkne se po 20 μl zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku a kontrolního roztoku. Srovnáním chromatogramů porovnávacího roztoku a kontrolního roztoku se identifikuje pík *benzaldehydazinu* (*benzalazinu*) odpovídající *hydrazinu* s relativním retenčním časem vzhledem k hlavnímu píku (*benzaldehydu*) asi 1,8. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku *benzaldehydazinu* větší než dvojnásobek plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (10 μg *hydrazinu/g*).

Železo (2.4.9). Ke zbytku získanému ve zkoušce *Síranový popel* se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se zahřívá, dokud se kyselina téměř úplně neodpaří. Nechá se ochladit a zbytek se za zahřívání rozpustí v 5,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Horký roztok se zfiltruje přes filtr, který byl předtím třikrát promyt *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*. Kelímek a filtr se propláchnou 5 ml *vody R*. Filtrát a promývací voda se spojí a neutralizují se přibližně 3,5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, pH se upraví na hodnotu 3 až 4 *kyselinou octovou R* a roztok se zředí *vodou R* na 20 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na *železo* (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku *železa* (2 μg *Fe/ml*) a 5 ml *vody R*.

Ztráta sušením (2.2.32). 13,0 % až 15,0 %; 1,000 g se suší 5 h v sušárně při 50 °C za tlaku nepřevyšujícího 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,0 g zkoušené látky.

4128 † Dihydralazini sulfas dihemihydricus

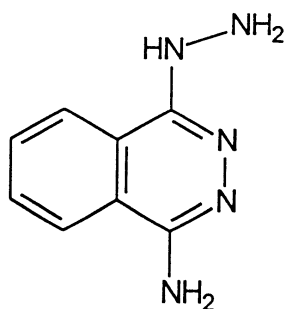
Stanovení obsahu

60,0 mg se rozpustí ve 25 ml vody R. Přidá se 35 ml kyseliny chlorovodíkové R a pomalu se titruje jodičnanem draselným 0,05 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) s použitím kalomelové referenční elektrody a platinové indikační elektrody.

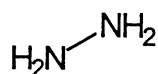
1 ml jodičnanu draselného 0,05 mol/l VS odpovídá 7,208 mg $C_8H_{12}N_6O_4S$.

Uchovávání

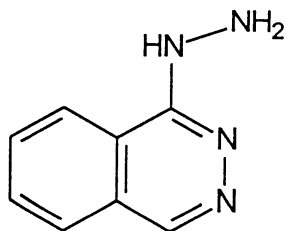
Separandum.

Nečistoty

A. 4-hydrazinoftalazin-1-amin,



B. hydrazin,



C. (1-ftalazinyl)hydrazin (hydralazin).

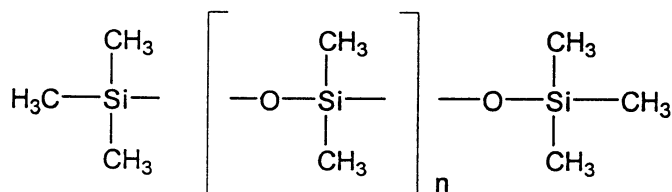
Dimeticonum

Dimetikon

1999



Synonyma. Dimethylsiloxanum, silikonový olej



$(\text{C}_2\text{H}_6\text{OSi})_n$

CAS-9006-65-9

Je to poly(dimethylsiloxan) získaný hydrolyzou a polykondenzací dichlordimethylsilanu a chlortrimethylsilanu. Existují různé druhy rozlišení číslem, které udává deklarovanou viskozitu a je uvedeno za názvem.

Jejich stupeň polymerizace ($n = 20$ až 400) odpovídá kinematickým viskozitám v rozmezí $20 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ až $1300 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Dimetikony s nominální viskozitou $50 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ nebo nižší jsou určeny jen pro vnější použití.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina o různé viskozitě. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný až prakticky nerozpustný v ethanolu, mísitelný s ethylacetatem, s 2-butanonem a s toluenem.

Zkoušky totožnosti

- Zkouška Viskozita, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti (kinematická viskozita při $25 \text{ }^\circ\text{C}$).
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) vykazuje maxima při 2964 cm^{-1} až 2905 cm^{-1} , 1412 cm^{-1} , 1260 cm^{-1} , 1020 cm^{-1} . Získané spektrum se shoduje se spektrem materiálu zvoleného podle typu zkoušeného vzorku.
- $0,5 \text{ g}$ se zahřívá ve zkumavce nad malým plamenem, dokud se nezačnou objevovat bílé páry. Zkumavka se převrátí nad druhou zkumavku obsahující 1 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (1 g/l) v *kyselině sírové R* tak, aby páry dosáhly roztoku. Druhá zkumavka se protřepává asi 10 s a zahřívá se 5 min na vodní lázni; roztok se zbarví fialově.
- V platinovém kelímku se připraví síranový popel (2.4.14) za použití 50 mg . Vzniklý bílý prášek vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Kysele reagující látky. K $2,0 \text{ g}$ se přidá 25 ml směsi stejných objemových dílů *ethanolu R* a *etheru R*, předem neutralizované na $0,2 \text{ ml}$ *modři bromthymolové RS1*, a protřepe se. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše $0,15 \text{ ml}$ *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

4130 † *Dinoprostonum*

Viskozita (2.2.9). Stanoví se kinematická viskozita při 25 °C; hodnota kinematické viskozity je 90 % až 110 % deklarované hodnoty uvedené v označení na obalu.

Minerální oleje. 2 g se pozorují ve zkumavce v ultrafialovém světle při 365 nm. Fluorescence není intenzivnější než fluorescence roztoku, který obsahuje 0,1 µg *chininiumsulfatu R* v 1 ml *kyseliny sírové 0,005 mol/l RS* a pozoruje se za stejných podmínek.

Fenylované sloučeniny. 5,0 g se rozpustí za protřepávání v 10 ml *cyklohexanu R*. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 250 nm až 270 nm není větší než 0,2.

Těžké kovy. 1,0 g se smíchá s *dichlormethanem R* a zředí se jím na 20 ml. Přidá se 1,0 ml roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R* připraveného těsně před přidáním, 0,5 ml *vody R* a 0,5 ml směsi objemových dílů *amoniaku zředěného RS2* a roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (2 g/l) (1 + 9). Současně se připraví porovnávací roztok takto: ke 20 ml *dichlormethanu R* se přidá 1,0 ml roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R*, připraveného těsně před přidáním, 0,5 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)* a 0,5 ml směsi objemových dílů *amoniaku zředěného RS2* a roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (2 g/l) (1 + 9). Ihned se oba roztoky intenzivně protřepávají po dobu 1 min. Případné červené zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku (5 µg/g).

Těkavé látky. Nejvýše 0,3 % těkavých látek pro dimetikony s deklarovanou viskozitou větší než 50 mm².s⁻¹; 1,00 g se zahřívá 2 h na misce o průměru 60 mm a hloubce 10 mm v sušárně při 150 °C.

Označování

V označení na obalu se uvede:

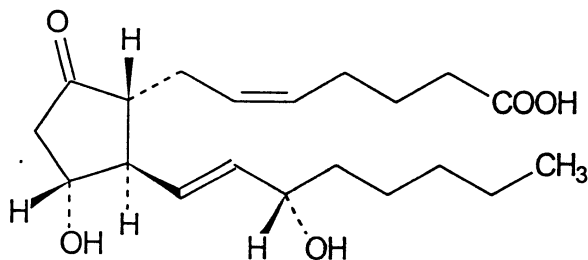
- deklarovaná viskozita jako číslo za názvem látky,
- kde je to vhodné, uvede se, že produkt je určen jen pro vnější použití.

† **Dinoprostonum**

Dinoproston



1999

C₂₀H₃₂O₅M_r 352,47

CAS 363-24-6

Je to kyselina (*Z*)-7- $\{(1R,2R,3R)$ -3-hydroxy-2- $[(E)$ -(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyclopentyl}hept-5-enová (PGE₂). Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny C₂₀H₃₂O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystalky. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v methanolu, snadno rozpustný v lihu 96%. Při pokojové teplotě se rozkládá.

Zkoušky totožnosti

- A. Specifická optická otáčivost (2.2.7) čerstvě připraveného roztoku je -82° až -90° , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 50,0 mg v lihu 96% R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *dinoprostonu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Roztoky se připravují těsně před použitím.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku *dinoprostonu* byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se odděleně 20 μ l zkoušeného roztoku (a), 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenávání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy jednotlivých látek: *dinoprostonu* asi 18 min; 5-*trans*-PGE₂ (nečistota C) asi 21 min; PGA₂ (nečistota D) asi 33 min a PGB₂ (nečistota E) asi 36 min.

Limity

Korekční faktory:

Pík odpovídající	Korekční faktor
15-oxo-PGE ₂ (nečistota F)	0,2
Nečistota D	0,2
Nečistota E	0,7

Nečistota C

Nejvýše trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %).

Nečistota D (korigovaná plocha)

Nejvýše dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %).

Nečistota E (korigovaná plocha)

Nejvýše velikost plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

4132 † *Dinoprostonum**Ostatní nečistoty*

Nejvýše velikost plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

Celkový obsah ostatních nečistot

Nejvýše dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %).

Nepřihlíží se k píkům mobilní fáze nebo rozpouštědla ani k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %).

Je-li plocha píku s relativním retenčním časem vztaženým k dinoprostonu 0,8 větší než 0,5 % nebo je-li obsah ostatních nečistot větší než 1,0 %, nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a) při nastavení detektoru na 230 nm. Je-li plocha píku při 230 nm dvojnásobná než plocha píku při 210 nm, vynásobí se plocha píku při 210 nm korekčním faktorem pro nečistotu F.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Roztoky se připraví těsně před použitím.

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 10,0 mg se rozpustí v roztoku *methanolu R2* 58 % (V/V) a zředí se jím na 2,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 20,0 mg se rozpustí v roztoku *methanolu R2* 58 % (V/V) a zředí se jím na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 mg *dinoprostonu CRL* a 1 mg *dinoprostonu nečistoty C CRL* se rozpustí v roztoku *methanolu R2* 58 % (V/V) a zředí se jím na 10,0 ml. 4,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem *methanolu R2* 58 % (V/V) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí roztokem *methanolu R2* (58 % V/V) na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem *methanolu R2* 58 % (V/V) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). Rozklad *dinoprostonu* na nečistotu D a nečistotu E pro zkoušku totožnosti. 1 mg *dinoprostonu* se rozpustí ve 100 μ l *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* (roztok změni barvu na hnědočervenou), počká se 4 min, přidá se 150 μ l *kyseliny octové 1 mol/l RS* (žlutobílý opalizující roztok) a zředí se roztokem *methanolu R2* 58 % (V/V) na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 20 mg *dinoprostonu CRL* se rozpustí v roztoku *methanolu R2* 58 % (V/V) a zředí se jím na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R*,
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *kyseliny octové R* 0,2 % (V/V) a *methanolu R* (42 + 48), s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenávání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *dinoprostonu* asi 18 min a nečistoty C asi 21 min. Zkoušku pro stanovení obsahu a příbuzných látek lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky *dinoprostonu* a nečistoty C nejméně 3,8. V případě potřeby se upraví koncentrace roztoku *kyseliny octové*

a/nebo methanolu (se stoupající koncentrací roztoku kyseliny octové rostou retenční časy dinoprostonu a nečistoty C, se stoupající koncentrací methanolu se retenční časy obou látek zkracují).

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka pro dinoproston na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) nejvýše 2,0 %.

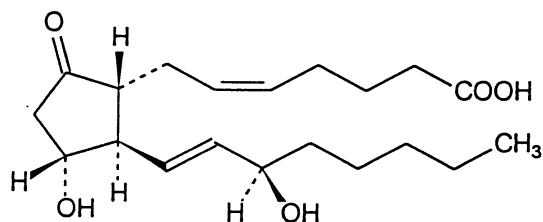
Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (b). Vypočítá se procentuální obsah dinoprostonu.

Uchovávání

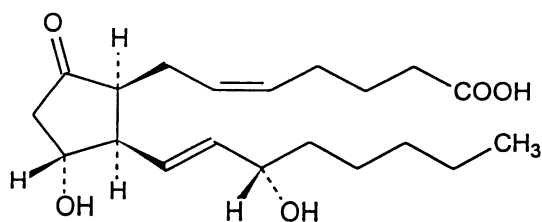
V dobře uzavřených obalech, při teplotě nepřesahující -15 °C.

Separandum.

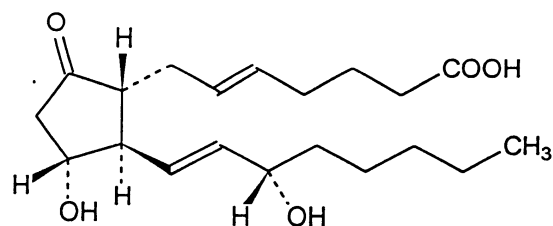
Nečistoty



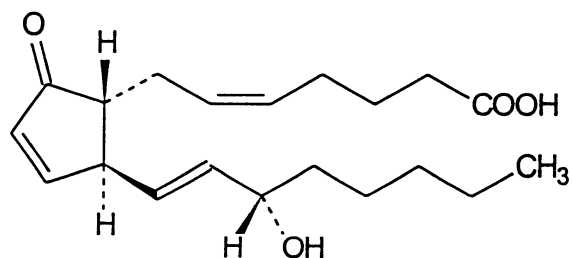
A. kyselina (Z)-7-{{(1R,2R,3R)-3-hydroxy-2-[(E)-(3R)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyclopentyl}hept-5-enová (15-epiPGE₂; (15R)-PGE₂),



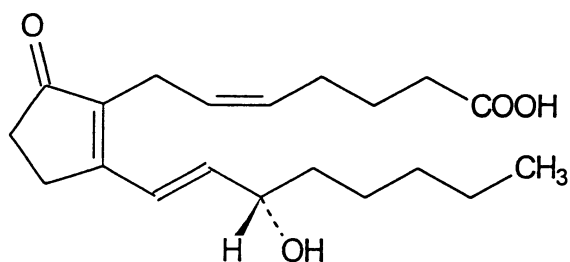
B. kyselina (Z)-7-{{(1S,2R,3R)-3-hydroxy-2-[(E)-(3S)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyclopentyl}hept-5-enová (8-epiPGE₂; (8S)-PGE₂),



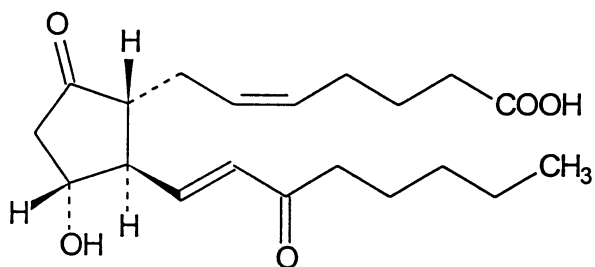
C. kyselina (E)-7-{{(1R,2R,3R)-3-hydroxy-2-[(E)-(3S)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyclopentyl}hept-5-enová (5-trans-PGE₂; (5E)-PGE₂),

4134 † *Dinoprostonum*

D. kyselina (Z)-7-[(1*R*,2*S*)-2-[(*E*)-(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopent-3-enyl]hept-5-eno-
vá (PGA₂),



E. kyselina (Z)-7-[2-(*E*)-(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]-5-oxocyklopent-1-enyl]hept-5-eno-
vá (PGB₂),

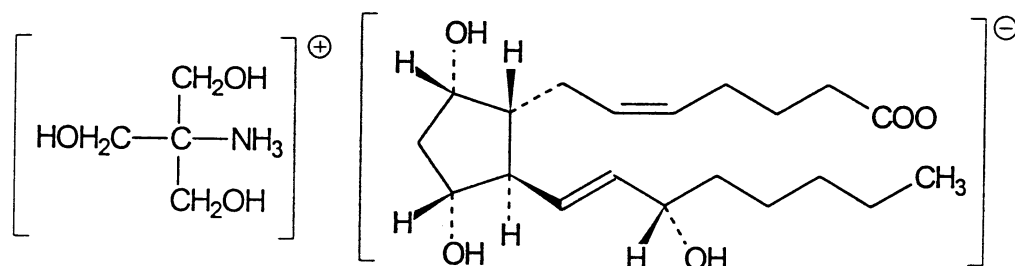


F. kyselina (Z)-7-[(1*R*,2*R*,3*R*)-3-hydroxy-2-[(*E*)-3-oxooct-1-enyl]-5-oxocyklopentyl]hept-5-eno-
vá (15-oxo-PGE₂, 15-keto-PGE₂).

† *Dinoprostum trometamoli* 4135† **Dinoprostum trometamoli**

Dinoprosttrometamol

1999

 $C_{24}H_{45}NO_8$ M_r 475,62

CAS 38562-01-5

Je to 1,3-dihydroxy-2-hydroxymethylpropan-2-ylamonium-(Z)-7-[(1R,2R,3R,5S)-3,5-dihydroxy-2-[(E)-(3S)-3-hydroxyokt-1-enyl]cyklopentyl]hept-5-enoat (trometamol PGF_{2α}). Počítáno na bezvodou látku, obsahuje nejméně 96,0 % až 102,0 % sloučeniny C₂₄H₄₅NO₈.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonitrilu.

Zkoušky totožnosti

- A. Specifická optická otáčivost (2.2.7) je +19° až +26°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,100 g v lihu 96% R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *dinoprosttrometamolu* CRL.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu* R a *vody* R (23 + 77) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Rozklad *dinoprosttrometamolu* na nečistotu B. 1 mg se rozpustí v 1 ml mobilní fáze a zahřívá se 5 min na vodní lázni při 85 °C. Potom se ochladí.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu* R a *vody* R (23 + 77) na 20,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii* R1 (5 μm),

4136 † *Dinoprostum trometamoli*

- mobilní fáze, která se připraví následujícím způsobem: 2,44 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml; pH se upraví pomocí *kyseliny fosforečné R* (asi 0,6 ml) na hodnotu 2,5; 770 ml tlumivého roztoku se smíchá s 230 ml *acetonitrilu R1*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 200 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla 25 % až 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se porovnávací roztok (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: (15*R*)-PGF_{2α} (nečistota B) asi 55 min; 5,6-*trans*-PGF_{2α} (nečistota A) asi 60 min a dinoprostu asi 66 min. Chromatogram se zaznamenává po dobu 2,5násobku retenčního času hlavního píku (k eluování píků rozkladných produktů, vzniklých během zahřívání). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky nečistoty A a nečistoty B nejméně 1,5 a rozlišení mezi píky nečistoty A a dinoprostu nejméně 2,0; faktor symetrie píků nečistoty A a nečistoty B je nejvýše 1,2. V případě potřeby se upraví složení mobilní fáze. Přídavkem acetonitrilu se zkrátí retenční časy.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává ještě 10 min po eluci hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty A větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %); plocha žádného dalšího píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než 1,5násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %) a plocha nejvýše jednoho takového píku je větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píku mobilní fáze a píku trometamolu (retenční čas asi 1,5 min) ani k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (23 + 77) a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 mg *dinoprosttrometamolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (23 + 77) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 µm),
- mobilní fáze, která se připraví takto: 2,44 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml; pH se upraví pomocí *kyseliny fosforečné R* (asi 0,6 ml) na hodnotu 2,5; 730 ml tlumivého roztoku se smíchá s 270 ml *acetonitrilu R1*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 200 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla 70 % až 90 % celého rozsahu zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas dinoprostu asi 23 min.

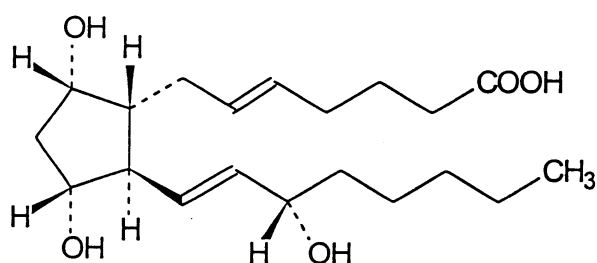
Porovnávací roztok se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka nejvýše 2,0 %. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Vypočítá se obsah dinoprostrometamolu v procentech.

Uchovávání

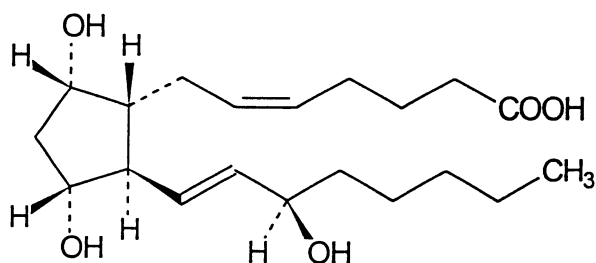
V dobře uzavřených obalech.

Separandum.

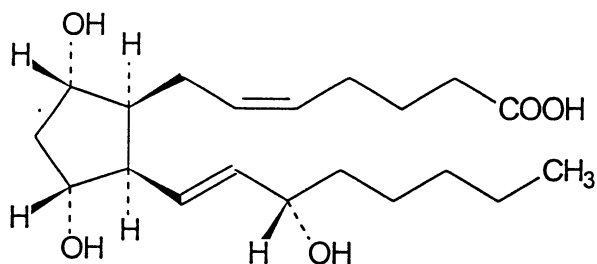
Nečistoty



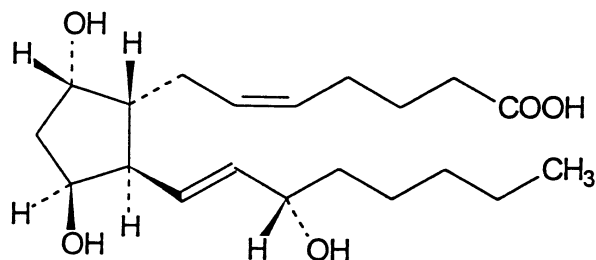
A. kyselina (*E*)-7- $\{$ (1*R*,2*R*,3*R*,5*S*)-3,5-dihydroxy-2- $\{$ (*E*)-(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl $\}$ cyklopentyl $\}$ hept-5-enová; [(*5E*)-PGF_{2 α} ; 5,6-*trans*-PGF_{2 α}],



B. kyselina (*Z*)-7- $\{$ (1*R*,2*R*,3*R*,5*S*)-3,5-dihydroxy-2- $\{$ (*E*)-(3*R*)-3-hydroxyokt-1-enyl $\}$ cyklopentyl $\}$ hept-5-enová; [(15*R*)-PGF_{2 α} ; 15-*epi*PGF_{2 α}],



C. kyselina (*Z*)-7- $\{$ (1*S*,2*R*,3*R*,5*S*)-3,5-dihydroxy-2- $\{$ (*E*)-(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl $\}$ cyklopentyl $\}$ hept-5-enová; [(8*S*)-PGF_{2 α} ; 8-*epi*PGF_{2 α}],

4138 † *Dipyridamol*

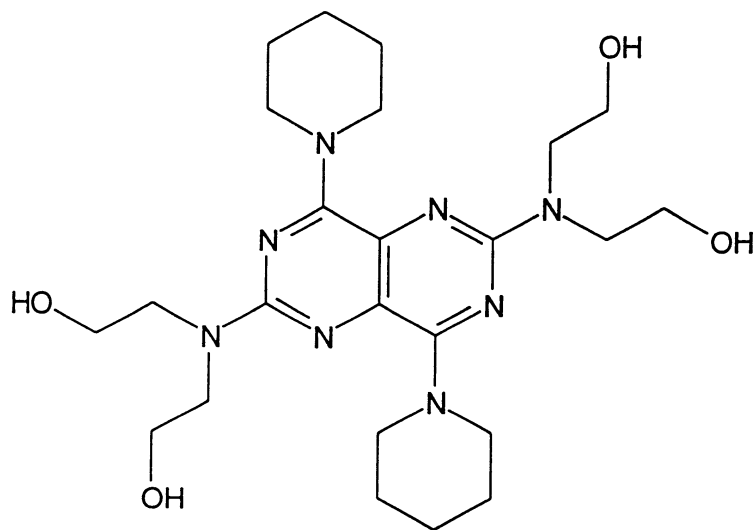
D. kyselina (*Z*)-7-{{(1*R*,2*R*,3*S*,5*S*)-3,5-dihydroxy-2-[(*E*)-(3*S*)-3-hydroxyokt-1-enyl]cyklopentyl}hept-5-enová; (11β-PGF_{2α}; 11-epiPGF_{2α}).

† **Dipyridamol**

Dipyridamol



1998

C₂₄H₄₀N₈O₄M_r 504,62

CAS 58-32-2

Je to 2,2',2'',2'''-{{[4,8-bis(1-piperidyl)pyrimido[5,4-*d*]pyrimidin-2,6-diylo]dinitrilo}tetraethanol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny C₂₄H₄₀N₈O₄.

Vlastnosti

Jasně žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, dobře rozpustný v ethanolu a prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích minerálních kyselin.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 162 °C až 168 °C.

B. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a *methanolu R* (1 + 9) na 100,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 220 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima při 232 nm a 284 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 284 nm k absorbanci naměřené v maximu při 232 nm je 1,25 až 1,45.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dipyridamolu CRL*. Tablety se připraví za použití *bromidu draselného R*.

D. Asi 5 mg se rozpustí ve směsi 0,1 ml *kyseliny dusičné R* a 2 ml *kyseliny sírové R*; vznikne intenzivní fialové zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *diltiazemiumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,3 ml/min, která je směsí připravenou následujícím způsobem: 0,504 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 370 ml *vody R* a upraví se hodnota pH na 3,0 *kyselinou fosforečnou R*; přidá se 80 ml *acetonitrilu R* a 550 ml *methanolu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 290 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Nastříkne se po 20 μl každého roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 9násobku retenčního času *dipyridamolu*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) rozlišení mezi píky *diltiazemu* a *dipyridamolu* je nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Chloridy (2.4.4). K 0,250 g se přidá 10 ml *vody R* a důkladně se protřepe. Zfiltruje se, filtr se promyje 5 ml *vody R* a zředí se jí na 15 ml. Spojené filtráty vyhovují limitní zkoušce na chloridy (200 μg/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

4140 † *Dipyridamolum*

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

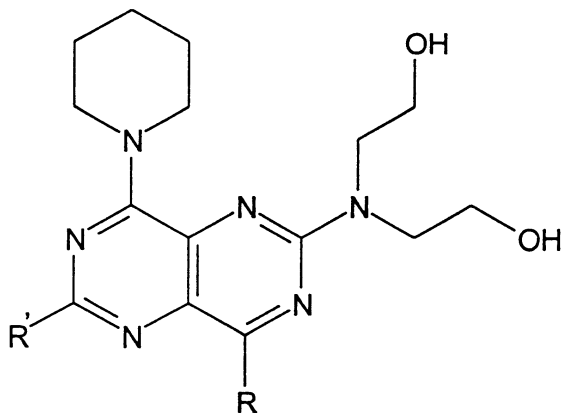
0,400 g se rozpustí v 70 ml *methanolu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 50,46 mg $C_{24}H_{40}N_8O_4$.

Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

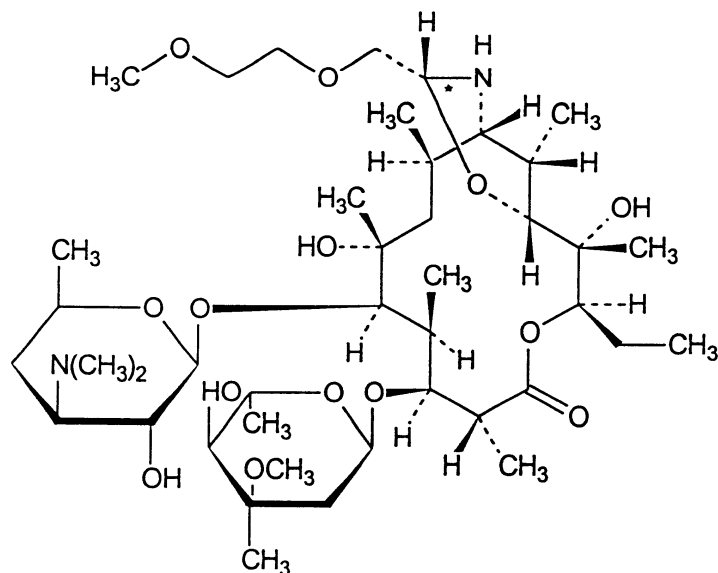
- A. $R = R' = NC_3H_{10}$: 2,2'-{[4,6,8-tri(1-piperidyl)pyrimido[5,4-*d*]pyrimidin-2-yl]nitrilo} diethanol,
 B. $R = R' = N(CH_2-CH_2OH)$: 2,2',2'',2''',2''''',2''''''-{[8-(1-piperidyl)pyrimido[5,4-*d*]pyrimidin-2,4,6-triyl]trinitrilo} hexaethanol,
 C. $R = NC_3H_{10}$, $R' = Cl$: 2,2'-{[2-chlor-4,8-bis(1-piperidyl)pyrimido[5,4-*d*]pyrimidin-6-yl]nitrilo} diethanol.

† *Dirithromycinum* 4141† **Dirithromycinum**

Dirithromycin



1999

 $C_{42}H_{78}N_2O_{14}$ M_r 835,08

CAS 62013-04-1

Je to (1*R*,2*S*,3*R*,6*R*,7*S*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*,13*S*,15*R*,17*S*)-9-[[3-(dimethylamino)-3,4,6-trideoxy-β-D-*xyllo*-hexopyranosyl]oxy]-3-ethyl-2,10-dihydroxy-15-[(2-methoxyethoxy)methyl]-2,6,8,10,12,-17-hexamethyl-7-[(3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-2,6-dideoxy-α-*L*-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-4,16-dioxo-14-azabicyclo[11,3,1]heptadecan-5-on (nebo (9*S*)-9,11-{imino[(1*R*)-2-(2-methoxyethoxy)ethyliden]oxy}-9-deoxo-11-deoxyerythromycin). Počítáno na bezvodou látku, součet obsahů sloučeniny $C_{42}H_{78}N_2O_{14}$ a 15*S*-epimeru dirithromycinu je 96,0 % až 102,0 %.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v methanolu a v dichlormethanu.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dirithromycinu* CRL.
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

4142 † *Dirithromycinum***Zkoušky na čistotu**

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b): plocha píku nečistoty A není větší než 0,75násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku nečistoty A a píku 15*S*-epimeru, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %).

Dirithromycin 15*S*-epimer. Nejvýše 1,5 %; stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Porovnávací roztok (b) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch píku dirithromycinu nejvýše 5,0 %. Sřídavě se nastříkuje zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (b). Vypočítá se procentuální obsah *dirithromycinu 15S-epimeru* s použitím chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Acetonitril (2.4.24, systém A). Nejvýše 0,1 %.

Roztoky se připraví s použitím *dimethylformamidu R* místo *vody R*.

Roztok vzorku. 0,200 g se rozpustí v *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

Postup head-space metodou se obvykle provádí za použití:

- teploty pro ustavení rovnováhy: 120 °C,
- doby ustavování rovnováhy: 60 min,
- teploty přechodové kapiláry: 125 °C.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se rozpustí ve 20 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití roztoku olova (1 µgPb/ml) získaného zředěním základního roztoku olova (100 µgPb/ml) směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Směs rozpouštědel. Připraví se směs objemových dílů *methanolu R* a *acetonitrilu R* (30 + 70).

Zkoušený roztok (a). 20,0 mg se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,10 g se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *dirithromycinu CRL* se rozpustí ve směsi rozpouštědel a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg *dirithromycinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se stejnou směsí na 10 ml. Před použitím se nechá stát 24 h.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R*, roztoku obsahujícího 1,9 g/l *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 9,1 g/l *hydrogenfosforečnanu draselného R*, jehož pH je v případě potřeby upraveno na hodnotu 7,5 roztokem *hydroxidu draselného R* (100 g/l), a *acetonitrilu R* (9 + 19 + 28 + 44), s průtokovou rychlostí 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

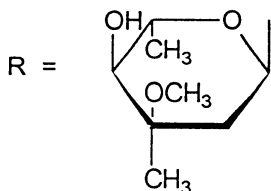
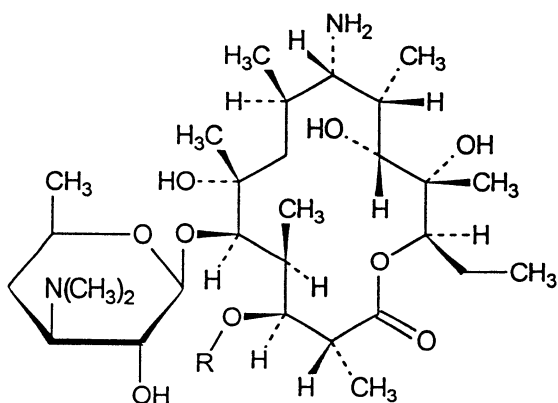
Teplota kolony se udržuje na 40 °C. Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy látek vztažené k dirithromycinu: nečistoty A asi 0,7, 15S-epimeru asi 1,1. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píky dirithromycinu a 15S-epimeru nejméně 2,0 (v případě potřeby se upraví složení mobilní fáze). Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka pro pík odpovídající dirithromycinu nejvýše 1,0 %. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Uchovávání

Separandum.

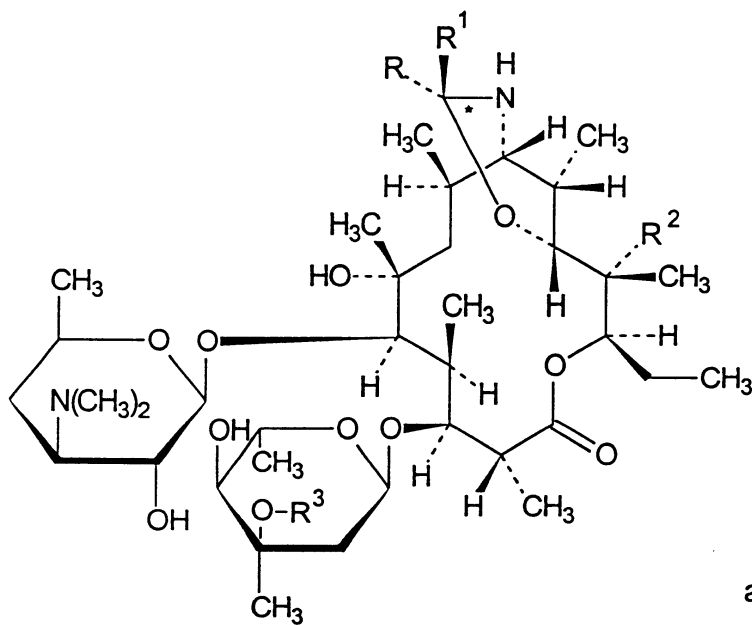
Nečistoty



A. (9S)-9-amino-9-deoxyerythromycin,

4144 † *Dobutamini hydrochloridum*

B. R = H: (9*S*)-9-amino-3-de(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -L-ribo-hexopyranosyl)-9-deoxyerythromycin,



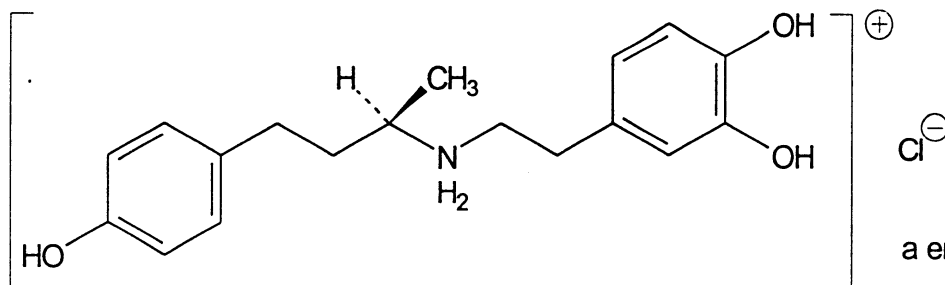
a epimer na C*

- C. R = CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₃, R¹ = H, R² = H, R³ = CH₃: (9*S*)-9,11-{imino[(1*RS*)-2-(2-methoxyethoxy)ethyliden]oxy}-9-deoxo-11,12-dideoxyerythromycin (dirithromycin B),
 D. R = CH₂-O-CH₂-CH₂-O-CH₃, R¹ = H, R² = OH, R³ = H: (9*S*)-9,11-{imino[(1*RS*)-2-(2-methoxyethoxy)ethyliden]oxy}-3'-O-demethyl-9-deoxo-11-deoxyerythromycin (dirithromycin C),
 E. R = CH₃, R¹ = CH₃, R² = OH, R³ = CH₃: 9,11-[imino(1-methylethyliden)oxy]-9-deoxo-11-deoxyerythromycin).

† **Dobutamini hydrochloridum**

Dobutaminiumchlorid

1999 



a enantiomer

C₁₈H₂₄ClNO₃

M_r 337,85

CAS 49745-95-1

Je to (*RS*)-*N*-{2-[4-(4-hydroxyfenyl)]butyl}-2-(3,4-dihydroxyfenyl)ethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{18}H_{24}ClNO_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu a mírně rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14) je 189 °C až 192 °C.

B. 20,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 220 nm až 300 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 223 nm a 281 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 281 nm k absorbanci naměřené v maximu při 223 nm je 0,34 až 0,36.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dobutaminiumchloridu CRL*.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg *dobutaminiumchloridu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 mg *dopaminiumchloridu CRL* se rozpustí v 5,0 ml zkoušeného roztoku.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R*, *etheru R* a *1-butanolu R* (5 + 15 + 30 + 45) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem *manganistanu draselného R* (1 g/l). Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1). Použije se směs stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*.

Zkoušky na čistotu

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 0,1 g se rozpustí ve *vodě R* za mírného zahřátí a zředí se jí na 10 ml, přidá se 0,1 ml *methylocerveně RS* a 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; vznikne žluté zbarvení, které se přidáním 0,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* změní na červené.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,05^\circ$ až $+0,05^\circ$; 0,50 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

4146 † *Dobutamini hydrochloridum*

Absorbance (2.2.25). 0,5 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R*, je-li třeba, zahřeje se na 30 °C až 35 °C, zředí se stejnou směsí na 25 ml a rychle se zchladí. Absorbance měřená ihned při 480 nm není vyšší než 0,04.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (35 + 65) a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 4,0 ml zkoušeného roztoku se zředí roztokem *anisaldehydu R* (0,05 g/l) ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (35 + 65) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí mobilních fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (35 + 65) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí mobilních fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - 2,60 g *oktansulfonanu sodného R* se rozpustí v 1000 ml *vody R* a přidají se 3 ml *triethylaminu R*; pH se upraví na hodnotu 2,5 *kyselinou fosforečnou R*,
 - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *methanolu R* (18 + 82),
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 5	65	35
5 - 20	65 → 20	35 → 80
20 - 25	20	80

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky *dobutaminiumchloridu* a *anisaldehydu* je nejméně 4,0. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k pikům rozpouštědel a k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Aby nedošlo k přehřátí, titrace se ukončí ihned po dosažení bodu ekvivalence.

† *Dobutamini hydrochloridum* 4147

0,250 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*. Přidá se 50 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,79 mg $C_{18}H_{24}ClNO_3$.

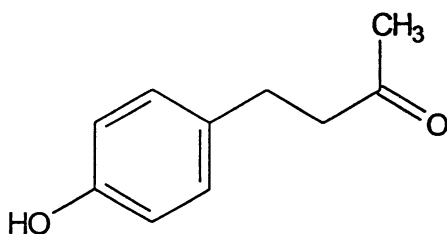
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

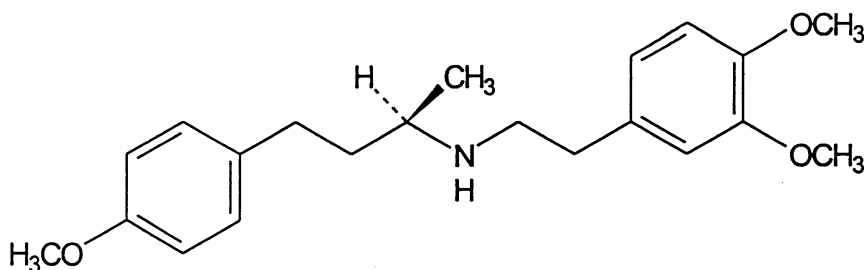
Separandum.

Nečistoty

A. dopamin,



B. 4-(4-hydroxyfenyl)-2-butanon,



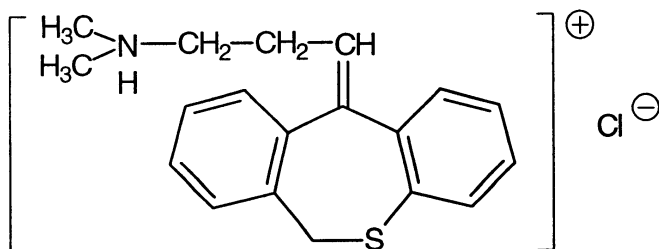
C. (*RS*)-N-{2-[4-(4-methoxyfenyl)]butyl}-2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethylamin.

4148 † *Dosulepini hydrochloridum*† **Dosulepini hydrochloridum**

Dosulepiniumchlorid

Synonymum. Dosulepinium chloratum

1999

 $C_{19}H_{22}ClNS$ M_r 331,90

CAS 897-15-4

Je to (*E*)-[3-(6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-yliden)propyl]dimethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{22}ClNS$.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** 25,0 mg se rozpustí v roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (1 g/l) v *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (1 g/l) v *methanolu R* na 50,0 ml. Měří se absorpance (2.2.25) při 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 231 nm a 306 nm, a prodlevu při asi 260 nm. Specifická absorpance v maximu při 231 nm je 660 až 730.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dosulepiniumchloridu CRL*.
- C.** Asi 1 mg se rozpustí v 5 ml *kyseliny sírové R*; vznikne tmavě červené zbarvení.
- D.** Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Z-izomer a příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připravují těsně před použitím.*

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 12,5 mg *dosulepinu nečistoty A CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se mobilní fází na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *dosulepiniumchloridu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,25 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R1* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny fosforečné R*, roztoku *butansulfonanu sodného R* (10 g/l), *methanolu R* a *vody R* (0,2 + 10 + 35 + 55), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 229 nm.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je relativní retenční čas *Z*-izomeru vzhledem k hlavnímu píku (*E*-izomer) asi 0,9. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku odpovídajícího *Z*-izomeru činila nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími *Z*-izomeru a *E*-izomeru je nejméně 1,0.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku odpovídajícího *dosulepinu nečistotě A* není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %); plocha píku odpovídajícího *Z*-izomeru není větší než 5 % součtu ploch píků obou izomerů; plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku odpovídajícího *dosulepinu nečistotě A* a píku odpovídajícího *Z*-izomeru, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova* (10 µg *Pb/ml*).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 35 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,19 mg $C_{19}H_{22}ClNS$.

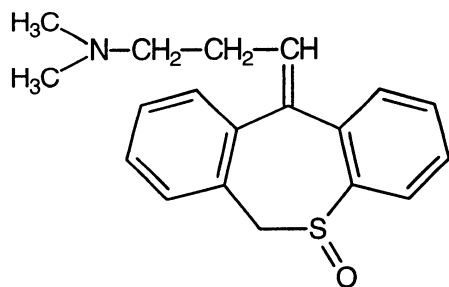
Uchovávání

Chráněn před světlem.

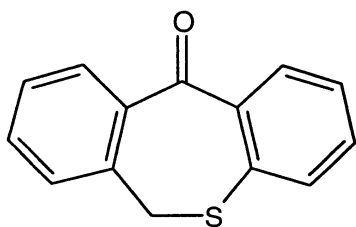
Separandum.

4150 † *Dosulepini hydrochloridum*

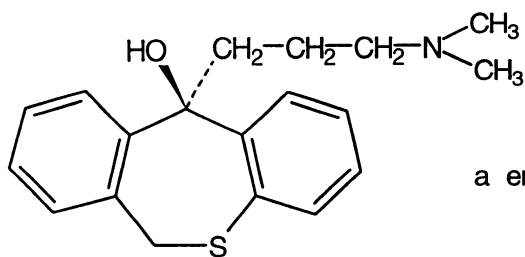
Nečistoty



A. (*E*)-11-(3-dimethylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-5-oxid,

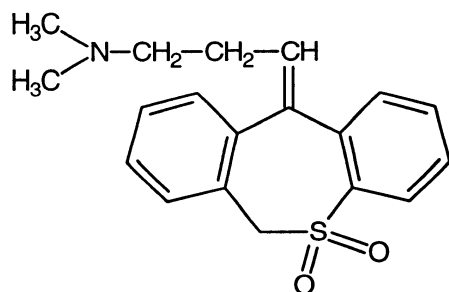


B. 6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-on,

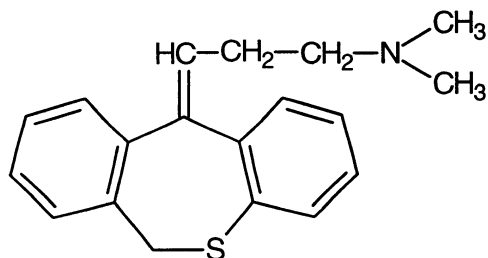


a enantiomer

C. (*RS*)-11-(3-dimethylaminopropyl)-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-ol,



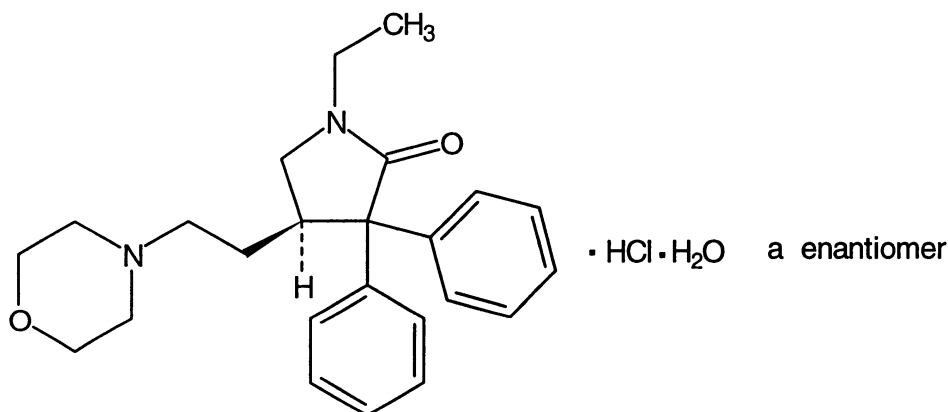
D. (*E*)-11-(3-dimethylaminopropyliden)-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-5,5-dioxid,

† *Doxaprami hydrochloridum monohydricum* 4151E. (Z)-[3-(6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-ylidene)propyl]dimethylamin.† **Doxaprami hydrochloridum monohydricum**

Monohdrát doxapramiumchloridu

Synonymum. Doxaprami hydrochloridum

1998

 $C_{24}H_{31}ClN_2O_2 \cdot H_2O$ M_r 432,99

CAS 7081-53-0

Je to monohdrát (*RS*)-1-ethyl-3,3-difeny-4-(2-morfolinoethyl)pyrrolidin-2-on-hydrochloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{24}H_{31}ClN_2O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlor-methanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

4152 † *Doxaprami hydrochloridum monohydricum*

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *doxapramiumchloridu* CRL. Tablety se připraví za použití *chloridu draselného* R.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *doxapramiumchloridu* CRL se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů roztoku *amoniaku* R (17 g/l) a *2-propanolu* R (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *jodobismutitanem draselným zředěným* RS a ihned se pozoruje. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,500 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého* R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. 10 ml roztoku S se zředí *vodou* R na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 5,0; měří se roztok připravený zředěním 5 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého* R na 25 ml.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm, naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii* R (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu* R, roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného* R (1,1 g/l), jehož pH je upraveno na hodnotu 4,5 *kyselinou fosforečnou zředěnou* RS a *methanolu* R (15 + 20 + 25), s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas *doxapramiumchloridu* asi 10 min. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *doxapramiumchloridu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,025násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

† *Doxaprami hydrochloridum monohydricum* 4153

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (3 + 17) a zředí se stejnou směsí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok olova (2 µg Pb/ml) se připraví zředěním základního roztoku olova (100 µg Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (3 + 17).

Ztráta sušením (2.2.32). 3,0 % až 4,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

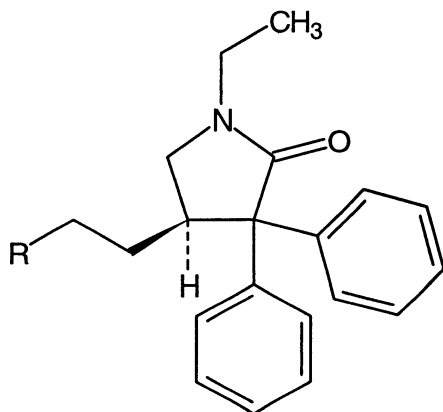
Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) do druhé inflexe. Odečítá se spotřeba mezi dvěma body inflexe.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 41,50 mg $C_{24}H_{31}ClN_2O_2$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.
Separandum.

Nečistoty

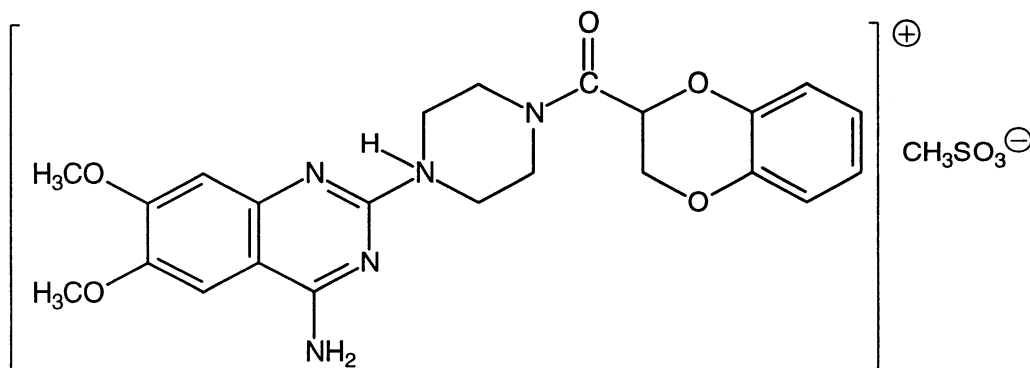
a enantiomer

A. R = Cl: 1-ethyl-3,3-difenyl-4-(2-chlorethyl)-2-pyrrolidon,

B. R = NH-CH₂-CH₂OH: 1-ethyl-3,3-difenyl-4-{2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl}-2-pyrrolidon.

4154 †† *Doxazosini mesilas*†† **Doxazosini mesilas****N**

Doxazosiniummesilat

 $C_{24}H_{29}N_5O_8S$ M_r 547,57

CAS 77883-43-3

Je to 1-(4-amino-6,7-dimethoxy-2-chinazoliny)l-4-[(2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-2-yl)karbonyl]piperaziniummethansulfonat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{24}H_{29}N_5O_8S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylsulfoxidu, mírně rozpustný v methanolu.

Vykazuje polymorfismus.

Teplota tání je asi 276 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *doxazosiniummesilatu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).
- C.** 0,5 g se důkladně protřepe s 30 ml *vody R* a směs se zfiltruje. K 10 ml čirého filtrátu se přidá 0,2 ml *kyseliny octové RS* a 1 ml *chloridu barnatého RS2*; vznikne bílá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (7 + 3) a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (7 + 3) na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (7 + 3) na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 25,0 mg *doxazosiniummesilatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (7 + 3) a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (d). Ke 20,0 ml porovnávacího roztoku (c) se přidá 0,25 mg *doxazosiniummesilatu nečistoty C (2-chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinylnaminu R)*, rozpustí se a zředí směsí objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (7 + 3) na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R* (5 µm), např. Lichrospher 100CN,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,8 ml/min s následujícím gradientovým programem:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Mobilní fáze C % (V/V)
0	78	7	15
10	60	20	20
20	30	20	50
24	30	20	50

- *mobilní fáze A* se připraví takto - k 900 ml *vody R* se přidá 3,96 g *hydrogenfosforečnanu amonného R*, po rozpuštění se pH upraví na hodnotu 3,0 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* a doplní se *vodou R* na objem 1000 ml,
- *mobilní fáze B* - *acetonitril pro chromatografii R*,
- *mobilní fáze C* - *methanol R*,
- spektrofotometrického detektoru s následujícím detekčním programem:

Čas (min)	Detekce (nm)
0 - 5	254
5 - 7,5	220
7,5 - 30	254

Teplota kolony se udržuje na 30 °C. Před každou analýzou se kolona promývá do ustavení rovnováhy mobilní fázi počátečního složení.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *doxazosiniummesilatu* 14 min a *doxazosiniummesilatu nečistoty C* 9 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *doxazosiniummesilatu* a *doxazosiniummesilatu nečistoty C* je nejméně 15.

Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty A, plocha píku nečistoty B, plocha píku nečistoty C a plocha píku nečistoty D nejsou větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího

4156 †† *Doxazosini mesilas*

roztoku (b) (0,2 %), přičemž plocha píku nečistoty B se násobí odezvvým faktorem 3 a plocha píku nečistoty D se násobí odezvvým faktorem 0,7; plocha žádného dalšího píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,5násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5%). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

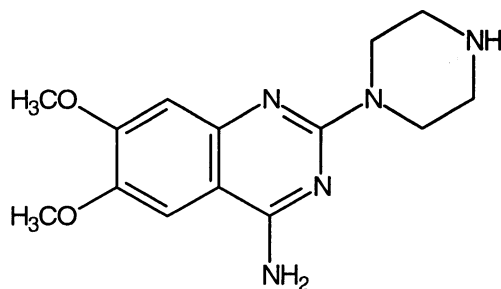
Stanovení obsahu

0,500 g se rozpustí zahřátím ve 170 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

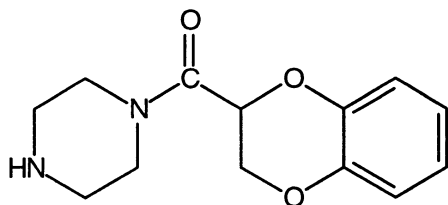
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 54,76 mg $C_{24}H_{29}N_5O_8S$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.
Venenum.

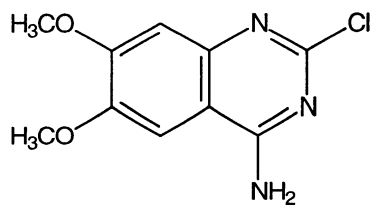
Nečistoty

A. 6,7-dimethoxy-2-(1-piperazinyl)-4-chinazolinylinamin,

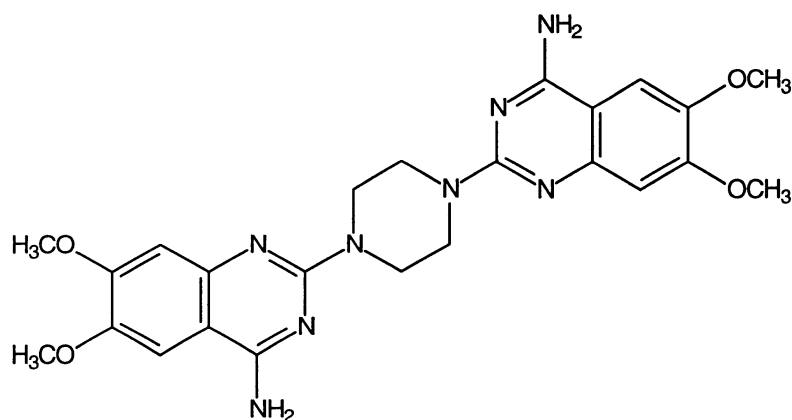


B. (2,3-dihydro-1,4-benzodioxin-2-yl)-1-piperazinylketon,

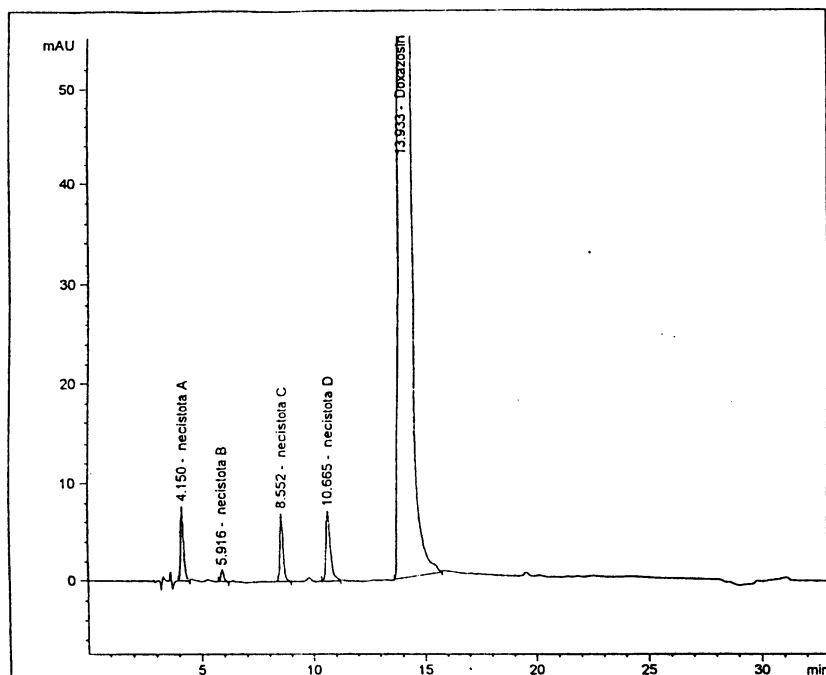
†† Doxazosini mesilas 4157



C. 2-chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinylinamin,



D. 1,4-bis(4-amino-6,7-dimethoxy-2-chinazolinylin) piperazin.



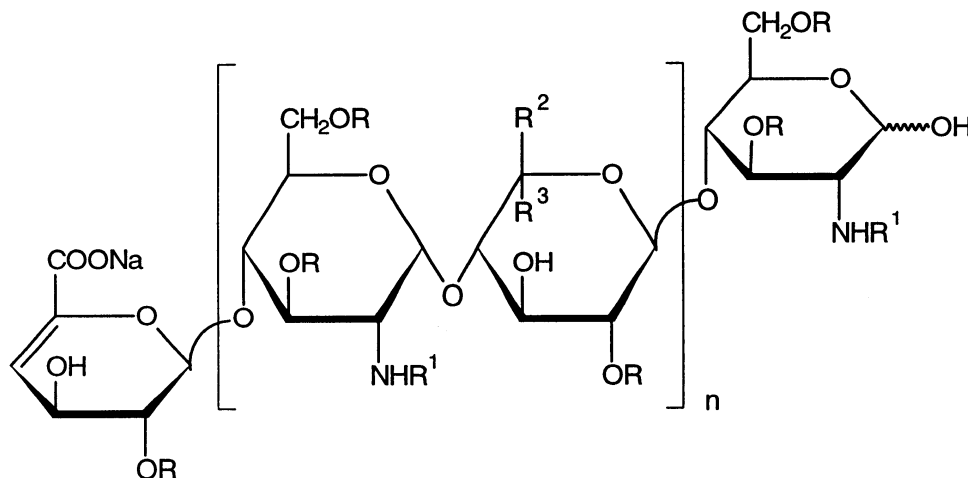
Obr. 1. Vzorový chromatogram ke zkoušce Příbuzné látky

4158 † *Enoxaparinum natricum*† **Enoxaparinum natricum**

Sodná sůl enoxaparinu



1999



$n = 1$ až 21 , $R = H$ nebo SO_3Na , $R^1 = H$ nebo SO_3Na nebo $COCH_3$,
 $R^2 = H$ a $R^3 = COONa$ nebo $R^2 = COONa$ a $R^3 = H$

Je to sodná sůl nízkomolekulárního heparinu, která se získává alkalickou depolymerizací benzylesterového derivátu heparinu z prasečí střešní sliznice. Většina složek má na neredukujícím konci svého řetězce strukturu uronatu 4-enolpyranosy.

Sodná sůl enoxaparinu vyhovuje požadavkům článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími změnami a doplňky.

Průměrná molekulová hmotnost je v rozmezí 3500 až 5500 s charakteristickou hodnotou asi 4500.

Stupeň sulfatace je asi 2 % na disacharidovou jednotku.

Počítáno na vysušenou látku, účinnost je 90 m.j. až 125 m.j. účinnosti protifaktoru Xa v miligramu. Poměr účinnosti protifaktoru Xa k účinnosti protifaktoru IIa je 3,3 až 5,3.

Zkoušky totožnosti

Provede se zkouška totožnosti C uvedená v článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími požadavky.

Průměrná molekulová hmotnost je v rozmezí 3500 až 5500. Podíl s molekulovou hmotností nižší než 2000 je 12,0 % až 20,0 %. Podíl s molekulovou hmotností 2000 až 8000 je 68,0 % až 88,0 %.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v 10 ml vody R. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než stupeň 5 nejpodobnějšího porovnávacího barevného roztoku (2.2.2, *Metoda II*).

† *Enoxaparinum natricum* 4159

Absorbance (2.2.25). 50,0 mg se rozpustí ve 100 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*. Specifická absorbance při 231 nm je 14,0 až 20,0, počítáno na vysušenou látku.

Benzylalkohol. Nejvýše 0,1 %. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Roztok vnitřního standardu. Připraví se roztok *3,4-dimethylfenolu R* (1 g/l) v *methanolu R*.

Zkoušený roztok. 0,500 g se rozpustí v 5,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a nechá se 1 h stát. Pak se přidá 1,0 ml *kyseliny octové ledové R* a 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok *benzylalkoholu R* (0,25 g/l) ve *vodě R*. 0,50 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm) a opatřené předkolonou délky 20 mm a vnitřního průměru 4,6 mm naplněnou stejnou látkou,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (5 + 15 + 80), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 256 nm.

Z chromatogramu porovnávacího roztoku se vypočítá poměr (R_1) výšky píku benzylalkoholu k výšce píku vnitřního standardu. Z chromatogramu zkoušeného roztoku se vypočítá poměr (R_2) výšky píku benzylalkoholu k výšce píku vnitřního standardu.

Obsah benzylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{0,0125 \cdot R_2}{m \cdot R_1},$$

v němž značí:

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Sodík. 11,3 % až 13,5 %, počítáno na vysušenou látku. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

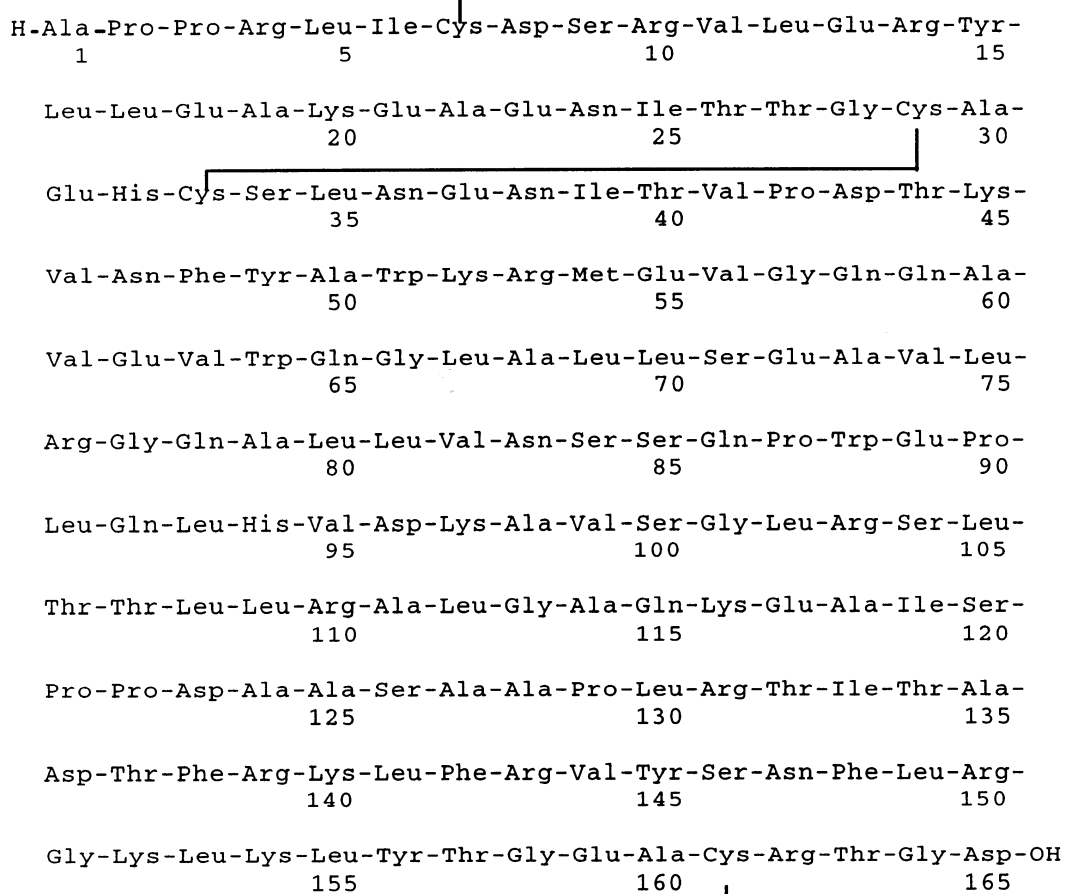
Uchovávání

Separandum.

4160 † *Erythropoietini solutio concentrata*† **Erythropoietini solutio concentrata**

Koncentrovaný roztok erythropoietinu

1999

 M_r asi 30 600

CAS 113427-24-0

Je to roztok obsahující skupinu blízce příbuzných glykoproteinů, které nejsou rozlišitelné od přirozeného lidského erythropoietinu (urinární erythropoetin), co se týká pořadí 165 aminokyselin a jejich průměrného profilu glykosylace, v koncentraci 0,5 mg/ml až 10 mg/ml. Může také obsahovat tlumivé soli a jiné pomocné látky. Má účinnost nejméně 100 000 m.j. v miligramu; stanoveno za podmínek uvedených v odstavcích Stanovení účinnosti a Bílkoviny.

Vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

Výroba

Erythropoetin se připravuje *in vitro* v buňkách hlodavců metodou založenou na rekombinaci DNK.

Před propuštěním se na každé šarži provedou následující zkoušky, pokud oprávněná autorita neudělí výjimku.

Bílkoviny hostitelské buňky. Požadavek stanoví oprávněná autorita.

DNK hostitelské buňky a vektoru. Požadavek stanoví oprávněná autorita.

Vlastnosti

Čirý nebo slabě opalizující bezbarvý roztok.

Zkoušky totožnosti

A. Při zkoušce za podmínek popsanych v odstavci Stanovení účinnosti dává příslušné odezvy.

B. Proveďte se izoelektrická fokusace.

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se odsolí vhodným postupem, např. se zředí *vodou R* tak, aby se získala koncentrace 1 mg/ml. Vhodný objem zředěného roztoku se přenesse do systému membránové filtrace pro odsolení bílkovin a vzorek se odsolí podle návodu výrobce. Odsolený vzorek se zředí na původní objem *vodou R*.

Porovnávací roztok (a). *Erythropoetin BRP* se rozpustí ve *vodě R* tak, aby získaná koncentrace byla 1 mg/ml. Proveďte se odsolení způsobem uvedeným pro zkoušený roztok.

Porovnávací roztok (b). Připraví se roztok pro kalibraci izoelektrického bodu o rozmezí pH 2,5 až 6,5 podle návodu výrobce.

Izoelektrická fokusace se provede na tenké vrstvě polyakrylamidového gelu o tloušťce vrstvy 0,5 mm obsahujícího amfolyty pokrývající pH v rozmezí 3 až 5, které se připraví následujícím způsobem. V lahvi s postranním tubusem se smíchá 9 g *močoviny R*, 6,0 ml *akrylamidu-bisakrylamidu (36,5 : 1) 30% RS*, 1,05 ml amfolytu (o pH 3 až 5), 0,45 ml amfolytu (o pH 3 až 10) a 13,5 ml *vody R*. Po odplynění se přidá 15 µl *tetramethylethylendiaminu R* a 0,3 ml čerstvě připraveného roztoku *peroxidisíranu diamonného R (100 g/l)*.

Gel se nalije do vhodného gelového rámečku o velikosti 15 cm x 15 cm x 0,05 cm, vloží se vhodný hřeben na vytváření jamek pro vzorky a nechá se polymerovat.

Jako anodický roztok se použije *anolyt pro izoelektrickou fokusaci o pH 3 až 5 R* a jako katodický roztok se použije *katolyt pro izoelektrickou fokusaci o pH 3 až 5 R*. Prefokusace probíhá 1 h při konstantním výkonu 10 W s nastaveným nejvyšším napětím 2000 V a proudem 100 mA.

Na vrstvu gelu se nanese odděleně po 15 µl každého roztoku. Fokusace pokračuje za stejných podmínek dalších 30 min. Gel se vyjme z fokusační komory a umístí se do 200 ml roztoku obsahujícího *kyselinu sulfosalicylovou R (35 g/l)* a *kyselinu trichloroctovou R (100 g/l)* v *odbarvacím roztoku RS*. Za mírného pohybu se odbarvuje 30 min při pokojové teplotě. Roztok se odstraní a přidá se opět 200 ml *odbarvacího roztoku RS*. Za pohybu se odbarvuje 1 h a pak se gel vysuší a přidá se 200 ml *barvicího roztoku modři kyselé RS*, nechá se stát 30 min a pak se odbarvuje pasivní difuzí v *odbarvacím roztoku RS*, dokud nejsou dobře zřetelné zóny na čirém pozadí.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozdělení zón na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b) odpovídá požadavkům výrobce na kalibraci izoelektrického bodu a elektroforeogram porovnávacího roztoku (a) odpovídá *referenčnímu elektroforeogramu Ph. Eur. izoforem eryt-*

4162 † *Erythropoietini solutio concentrata*

ropoetinu. Je-li to nutné, nastavování a trvání napětí se může měnit tak, aby došlo k optimálnímu rozdělení izoformem. Identifikují se zóny odpovídající izoformám 2 až 7.

Rozsah pH pásů na elektroforeogramu zkoušeného roztoku odpovídá elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a). Hlavní zóny odpovídají izoformám 4, 5 a 6. Slabší zóny odpovídající izoformám 2, 3 a 7 mohou být též přítomny. Jiné zóny mohou být přítomny ve stopovém množství.

C. Provede se elektroforéza na polyakrylamidovém gelu (2.2.31) a imunoblot (2.7.1).

Zkouška se provede na polyakrylamidovém gelu o síle 0,75 mm a ploše asi 16 cm². Rámeček na gel se složí podle návodu výrobce.

Separáční gel. V lahvi s postranním tubusem se smíchá 8,0 ml *akrylamidu-bisakrylamidu* (29 : 1) 30% RS, 5 ml *tlumivého roztoku trometamolového o pH 8,8* (1,5 mol/l), 6,6 ml *vody R* a 0,2 ml roztoku *laurylsíranu sodného R* (100 g/l). Po odplynění se přidá 8 µl *tetramethylethylendiaminu R* a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *peroxidisíranu diamonného R* (100 g/l).

Separáční gel se nanese do sestaveného zařízení a nechá se dostatečný prostor pro zaostřovací gel. Gelový roztok se překryje *2-propanolem R* a nechá se zpolymerovat.

Zaostřovací gel. V lahvi s postranním tubusem se smíchá 1,0 ml *akrylamidu-bisakrylamidu* (29 : 1) 30% RS, 0,75 ml *tlumivého roztoku trometamolového o pH 6,8* (1 mol/l), 4,1 ml *vody R* a 0,06 ml roztoku *laurylsíranu sodného R* (100 g/l). Po odplynění se přidá 6 µl *tetramethylethylendiaminu R* a 0,06 ml čerstvě připraveného roztoku *peroxidisíranu diamonného R* (100 g/l).

2-propanol R se odstraní ze zpolymerovaného separáčního gelu a na separáční gel se naleje roztok zaostřovacího gelu. Dobře se uzavře a nechá se polymerovat.

Roztok pro vzorky. Smíchají se stejné objemové díly *SDS-PAGE koncentrovaného roztoku pro vzorky RS* a *vody R*.

Zkoušený roztok (a). Zkoušený přípravek se zředí ve *vodě R* tak, aby výsledná koncentrace byla 1,0 mg/ml. K jednomu objemovému dílu tohoto roztoku se přidá stejný objemový díl *SDS-PAGE koncentrovaného roztoku pro vzorky RS*.

Zkoušený roztok (b). K 0,1 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 0,9 ml roztoku pro vzorky.

Porovnávací roztok (a). Obsah jedné ampule *erythropoetinu BRP* se rozpustí v 0,25 ml *vody R*. Přidá se stejný objemový díl *SDS-PAGE koncentrovaného roztoku pro vzorky RS*.

Porovnávací roztok (b). K 0,1 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,9 ml roztoku pro vzorky.

Porovnávací roztok (c). Použije se roztok standardů molekulových hmotností vhodných pro kalibraci *SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy* v rozmezí 10 kD do 70 kD.

Porovnávací roztok (d). Použije se roztok předbarvených standardů molekulových hmotností vhodných pro kalibraci *SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy* v rozmezí 10 kD až 70 kD a vhodných pro přenos elektronů na vhodnou membránu.

Připravený gel se vloží do přístroje a přidá se přiměřený objem *SDS-PAGE elektrodového roztoku RS*. Zkoušené a porovnávací roztoky uchovávané v dobře uzavřených zkumavkách se na 2 min vloží do vroucí vodní lázně. Po 20 µl každého roztoku se nanese do jamek zaostřovacího gelu v následujícím pořadí: porovnávací roztok (c), porovnávací roztok (a), zkoušený roztok (a), prázdná jamka, porovnávací roztok (b), zkoušený roztok (b), porovnávací roztok (d).

Elektroforéza probíhá za podmínek doporučených výrobcem zařízení. Na konci separace se vyjme rámeček a gel se rozdělí na dvě části. První část obsahuje porovnávací roztok (c), porovnávací roztok (a) a zkoušený roztok (a); druhá část obsahuje porovnávací roztok (b), zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (d).

První část gelu se umístí do *barvicího roztoku modři kyselé RS* a pohybuje se jím 1 h. Pak se gel přenesse do *odbarvovacího roztoku RS* a nechá se v něm odbarvovat za pohybu, dokud nejsou zřetelně viditelné zóny bílkoviny na čířém pozadí. Zkoušku lze hodnotit, jestliže bílkoviny standardů molekulových hmotností jsou rozděleny do zřetelně oddělených zón, s přibližně lineární závislostí vzdálenosti migrace na \log_{10} molekulové hmotnosti. Elektroforeogram zkoušeného roztoku (a) ukazuje jedinou difuzní zónu odpovídající polohou a intenzitou jediné zóně na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).

Druhá část gelu se vloží na membránu, která slouží k imobilizaci bílkovin, použije se komerčně dostupné zařízení pro elektroblot a postupuje se podle návodu výrobce. Po elektroblotu se membrána inkubuje 1 h až 2 h v neutrálním izotonickém tlumivém roztoku obsahujícím vhodné srážecí činidlo, např. sušené mléko (50 g/l) nebo fetální telecí sérum 10% (V/V), a poté následuje inkubace 1 h až 14 h ve stejném srážecím roztoku s vhodně naředěnou polyklonální nebo monoklonální anti-erythropoetinovou protilátkou. Erythropoetin vázaný na protilátku se deteguje za použití vhodné protilátky značené enzymem nebo radioaktivně vázaným zkomadlem (např. alkalická fosfatasa konjugovaná s druhou protilátkou). Přesné detaily o srážecích činidlech, koncentracích a inkubačních dobách by se měly optimalizovat za použití základních údajů popsaných v *Imunochemických metodách* (2.7.1).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (d) rozděleny zóny standardů molekulových hmotností do přesných zón, s přibližně lineární závislostí vzdálenosti migrace na \log_{10} molekulové hmotnosti.

Elektroforeogram zkoušeného roztoku (b) tvoří jedinou difuzní zónu odpovídající polohou a intenzitou zóně na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b).

D. Proveďte se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se zředí *tlumivým roztokem trisacetatovým o pH 8,5* na koncentraci 1,0 mg/ml. Rovnováha roztoku se upraví za použití *tlumivého roztoku trisacetatového o pH 8,5* vhodným postupem (např. dialýza do *tlumivého roztoku trisacetatového o pH 8,5* nebo membránová filtrace, která je popsána v odstavci Zkoušky totožnosti B, ale odsolený vzorek se rozpustí v *tlumivém roztoku trisacetatovém o pH 8,5*). Dialyzovaný roztok se převede do polypropylenové zkumavky na odstředování. 5 μ l čerstvě připraveného roztoku *trypsinu pro peptidové mapování R* (1 mg/ml) ve *vodě R* se přidá k 0,25 ml zkoušeného roztoku. Zkumavka se uzavře a vloží se na 18 h do vodní lázně 37 °C teplé. Potom se vzorek vyjme z vodní lázně a reakce se ihned přeruší zmrazením.

Porovnávací roztok. Obsah jedné ampule *erythropoietinu BRP* se rozpustí v 0,25 ml *vody R*. Dále se tento roztok zpracovává současně stejnými postupy a za stejných podmínek jako zkoušený roztok.

Oba enzymaticky štěpené roztoky se zkouší kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem butylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m až 10 μ m),
- mobilních fází:
 - *mobilní fáze A* - roztok *kyseliny trifluorctové R* 0,06 % (V/V),
 - *mobilní fáze B* - ke 100 ml *vody R* se přidá 0,6 ml *kyseliny trifluorctové R* a zředí se *acetonitrilem pro chromatografii R* na 1000 ml,
- elučních podmínek, které jsou uvedeny v následující tabulce (je-li nutné, gradient může být změněn, aby se zlepšilo rozdělení hydrolyzátu):

4164 † *Erythropoietini solutio concentrata*

Čas (min)	Průtoková rychlost (ml/min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 10	0,75	100	0	izokraticky
10 - 125	0,75	100 → 39	0 → 61	lineární gradient
125 - 135	1,25	39 → 17	31 → 83	lineární gradient
135 - 145	1,25	17 → 0	83 → 100	lineární gradient
145 - 150	1,25	100	0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Kolona se nejméně 15 min ustaluje za počátečních podmínek. Provede se slepá zkouška za výše zmíněného gradientu.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku a 50 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogramy jednotlivých roztoků kvalitativně odpovídají referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného erythropoietinu. Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

E. Provede se N-terminální sekvenční analýza.

Provede se Edmanovo odbourávání za použití automatického sekvetátoru v pevné fázi v souladu s návodem výrobce.

Odsolí se množství odpovídající 50 µg erythropoietinu, např. zředí se takový objemový díl zkoušeného přípravku odpovídající 50 µg účinné látky v 1 ml roztoku kyseliny trifluoroctové R 0,1% (V/V). Nejdříve se promyje preparativní kolona C18 reverzní fází podle doporučení výrobce a ustálí se v kyselině trifluoroctové R 0,1% (V/V). Přidá se vzorek na kolonu a promývá se postupně řadou směsí kyseliny trifluoroctové R 0,1% (V/V) s acetonitrilem R (0% (V/V), 10% (V/V) a 50% (V/V)) podle doporučení výrobce. 50% acetonitrilový eluát se lyofilizuje.

Odsolený vzorek se opět rozpustí v 50 µl kyseliny trifluoroctové R 0,1% (V/V) a převede se do dělicí kolony podle návodu výrobce. Nechá se probíhat 15 cyklů rozdělování, při druhém a třetím cyklu se použijí reakční podmínky pro prolin.

Při každém rozdělovacím cyklu se provede zkouška totožnosti aminokyselin uvolněných fenylothiohydantoinem (dále PTH-aminokyselin) reverzně fázovou kapalinovou chromatografií. Postup může být proveden za použití kolon a zkoumadel doporučených výrobcem zařízení na separaci PTH-aminokyselin.

Separční postup by měl být kalibrován za použití:

- směsi PTH-aminokyselin dodávaných výrobcem za podmínek gradientu nastavených, jak je uvedeno, k optimálnímu rozlišení všech aminokyselin,
- vzorku získaného ze slepého separačního cyklu podle doporučení výrobce zařízení.

Prvních 15 aminokyselin je:

alanin - prolin - prolin - arginin - leucin - isoleucin - (nereprodukovatelný pík) - kyselina asparagová - serin - arginin - valin - leucin - kyselina glutamová - arginin - tyrosin.

Zkoušky na čistotu

Bílkoviny. Stanoví se absorpční spektrofotometrií v ultrafialové oblasti (2.2.25).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se zředí roztokem hydrogenuhličitanu amonného R (4 g/l) na výslednou koncentraci 1 mg/ml.

Měří se absorbance při 250 nm až 400 nm. Roztok vykazuje absorpční maximum při 276 nm až 280 nm. Pro korekci možného rozptylu světla se měří zákal při 400 nm. Koncentrace erythropoietinu se vypočítá s použitím specifické absorbance, jejíž hodnota je 7,43. Koncentrace erythropoietinu je 80 % až 120 % deklarované koncentrace.

Dimery a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek se zředí mobilní fází na koncentraci 0,2 mg/ml.

Porovnávací roztok. K 0,02 ml zkoušeného roztoku se přidá 0,98 ml mobilní fáze.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,6 m a vnitřního průměru 7,5 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R*, jakosti vhodné pro dělení globulárních bílkovin o molekulové hmotnosti 20 000 až 200 000,
- *mobilní fáze* připravené následujícím způsobem: 1,15 g *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R*, 0,2 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 23,4 g *chloridu sodného R* se rozpustí v 1 l *vody R* [dihydrogenfosforečnan draselný (1,5 mmol/l), hydrogenfosforečnan sodný (8,1 mmol/l), chlorid sodný (0,4 mol/l), pH 7,4], je-li nutno, pH se upraví na hodnotu 7,4; průtoková rychlost je 0,5 ml/min
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku. Chromatogram se zaznamenává nejméně 1 h. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků eluovaných před hlavním píkem není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku je 1,5 % až 2,5 % plochy hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku.

Kyselina sialová.

Zkoušený roztok (a). Zkoušený přípravek se zředí mobilní fází, která byla použita ve zkoušce Dimery a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností, na koncentraci 0,3 mg/ml.

Zkoušený roztok (b). K 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 0,5 ml mobilní fáze, která byla použita ve zkoušce Dimery a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností.

Porovnávací roztok (a). Vhodné množství *kyseliny sialové R* se rozpustí ve *vodě R* na koncentraci 0,1 mg/ml.

Porovnávací roztok (b). K 0,8 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,2 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (c). K 0,6 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,4 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (d). K 0,4 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,6 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (e). K 0,2 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 0,8 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (f). Použije se *voda R*.

Provede se trojí stanovení. Převeďte se 100 µl každého zkoušeného a porovnávacího roztoku do 10 ml skleněných zkumavek. Do každé zkumavky se přidá 1,0 ml *zkoumadla resorcinolového R*. Zkumavky se uzavřou a nechají se 30 min při teplotě 100 °C. Po ochlazení ledem se do každé zkumavky přidají 2,0 ml směsi objemových dílů *butanolu R* a *octanu butylnatého R* (12 + 48). Intenzivně se promíchá a nechají se oddělit dvě fáze. Pokud je horní fáze zcela čirá, opatrně se oddělí spodní fáze a odstraní se. Měří se absorbance (2.2.25) všech roztoků při 580 nm. Z kalibrační křivky vytvořené porovnávacími roztoky se stanoví obsah kyseliny sialové v obou zkoušených roztocích a vypočítá se průměrná hodnota. Při výpočtu počtu molů kyseliny sialové v 1 molu erythropoietinu se bere v úvahu, že:

- molekulová hmotnost erythropoietinu je 30 600,

4166 † *Erythropoietini solutio concentrata*

- molekulová hmotnost kyseliny sialové je 309.

Zkoušený přípravek obsahuje nejméně 10 mol kyseliny sialové v 1 molu erythropoietinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže jednotlivé stanovení je v rozsahu $\pm 10\%$ a pokud hodnota porovnávacího roztoku (a) je 1,5násobek až 2,5násobek zkoušeného roztoku (a).

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 20 m.j. endotoxinu v objemu obsahujícím 100 000 m.j. erythropoietinu.

Stanovení účinnosti

Účinnost přípravku se porovnává s účinností *erythropoietinu BRP* a vyjadřuje se v mezinárodních jednotkách (m.j.).

Stanovená účinnost je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Meze spolehlivosti stanovené účinnosti ($P = 0,95$) jsou 64 % až 156 % deklarované účinnosti.

Stanovení účinnosti se provede metodou A nebo B.

A. Na polycytémických myších

Účinnost přípravku se stanoví v daných podmínkách hodnocením jeho působení na stimulaci příjmu ^{59}Fe červených krvinek myši, které byly vystaveny sníženému atmosférickému tlaku a staly se polycytémickými.

Následující plán, užívající podtlakovou komoru, se ukázal být vhodným.

Polycytémie se vyvolá u samic myši stejného kmene a hmotnosti 16 g až 18 g. Samice myši se umístí do podtlakové komory o tlaku 0,6 atm. Po 3 dnech při 0,6 atm se tlak sníží na 0,4 atm až 0,5 atm, při kterém se zvířata nechají dalších 11 dní. (Částečné vakuum je denně přerušeno na maximálně 1 h okolo 11.00 h k zajištění úklidu klecí a potravy pro zvířata.) Po skončení tohoto specifického období se myši vrátí do normálních atmosférických podmínek. Namátkově se rozdělí do klecí po šesti zvířatech a označí se.

Zkoušený roztok (a). Zkoušený přípravek se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnan-albuminovém o pH 7,2 (1)* na koncentraci 0,2 m.j./ml.

Zkoušený roztok (b). Smíchají se stejné objemové díly zkoušeného roztoku (a) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Zkoušený roztok (c). Smíchají se stejné objemové díly zkoušeného roztoku (b) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Porovnávací roztok (a). *Erythropoetin BRP* se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnan-albuminovém o pH 7,2 (1)* na koncentraci 0,2 m.j./ml.

Porovnávací roztok (b). Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (a) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Porovnávací roztok (c) Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (b) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Radioaktivně značený roztok chloridu železitého (koncentrovaný) ^{59}Fe . Použije se vyráběný ^{59}Fe -chlorid železitý (o specifické aktivitě 100 MBq až 1000 MBq na miligram Fe).

Radioaktivně značený roztok chloridu železitého ^{59}Fe . Radioaktivně značený koncentrovaný roztok chloridu železitého se zředí *tlumivým roztokem citronanovým o pH 7,8* na aktivitu $3,7 \times 10^4$ Bq/ml.

Koncentrace zkoušených roztoků a porovnávacích roztoků se mohou změnit podle odezvy použitých zvířat.

Tři dny po návratu zvířat do atmosférického tlaku se každému zvířeti podkožně vstříkne 0,2 ml jednoho roztoku. Ze šesti zvířat v každé kleci se každému zvířeti podá jeden ze šesti různých

roztoků (3 zkoušené roztoky a 3 porovnávací roztoky) a pořadí injekcí by mělo být pro každou klec náhodně určeno. Nejméně se doporučuje $n = \text{osm}$ (osm klecí).

Dva dny po injekci zkoušeného nebo porovnávacího roztoku se každému zvířeti intraperitoneálně vstříkne 0,2 ml radioaktivně značeného roztoku chloridu železitého ^{59}Fe . Pořadí injekcí je stejné jako při podání erythropoetinu a doba mezi podáním erythropoetinu a radioaktivně značeného roztoku chloridu železitého je pro každé zvíře stejná.

Za dalších 48 h se každé zvíře uspí injekcí vhodného anestetika, zaznamená se tělesná hmotnost a z rozvětvení aorty se odeberou vzorky krve (0,65 ml) do hematokritových kapilár. Po určení objemu sražených buněk se změní radioaktivita každého vzorku.

Pro každou myš se vypočítá odezva (% ^{59}Fe v celkovém krevním oběhu) podle vztahu:

$$\frac{A_s \cdot M \cdot 7,5}{A_t \cdot V_s},$$

v němž značí:

A_s - radioaktivitu vzorku,

A_t - celkovou podanou aktivitu,

7,5 - celkový objem krve v procentech tělesné hmotnosti,

M - tělesnou hmotnost v gramech,

V_s - objem vzorku.

Účinnost se vypočítá obvyklými statistickými metodami vhodnými pro model rovnoběžnosti. Z výpočtu se vyloučí zvíře, jehož objem sražených buněk je méně než 54 % nebo tělesná hmotnost je více než 24 g.

B. Na normocytémických myších

Zkouška je založena na měření stimulace tvorby retikulocytů u normocytémických myší.

Zkouška se může provést následujícím postupem:

Zkoušený roztok (a). Zkoušený přípravek se zředí *tlumivým roztokem fosforečnan-albuminovým o pH 7,2 (1)* na koncentraci 80 m.j./ml.

Zkoušený roztok (b). Smíchají se stejné objemové díly zkoušeného roztoku (a) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Zkoušený roztok (c). Smíchají se stejné objemové díly zkoušeného roztoku (b) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Porovnávací roztok (a). *Erythropoetin BRP* se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnan-albuminovém o pH 7,2 (1)* na koncentraci 80 m.j./ml.

Porovnávací roztok (b). Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (a) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Porovnávací roztok (c). Smíchají se stejné objemové díly porovnávacího roztoku (b) a *tlumivého roztoku fosforečnan-albuminového o pH 7,2 (1)*.

Přesné koncentrace zkoušených roztoků a porovnávacích roztoků se mohou změnit podle odezvy použitých zvířat.

Na začátku zkoušení se náhodně rozdělí myši vhodného věku a kmene (jsou vhodné 8 týdnů staré myši B6D2F1) do šesti klecí. Doporučuje se nejméně $n = 8$ (počet myší v kleci). Každému zvířeti se podkožně vstříkne 0,5 ml příslušného roztoku (1 roztok na klec) a zvíře se umístí v nové kleci. Myši se střídají tak, aby každá klec obsahovala šest myší, z nichž každé byl podán jiný roztok (tj. jeden ze tří zkoušených nebo tří porovnávacích roztoků).

4168 † *Estriolum*

Za 4 dny po injekci se odeberou vzorky krve zvířat a stanoví se počet retikulocytů vhodným způsobem. Může se použít následující metoda:

Objem krve, postup ředění a fluorescenční látka mohou být změněny k dosažení maximální a stabilní fluorescence.

Barvicí roztok (koncentrovaný). Použije se roztok thiazolové oranže vhodné pro stanovení retikulocytů. Připraví se dvojnásobná koncentrace, než je třeba pro analýzu.

Provádí se následující ředění. Plná krev se 500krát zředí tlumivým roztokem použitým k přípravě barvicího roztoku. Tento roztok se koncentrovaným barvicím roztokem zředí na dvojnásobný objem. Po 3 min až 10 min barvení se stanoví mikrofluorimetry počet retikulocytů v průtokovém cytometru. Procento retikulocytů se určí použitím biparametrického histogramu: počet buněk a červená fluorescence F1 (620 nm).

Účinnost se vypočítá obvyklými statistickými metodami pro model rovnoběžnosti.

Uchovávání

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech při teplotě pod $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Je třeba se vyvarovat opakovaného zmrazení a rozmrazení.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

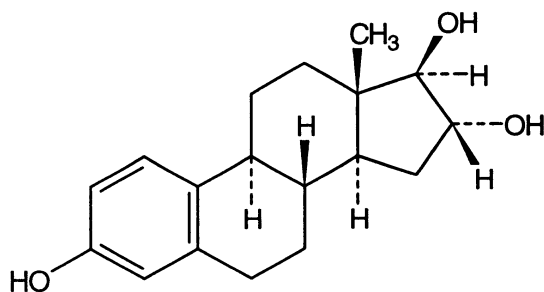
- obsah erythropoetinu v miligramech na mililitr,
- účinnost v mezinárodních jednotkách na mililitr,
- název a koncentrace pomocných látek.

†† Estriolum

Estriol



1999



$\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$

M_r 288,39

CAS 50-27-1

Je to 1,3,5(10)-estratrien-3,16 α ,17 β -triol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 282 °C.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *estriolu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *estriolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *estradiolu hemihydrátu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *lihu 96% R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS*. Deska se pak při 100 °C zahřívá 10 min nebo do objevení skvrn. Po ochlazení se pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se při pozorování v denním světle shoduje polohou, barvou a velikostí a při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm fluorescencí a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +60° až +65°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 80 mg v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Směs rozpouštědel. Směs objemových dílů *2-propanolu R1* a *heptanu R* (20 + 80).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v 5 ml *2-propanolu R1* a zředí se směsí rozpouštědel na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *estriolu CRL* a 2,0 mg *estriolu nečistoty A CRL* se rozpustí v 5 ml *2-propanolu R1* a zředí se směsí rozpouštědel na 10 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí rozpouštědel na 10,0 ml.

1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii, diolem R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
 - mobilní fáze A - *heptan R*,
 - mobilní fáze B - *2-propanol R1*.
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

4170 † *Estriolum*

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 10	95 → 88	5 → 12	lineární gradient
10 - 20	88	12	izokraticky
20 - 30	88 → 95	12 → 5	přepnutí na původní podmínky
30 - 35	95	5	ustavení rovnováhy
35 = 0	95	5	začátek dalšího chromatogramu

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se ustaluje 20% směsí 2-*propanolu R1* v *heptanu R*, dokud se nezíská stabilní základní linie.

Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 20 µl byla asi 25 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: estriolu asi 19 min a estriolu nečistoty A asi 21 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem estriolu a píkem estriolu nečistoty A je nejméně 2,2. Jestliže se retenční časy zvyšují nebo rozlišení klesá, promyje se kolona nejprve *acetone R* a potom *heptanem R*.

Nastříkne se odděleně 20 µl směsi rozpouštědel jako slepá zkouška, 20 µl zkoušeného roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (a) a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku estriolu nečistoty A není větší než polovina plochy píku estriolu nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %) a plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího estriolu nečistotě A, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům odpovídajícím slepé zkoušce a píkům s plochou menší, než je 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

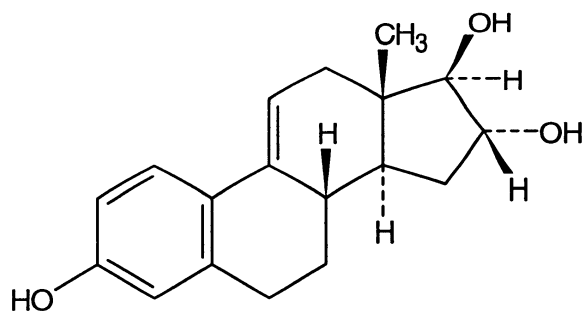
Stanovení obsahu

25,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml. Změří se absorbance (2.2.25) v maximu při 281 nm. Vypočítá se obsah C₁₈H₂₄O₃. Specifický absorpční koeficient je 72,5.

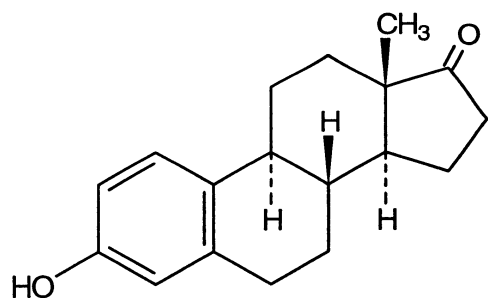
Uchovávání

Venenum.

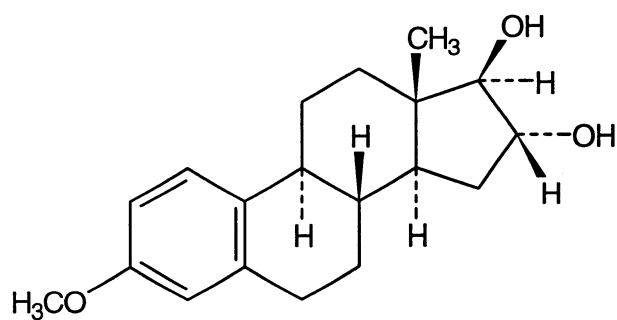
Nečistoty



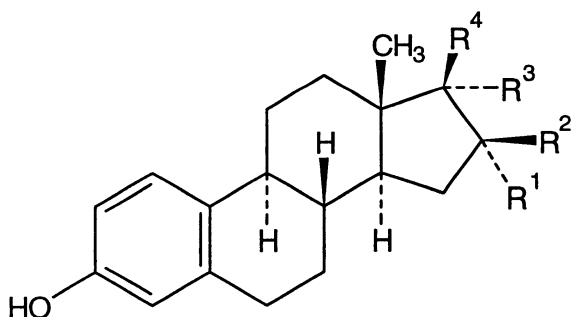
A. 9,11-didehydroestriol,



B. estron,



C. 3-methylether estradiolu,

4172 † *Etamsylatum*

D. R¹ = R² = R³ = H, R⁴ = OH: estradiol,

E. R¹ = R³ = OH, R² = R⁴ = H: 17-epi-estriol,

F. R¹ = R³ = H, R² = R⁴ = OH: 16-epi-estriol,

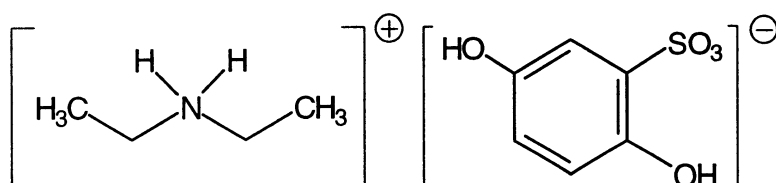
G. R¹ = R⁴ = H, R² = R³ = OH: 16,17-epi-estriol.

† **Etamsylatum**

Etamsylat



1998

C₁₀H₁₇NO₅SM_r 263,33

CAS 2624-44-4

Je to diethylamonium-2,5-dihydroxybenzensulfonat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₀H₁₇NO₅S.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v ethanolu a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14) je 127 °C až 134 °C.

- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *etamsylatu CRL*.
- C.** 0,100 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 200,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Měří se ihned absorbance roztoku (2.2.25) při 210 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 221 nm a 301 nm. Specifická absorbance v maximu při 301 nm je 145 až 151.
- D.** K 2 ml čerstvě připraveného roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se ve zkumavce přidá 0,5 g *hydroxidu sodného R*. Směs se zahřívá a k otevřenému konci zkumavky se umístí navlhčený proužek *papíru lakmusového červeného R*; zbarvení papíru se změní na modré.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Čerstvě připravený roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 5,6; měří se roztok S.

Hydrochinon. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *hydrochinonu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku, při nanášení se skvrny na startu suší proudem chladného vzduchu. Vyvíjí se směsí objemových dílů *dichlormethanu R*, *methylacetatu R* a *ethylacetatu R* (20 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší proudem horkého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Skvrna odpovídající hydrochinonu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (15 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1,5 ml základního *roztoku olova* (10 μ g Pb/ml).

Železo (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μ g/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

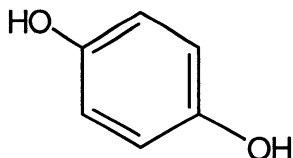
0,200 g se rozpustí ve směsi 10 ml *vody R* a 40 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a titruje se *síranem ceričitým 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1,0 ml *síranu ceričitého 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,16 mg $C_{10}H_{17}NO_5S$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

4174 *Ethanolum 96% (V/V)***Nečistoty**

A. 1,4-benzendiol (hydrochinon).

Ethanolum 96% (V/V)

Ethanol 96% (V/V)

Synonyma. Spiritus 96% (V/V), líh 96% (V/V)



1999

 C_2H_6O M_r 46,07

CAS 64-17-5

Obsahuje 95,1 % (V/V) až 96,9 % (V/V) (odpovídá 92,6 % (m/m) až 95,2 % (m/m)) sloučeniny C_2H_6O při 20 °C a vodu.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkavá snadno zápalná kapalina. Je hygroskopický, mísitelný s vodou a dichlormethanem. Hoří modrým bezdýmým plamenem.

Teplota varu je asi 78 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Relativní hustota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. bezvodého ethanolu*.

C. Ve zkumavce se smíchá 0,1 ml s 1 ml roztoku *manganistanu draselného R* (10 g/l) a s 0,2 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Ihned se přikryje filtračním papírem navlhčeným čerstvě připraveným roztokem obsahujícím 0,1 g *nitroprussidu sodného R* a 0,5 g *piperazinu hexahydrátu R* v 5 ml *vody R*. Po několika minutách se na papíře objeví intenzivně modré zbarvení, které zbledne po 10 min až 15 min.

D. K 0,5 ml se přidá 5 ml *vody R*, 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a potom pomalu 2 ml *jodu 0,05 mol/l RS*; během 30 min se vytvoří žlutá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*) v porovnání s vodou R. 1,0 ml se zředí vodou R na 20 ml; po 5 min zůstává roztok čirý v porovnání s vodou R (2.2.1).

Kysele nebo zásadité reagující látky. K 20 ml se přidá 20 ml vody prosté oxidu uhličitého R a 0,1 ml fenolftaleinu RS; roztok je bezbarvý. Přidá se 1,0 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je růžový (30 µg/ml, vyjádřeno jako kyselina octová).

Relativní hustota (2.2.5). 0,8051 až 0,8124.

Absorbance. Měří se absorbance zkoušené látky při 235 nm až 340 nm (2.2.25) v 5cm kyvetě za použití vody R jako kontrolní tekutiny. Při 240 nm je absorbance nejvýše 0,40, při 250 nm až 260 nm je nejvýše 0,30 a při 270 nm až 340 nm je nejvýše 0,10. Absorpční křivka má hladký průběh.

Těkavé nečistoty. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok (a). Použije se zkoušená látka.

Zkoušený roztok (b). K 500,0 ml zkoušené látky se přidá 150 µl 4-methyl-2-pentanolu R.

Porovnávací roztok (a). 100 µl methanolu bezvodého R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 50 µl methanolu bezvodého R a 50 µl acetaldehydu R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 150 µl acetalu R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 100 µl benzenu R se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými poly[(fenyl)(kvanopropyl)][dimethyl]siloxanem R (tloušťka filmu 1,8 µm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
s následujícím programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 12	40	10	izotermicky
	12 - 32	40 → 240		lineární gradient
	32 - 42	240		izotermicky
Nástříkový prostor		280		
Detektor		280		

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou pík elujících před hlavním píkem (acetaldehyd, methanol) byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (acetaldehyd) a druhým píkem (methanol) je nejméně 2,0. Je-li třeba, sníží se počáteční teplota kolony.

4176 Ethanolum 96% (V/V)

Nastříkne se po 1 μl každého roztoku. Plocha píku odpovídajícího methanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (200 $\mu\text{l/ml}$).

Vypočte se součet obsahů acetaldehydu a acetalu ($\mu\text{l/ml}$) z ploch odpovídajících píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{10 \cdot A_E}{A_T - A_E} + \frac{10 \cdot C_E}{C_T - C_E},$$

v němž značí:

A_E - plochu píku acetaldehydu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

A_T - plochu píku acetaldehydu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),

C_E - plochu píku acetalu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

C_T - plochu píku acetalu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Součet obsahů acetaldehydu a acetalu je nejvýše 10 $\mu\text{l/ml}$, vyjádřeno jako acetaldehyd.

Vypočte se obsah benzenu ($\mu\text{l/ml}$) z plochy odpovídajícího píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{B_E}{B_T - B_E},$$

v němž značí:

B_E - plochu píku benzenu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

B_T - plochu píku benzenu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Je-li třeba, totožnost benzenu může být potvrzena užitím jiného vhodného chromatografického systému (stacionární fáze s odlišnou polaritou).

Obsah benzenu je nejvýše 2 $\mu\text{l/ml}$.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků odpovídajících methanolu, acetaldehydu, acetalu a benzenu, není větší než plocha píku odpovídajícího 4-methyl-2-pentanolu (300 $\mu\text{l/ml}$). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,03násobek píku odpovídajícího 4-methyl-2-pentanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

Zbytek po odpaření. 100,0 ml se odpaří na vodní lázni do sucha a suší se 1 h při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 2,5 mg (25 $\mu\text{g/ml}$).

Uchovávání

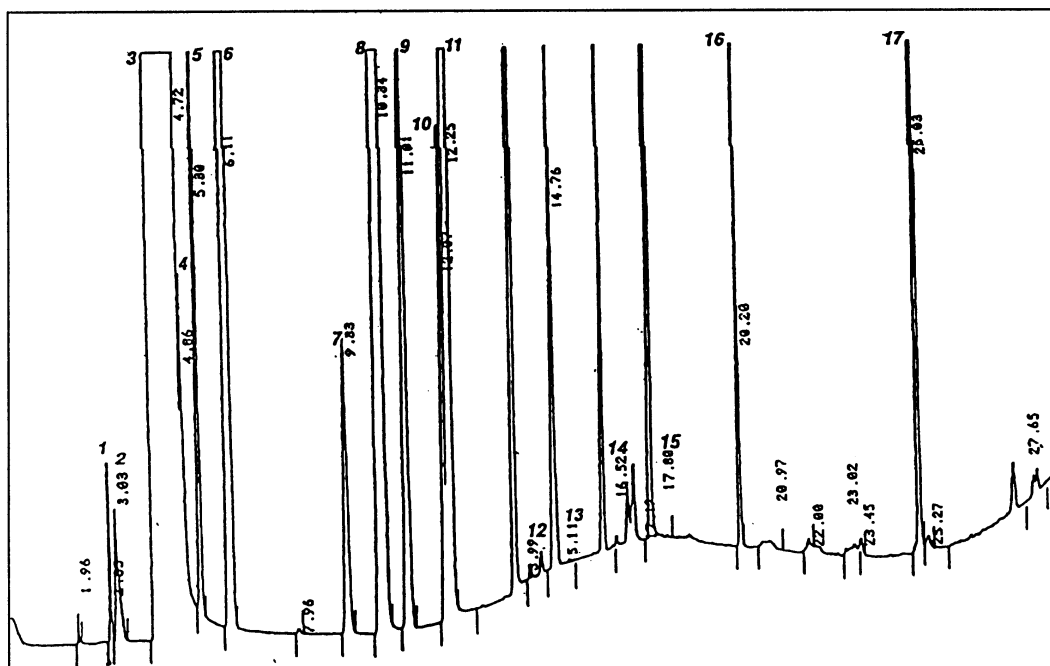
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

- A. 1,1-diethoxyethan (acetal),
- B. acetaldehyd,
- C. aceton,
- D. benzen,
- E. cyklohexan,
- F. methanol,
- G. 2-butanon (ethylmethylketon),
- H. 4-methyl-2-pentanon (isobutylmethylketon),

- I. propanol,
- J. 2-propanol,
- K. butanol,
- L. 2-butanol,
- M. 2-methylpropanol (isobutanol),
- N. 2-furankarbaldehyd (furfural),
- O. 2-methyl-2-propanol (terc. butylalkohol),
- P. 2-methyl-2-butanol,
- Q. 2-pentanol,
- R. pentanol,
- S. hexanol,
- T. 2-heptanol,
- U. 2-hexanol,
- V. 3-hexanol.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Těživé nečistoty: směs ethanolu a 16 nečistot

- | | |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1. acetaldehyd | 10. benzen |
| 2. methanol | 11. 2-methylpropanol |
| 3. ethanol | 12. butanol |
| 4. aceton | 13. 1,1-diethoxyethan (acetal) |
| 5. 2-propanol | 14. 4-methyl-2-pentanon (isobutylmethylketon) |
| 6. 2-methyl-2-propanol (terc. butylalkohol) | 15. pentanol |
| 7. 2-butanon (ethylmethylketon) | 16. 2-furankarbaldehyd (furfural) |
| 8. 2-butanol | 17. oktanol |
| 9. cyklohexan | |

4178 *Ethanolum 85%*

Ethanolum 85%

N

Ethanol 85%

Synonyma. Spiritus concentratus, líh 85%

Obsahuje nejméně 83,5 % (88,3 % V/V) a nejvýše 86,5 % (90,7 % V/V) sloučeniny C₂H₆O.

Příprava

Ethanolum 96% (V/V) 905 g

Aqua purificata ad 1000 g

Množství ethanolu 96% (V/V) se upraví podle skutečného obsahu C₂H₆O.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkává snadno zápalná kapalina.

Zkoušky totožnosti

A. Hustota (2.2.5). ρ_{20} : 834,70 kg/m³ až 827,11 kg/m³ (d_{20}^{20} : 0,8362 až 0,8286).

B. 2 ml se smíchají s 1 ml *kyseliny octové R* a 2 ml *kyseliny sírové R*; je cítit pach ethylacetatu.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*).

Stanovení obsahu

Ethanol. Stanoví se z hustoty, viz Zkoušky totožnosti, podle *Tabulky závislosti hustoty na obsahu ethanolu (5.5)*.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Ethanolum 60% 4179

Ethanolum 60%**N**

Ethanol 60%

Synonyma. Spiritus dilutus, líh 60%

Obsahuje nejméně 58,5 % (66,3 % V/V) a nejvýše 61,5 % (69,2 % V/V) sloučeniny C₂H₆O.

Příprava

Ethanolum 96% (V/V) 639 g

Aqua purificata ad 1000 g

Množství ethanolu 96% (V/V) se upraví podle skutečného obsahu C₂H₆O.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkavá snadno zápalná kapalina.

Zkoušky totožnosti

A. Hustota (2.2.5). ρ_{20} : 894,59 kg/m³ až 887,60 kg/m³ (d_{20}^{20} : 0,8962 až 0,8892).

B. 2 ml se smíchají s 1 ml *kyseliny octové R* a 2 ml *kyseliny sírové R*; je cítit pach ethylacetatu.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*).

Stanovení obsahu

Ethanol. Stanoví se z hustoty, viz Zkoušky totožnosti, podle *Tabulky závislosti hustoty na obsahu ethanolu (5.5)*.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

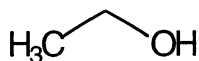
4180 *Ethanolum anhydricum*

Ethanolum anhydricum

Bezvodý ethanol

Synonyma. Spiritus absolutus, bezvodý líh

1999

 C_2H_6O M_r 46,07

CAS 64-17-5

Obsahuje nejméně 99,5 % (V/V) (99,2 % (m/m)) sloučeniny C_2H_6O při 20 °C.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkává snadno zápalná kapalina. Je hygroskopický, mísitelný s vodou a dichlormethanem. Hoří modrým bezdýmým plamenem.

Teplota varu je asi 78 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Relativní hustota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s *referenčním spektrem Ph. Eur. bezvodého ethanolu*.
- C. Ve zkumavce se smíchá 0,1 ml s 1 ml roztoku *manganistanu draselného R* (10 g/l) a s 0,2 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Ihned se přikryje filtračním papírem navlhčeným čerstvě připraveným roztokem obsahujícím 0,1 g *nitroprussidu sodného R* a 0,5 g *piperazinu hexahydrátu R* v 5 ml *vody R*. Po několika minutách se na papíře objeví intenzivně modré zbarvení, které zbledne po 10 min až 15 min.
- D. K 0,5 ml se přidá 5 ml *vody R*, 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a potom pomalu 2 ml *jodu 0,05 mol/l RS*; během 30 min se vytvoří žlutá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a bezbarvá (2.2.2, *Metoda II*) v porovnání s *vodou R*. 1,0 ml se zředí *vodou R* na 20 ml; po 5 min zůstává roztok čirý v porovnání s *vodou R* (2.2.1).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 20 ml se přidá 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Přidá se 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je růžový (30 µg/ml, vyjádřeno jako kyselina octová).

Relativní hustota (2.2.5). 0,7907 až 0,7932.

Absorbance. Měří se absorbance zkoušené látky při 235 nm až 340 nm (2.2.25) v 5cm kyvetě za použití *vody R* jako kontrolní tekutiny. Při 240 nm je absorbance nejvýše 0,40, při 250 nm

až 260 nm je nejvýše 0,30 a při 270 nm až 340 nm je nejvýše 0,10. Absorpční křivka má hladký průběh.

Těkavé nečistoty. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok (a). Použije se zkoušená látka.

Zkoušený roztok (b). K 500,0 ml zkoušené látky se přidá 150 µl 4-methyl-2-pentanolu R.

Porovnávací roztok (a). 100 µl methanolu bezvodého R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 50 µl methanolu bezvodého R a 50 µl acetaldehydu R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 150 µl acetalu R se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 100 µl benzenu R se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml. 100 µl tohoto roztoku se zředí zkoušenou látkou na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými poly[(fenyl)(kvanopropyl)][dimethyl]siloxanem R (tloušťka filmu 1,8 µm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
s následujícím programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 12	40		izotermicky
	12 - 32	40 → 240	10	lineární gradient
	32 - 42	240		izotermicky
Nástříkový prostor		280		
Detektor		280		

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou píků eluujících před hlavním píkem (acetaldehyd, methanol) byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (acetaldehyd) a druhým píkem (methanol) je nejméně 2,0. Je-li třeba, sníží se počáteční teplota kolony.

Nastříkne se po 1 µl každého roztoku. Plocha píku odpovídajícího methanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (200 µl/ml).

Vypočte se součet obsahů acetaldehydu a acetalu (µl/ml) z ploch odpovídajících píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{10 \cdot A_E}{A_T - A_E} + \frac{10 \cdot C_E}{C_T - C_E},$$

v němž značí:

A_E - plochu píku acetaldehydu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

A_T - plochu píku acetaldehydu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),

C_E - plochu píku acetalu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

C_T - plochu píku acetalu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

4182 *Ethanolum anhydricum*

Součet obsahů acetaldehydu a acetalu je nejvýše 10 µl/ml, vyjádřeno jako acetaldehyd.

Vypočte se obsah benzenu (µl/ml) z plochy odpovídajícího píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{B_E}{B_T - B_E},$$

v němž značí:

B_E - plochu píku benzenu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

B_T - plochu píku benzenu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Je-li třeba, totožnost benzenu může být potvrzena užitím jiného vhodného chromatografického systému (stacionární fáze s odlišnou polaritou).

Obsah benzenu je nejvýše 2 µl/ml.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků odpovídajících methanolu, acetaldehydu, acetalu a benzenu, není větší než plocha píku odpovídajícího 4-methyl-2-pentanolu (300 µl/ml). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,03násobek píku odpovídajícího 4-methyl-2-pentanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

Zbytek po odpaření. 100,0 ml se odpaří na vodní lázni do sucha a suší se 1 h při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 2,5 mg (25 µg/ml).

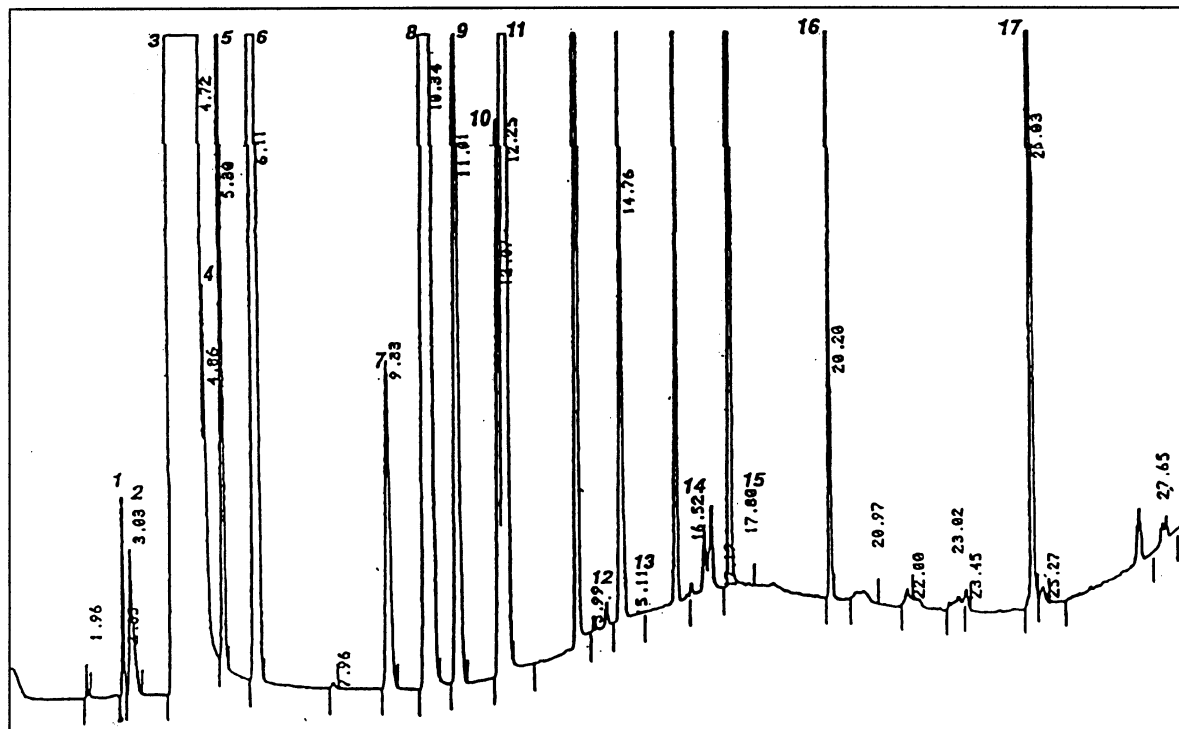
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

- A. 1,1-diethoxyethan (acetal),
- B. acetaldehyd,
- C. aceton,
- D. benzen,
- E. cyklohexan,
- F. methanol,
- G. 2-butanon (ethylmethylketon),
- H. 4-methyl-2-pentanon (isobutylmethylketon),
- I. propanol,
- J. 2-propanol,
- K. butanol,
- L. 2-butanol,
- M. 2-methylpropanol (isobutanol),
- N. 2-furankarbaldehyd (furfural),
- O. 2-methyl-2-propanol (terc. butylalkohol),
- P. 2-methyl-2-butanol,
- Q. 2-pentanol,
- R. pentanol,
- S. hexanol,
- T. 2-heptanol,
- U. 2-hexanol,
- V. 3-hexanol.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Těkávé nečistoty: směs ethanolu a 16 nečistot

- | | |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1. acetaldehyd | 10. benzen |
| 2. methanol | 11. 2-methylpropanol |
| 3. ethanol | 12. butanol |
| 4. aceton | 13. 1,1-diethoxyethan (acetal) |
| 5. 2-propanol | 14. 4-methyl-2-pentanon (isobutylmethylketon) |
| 6. 2-methyl-2-propanol (terc. butylalkohol) | 15. pentanol |
| 7. 2-butanon (ethylmethylketon) | 16. 2-furankarbaldehyd (furfural) |
| 8. 2-butanol | 17. oktanol |
| 9. cyklohexan | |

4184 *Ethanolum benzino denaturatum*

Ethanolum benzino denaturatum

N

Ethanol denaturovaný benzinem

Synonymum. Líh denaturovaný benzinem

Je to ethanol 96% (V/V) s přidavkem lékařského benzínu jako denaturačního prostředku. Obsahuje 1,0 % až 1,2 % benzínu.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina páchnoucí po ethanolu a slabě po benzinu. Je těkavý a snadno zápalný, mísitelný s etherem a chloroformem.

Zkoušky totožnosti

- A. 2 ml se smíchají s 1 ml *kyseliny octové ledové R* a 2 ml *kyseliny sírové R*; je cítit pach ethylesteru kyseliny octové.
- B. 15 ml se smíchá s 35 ml *vody R* 30 °C teplé a protřepe se. Směs se zakalí. Je patrný slabý pach benzínu.
- C. Relativní hustota. $d_{20}^{20} = 0,800$ až 0,808.

Zkoušky na čistotu

Volné kyseliny. 10,0 ml se zředí 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a 0,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; vznikne červené zbarvení stálé nejméně 30 s (30 mg/l, počítáno jako kyselina octová).

Těžké kovy (2.4.8). 8 ml se zředí *vodou R* na 25 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce A na těžké kovy (5 mg/l). Není-li roztok po naředění čirý, zfiltruje se vhodným filtrem a doplní se na předepsaný objem *vodou R*. K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). 2 ml vyhovují zkoušce na železo (5 mg/l).

Methanol. Nejvýše 0,025 % (V/V). Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Poměr plochy píku odpovídajícího methanolu k ploše píku odpovídajícího 1-propanolu na chromatogramu zkoušené látky není větší než polovina téhož poměru na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zbytek po odpaření. 50 ml se odpaří v předem zvážené odpařovací misce na vodní lázni do sucha. Zbytek sušený 30 min při 105 °C váží nejvýše 0,001 g (20 mg/l).

Stanovení obsahu

Benzin. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití 1-propanolu *R* jako vnitřního standardu.

Zkoušený roztok. 1,0 ml 1-propanolu *R* se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. Do 100ml odměrné baňky se odměří 1,0 ml 1-propanolu R, 1,0 ml benzínu lékařského R a asi 80 ml lihu 96% R. Potom se přidá 25 µl methanolu R tak, aby konec jehly dávkovače byl ponořen pod hladinou. Obsah baňky se doplní lihem 96% R po značku a dobře se promíchá.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2,5 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R (125 µm až 150 µm),
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 50 ml/min,
- teploty kolony 120 °C až 220 °C s teplotním nárůstem 6 °C/min,
- teploty nástřikového prostoru a teploty detektoru 240 °C,
- plamenioionizačního detektoru.

Nastříkne se odděleně 2,5 µl zkoušeného roztoku a 2,5 µl porovnávacího roztoku a při vhodné citlivosti se zaznamenají chromatogramy. Pořadí píků na chromatogramu porovnávacího roztoku je: methanol, ethanol, propanol a skupina píků odpovídajících benzínu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma po sobě jdoucími píky je nejméně 2,0, s výjimkou píků odpovídajících benzínu (při vyhodnocování se sčítají), viz charakteristický chromatogram na obrázku 1.

Obsah benzínu v procentech (V/V) se vypočte podle vzorce:

$$\frac{P_S \cdot P'_P \cdot C_{BL}}{P'_S \cdot P_P},$$

v němž značí:

C_{BL} - koncentraci lékařského benzínu v procentech (V/V) v porovnávacím roztoku,

P_S - součet ploch všech píků, kromě píků odpovídajících ethanolu, 1-propanolu a methanolu, na chromatogramu zkoušeného roztoku,

P_P - plochu píku odpovídajícího propanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

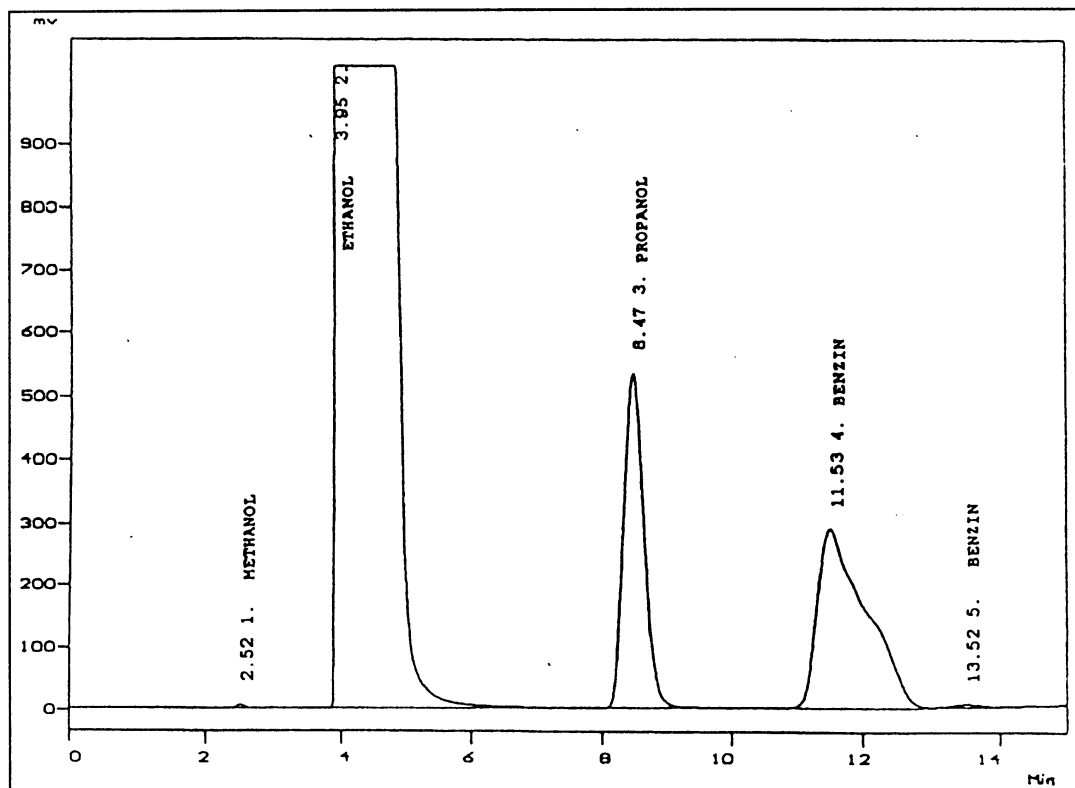
P'_S - součet ploch všech píků, kromě píků odpovídajících ethanolu, 1-propanolu a methanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

P'_P - plochu píku odpovídajícího 1-propanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Chromatogramy se použijí také ke zkoušce Methanol.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech. Je to hořlavina I. nebezpečnostní třídy.

4186 *Ethylis oleas*

Obr. 1. Charakteristický chromatogram pro Stanovení obsahu benzínu a zkoušku na čistotu Methanol v ethanolu denaturovaném benzínem

Ethylis oleas

Ethyloleat

Synonymum. Ethylum oleicum



1999

$C_{20}H_{38}O_2$

M_r 310,52

CAS 111-62-6

Je to směs ethylesterů mastných kyselin, hlavně kyseliny olejové. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

Výroba

Je-li ethyloleat získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné authority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Čirá světle žlutá nebo bezbarvá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96%, dichlormethanem a etherem petrolejovým (40 °C až 60 °C).

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Relativní hustota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Obsah kyseliny olejové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,866 až 0,874.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). 75 až 90.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 177 až 188; stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

Obsah kyseliny olejové. Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). Frakce mastných kyselin obsahuje nejméně 60,0 % kyseliny olejové.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

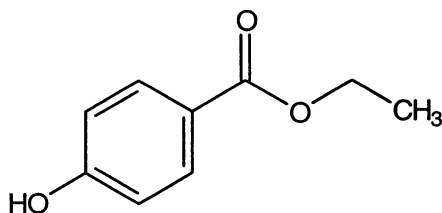
- název a koncentrace přidaného antioxidačního činidla, pokud bylo přidáno.

4188 *Ethylparabenum*

Ethylparabenum

Ethylparaben

1999

Synonymum. Ethylis parahydroxybenzoas $C_9H_{10}O_3$ M_r 166,18

CAS 120-47-8

Je to ethyl-4-hydroxybenzoat. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_9H_{10}O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 115 °C až 118 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *ethylparabenu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané při zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

D. K asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*, zahřeje se k varu na 30 s a ochladí (roztok a). K dalším asi 10 mg v podobné zkumavce se přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*; látka se částečně rozpustí (roztok b). K roztokům (a) a (b) se současně přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS* a promíchá se; roztok (b) je žlutý až oranžově hnědý; roztok (a) je oranžový až červený a jeho zbarvení je zřetelně intenzivnější než zbarvení roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselce reagující látky. Ke 2 ml roztoku S se přidají 3 ml *lihu 96% R*, 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *zeleně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Stanoví se tenkovrstvou chromatografií (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *ethylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *methylparabenu R* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

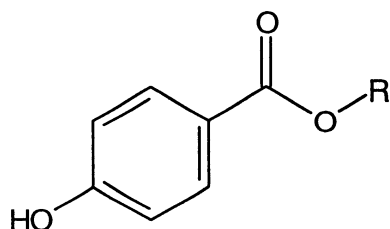
Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2,000 g se odváží do baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 40,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zpětný chladič propláchne *vodou R*. Nadbytek hydroxidu sodného se titruje *kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS* do druhého bodu inflexe za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 166,2 mg $C_9H_{10}O_3$.

Nečistoty



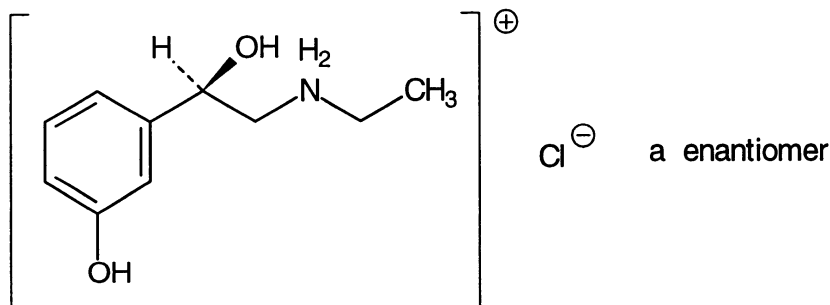
- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
- B. R = CH_3 : methyl-4-hydroxybenzoat (methylparaben),
- C. R = $CH_2-CH_2-CH_3$: propyl-4-hydroxybenzoat (propylparaben),
- D. R = $CH_2-CH_2-CH_2-CH_3$: butyl-4-hydroxybenzoat (butylparaben).

4190 *Etilefrini hydrochloridum*† **Etilefrini hydrochloridum**

Etilefriniumchlorid



1999

 $C_{10}H_{16}ClNO_2$ M_r 217,69

CAS 943-17-9

Je to [(*RS*)-2-hydroxy-2-(3-hydroxyfenyl)ethyl]ethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{10}H_{16}ClNO_2$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystalky. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 118 °C až 122 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *etilefriniumchloridu CRL*. Tablety se připraví za použití *chloridu draselného R*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.
Roztoky se připravují za omezeného přístupu světla a chromatogramy se vyvíjejí chráněny před světlem.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *etilefriniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *fenylefriniumchloridu CRL* se rozpustí ve 2 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (5 + 25 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudě teplého vzduchu, postříká se roztokem *manganistanu draselného R* (10 g/l) a po 15 min se pozoruje v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího

roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. K 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml vody R, 0,1 ml síranu měďnatého RS a 1 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS; vznikne modré zbarvení. Po přidání 2 ml etheru R a protřepání je horní vrstva bezbarvá.

E. 1 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 4 ml roztoku S se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml, přidá se 0,1 ml červeně methylové RS a 0,2 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je žlutý. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^{\circ}$ až $+0,10^{\circ}$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg etilefrinu nečistoty A CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). K 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se vodou R na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a roztoku laurylsíranu sodného R (1,1 g/l) (35 + 65), jejíž pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,3; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas etilefrinu asi 9 min a etilefrinu nečistoty A asi 10 min. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku etilefrinu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky etilefrinu a etilefrinu nečistoty A je alespoň 2,5.

Nastříkne se po 20 μ l zkoušeného roztoku, porovnávacího roztoku (a) a porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času etilefrinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku odpovídajícího etilefrinu nečistotě A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %) a plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku etilefrinu nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku etilefrinu nečistoty A, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %). Nepřihlíží se k píkům

4192 *Etilefrini hydrochloridum*

rozpouštědel a píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve 20 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

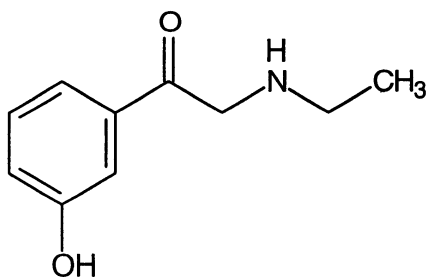
0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml kyseliny octové ledové R a 50 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 21,77 mg C₁₀H₁₆ClNO₂.

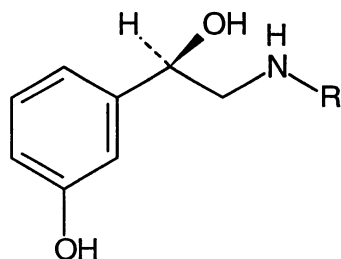
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. ethylaminomethyl-(3-hydroxyfenyl)keton (etilefron),



a enantiomer

B. R = CH₃: (RS)-1-(3-hydroxyfenyl)-2-methylaminoethanol (fenylefrin),

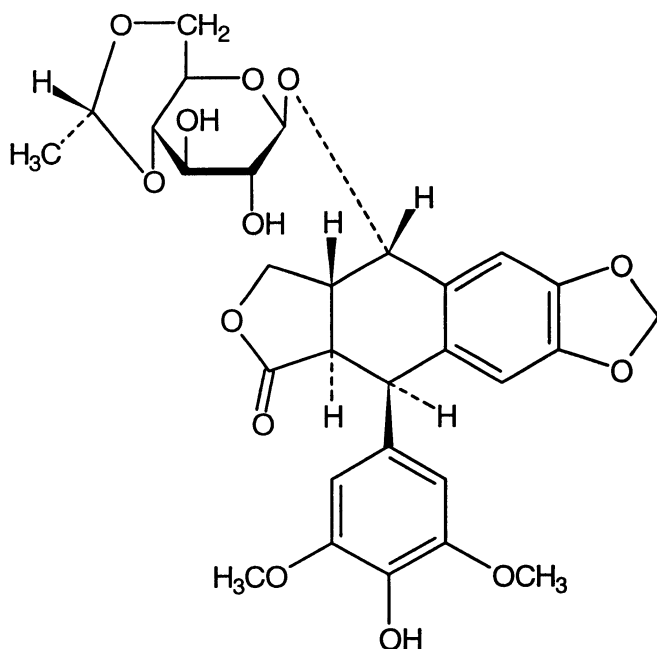
C. R = H: (RS)-2-amino-1-(3-hydroxyfenyl)ethanol (norfenefrin).

† **Etoposidum**

Etoposid



1999

 $C_{29}H_{32}O_{13}$ M_r 588,56

CAS 33419-42-0

Je to (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-*O*-(*R*)-ethyliden- β -D-glukopyranosyl)oxy]-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{29}H_{32}O_{13}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *etoposidu CRL*.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu H R*.

4194 † *Etoposidum*

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *etoposidu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 2 ml.

Na vrstvu se do proužků o délce 10 mm nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a ihned se vyvíjí směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R* a *dichlormethanu R* (1,5 + 8 + 20 + 100) po dráze 17 cm. Vrstva se suší 5 min v proudu teplého vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *lihu 96% R* (1 + 9) a zahřívá se 15 min při 140 °C. Potom se vrstva ihned přikryje skleněnou deskou stejných rozměrů a pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

- D.** Asi 5 mg se ve zkumavce rozpustí v 5 ml *kyseliny octové ledové R* a přidá se 0,05 ml *chloridu železitého RS1*. Roztok se promíchá a opatrně se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* tak, aby vznikly dvě vrstvy, a nechá se asi 30 min stát. Na rozhraní vrstev vzniká růžové až červenohnědé zbarvení a horní vrstva je žlutá.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,6 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_6 nebo HZ_6 (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -106° až -114° , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 50 mg ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředěním stejnou směsí na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se odděleně 10 μ l zkoušeného roztoku (a), 10 μ l porovnávacího roztoku (a) a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy a pořadí eluovaných píků podobné jako na vzorovém chromatogramu (obrázek 1). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); nejvýše dva píky mohou mít plochu větší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a součet ploch všech takových píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10 μ g *Pb/ml*).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 3,0 %; 0,500 g se suší 4 h ve vakuové sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 40 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (1 + 1) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 50 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (1 + 1) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (1 + 1) na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (1 + 1) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 50 mg *etoposidu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (1 + 1) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 10 ml zkoušeného roztoku (b) se přidá 0,1 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 4% (V/V)* a 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Přidává se *hydroxid sodný 1 mol/l VS* do vzniku slabě růžového zbarvení (asi 0,15 ml). Po 15 min se přidá 0,1 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 4% (V/V)*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm)*,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *triethylaminu R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *vody R (1 + 1 + 998)*,
 - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *triethylaminu R*, *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *acetonitrilu R (1 + 1 + 998)*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 7	75	25	ustalování
7 - 23	75	25	izokraticky
23 - 25	75 → 27	25 → 73	lineární gradient
25 - 40	27 → 75	73 → 25	lineární gradient
	75	25	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 285 nm,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

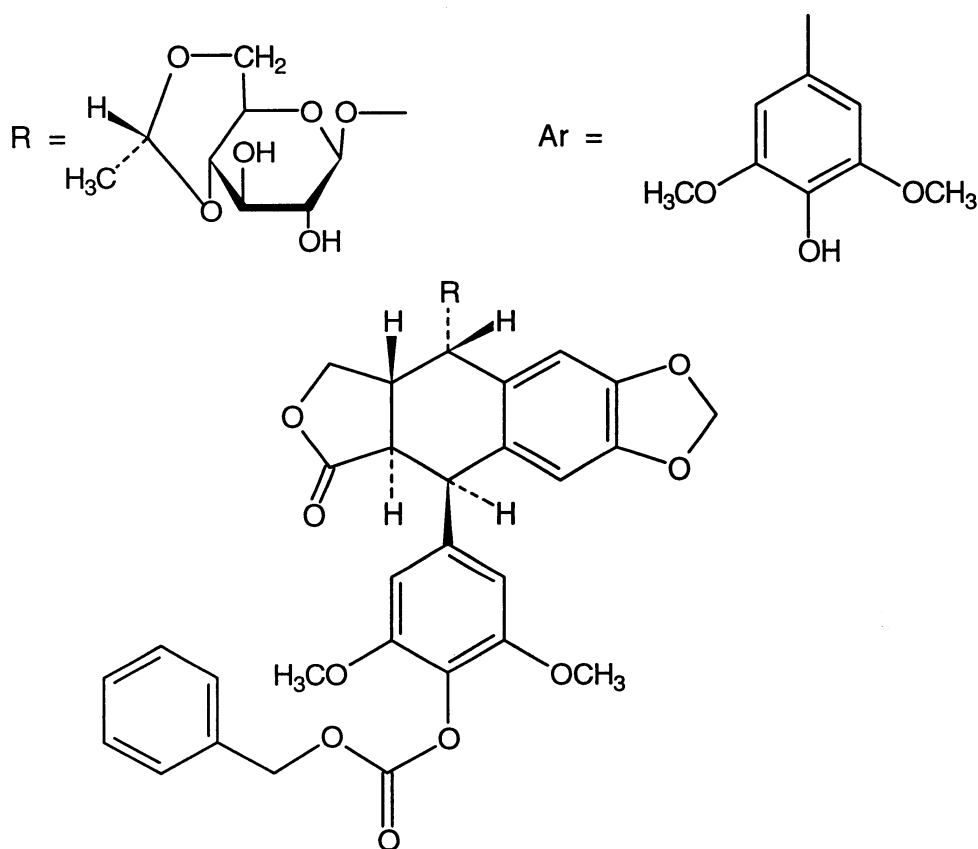
Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (d) a zaznamenává se chromatogram, dokud není eluován pík *fenolftaleinu*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu jsou dva hlavní píky odpovídající *etoposidu* a *cis-etoposidu* (nečistota B) a rozlišení mezi těmito píky je nejméně 3,0; nepřihlíží se k píku *fenolftaleinu*. V případě potřeby se mírně zvýší podíl mobilní fáze A během izokratické fáze gradientu. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) podobné těm na vzorovém chromatogramu (obrázek 2). Nastříkne se šestkrát 10 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze

4196 † *Etoposidum*

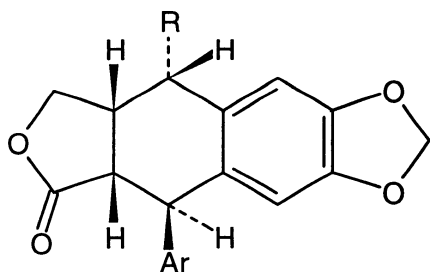
hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku etoposidu nejvýše 1,0 %. Nastříkne se 10 μ l zkoušeného roztoku (b) a 10 μ l porovnávacího roztoku (c). Obsah $C_{29}H_{32}O_{13}$ v procentech se vypočítá z ploch píků a deklarovaného obsahu *etoposidu CRL*.

Uchovávání

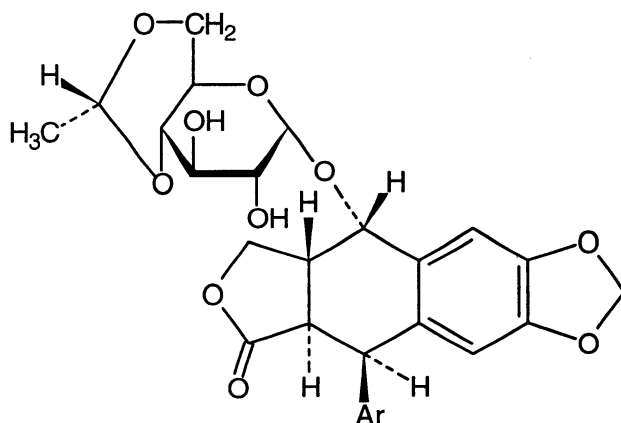
Ve vzduchotěsných obalech.
Separandum.

Nečistoty

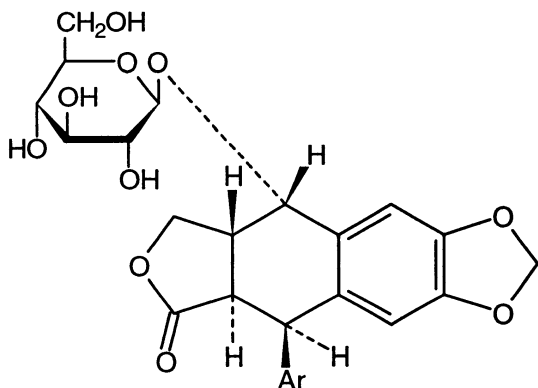
A. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-O-(*R*)-ethyliden- β -D-glukopyranosyl)oxy]-5-{4-[(benzyloxykarbonyl)oxy]-3,5-dimethoxyfenyl}-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-karbobenzoyloxyethylidenlignan P),



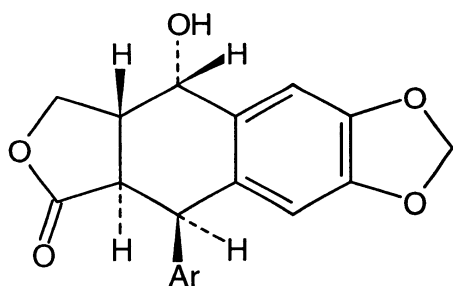
- B. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-*O*-(*R*)-ethyliden-β-D-glukopyranosyl)oxy]-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (pikroethylidenlignan P; *cis*-etoposid),



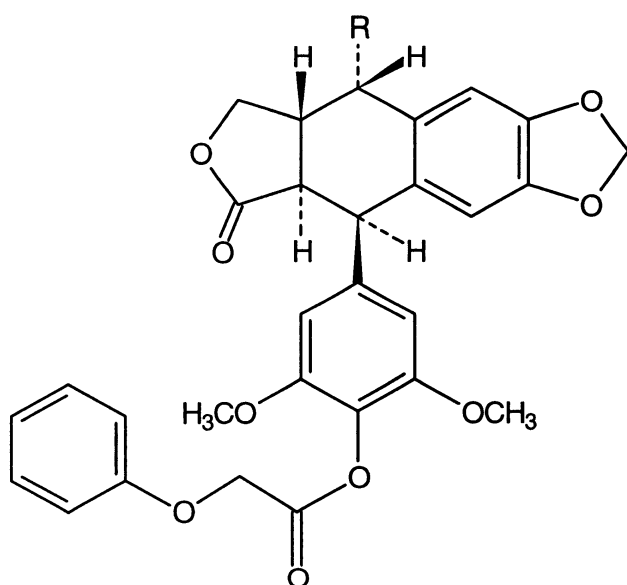
- C. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-*O*-(*R*)-ethyliden-α-D-glukopyranosyl)oxy]-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (α-etoposid),



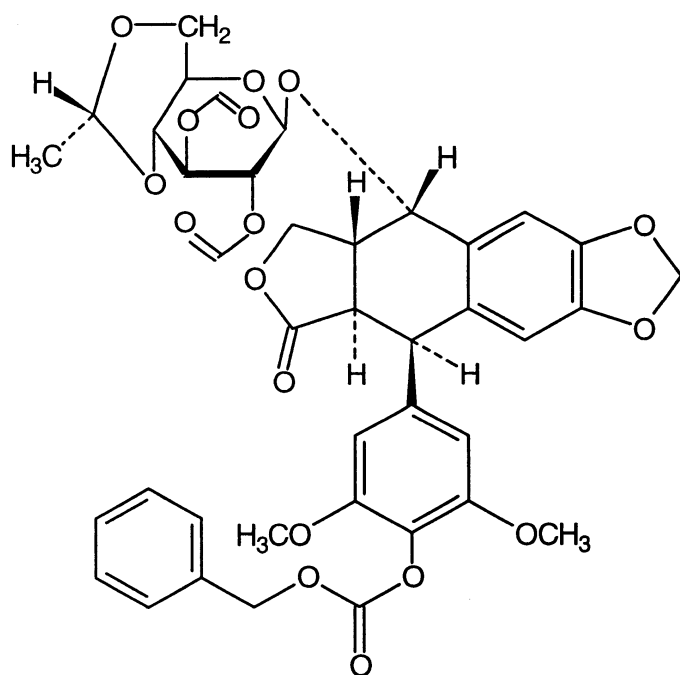
- D. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(β-D-glukopyranosyl)oxy]-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (lignan P),

4198 † *Etoposidum*

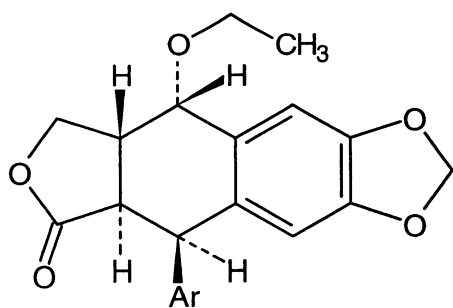
E. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-hydroxy-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-demethylepipodofylotoxin),



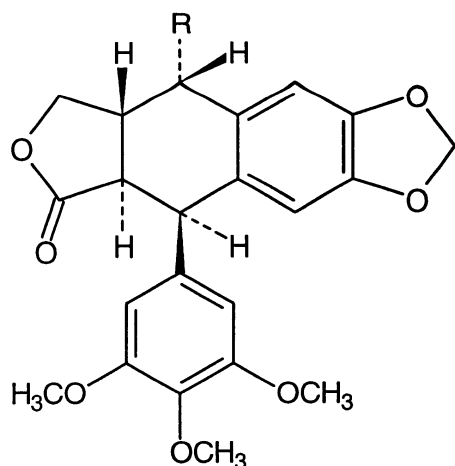
F. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-O-(*R*)-ethyliden- β -D-glukopyranosyl)oxy]-5-{4-[(2-fenoxyacetyl)oxy]-3,5-dimethoxyfenyl}-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (fenoxyacetyl-4'-etoposid),



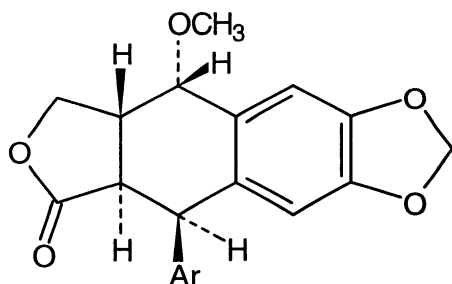
G. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(2,3-diformyl-4,6-*O*-(*R*)-ethyliden-β-*D*-glukopyranosyl)oxy]-5-{4-[(benzyloxykarbonyl)oxy]-3,5-dimethoxyfenyl}-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-karbobenzoyloxydiformylethylidenlignan P),



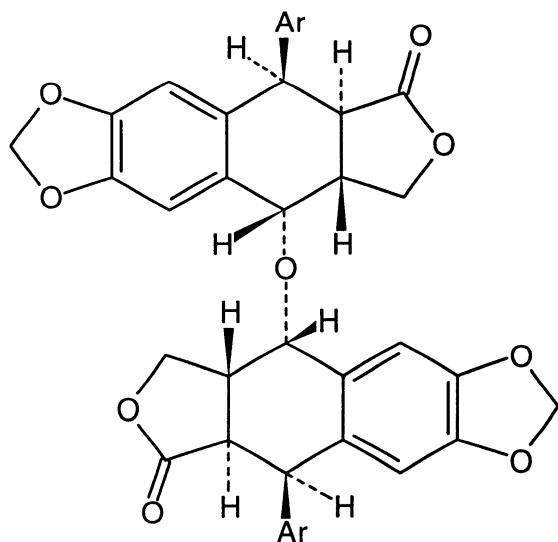
H. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-ethoxy-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-*O*-demethyl-1-*O*-ethylepipodofylotoxin),

4200 † *Etoposidum*

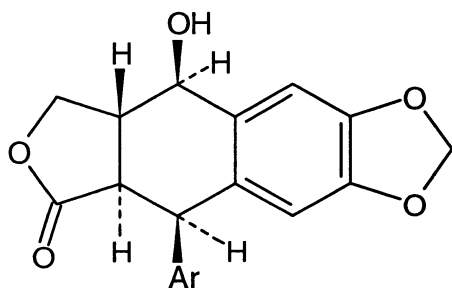
I. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-[(4,6-*O*-(*R*)-ethyliden-β-*D*-glukopyranosyl)oxy]-5-(3,4,5-trimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4-*O*-methylethylidenlignan P),



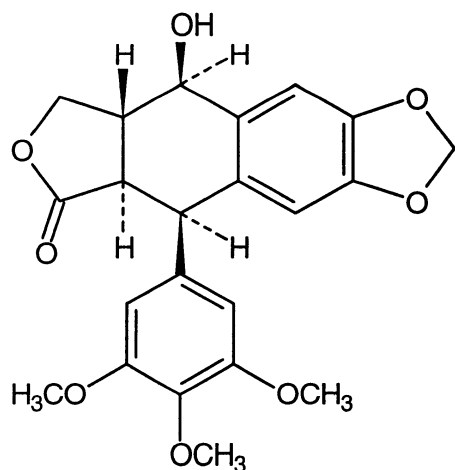
J. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-9-methoxy-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-*O*-demethyl-1-*O*-methylepipodofylotoxin),

† *Etoposidum* 4201

K. 9,9'-oxybis[(5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on] (bis-4'-*O*-demethylepipodofylotoxin),

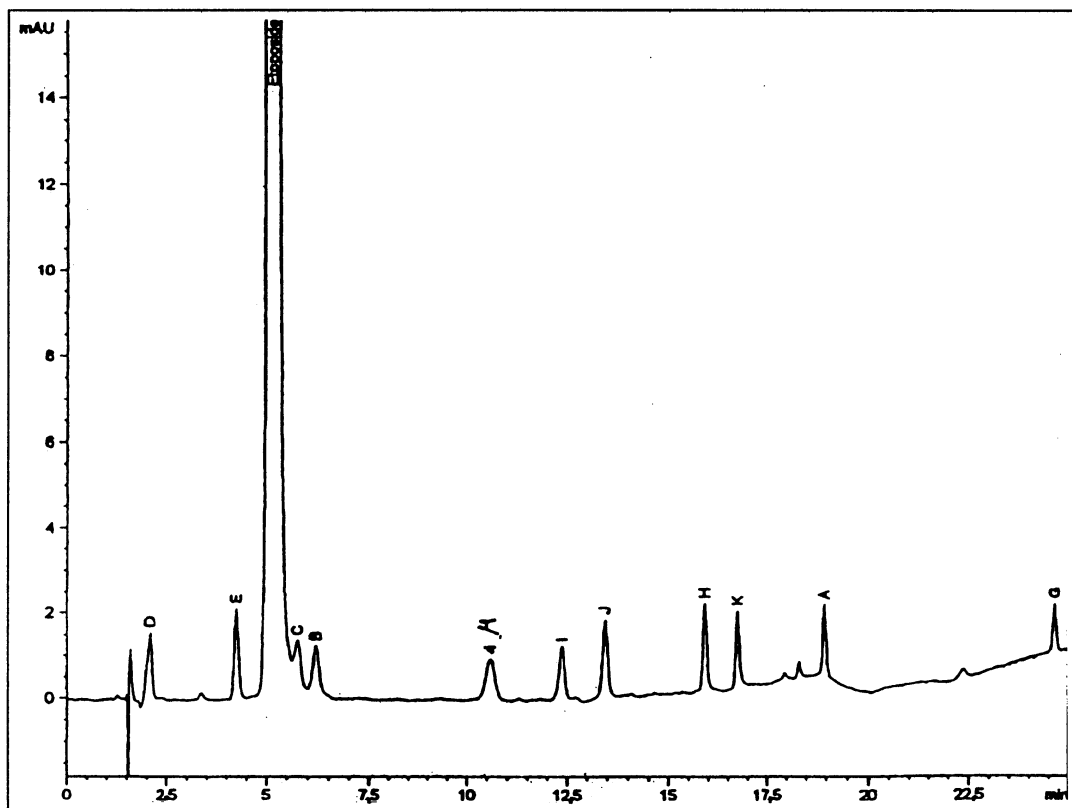


L. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-hydroxy-5-(4-hydroxy-3,5-dimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (4'-*O*-demethylpodofylotoxin),

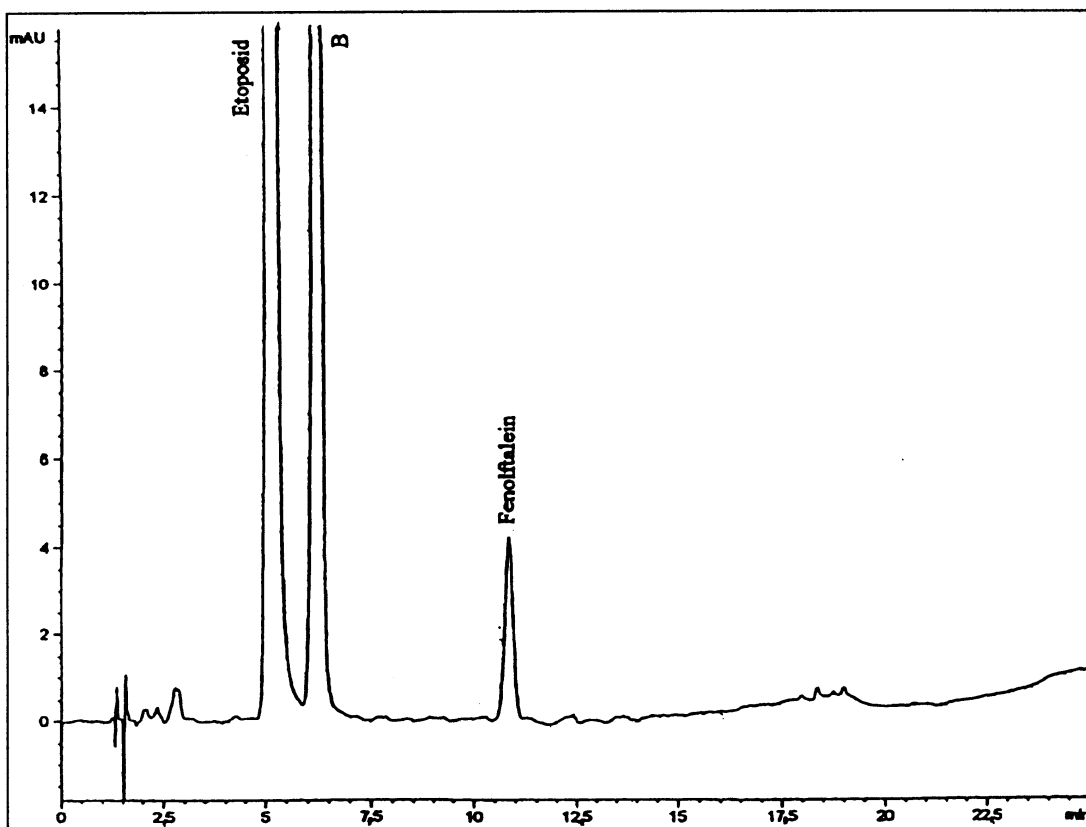
4202 † *Etoposidum*

M. (5*R*,5*aR*,8*aR*,9*S*)-9-hydroxy-5-(3,4,5-trimethoxyfenyl)-5,8,8*a*,9-tetrahydroisobenzofuro[5,6-*f*][1,3]benzodioxol-6(5*aH*)-on (podofylotoxin).

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram pro zkoušku Příbuzné látky



Obr. 2. Vzorový chromatogram pro zkoušku Stanovení obsahu

Eucalypti folium

Eukalyptový list

Synonymum. Folium eucalypti



1999

Je to celý nebo řezaný usušený list nebo starší výhonky druhu *Eucalyptus globulus* LABILLARDIERE. Neřezaná droga obsahuje nejméně 20 ml silice v 1 kilogramu drogy. Řezaná droga obsahuje nejméně 15 ml silice v 1 kilogramu drogy, obojí počítáno na bezvodou drogu.

Vlastnosti

Droga má aromatický pach po cineolu.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

4204 Eucalypti folium**Zkoušky totožnosti**

- A.** Listy jsou většinou šedozelené, poměrně silné, protáhlé, oválné, mírně srpovitě zahnuté, většinou až 25 cm dlouhé a až 5 cm široké. Řapík je zkroucený, silně vrásčitý, 2 cm až 3 cm, řidčeji 5 cm dlouhý. Kožovité tuhé listy jsou celokrajné, lysé, se žlutozelenou střední žilkou. Postranní žilky anastomozují v blízkosti okraje čepele. Čepel je rovná a poněkud ztlustlá. Na obou stranách čepele jsou drobné, nepravidelně roztroušené, bradavčité, tmavě hnědé skvrny. V procházejícím světle mohou být patrné malé siličné žlázy.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je šedozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: úlomky lysé čepele, buňky pokožky malé, ztlustlé, kryté silnou kutikulou, četné anomocytické průduchy (2.8.3) o průměru více než 80 μm, občas skupiny hnědých korkových buněk o průměru 300 μm, zbarvených uprostřed hnědočerně; úlomky isobilaterálního mezofylu na obou stranách čepele s dvěma až třemi řadami palisádového parenchymu, uprostřed víceřadý houbový parenchym z protáhlých buněk orientovaných stejně jako buňky palisádového parenchymu, obsahující krystaly a drúzy šřavelanu vápenatého; úlomky mezofylu s velkými schizogenními siličnými nádržkami.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,5 g čerstvě práškové drogy (355) se smíchá s 5 ml *toluenu R*, protřepává se 2 min až 3 min a pak se zfiltruje přes 2 g *síranu sodného bezvodého R*.

Porovnávací roztok. 50 μl *cineolu R* se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 μl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna odpovídající *cineolu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením skvrně *cineolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku. V blízkosti čela chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní fialová skvrna (uhlovodíky), mohou zde být další méně intenzivní skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 3 % ztmavých a hnědých listů, nejvýše 5 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí. Nejsou přítomny srdčité nebo vejčité přisedlé listy z mladých výhonků, s četnými žlázkami na obou stranách, které jsou v procházejícím světle patrné jako body. Proveďte se s 30 g drogy.

Voda, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; stanoví se z 20,0 g práškové drogy (355).

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 6,0 %.

Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 10,0 g čerstvě řezané drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 500ml baňce se směsí složenou z 200 ml *vody R* a 100 ml *glycerolu R* jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,5 ml *xyleny R*.

Uchovávání

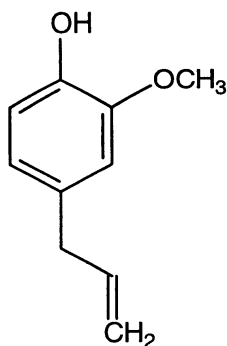
Chráněn před světlem.

Eugenolum

Eugenol



1999



$C_{10}H_{12}O_2$

M_r 164,20

CAS 97-53-0

Je to 2-methoxy-4-allylfenol.

Vlastnosti

Bezbarvá nebo světle žlutá čirá kapalina, na vzduchu tmavnoucí, výrazného pachu po hřebíčku. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 70% (V/V), prakticky nerozpustný v glycerolu, mísitelný s kyselinou octovou, s lihem 96%, s etherem, s mastnými oleji a s dichlormethanem.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Index lomu, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *eugenolu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 50 μ l se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 25 ml.

Porovnávací roztok. 50 μ l eugenolu CRL se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu studeného vzduchu.

4206 *Eugenolum*

chu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká *anisaldehydem RS* a suší se 10 min při 100 °C až 105 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. 0,05 ml se rozpustí ve 2 ml *lihu 96% R*, přidá se 0,1 ml *chloridu železitého RS1*; vznikne tmavě zelené zbarvení, které se do 10 min změní na žlutavě zelené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 1,066 až 1,070.

Index lomu (2.2.6). 1,540 až 1,542.

Dimerní a oligomerní složky. 0,150 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. Absorbance roztoku (2.2.25) měřená při 330 nm je nejvýše 0,25.

Příbuzné látky. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 50 mg *vanilinu R* se rozpustí v 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se *ethanolem R* na 5 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřním povrchem pokrytým *polyfenylmethylsiloxanem R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 40.

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 → 2	80	8	izotermicky lineární gradient isotermicky
	2 → 27	80 → 280		
	27 → 47	280		
Nástříkový prostor		250		
Detektor		280		

Nastříkne se po 1 μl zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (a) a (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je relativní retenční čas vanilinu vzhledem k eugenolu nejméně 1,1. Vypočítá se obsah příbuzných látek v procentech z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku metodou vnitřní normalizace. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Obsah příbuzných látek s relativním retenčním časem větším než 2,0 vzhledem k hlavnímu píku není větší než 1,0 %; obsah jiných příbuzných látek není větší než 0,5 %; celkový obsah příbuzných látek není větší než 3,0 %.

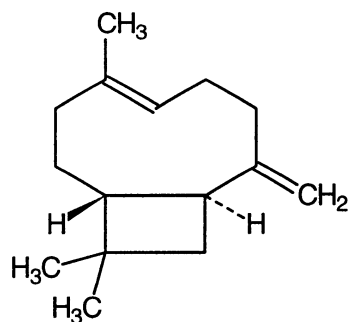
Uhlovodíky. 1 ml se ve zkumavce se zátkou rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidá se 30 ml *vody R* a ihned se pozoruje; roztok je žlutý a čirý (2.2.1).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

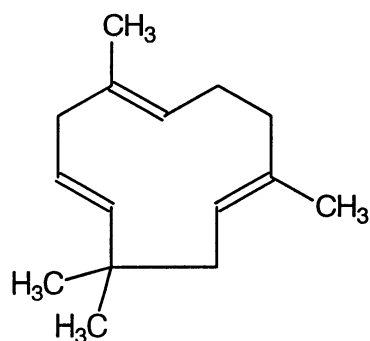
Uchovávání

Ve zcela naplněných dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

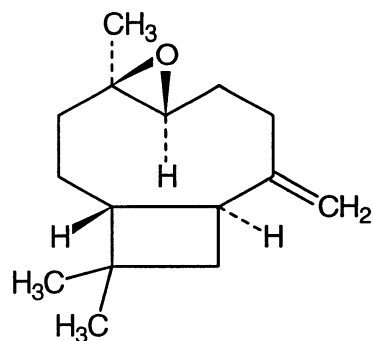
Nečistoty



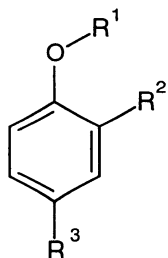
A. (*E*)-(1*R*,9*S*)-4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyclo[7,2,0]undec-4-en (β -karyofylen),



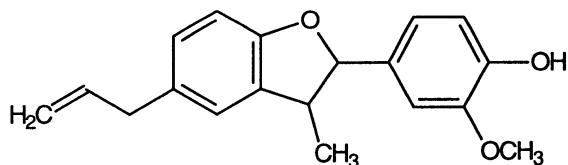
B. (*E,E,E*)-2,6,6,9-tetramethyl-1,4,8-cykloundekatrien (α -humulen, α -karyofylen),



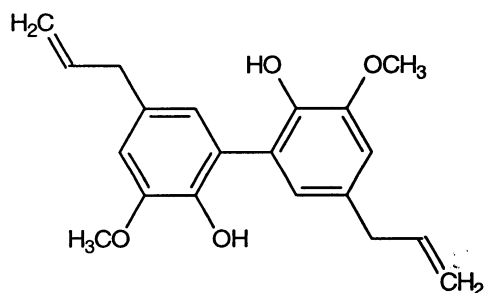
C. (1*R*,4*R*,5*S*,9*S*)-4,5-epoxy-4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyclo[7,2,0]undekan (β -karyofylenoxid),

4208 *Eugenolum*

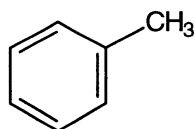
- D. R¹ = H, R² = H, R³ = CH₂-CH=CH₂: 4-allylfenol,
 E. R¹ = CH₃, R² = OCH₃, R³ = CH₂-CH=CH₂: 1,2-dimethoxy-4-allylbenzen (eugenolmethylether),
 F. R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = CH=CH-CH₃(*cis*): 2-methoxy-4-[(*Z*)-1-propenyl]fenol (*cis*-isoeugenol),
 G. R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = CH=CH-CH₃(*trans*): 2-methoxy-4-[(*E*)-1-propenyl]fenol (*trans*-isoeugenol),
 H. R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = CHO: 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (vanilin),
 I. R¹ = CO-CH₃, R² = OCH₃, R³ = CH₂-CH=CH₂: 2-methoxy-4-allylfenylacetat (acetyeugenol),
 J. R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = CO-CH=CH₂: (4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-vinylketon,
 K. R¹ = H, R² = OCH₃, R³ = CH=CH-CHO: (*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-2-propenal (*trans*-koniferylaldehyd),



- L. 2-methoxy-4-[3-methyl-5-allyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-2-yl]fenol (dehydrodiisoeugenol),



- M. 3,3'-dimethoxy-5,5'-di(allyl)bifenyl-2,2'-diol,
 N. O. dvě další neznámé dimerní sloučeniny,



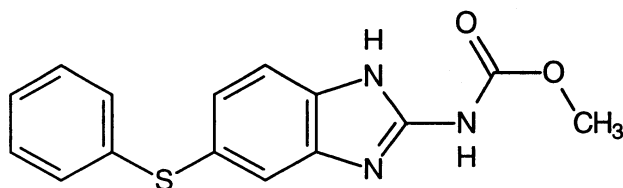
- P. toluen.

† Fenbendazolum

Fenbendazol



1999

 $C_{15}H_{13}N_3O_2S$ M_r 299,35

CAS 43210-67-9

Je to methyl-[5-fenylthio-1*H*-benzimidazol-2-yl]karbamát. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{15}H_{13}N_3O_2S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v dimethylformamidu, velmi těžce rozpustný v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety fenbendazolu CRL.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v 10,0 ml kyseliny chlorovodíkové v methanolu RS.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg fenbendazolu CRL se rozpustí v 10,0 ml kyseliny chlorovodíkové v methanolu RS. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 200,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou v methanolu RS na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg fenbendazolu nečistoty A CRL se rozpustí ve 100,0 ml methanolu R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou v methanolu RS na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 mg fenbendazolu nečistoty B CRL se rozpustí ve 100,0 ml methanolu R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou v methanolu RS na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10,0 mg fenbendazolu CRL a 10,0 mg mebendazolu CRL se rozpustí ve 100,0 ml methanolu R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou v methanolu RS na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:

4210 Fenbendazolum

- mobilní fáze A - směs objemových dílů kyseliny octové bezvodé R, methanolu R a vody R (1 + 30 + 70),
- mobilní fáze B - směs objemových dílů kyseliny octové bezvodé R, vody R a methanolu R (1 + 30 + 70),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 10	100	0	izokraticky
10 - 40	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
40 - 41	0	100	izokraticky
41 - 50	0 → 100	100 → 0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas fenbendazolu asi 19 min. Nastříkne se odděleně po 10 µl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky fenbendazolu a mebendazolu nejméně 1,5.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píků odpovídajících nečistotě A a nečistotě B větší než 2,5násobek plochy odpovídajících píků na chromatogramech porovnávacího roztoku (b) a porovnávacího roztoku (c) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících nečistotě A a nečistotě B, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základní roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %. 1,000 g se 3 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím, ve 30 ml kyseliny octové bezvodé R. Ochladí se a titruje kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

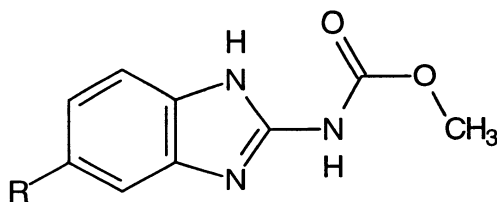
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 29,94 mg C₁₅H₁₃N₃O₂S.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

† Fenbufenum 4211

Nečistoty

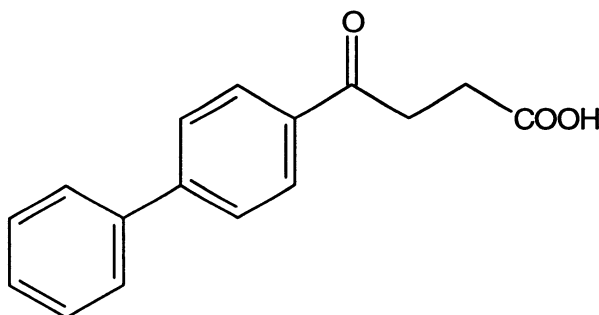
- A. R = H: methyl-(1*H*-benzimidazol-2-yl)karbamat,
B. R = Cl: methyl-[5(6)-chlorbenzimidazol-2-yl]karbamat.

† **Fenbufenum**

Fenbufen



1998

 $C_{16}H_{14}O_3$ M_r 254,29

CAS 36330-85-5

Je to kyselina 4-(4-bifenylyl)-4-oxobutanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{16}H_{14}O_3$.

Vlastnosti

Bílý jemný krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14) je 186 °C až 189 °C.

4212 † *Fenbufenum*

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *fenbufenu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *fenbufenu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *ketoprofenu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *ethylacetatu R* a *hexanu R* (5 + 25 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *dimethylformamidu R* a mobilní fáze A (40 + 60) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí na 50,0 ml směsí objemových dílů *dimethylformamidu R* a mobilní fáze A (40 + 60). 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *fenbufenu CRL* a 6 mg *ketoprofenu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *dimethylformamidu R* a mobilní fáze A (40 + 60) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a směsi 1 objemového dílu *kyseliny octové ledové R* a 55 objemových dílů *vody R* (32 + 68),
 - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a směsi 1 objemového dílu *kyseliny octové ledové R* a 55 objemových dílů *vody R* (45 + 55),
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	100	0	izokraticky
15 - 20	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
20 - 35	0	100	izokraticky
35 - 40	0 → 100	100 → 0	lineární gradient
40 - 45	100	0	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky ketoprofenu a fenbufenu nejméně 5,0.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejdvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejdvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 75 ml acetonu R předem zneutralizovaného na fenolftalein RS1, přidá se 50 ml vody R a 0,2 ml fenolftaleinu RS1. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS. Provede se slepá zkouška.

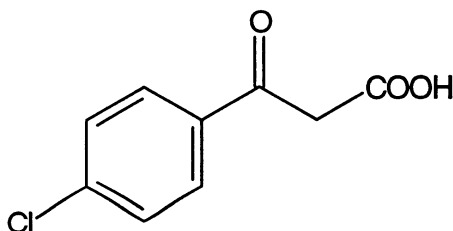
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 25,43 mg C₁₆H₁₄O₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

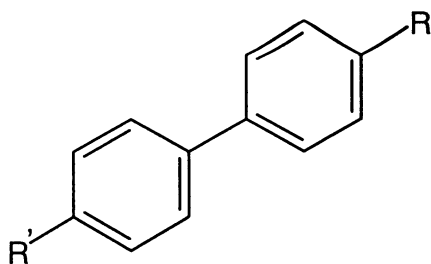
Separandum.

Nečistoty



A. kyselina 3-(4-chlorfenyl)-3-oxopropanová,

4214 † Fenofibratum



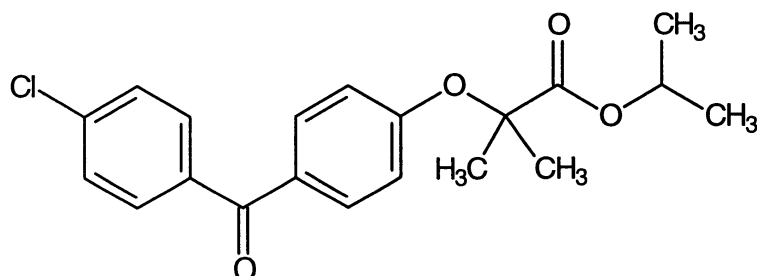
- B. R = CO-CH=CH-COOH, R' = H: kyselina 4-(4-bifenylyl)-4-oxo-2-butenová,
 C. R = R' = H: bifenylyl,
 D. R = CO-CH₂-COOH, R' = OH: kyselina 4-(4'-hydroxybifenylyl-4-yl)-4-oxobutanová.

† Fenofibratum

Fenofibrat



1999

C₂₀H₂₁ClO₄M_r 360,84

CAS 49562-28-9

Je to isopropyl-2-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-methylpropanoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₂₀H₂₁ClO₄.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 79 °C až 82 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety fenofibratu CRL.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. K 2,50 g se přidá 25 ml *vody destilované R* a zahřívá se 10 min při 50 °C. Po ochlazení se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml a zfiltruje se.

Vzhled roztoku. 0,50 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. 1,0 g se rozpustí v 50 ml *líhu 96% R* předem zneutralizovaného za použití 0,2 ml *fenolftaleinu RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) za podmínek uvedených ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška píků na chromatogramu odpovídala nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy: nečistota A asi 0,34, nečistota B asi 0,36, nečistota C asi 0,50, nečistota D asi 0,65, nečistota E asi 0,80, nečistota F asi 0,85 a nečistota G asi 1,35. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A a nečistoty B je nejméně 1,5.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a 20 µl zkoušeného roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času fenofibratu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku odpovídajícího nečistotě A, nečistotě B nebo nečistotě G větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 % nečistoty A a B a 0,2 % nečistoty G); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících nečistotám A, B a G, není větší než plocha píku fenofibratu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy píku fenofibratu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy píku fenofibratu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Halogeny (2.4.4). K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody destilované R*; roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g, vyjádřeno jako chloridy).

Sířany (2.4.13). K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody destilované R*; roztok vyhovuje limitní zkoušce na sířany (100 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *fenofibratu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

4216 † Fenofibratum

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg fenofibratu CRL, 10,0 mg fenofibratu nečistoty A CRL, 10,0 mg fenofibratu nečistoty B CRL a 20,0 mg fenofibratu nečistoty G CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* okyselené na pH 2,5 *kyselinou fosforečnou R* a *acetonitrilu R* (30 + 70), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 286 nm.

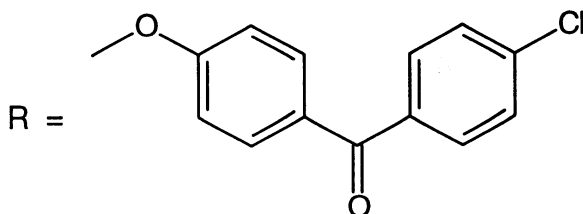
Nastříkne se 5 μl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška píků na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se šestkrát po 5 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku fenofibratu je nejvýše 1,0 %. Nastříkne se 5 μl zkoušeného roztoku a 5 μl porovnávacího roztoku (a).

Uchovávání

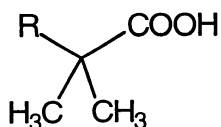
Chráněn před světlem.

Separandum.

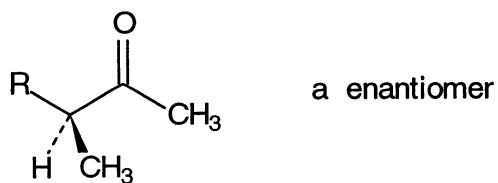
Nečistoty



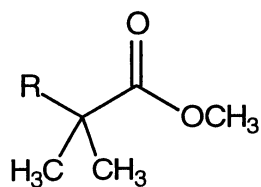
A. 4-chlorfenyl-4-hydroxyfenylketon,



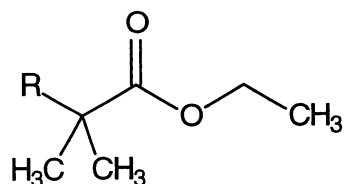
B. kyselina 2-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-methylpropanová (kyselina fenofibrová),



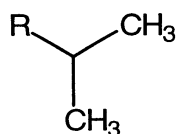
C. (3*RS*)-3-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-butanon,



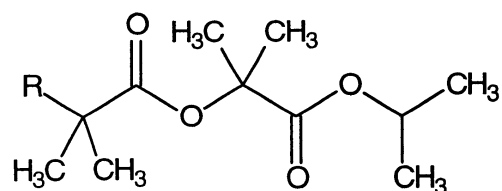
D. methyl-2-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-methylpropanoat,



E. ethyl-2-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-methylpropanoat,



F. (4-chlorfenyl)-[(4-isopropyloxy)fenyl]keton,



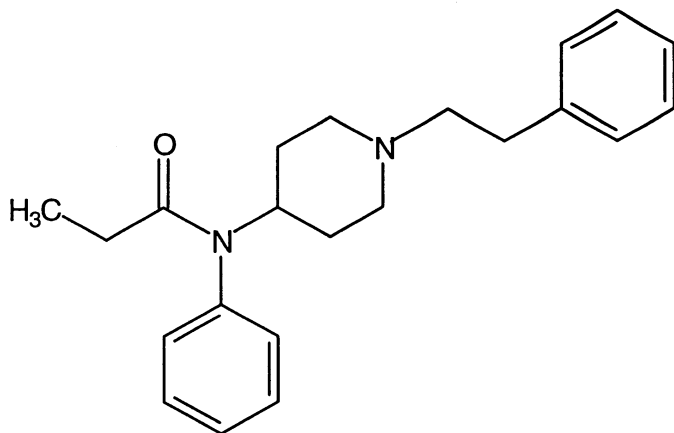
G. isopropyl-2-[[2-[4-(4-chlorbenzoyl)fenoxy]-2-methylpropanoyl]oxy]-2-methylpropanoat.

4218 §§ Fentanylum

§§ Fentanylum

Fentanyl

1998

 $C_{22}H_{28}N_2O$ M_r 336,48

CAS 437-38-7

Je to N-fenyl-N-[1-(2-fenylethyl)-4-piperidyl]propanamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{22}H_{28}N_2O$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. fentanylu. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se zkoušená látka v minimálním množství ethanolu R, odpaří se do sucha při pokojové teplotě v proudě vzduchu a se zbytkem se zaznamená nové spektrum.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Pro přípravu rozkladného produktu (fentanyl nečistota D) in situ se rozpustí 10 mg zkoušené látky v 10,0 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS. Zahřívá se 4 h na vodní lázni pod zpětným chladičem, neutralizuje se 10,0 ml hydroxidu sodného zředěného RS a odpaří se do sucha na vodní lázni. K odparku se po ochlazení přidá 10 ml methanolu R, zfiltruje se.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok *uhličitanu amonného R* (5 g/l) ve směsi objemových dílů *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (10 + 90),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	90 → 40	10 → 60	lineární gradient
15 - 20	40	60	izokraticky
20 - 25	90	10	přepnutí na původní podmínky
25 = 0	90	10	začátek nového gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá *acetonitrilem R* nejméně 30 min a poté nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení do ustavení rovnováhy.

Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 μl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy fentanylu asi 10 min a fentanylu nečistoty D asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky fentanylu a fentanylu nečistoty D je nejméně 8,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 μl *methanolu R* jako slepá zkouška, 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, získaným ve slepé zkoušce a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 50 °C.

Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

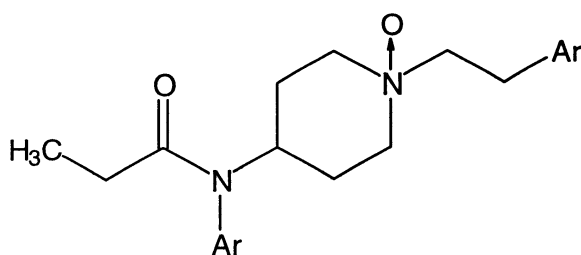
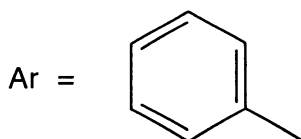
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,65 mg $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}$.

4220 §§ Fentanylum

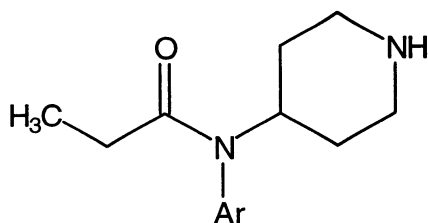
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

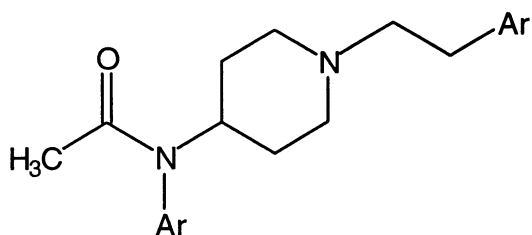
Omamná látka.

Nečistoty

A. 1-(2-fenylethyl)-4-[(N-fenyl)propionylamino]piperidin-1-oxid,

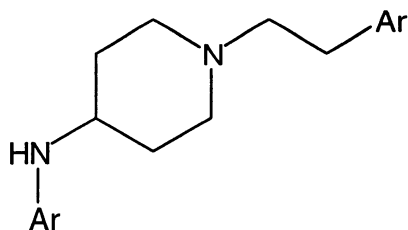


B. N-fenyl-N-(4-piperidyl)propanamid,



C. N-fenyl-N-[1-(2-fenylethyl)-4-piperidyl]acetamid,

† Fenticonazoli nitras 4221



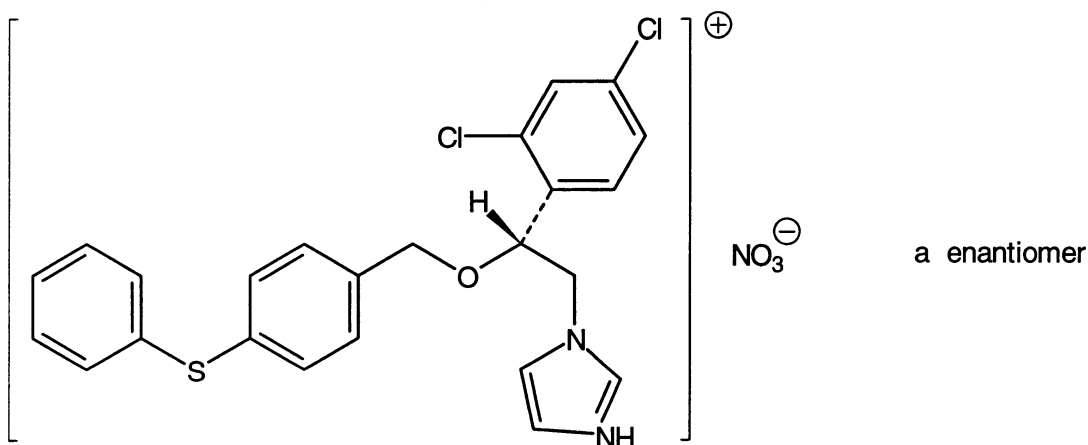
D. N-fenyl-1-(2-fenylethyl)-4-piperidylamin.

† Fenticonazoli nitras

Fentikonazoliumnitrat



1998

 $C_{24}H_{21}Cl_2N_3O_4S$ M_r 518,41

CAS 73151-29-8

Je to (*RS*)-1-{2-[4-(fenylthio)benzyloxy]-2-(2,4-dichlorofenyl)}ethyl-1*H*-imidazoliumnitrat.
Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{24}H_{21}Cl_2N_3O_4S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky neropustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu a v dimethylformamidu, mírně rozpustný v ethanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14) je 134 °C až 137 °C.

4222 † *Fenticonazoli nitras*

- B.** 20,0 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 10,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 252 nm, prodlevu při asi 270 nm a absorpční minimum při 236 nm. Specifická absorbance v maximu je 260 až 280.
- C.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *fentikonazoliumnitratu CRL*.
- D.** Látka vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,10 g v *methanolu R* a zředěním na 10,0 ml stejným rozpouštědlem.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 5,0 ml zkoušeného roztoku se přidá 5 mg *fentikonazolu nečistoty D CRL*, rozpustí se v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm až 10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a tlumivého roztoku fosforečnanového připraveného takto: 34,0 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví na hodnotu 3,0 *kyselinou fosforečnou R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml (70 + 30); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 229 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška píku *fentikonazolu* byla nejméně 10 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se odděleně 10 μl porovnávacího roztoku (c) a 10 μl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky *fentikonazolu nečistoty D* a *fentikonazolu* nejméně 2,0 a na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je poměr signálu k šumu nejméně 5.

Nastříkne se odděleně 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 5,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku dusičnanového iontu (odpovídá mrtvému objemu kolony), není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a součet ploch těchto píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Toluen. Nejvýše 100 $\mu\text{g/g}$. Provede se head-space plynová chromatografie (2.2.28, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. 0,2 g se dispergují v 10ml lahvičce s 5 ml *vody R*.

Porovnávací roztok. 4 mg toluenu *R* se smíchá s vodou *R* a zředí se jí na 1000 ml. 5 ml tohoto roztoku se přeneso do 10ml lahvičky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou 1,2 µm silnou vrstvou *poly(fenyl)(7)-(kyanopropyl)(7)(methy)(86)siloxanu R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- dělicího poměru 1 : 25,
- tlaku na vstupu do kolony 40 kPa,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 80 °C, teplota nástřikového prostoru na 180 °C a teplota detektoru na 220 °C. Roztoky se 1 h temperují při 90 °C a na kolonu se nastříkuje 1 ml plynné fáze.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,450 g se rozpustí v 50 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *2-butanonu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

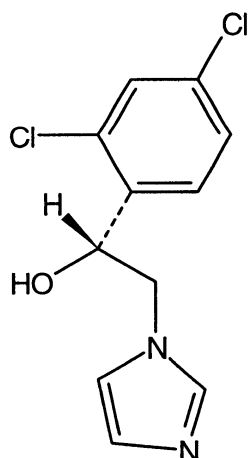
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 51,84 mg $C_{24}H_{21}Cl_2N_3O_4S$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

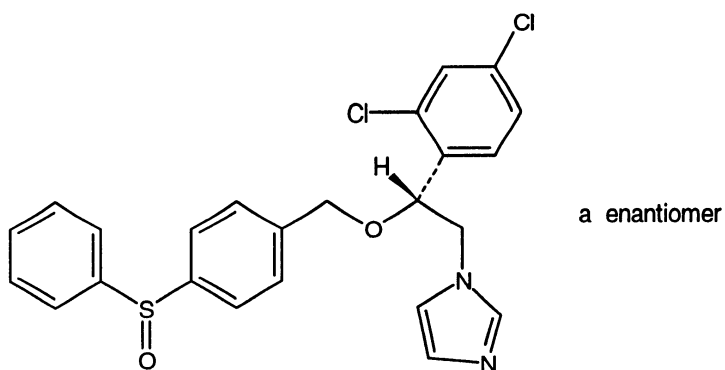
Separandum.

Nečistoty

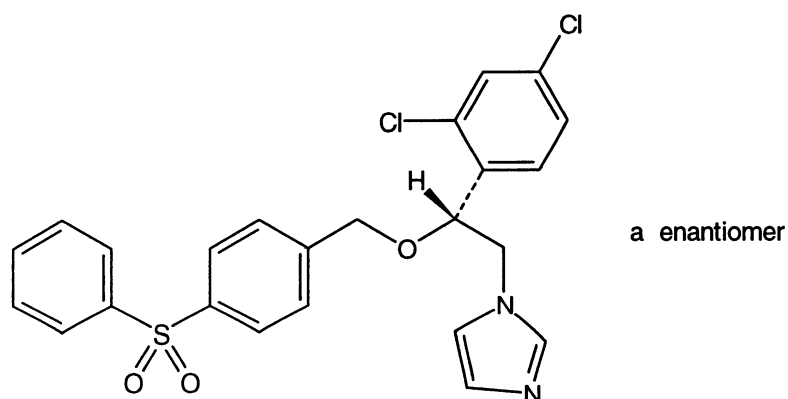


a enantiomer

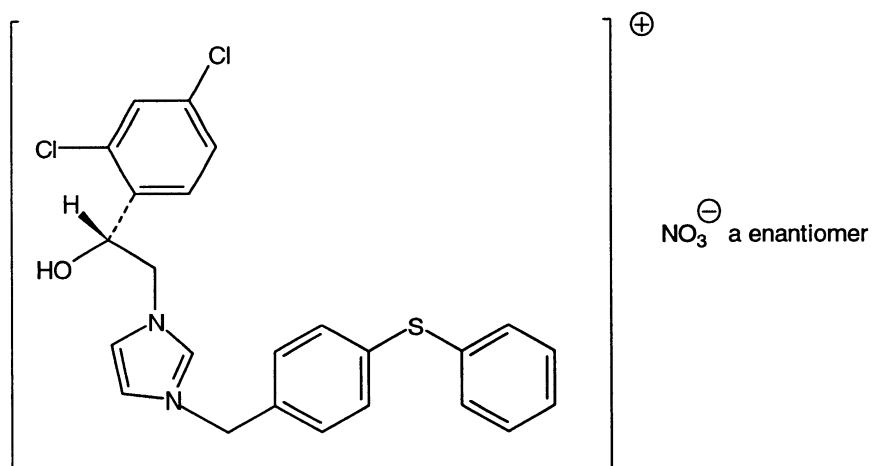
A. (*RS*)-1-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-yl)ethanol,

4224 † *Fenticonazoli nitras*

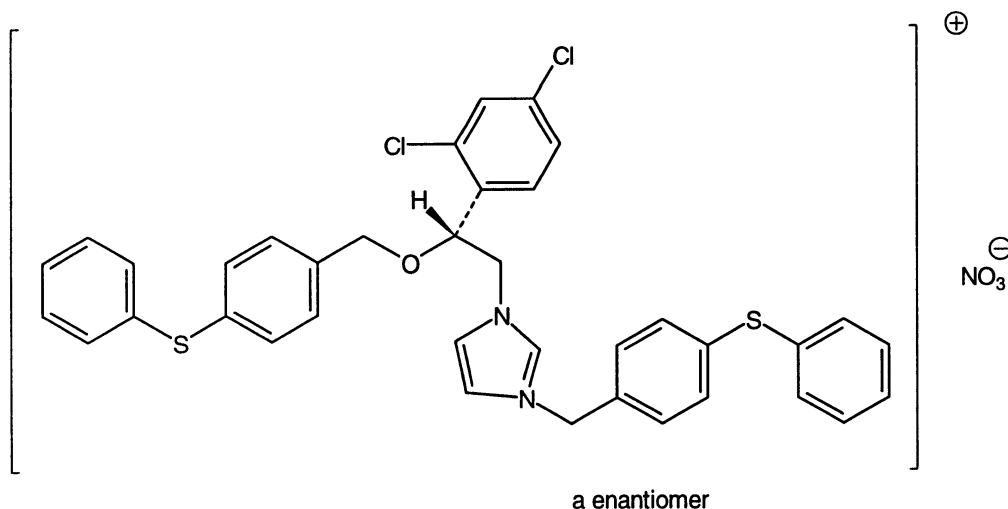
B. *(RS)*-1-(2-[4-(fenylsulfinyl)benzyloxy]-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl)-1*H*-imidazol,



C. *(RS)*-1-(2-[4-(fenylsulfonyl)benzyloxy]-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl)-1*H*-imidazol,



D. *(RS)*-3-[4-(fenylthio)benzyl]-1-[2-hydroxy-2-(2,4-dichlorfenyl)ethyl]imidazoliumnitrat,

† *Flecainidi acetat* 4225

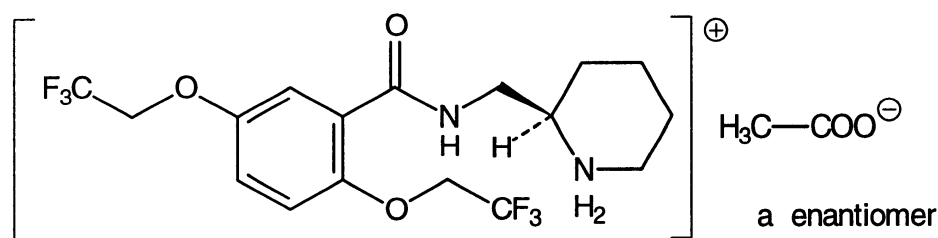
E. (*RS*)-3-[4-(fenylthio)benzyl]-1-{2-[4-(fenylthio)benzyloxy]-2-(2,4-dichlorofenyl)ethyl}-imidazoliumnitrat.

† **Flecainidi acetat**

Flekainidiumacetat



1999

C₁₉H₂₄F₆N₂O₅M_r 474,40

CAS 54143-56-5

Je to (*RS*)-2-[2,5-bis(2,2,2-trifluorethoxy)benzoylamino]methylpiperidiniumacetat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₉H₂₄F₆N₂O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický velmi hygroskopický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v ethanolu. Je velmi snadno rozpustný ve zředěné kyselině octové a prakticky nerozpustný ve zředěné kyselině chlorovodíkové.

4226 † *Flecainidi acetat***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14): 146 °C až 152 °C. Rozmezí tání není větší než 3 °C.

B. 50 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 50,0 ml. Měří se absorbance v rozmezí 230 nm až 350 nm (2.2.25), roztok vykazuje absorpční maximum při 298 nm. Specifická absorbance v maximu je 61 až 65.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *flekainidii-macetatu CRL*.

D. Vyhovuje zkoušce (b) na octany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,25 g se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 0,05 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *vodou R* na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,7 až 7,1; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním na 10 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,25 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *flekainidii-macetatu CRL* a 25 mg *flekainidii-macetatu nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - smíchají se 2 ml *amoniaku 26% R*, 4 ml *triethylaminu R* a 985 ml *vody R*, přidá se 6 ml *kyseliny fosforečné R* a pH se upraví na hodnotu 2,8 *amoniakem 26% R*,
 - *mobilní fáze B* – *Acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 12	90	10	ustalování
12 - 17	90 → 30	10 → 70	lineární gradient
17 - 19	30	70	izokraticky
19 - 21	30 → 90	70 → 10	lineární gradient
	90	10	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 300 nm,
- injektorové smyčky.

Pokud nelze dosáhnout vhodné základní linie, použije se triethylamin o jiné čistotě. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma píky na chromatogramu je nejméně 4. Nastříkne se postupně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,02násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

(Piperidin-2-yl)methanamin. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu HF₂₅₄ R.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 2,0 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg (2-piperidyl)methanaminu CRL se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 25 mg *flekainidiumacetatu CRL* a zředí se jím na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *acetonu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se suší při 100 °C až 105 °C do úplného vytěkání amoniaku a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm ke stanovení polohy skvrny flekainidu. Pak se postříká čerstvě připraveným roztokem *ninhydrinu R* (2 g/l) v *methanolu R* a zahřívá se 2 min až 5 min při 100 °C až 110 °C a pozoruje se při denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není skvrna odpovídající (2-piperidyl)methanaminu intenzivnější než skvrna (2-piperidyl)methanaminu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 2 h při 60 °C při tlaku nepřesahujícím 0,6 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Použije se *platinový kelímek*. Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

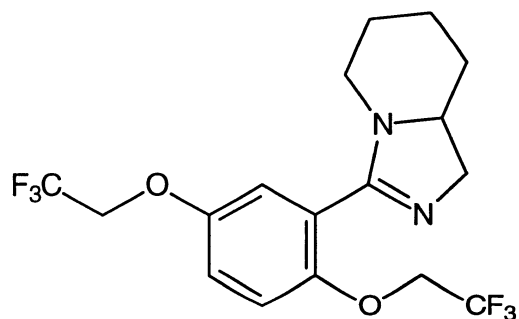
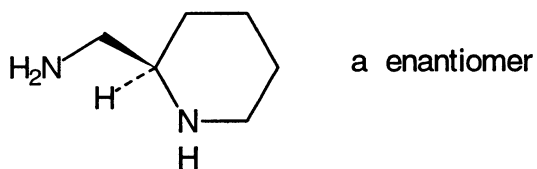
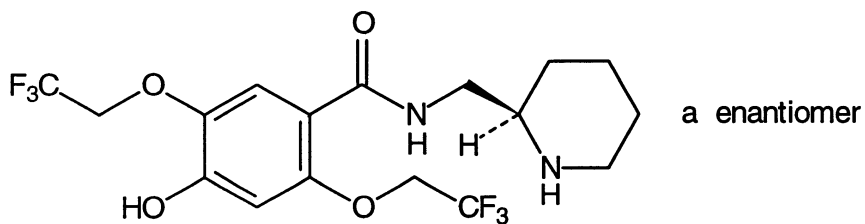
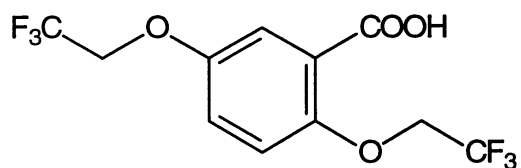
0,400 g se rozpustí ve 25 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 47,44 mg C₁₉H₂₄F₆N₂O₅.

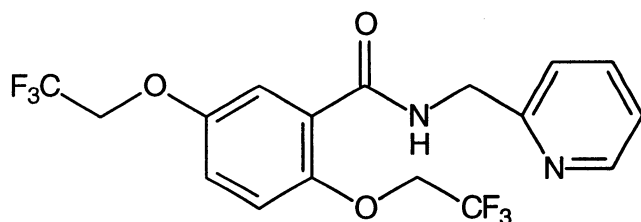
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

4228 † *Flecainidi acetat***Nečistoty**A. 3-[2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)fenyl]-1,5,6,7,8,8a-hexahydroimidazo[1,5-*a*]pyridin,B. (*RS*)-(2-piperidyl)methanamin,C. (*RS*)-4-hydroxy-N-(2-piperidylmethyl)-2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzamid,

D. kyselina 2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzoová,

† *Flumazenilum* 4229

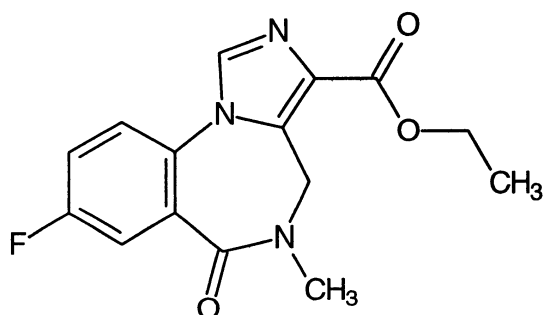
E. N-(2-pyridylmethyl)-2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzamid.

† **Flumazenilum**

Flumazenil



1999

 $C_{15}H_{14}FN_3O_3$ M_r 303,29

CAS 78755-81-4

Je to ethyl-8-fluor-5-methyl-6-oxo-5,6-dihydro-4*H*-imidazo[1,5-*a*][1,4]benzodiazepin-3-karboxylat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{15}H_{14}FN_3O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v methanolu.

Taje při 198 °C až 202 °C.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. flumazenilu*.

4230 † *Flumazenilum***Zkoušky na čistotu**

Vzhled roztoku. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Diethylacetal dimethylformamidu. 0,10 g se rozpustí v 0,5 ml *dichlormethanu R* a zředí se *1-butanolem R* na 10 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidají 2,0 ml *ninhydrinu RS* a zahřívá se 15 min ve vodní lázni při 95 °C. Modrofialové zbarvení roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku *diethylacetal dimethylformamidu R* (0,1 g/l) v *1-butanolu R* (1 %).

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 4 mg *chlordiazepoxidu R* se rozpustí v mobilní fázi, přidají se 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 50,0 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 4,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (20 + 80), jejíž pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,0, průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se upraví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy látek *chlordiazepoxidu* asi 6 min a *flumazenilu* asi 9 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *chlordiazepoxidu* a *flumazenilu* je nejméně 6,0; je-li třeba, upraví se koncentrace *acetonitrilu* v mobilní fázi.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %. 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

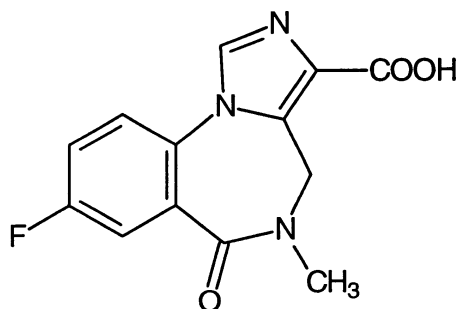
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *acetanhydridu R* a *kyseliny octové bezvodé R* (2 + 3). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

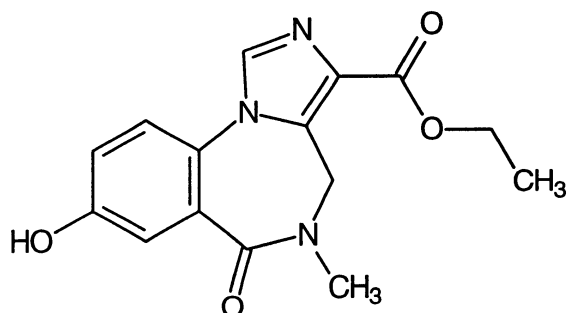
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 30,33 mg C₁₅H₁₄FN₃O₃.

Uchovávání

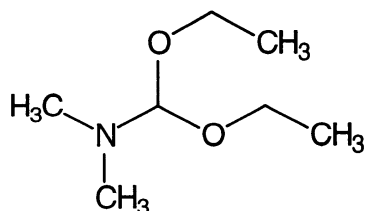
Separandum.

Nečistoty

A. kyselina 8-fluor-5-methyl-6-oxo-5,6-dihydro-4*H*-imidazo[1,5-*a*][1,4]benzodiazepin-3-karboxylová,



B. ethyl-8-hydroxy-5-methyl-6-oxo-5,6-dihydro-4*H*-imidazo[1,5-*a*][1,4]benzodiazepin-3-karboxylat,



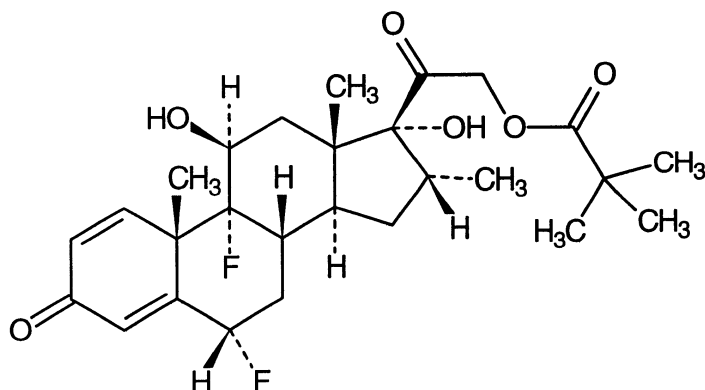
C. diethylacetal N,N-dimethylformamidu.

4232 † *Flumetasoni pivalas*† **Flumetasoni pivalas**

Flumetasonpivalat



1999

 $C_{27}H_{36}F_2O_6$ M_r 494,57

CAS 2002-29-1

Je to 6 α ,9-difluor-11 β ,17-dihydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{27}H_{36}F_2O_6$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz. *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *flumetasonpivalatu CRL*. Pokud spektra získaná se vzorky v tuhém stavu jsou rozdílná, rozpustí se odděleně zkoušená i referenční látka v *acetonu R*, odpaří se na vodní lázni do sucha a se získanými zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *flumetasonpivalatu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *deoxykortonacetatu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10 ml.

Na vrstvě se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku. Vytvoří se mobilní fázi připravenou přidáním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) ke směsi objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje

se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Vrstva se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a zahřívá se 10 min při 120 °C nebo do objevení skvrn. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením při denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- C. Asi 2 mg se přidají ke 2 ml směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny sírové R* (0,5 + 1,5) a třepe se do rozpuštění. Během 5 min vznikne růžové zbarvení. Roztok se přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se. Zbarvení vybledne a roztok zůstane čirý.
- D. Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žláhá se v kelímku do získání téměř bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Nechá se vychladnout, přidá se 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenoltaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do získání bezbarvého roztoku a zfiltruje se. K čerstvě připravené směsi 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnanu-oxidu zirkoničitého RS* se přidá 1,0 ml filtrátu, promíchá se a nechá se 5 min stát. Současně se stejným způsobem připraví kontrolní roztok a oba vzorky se porovnají. Zkoušený roztok je žlutý, kontrolní roztok je červený.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,50 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +69° až +77°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *testosteronu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku a 10,0 ml zkoušeného roztoku se smíchá a zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 3,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R*, *acetonitrilu R*, *vody R* a *methanolu R* (5 + 30 + 30 + 35), s průtokovou rychlostí 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy *testosteronu* asi 11 min a *flumetasonpivalatu* asi 15 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky

4234 † *Flumetasoni pivalas*

testosteronu a flumetasonpivalatu nejméně 5,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace tetrahydrofuranu v mobilní fázi.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,02násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší v sušárně 4 h při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

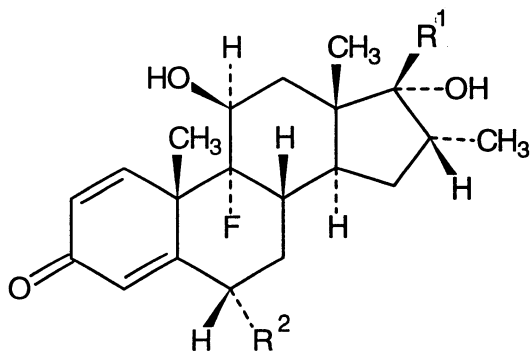
50,0 mg se rozpustí v *lihu* 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem* 96% R na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 239 nm.

Obsah $C_{27}H_{36}F_2O_6$ se vypočítá za použití specifické absorbance, která má hodnotu 336.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

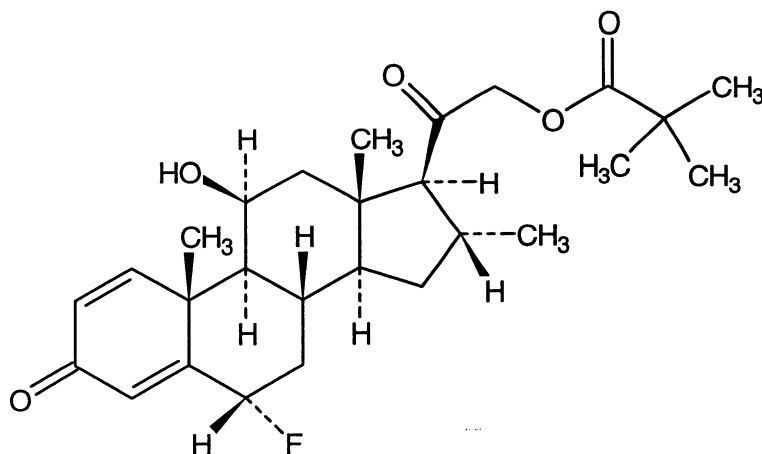
- A. $R^1 = CO-CH_2OH$, $R^2 = F$: 6 α ,9-difluor-11 β ,17,21-trihydroxy-16 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion (flumetason),
 B. $R^1 = CO-CH_2OCOCH_3$, $R^2 = F$: 6 α ,9-difluor-11 β ,17-dihydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylacetat (flumetasonacetat),
 C. $R^1 = CO-CH_2OCOC(CH_3)_3$, $R^2 = H$: 9-fluor-11 β ,17-dihydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat (dexametasonpivalat),
 D. $R^1 = CO-CH_2OCOC(CH_3)_3$, $R^2 = Cl$: 6 α -chlor-9-fluor-11 β ,17-dihydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat (chlordexametasonpivalat).

† *Fluocortoloni pivalas* 4235† **Fluocortoloni pivalas**

Fluokortolonpivalat



1998

 $C_{27}H_{37}FO_5$ M_r 460,58

CAS 29205-06-9

Je to 6 α -fluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{27}H_{37}FO_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu a v dioxanu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *fluokortolonpivalatu* CRL.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *fluokortolonpivalatu* CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *norethisteronu* CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku. Připraví se mobilní fáze přidáním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) ke směsi objemových dílů *etheru R*

4236 † *Fluocortoloni pivalas*

a *dichlormethanu R* (15 + 77) a vyvíjí se po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Vrstva se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a zahřívá se 10 min při 120 °C nebo do objevení skvrn. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí se shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

- C. K asi 1 mg se přidají 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *kyseliny sírové R* (2 + 3) a zahřívá se 1 min na vodní lázni; vznikne červené zbarvení. Přidá se 5 ml *vody R* a zbarvení se změní na fialově červené.
- D. Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do získání téměř bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Po ochlazení se přidá 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenoltaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* k odbarvení roztoku. Zfiltruje se a k filtrátu se přidá čerstvě připravená směs 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS*. Promíchá se, nechá se 5 min a porovná se zbarvení roztoku se zbarvením kontrolního roztoku připraveného stejným způsobem; zkoušený roztok je žlutý a kontrolní roztok je červený.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +100° až +105°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v *dioxanu R* a zředěním na 25,0 ml stejným rozpouštědlem.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonitrem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 mg *fluokortolonpivalatu CRL* a 2 mg *prednisolonhexanoatu CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (25 + 30 + 32) při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 243 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 5,0. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času fluokortolonpivalatu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2,0 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,025násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

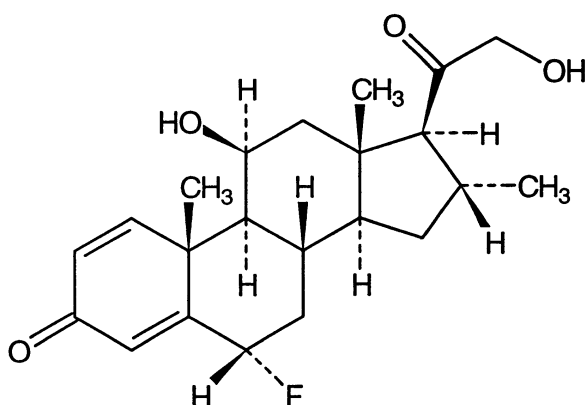
Stanovení obsahu

30,0 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 242 nm a vypočítá se obsah $C_{27}H_{37}FO_5$; specifický absorpční koeficient je 350.

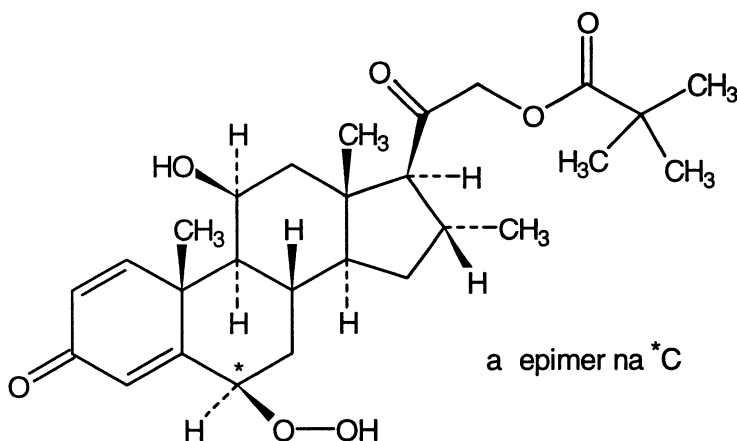
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

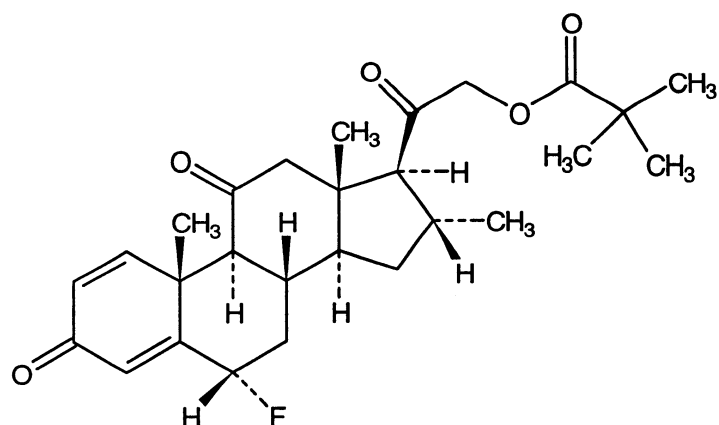
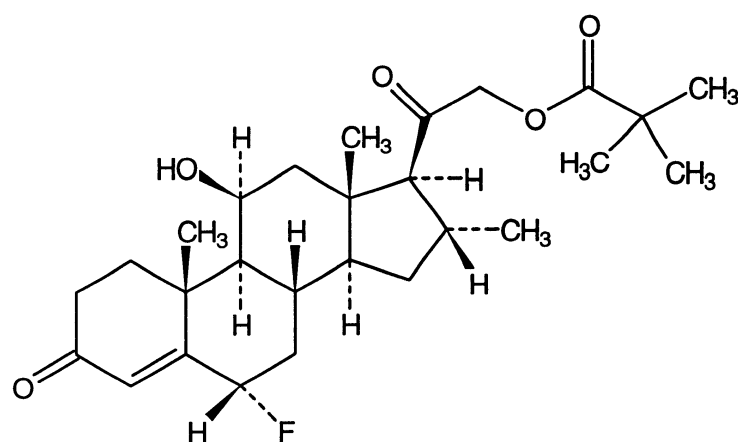
Nečistoty



A. 6 α -fluor-11 β ,21-dihydroxy-16 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion (fluokortolon),



B. 11 β -hydroxy-6 β -hydroperoxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat,

4238 *Foeniculi amari fructus*C. 6 α -fluor-16 α -methyl-3,11,20-trioxo-1,4-pregnadien-21-ylpivalat,D. 6 α -fluor-11 β -hydroxy-16 α -methyl-3,20-dioxo-4-pregnen-21-ylpivalat.**Foeniculi amari fructus**

Fenyklový plod hořký

Synonymum. Fructus foeniculi amari

1999

Je to usušená dvojnažka a nažka druhu *Foeniculum vulgare* MILLER ssp. *vulgare* var. *vulgare*. Obsahuje nejméně 40 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na bezvodou drogu. Silice obsahuje nejméně 60,0 % anetholu a nejméně 15,0 % fenchonu.

Vlastnosti

Fenyklový plod hořký je zelenohnědý, hnědý nebo zelený.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Dvojnážky jsou téměř válcovitého tvaru s okrouhlou bází a užším vrcholem, s velkým stylopodiem. Většinou jsou 3 mm až 12 mm dlouhé a 3 mm až 4 mm široké. Nažky, obvykle jednotlivé, jsou lysé. Každá má pět vyčnívajících, lehce rýhovaných žebor. Na příčném řezu mohou být pod lupou patrné čtyři kanálky na straně dorzální a dva na straně poutcové.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedohnědý až šedožlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: žluté úlomky širokých sekrečních kanálků, tvořené mnohohrannými sekrečními buňkami se žlutohnědými stěnami často provázenými vrstvou tenkostěnných, mnohohranných, příčně protáhlých buněk 2 μm až 9 μm širokých, které jsou parketovitě uspořádány; síťovitý parenchym mezokarpu; četné svazky vláken ze žebor často provázené úzkými šroubovitě ztlustlými cévami; velmi četné úlomky endospermu obsahující aleuronová zrna a velmi malé drúzy šřavelanu vápenatého; někdy také svazky vláken karpoforu.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 0,3 g čerstvě práškováné drogy (1400) se protřepává 15 min s 5,0 ml *dichlormethanu R*. Zfiltruje se, filtrát se opatrně odpaří do sucha na vodní lázni při 60 °C a zbytek se rozpustí v 0,5 ml *toluenu R*.

Porovnávací roztok. 50 μl *anetholu R* a 10 μl *fenchonu R* se rozpustí v 5,0 ml *hexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm x 3 mm) po 10 μl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna zhášeující fluorescenci odpovídající *anetholu*. Vrstva se postříká *kyselinou sírovou R* a zahřívá se 5 min až 10 min při 140 °C, dokud se v dolní třetině chromatogramů neobjeví žlutá skvrna odpovídající *fenchonu*, ve střední části chromatogramů je fialová skvrna odpovídající *anetholu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní třetině červenohnědá skvrna (*terpeny*).

Zkoušky na čistotu

Estragol. Silice získaná ve zkoušce Stanovení obsahu obsahuje nejvýše 5,0 % estragolu.

Zkouška se provede způsobem uvedeným v odstavci Stanovení obsahu, *Anethol* a *fenchon*.

Porovnávací roztok. 5 mg *estragolu R* se rozpustí v 0,5 ml *xylenu R*.

Obsah estragolu v procentech se vypočítá metodou vnitřní normalizace.

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 1,5 % stopek a nejvýše 1,5 % ostatních cizích příměsí.

Voda, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 8,0 %; stanoví se s 20,0 g práškováné drogy (710).

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Stanovení obsahu

Silice. Proveďte se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). Droga se rozdrťí na hrubý prach (1400) a 5,0 g se ihned použije ke stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 500ml baňce s 200 ml *vody R* jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,5 ml *xylenu R*.

4240 *Foeniculi dulcis fructus*

Anethol a fenchon. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. Směs silice a xylenu R ze zkoušky Stanovení silic v rostlinných drogách se zředí xylemem R a promývací tekutinou z přístroje na 5,0 ml.

Porovnávací roztok. 5 mg fenchonu R a 5 mg anetholu R se rozpustí v 0,5 ml xylenu R.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární kolony délky 30 m až 60 m a vnitřního průměru 0,3 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,40 ml/min,
- dělicího poměru 1 : 200,
- plamenoionizačního detektoru,
- programované teploty; teplota kolony se udržuje po dobu 4 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min až na 170 °C, při níž se udržuje 15 min. Teplota nástříkového prostoru se udržuje na 220 °C a detektoru na 270 °C.

Natříkne se 1 µl porovnávacího roztoku. Při dodržení předepsaných podmínek eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Nastříkne se 1 µl zkoušeného roztoku. Obsah anetholu a fenchonu v procentech se vypočítá metodou vnitřní normalizace.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a vlhkostí.

Foeniculi dulcis fructus

Fenyklový plod sladký

Synonymum. Fructus foeniculi dulcis



1999

Je to usušená dvojnážka a nažka druhu *Foeniculum vulgare* MILLER, ssp. *vulgare* var. *dulce* (MILLER) THELLUNG. Obsahuje nejméně 20 ml silice v 1 kilogramu drogy, počítáno na bezvodou drogu. Silice obsahuje nejméně 80,0 % anetholu.

Vlastnosti

Fenyklový plod sladký je světle zelený nebo světle žlutohnědý.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

A. Dvojnážky jsou téměř válcovitého tvaru s okrouhlou bází a užším vrcholem s velkým stylopodiem. Většinou jsou 3 mm až 12 mm dlouhé a 3 mm až 4 mm široké. Nažky, obvykle jednotlivé, jsou lysé. Každá má pět vyčnívajících, lehce rýhovaných žeber. Na příčném řezu mohou být pod lupou patrný čtyři kanálky na straně dorzální a dva na straně poutcové.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedohnědý až šedožlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: žluté úlomky širokých sekrečních kanálků, tvořené mnohohrannými sekrečními buňkami se žlutohnědými stěnami, často provázenými vrstvou tenkostěnných, mnohohranných, příčně protáhlých buněk 2 µm až 9 µm širokých, které jsou parketovitě uspořádány; síťovitý parenchym mezokarpu; četné svazky vláken ze žeber často provázené úzkými šroubovitě ztlustlými cévami; velmi četné úlomky endospermu obsahující aleuronová zrna a velmi malé drúzy šťavelanu vápenatého; někdy také svazky vláken karpoforu.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 0,3 g čerstvě práškové drogy (1400) se 15 min protřepává s 5,0 ml *dichlormethanu R*. Zfiltruje se a filtrát se opatrně odpaří do sucha na vodní lázni při 60 °C. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml *toluenu R*.

Porovnávací roztok. 60 µl *anetholu R* se rozpustí v 5,0 ml *hexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm x 3 mm) po 10 µl obou roztoků. Využívá se směs objemových dílů *hexanu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna zhášející fluorescenci odpovídající anetholu. Vrstva se postříká *kyselinou sírovou R*, zahřívá se 5 min při 140 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramech je ve střední části fialová skvrna odpovídající anetholu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v horní třetině červenohnědá skvrna (terpeny).

Zkoušky na čistotu

Estragol a fenchon. Silice získaná ve zkoušce Stanovení obsahu obsahuje nejvýše 10,0 % estragolu a nejvýše 7,5 % fenchonu. Zkouška se provede způsobem uvedeným v odstavci Stanovení obsahu, Anethol.

Porovnávací roztok. 5 mg *estragolu R* a 5 mg *fenchonu R* se rozpustí v 0,5 ml *xylenu R*.

Obsah estragolu a fenchonu v procentech se vypočítá metodou vnitřní normalizace.

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 1,5 % stopek a nejvýše 1,5 % ostatních cizích příměsí.

Voda, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 8,0 %; stanoví se s 20,0 g práškové drogy (710).

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Stanovení obsahu

Silice. Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). Droga se rozdrtí na hrubý prach (1400) a 10,0 g se ihned použije ke stanovení. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 500ml baňce s 200 ml *vody R* jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml *xylenu R*.

Anethol. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. Směs silice a *xylenu R* ze zkoušky Stanovení silic v rostlinných drogách se zředí *xylemem R* a promývací tekutinou z přístroje na 5,0 ml.

Porovnávací roztok. 5 mg *anetholu R* se rozpustí v 0,5 ml *xylenu R*.

4242 Foenugraeci semen

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární kolony délky 30 m až 60 m a vnitřního průměru 0,3 mm s vnitřní stěnou pokrytou *ma-krogolem 20 000 R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,40 ml/min,
- dělicího poměru 1 : 200,
- plamenoionizačního detektoru,
- programované teploty; teplota kolony se udržuje po dobu 4 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min až na 170 °C, při níž se udržuje 15 min. Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 220 °C a detektoru na 270 °C.

Nástříkne se odděleně po 1 µl obou roztoků. Obsah anetholu v procentech se vypočítá metodou vnitřní normalizace.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a vlhkostí.

Foenugraeci semen

Semeno řeckého sena

Synonymum. Semen foenugraeci



1999

Je to usušené zralé semeno druhu *Trigonella foenum-graecum* L.

Vlastnosti

Droga charakteristického silně aromatického pachu.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A.** Semeno je tvrdé, hladké, hnědé až načervenalé hnědé a více nebo méně kosodélníkové se zaoblenými okraji. Je 3 mm až 5 mm dlouhé, 2 mm až 3 mm široké a 1,5 mm až 2 mm tlusté. Nejširší povrch semene je zřetelně rozdělen rýhou do dvou nestejných částí. Menší část obsahuje základ kořínku; širší část dělohy.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je žlutohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: v příčném pohledu jsou patrné úlomky pokožky osemení z buněk lahvicovitého tvaru, pokrytých silnou vrstvou kutikuly, pod nimi velké buňky hypodermis tvaru komolého kužele, které jsou na horním konci užší, uprostřed zaškrbené, mřížkovitě ztlustlé, při plošném pohledu jsou patrné žlutohnědé úlomky pokožky z malých mnohohranných buněk se stěnami ztlustlými, tečkovanými, které jsou často provázeny buňkami hypodermis s růžencovitě ztlustlými stěnami, úlomky níže ležící hypodermis z mnohohranných buněk, mřížkovitě ztlustlých na horních a dolních stěnách, parenchym osemení z protáhlých, obdélníkovitých buněk s mírně růžencovitě ztlustlými

† Fosfomycinum calcicum monohydricum 4243

stěnami, úlomky endospermu s nepravidelně ztlustlými, někdy protáhlými buňkami obsahujícími sliz.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F_{254} pro TLC R.

Zkoušený roztok. 1,0 g práškové drogy (710) se v 25 ml baňce smíchá s 5,0 ml methanolu R a zahřívá se 5 min na vodní lázni při 65 °C. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 3,0 mg trigonelliniumchloridu R se rozpustí v 1,0 ml methanolu R.

Na vrstvu se odděleně nanese do pruhů 20 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R a methanolu R (30 + 70) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve spodní polovině skvrna zhášející fluorescenci odpovídající polohou a intenzitou zhášení skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká jodobismutitanem draselným RS2. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní oranžově červená skvrna, která odpovídá polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. V horní polovině je široká, světle hnědožlutá skvrna (triacylglyceroly).

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce na cizí příměsi.

Číslo bobtnavosti (2.8.4). Nejméně 6; stanoví se s práškovou drogou (710).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškové drogy se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 5,0 %.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněno před světlem.

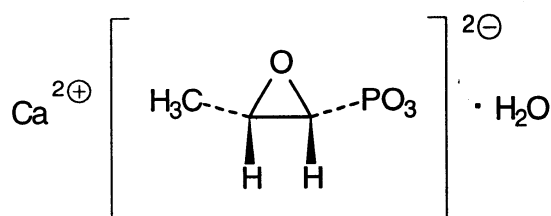
† Fosfomycinum calcicum monohydricum

Monohydrát vápenaté soli fosfomycinu

Synonymum. Fosfomycinum calcicum



1999



$\text{C}_3\text{H}_5\text{CaO}_4\text{P} \cdot \text{H}_2\text{O}$

M_r 194,15

CAS 26016-98-8 (bezvodá sůl)

4244 † *Fosfomycinum calcicum monohydricum*

Je to monohydrát kalcium-(2*R*,3*S*)-(3-methyloxiran-2-yl)fosfonátu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_3H_5CaO_4P$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v methanolu a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. monohydrátu vápenaté soli fosfomycinu*. Měří se tablety připravené s bromidem draselným *R*.

B. Asi 0,1 g se rozpustí ve 3 ml roztoku *kyseliny chloristé R 25% (V/V)*. Přidá se 1 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Po vychladnutí se přidá 50 ml *vody R*. Neutralizuje se nasyceným roztokem *hydrogenuhlíčitánu sodného R* a přidá se 1 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R (400 g/l)*. Stejným způsobem se současně připraví kontrolní roztok. Kontrolní roztok je oranžový, zatímco zkoušený roztok zůstane bezbarvý.

C. K asi 8 mg se přidají 2 ml *vody R*, 1 ml *kyseliny chloristé R* a 2 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS*. Zahřívá se 10 min na vodní lázni a bez ochlazení se přidá 1 ml *molybdenanu amonného RS5* a 1 ml *kyseliny aminohydroxynaftalensulfonové RS*. Nechá se stát 30 min; vzniká modré zabarvení.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na vápník (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 8,1 až 9,6; měří se roztok připravený rozpuštěním 20 mg ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20,0 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-11,0^\circ$ až $-13,0^\circ$, počítáno na bezvodou látku. Měří se za použití rtuťové lampy při vlnové délce 405 nm následující roztok: 2,5 g se rozpustí v roztoku *edetánu disodného R (125 g/l)*, jehož pH bylo předtím upraveno *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 8,5 a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Kalcium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonat. Nejvýše 1,5 %. 0,200 g se rozpustí ve skleněné baňce opatřené zátkou ve 100 ml *vody R*. Přidá se 50 ml *tlumivého roztoku hydrogenftalanového o pH 6,4 (0,5 mol/l)* a 5,0 ml *jodistanu sodného 0,005 mol/l RS*, baňka se uzavře a protřepe. Nechá se stát 90 min chráněna před světlem. Přidá se 10 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R (400 g/l)*, baňka se opět uzavře a obsah se třepe 2 min. Titruje se *arsenitanem sodným 0,0025 mol/l VS* až žluté zabarvení téměř zmizí. Přidají se 2 ml *škrobu RS* a titruje se zvolna do úplného odbarvení. Provede se slepá zkouška za stejných podmínek. Obsah $C_3H_7CaO_5P$ v procentech se vypočítá podle vzorce:

† *Fosfomycinum calcicum monohydricum* 4245

$$\frac{(n_1 - n_2) \cdot c \cdot 97}{m \cdot (100 - H)} \cdot 100,$$

v němž značí:

m - navážku zkoušené látky v miligramech,

*n*₁ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,0025 mol/l VS* ve slepé zkoušce,

*n*₂ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,0025 mol/l VS* při titraci zkoušeného roztoku,

c - molaritu roztoku *arsenitanu sodného*,

H - obsah vody v procentech.

Chloridy (2.4.4). 0,500 g se rozpustí ve vodě *R*, přidají se 2 ml *kyseliny dusičné R* a roztok se zředí touto kyselinou na 50 ml. K 2,5 ml tohoto roztoku se přidá 12,5 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,2 %).

Těžké kovy (2.4.8). 2,5 g se rozpustí v 6 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *vodou R* na 25,0 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce *A* na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova (2 µg Pb/ml)*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 8,5 % až 11,5 %. Stanoví se s 0,250 g za použití směsi objemových dílů *pyridinu R* a *ethylenglykolu R (1 + 3)*.

Stanovení obsahu

0,120 g se rozpustí ve skleněné baňce opatřené zátkou ve 20,0 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS*. Přidá se 5 ml roztoku *kyseliny chloristé R 50 % (V/V)* a protřepe se. Zahřívá se 105 min ve vodní lázni při 37 °C. Přidá se 50 ml *vody R* a ihned se upraví pH na hodnotu 6,4 nasyceným roztokem *hydrogenuhličitanu sodného R*. Přidá se 10 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R (400 g/l)*, baňka se uzavře a nechá se stát 2 min. Titruje se *arsenitanem sodným 0,1 mol/l VS* až žluté zabarvení roztoku téměř zmizí. Přidají se 2 ml *škrobu RS* a titruje se zvolna do úplného odbarvení roztoku. Provede se slepá zkouška za stejných podmínek.

Obsah $C_3H_5CaO_4P$ v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{(n_1 - n_2) \cdot c \cdot 88 \cdot 100}{m \cdot (100 - H)} - G,$$

v němž značí:

m - navážku zkoušené látky v miligramech,

*n*₁ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,1 mol/l VS* ve slepé zkoušce,

*n*₂ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,1 mol/l VS* při titraci zkoušeného roztoku,

c - molaritu roztoku *arsenitanu sodného*,

G - obsah kalcium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonátu v procentech,

H - obsah vody v procentech.

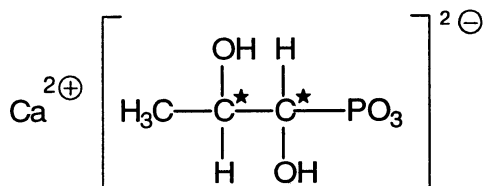
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech chráněn před světlem.

Separandum.

4246 † Fosfomycinum dinatricum

Nečistoty



A. kalcium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonat.

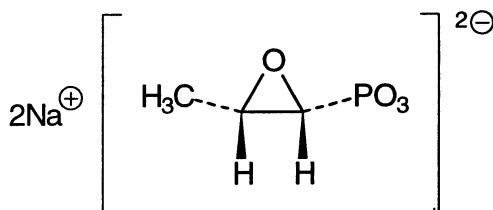
† Fosfomycinum dinatricum

Disodná sůl fosfomycinu

Synonymum. Fosfomycinum natricum



1999



$\text{C}_3\text{H}_5\text{Na}_2\text{O}_4\text{P}$

M_r 182,02

CAS 26016-99-9

Je to dinatrium-(2*R*,3*S*)-(3-methyloxiran-2-yl)fosfonat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_3\text{H}_5\text{Na}_2\text{O}_4\text{P}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý silně hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v ethanolu a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz. *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. disodné soli fosfomycinu*. Měří se tablety připravené s bromidem draselným R.

B. Asi 0,1 g se rozpustí ve 3 ml roztoku *kyseliny chloristé R 25% (V/V)*. Přidá se 1 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Po vychladnutí se přidá 50 ml *vody R*. Neutralizuje se nasyceným roztokem *hydrogenuhličitanu sodného R* a přidá se 1 ml čerstvě

připraveného roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l). Stejným způsobem se současně připraví kontrolní roztok. Kontrolní roztok je oranžový, zatímco zkoušený roztok zůstane bezbarvý.

C. K asi 8 mg se přidají 2 ml *vody R*, 1 ml *kyseliny chloristé R* a 2 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS*. Zahřívá se 10 min na vodní lázni a bez ochlazení se přidá 1 ml *molybdenanu amonného RS5* a 1 ml *kyseliny aminohydroxynaftalensulfonové RS*. Nechá se stát 30 min; vzniká modré zbarvení.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H₉ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 9,0 až 10,5; měří se roztok připravený takto: 10 ml roztoku S se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 20 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-13,0^{\circ}$ až $-15,0^{\circ}$, počítáno na bezvodou látku. Měří se za použití rtuťové lampy při vlnové délce 405 nm roztok připravený rozpuštěním 2,5 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Dinatrium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonat. Nejvýše 1,0 %. 0,200 g se rozpustí ve skleněné baňce opatřené zátkou ve 100 ml *vody R*. Přidá se 50 ml *tlumivého roztoku hydrogenftalanového o pH 6,4 (0,5 mol/l)* a 5,0 ml *jodistanu sodného 0,005 mol/l RS*, baňka se uzavře a protřepe. Nechá se stát 90 min chráněna před světlem. Přidá se 10 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l), baňka se opět uzavře a obsah se třepe 2 min. Titruje se *arsenitanem sodným 0,0025 mol/l VS* až žluté zbarvení téměř zmizí. Přidají se 2 ml *škrobu RS* a titruje se zvolna do úplného odbarvení. Proveďte se slepá zkouška za stejných podmínek. Obsah C₃H₇Na₂O₅P v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{(n_1 - n_2) \cdot c \cdot 100}{m \cdot (100 - H)} \cdot 100$$

v němž značí:

m - navážku zkoušené látky v miligramech,

*n*₁ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,0025 mol/l VS* ve slepé zkoušce,

*n*₂ - spotřebu *arsenitanu sodného 0,0025 mol/l VS* při titraci zkoušeného roztoku,

c - molaritu roztoku *arsenitanu sodného*,

H - obsah *vody* v procentech.

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (2 μg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %. Stanoví se s 0,50 g za použití směsi objemových dílů *pyridinu R* a *ethylenglykolu R* (1 + 3).

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,083 m.j. endotoxinů v miligramu.

4248 † *Fosfomycinum dinatricum***Stanovení obsahu**

0,120 g se rozpustí ve skleněné baňce opatřené zátkou ve 20,0 ml *jodistanu sodného* 0,1 mol/l RS. Přidá se 5 ml roztoku *kyseliny chloristé R* 50 % (V/V) a protřepe se. Zahřívá se 105 min ve vodní lázni při 37 °C. Přidá se 50 ml *vody R* a ihned se upraví pH na hodnotu 6,4 nasyceným roztokem *hydrogenuhličitanu sodného R*. Přidá se 10 ml čerstvě připraveného roztoku *jodidu draselného R* (400 g/l), baňka se uzavře a nechá se stát 2 min. Titruje se *arsenitanem sodným* 0,1 mol/l VS až žluté zbarvení roztoku téměř zmizí. Přidají se 2 ml *škrobu RS* a titruje se zvolna do úplného odbarvení roztoku. Proveďte se slepá zkouška za stejných podmínek.

Obsah $C_3H_5Na_2O_4P$ v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{(n_1 - n_2) \cdot c \cdot 91 \cdot 100}{m \cdot (100 - H)} = G,$$

v němž značí:

m - navážku zkoušené látky v miligramech,

n_1 - spotřebu *arsenitanu sodného* 0,1 mol/l VS ve slepé zkoušce,

n_2 - spotřebu *arsenitanu sodného* 0,1 mol/l VS při titraci zkoušeného roztoku,

c - molaritu roztoku *arsenitanu sodného*,

G - obsah *dinatrium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonatu* v procentech,

H - obsah *vody* v procentech.

Uchovávání

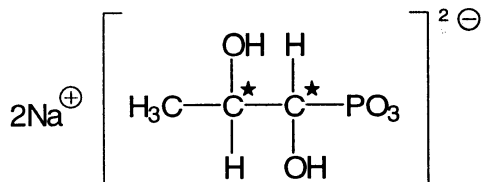
Ve vzduchotěsných obalech chráněn před světlem. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve vzduchotěsných sterilních zabezpečených obalech.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

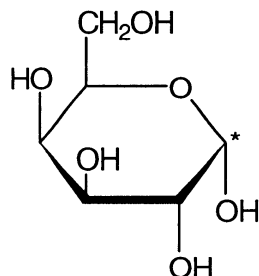
- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

A. *dinatrium-(1,2-dihydroxypropyl)fosfonat*.

Galactosum

Galaktosa



a epimer na C*

 $C_6H_{12}O_6$ M_r 180,16

CAS 59-23-4

Je to D-galaktopyranosa.

Vlastnosti

Bílý krystalický nebo jemně zrnitý prášek. Je snadno rozpustná nebo dobře rozpustná ve vodě, velmi těžce rozpustná v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety galaktosy CRL.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg galaktosy CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg galaktosy CRL, 10 mg glukosy CRL a 10 mg laktosy CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a methanolu R (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese po 2 μ l každého roztoku a body s nanesenými roztoky se důkladně vysuší. Vyvíjí se v nenasyčené komoře směsí objemových dílů vody R a 1-propanolu R (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší v proudu horkého vzduchu a pak se rovnoměrně postříká roztokem 0,5 g thymolu R ve směsi obsahující 5 ml kyseliny sírové R a 95 ml lihu 96% R a vrstva se 10 min zahřívá v sušárně při 130 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou tři zřetelně oddělené skvrny.

C. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody R. Přidají se 3 ml vlnanu měďnatého RS a zahřeje se; vznikne oranžová až červená sraženina.

4250 † *Gallamini triethiodidum***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 10,0 g se rozpustí zahříváním ve vodní lázni při 50 °C ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, připravené z *vody destilované R*, a zředí se stejným rozpouštědlem na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok H₈ (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselé nebo zásaditě reagující látky. K 30 ml roztoku S se přidají 0,3 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +78,0° až +81,5°, počítáno na bezvodou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 10,0 g v 80 ml *vody R* a přidáním 0,2 ml *amoniaku zředěného RS1*. Po 30 min stání se zředí na 100,0 ml *vodou R*.

Baryum. 5 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 10 ml a přidá se 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Opalescence roztoku pozorovaná ihned a po 1 h není intenzivnější než opalescence směsi obsahující 5 ml roztoku S a 6 ml *vody destilované R*.

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel. K 5 ml roztoku S se přidají 2 ml *kyseliny sírové R*, odpaří se do sucha na vodní lázni a vyžílá se do konstantní hmotnosti. Zbytek váží nejvýše 1 mg (0,1 %).

Mikrobiologická čistota. Nejvýše 10² živých aerobních mikroorganismů v gramu (2.6.12).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

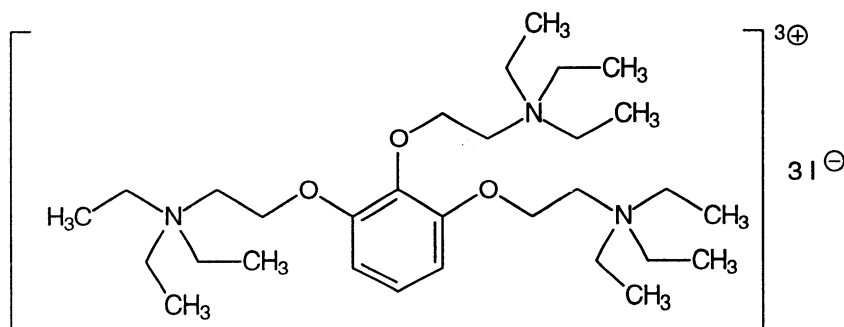
† Gallamini triethiodidum

Gallaminiumtriethojodid

Synonymum. Gallaminium triethiodatum



1999



C₃₀H₆₀I₃N₃O₃

M_r 891,54

CAS 65-29-2

Je to 1,2,3-tris(2-triethylamnioethoxy)benzotrijodid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{30}H_{60}I_3N_3O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** 50 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 220 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 225 nm. Specifická absorbance naměřená v maximum je 500 až 550.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *gallaminiumtriethiodidu CRL*.
- C.** K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *tetrajordortu'natanu draselného RS*; vznikne žlutá sraženina.
- D.** 0,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 2 ml a přidá se 0,2 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na jodidy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,6 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 30 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a ihned po přípravě není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 50 ml *vody R* se přidá 0,2 ml *červeně methylové RS*. Přidává se buď *kyselina sírová 0,01 mol/l VS* nebo *hydroxid sodný 0,02 mol/l VS* do vzniku oranžově žlutého zbarvení roztoku. Potom se přidá 1,0 g zkoušené látky a protřepáním se rozpustí. Ke vzniku původního oranžově žlutého zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny sírové 0,01 mol/l VS* nebo 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

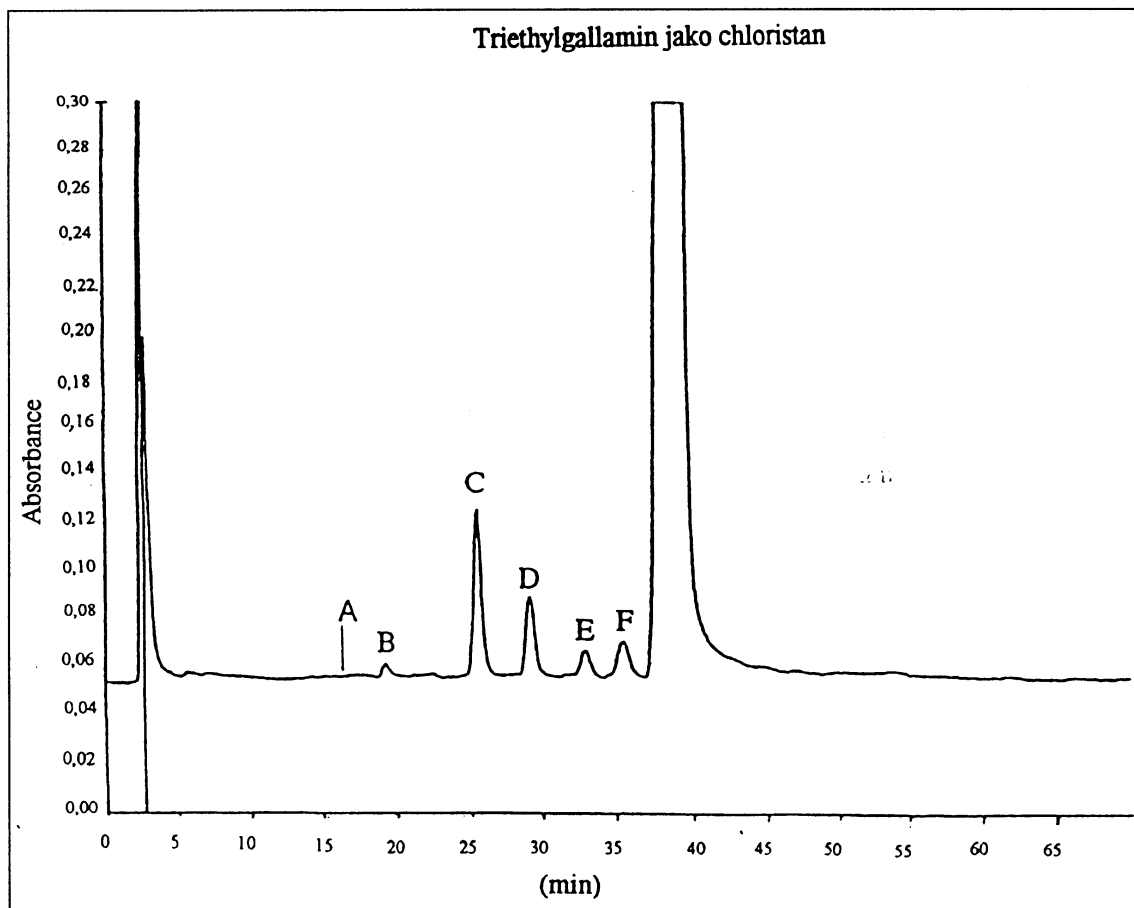
Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, kterou je roztok připravený následovně: 14 g *chloristanu sodného R* se rozpustí v 850 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,0* a přidá se 150 ml *methanolu R*, průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

4252 † Gallamini triethiodidum

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené k triethylgallaminu jako chloristanu (asi 40 min) následující: nečistota A asi 0,45; nečistota B asi 0,50; nečistota C asi 0,65; nečistota D asi 0,75; nečistota E asi 0,85 a nečistota F asi 0,90, viz vzorový chromatogram.

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram

Nastříkne se odděleně 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času triethylgallaminu jako chloristanu.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %); součet ploch všech těchto píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (2,0 %). Nepřihlíží se k píku jodidu s retenčním časem 0.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Aby nedošlo k přehřátí reakčního prostředí, je nutno roztok pečlivě míchat a titraci ukončit ihned po dosažení bodu ekvivalence.

0,270 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny mravenčí bezvodé R a 50,0 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

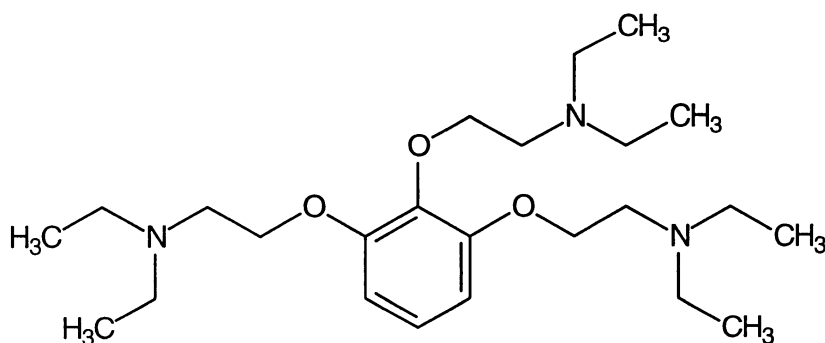
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 29,72 mg $C_{30}H_{60}I_3N_3O_3$.

Uchovávání

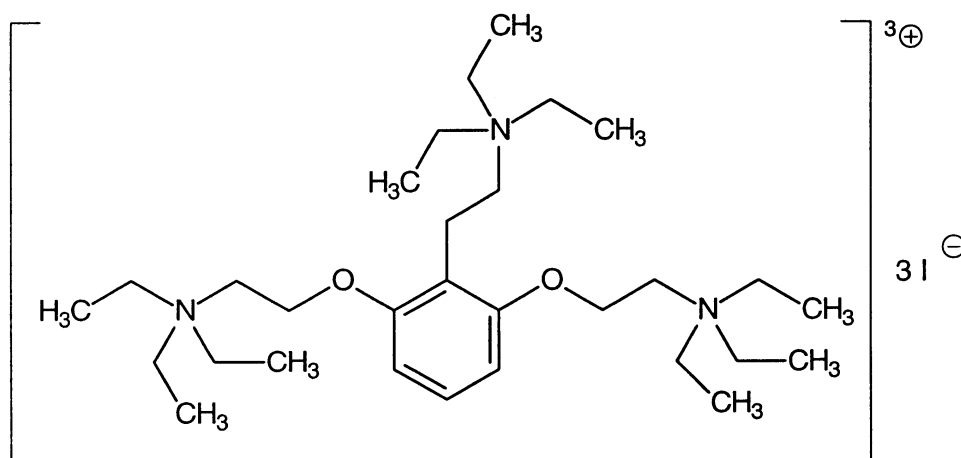
Ve vzduchotěsných obalech chráněn před světlem.

Separandum.

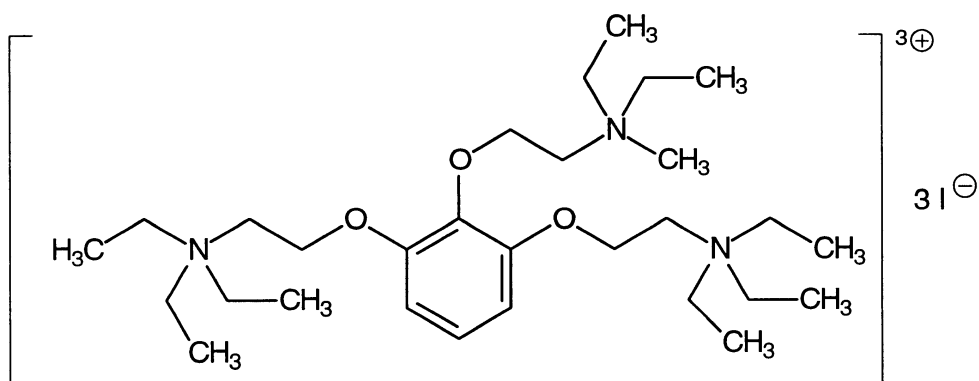
Nečistoty



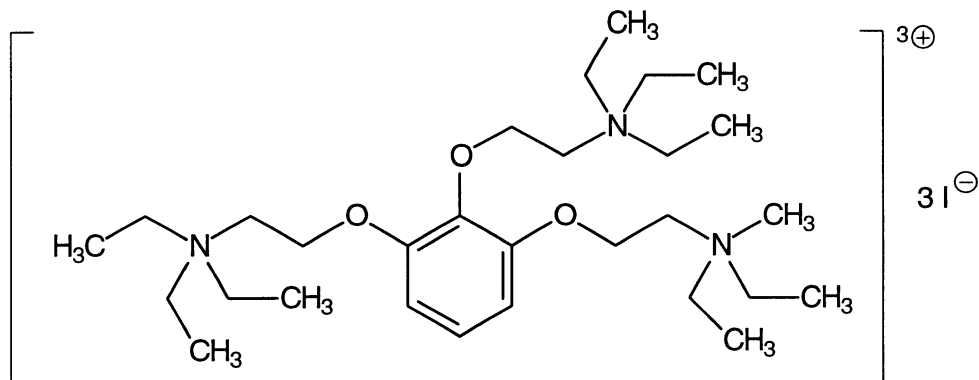
A. 2,2',2''-[benzen-1,2,3-triyltris(oxy)]tris(N,N-diethylethanamin),



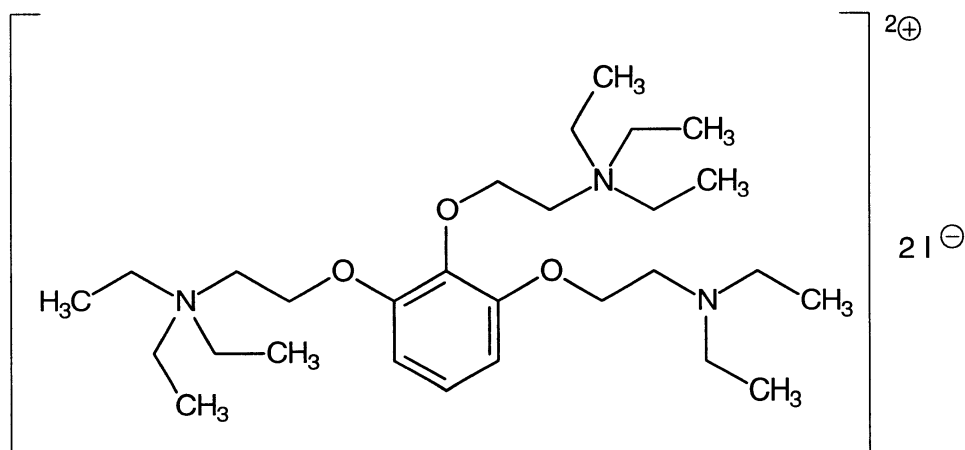
B. 1,3-bis[2-(triethylamonio)ethoxy]-2-[2-(triethylamonio)ethyl]benzotrijodid,

4254 † *Gallamini triethiodidum*

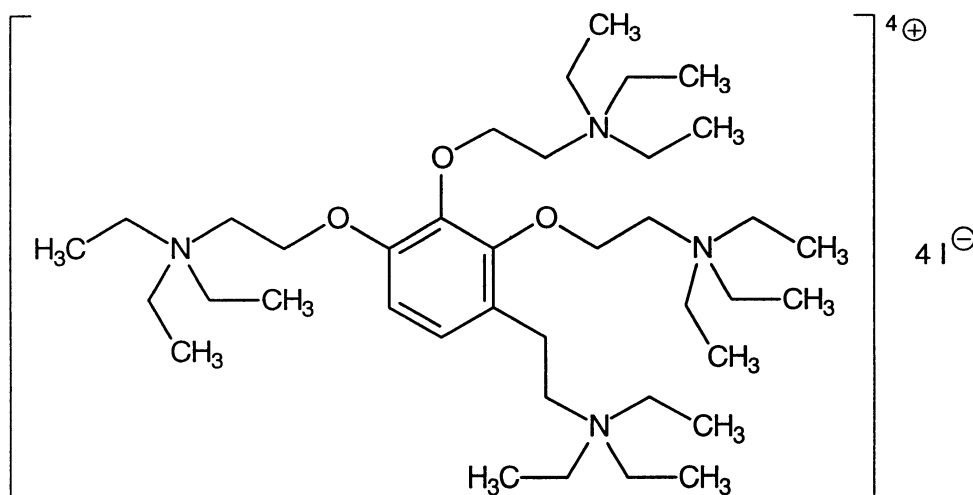
C. 1,3-bis[2-(triethylammonio)ethoxy]-2-[2-(diethylmethylammonio)ethoxy]benzotriiodid,



D. 1,2-bis[2-(triethylammonio)ethoxy]-3-[2-(diethylmethylammonio)ethoxy]benzotriiodid,



E. 1,2-bis[2-(triethylammonio)ethoxy]-3-[2-(diethylamino)ethoxy]benzodijodid,



F. 1,2,3-tris[2-(triethylamonio)ethoxy]-4-[2-(triethylamonio)ethyl]benzentetrajodid.

Glucosum liquidum

Tekutá glukosa



1999

CAS 8027-56-3

Je to vodný roztok směsi glukosy, di- a polysacharidů získaný hydrolyzou škrobu. Obsahuje 70 % až 99,5 % sušiny. Stupeň hydrolyzy vyjádřený jako glukosový ekvivalent (DE) není menší než 20 a je v rozmezí 10 % hodnoty uvedené na označení.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo hnědá viskózní tekutina. Je mísitelná s vodou. Při obvyčné teplotě může látka částečně nebo úplně ztuhnout a znovu zkapalní zahřátím na 50 °C.

Zkoušky totožnosti

- 0,1 g se rozpustí v 2,5 ml vody *R* a zahřívá se s 2,5 ml *vínanu měďnatého RS*; vzniká červená sraženina.
- Vhodná tyčinka s reakční vrstvou obsahující glukosooxidazu, peroxidazu a látku, která je donorem vodíku, např. tetramethylbenzidin, se ponoří na 1 s do roztoku zkoušené látky (5 g/l). Během následujících 60 s se pozoruje barva reakční vrstvy. Barva se změní ze žluté na zelenou nebo modrou.

4256 *Glucosum liquidum*

C. Je to čirá bezbarvá nebo hnědá viskózní tekutina, mísitelná s vodou. Při obyčejné teplotě může látka částečně nebo úplně ztuhnout a znovu zkapalní zahřátím na 50 °C.

D. Zkouška Glukosový ekvivalent, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 25,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 6,0; měří se směs 30,0 ml roztoku S a 1 ml roztoku *chloridu draselného R* (223,6 g/l).

Oxid siřičitý (2.5.29). Nejvýše 20 µg/g. Pokud je látka určena k výrobě pastilek, nejvýše 400 µg/g, za předpokladu, že hotový výrobek obsahuje nejvýše 50 µg/g oxidu siřičitého.

Těžké kovy (2.4.8). 2 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 30 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 10 ml základního roztoku *olova* (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 30,0 %. 1,000 g se smíchá se 3 g *křemeliny R* předem 2 h sušené při 80 °C za sníženého tlaku a suší se 2 h při 80 °C za sníženého tlaku.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Glukosový ekvivalent. Do 500ml odměrné baňky se přesně naváží takové množství zkoušené látky, které odpovídá 2,85 g až 3,15 g redukujících cukrů počítaných jako glukosa. Rozpustí se ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml. Roztok se převede do 50ml byrety.

Do 250ml baňky se odpipetuje 25,0 ml *vínanu měďnatého RS* a přidá se 18,5 ml roztoku z byrety, promíchá se a přidají se varné kaménky. Baňka se umístí na varnou desku, která je předem připravena tak, aby se směs začala vařit během 2 min ± 15 s. Nechá se vařit přesně 120 s, přidá se 1 ml roztoku *modři methylové R* (1 g/l) a titruje se zkoušeným roztokem (V_1) do vymizení modrého zbarvení. Během titrace se směs stále udržuje ve varu.

Roztok *vínanu měďnatého* se potom titruje standardním roztokem, který obsahuje přesně 0,600 g *glukosy R* ve 100 ml *vody R* (V_0).

Glukosový ekvivalent se vypočítá podle vzorce:

$$DE = \frac{300 \cdot V_0 \cdot 100}{V_1 \cdot M \cdot D},$$

v němž značí:

V_0 - celkovou spotřebu standardního roztoku v mililitrech,

V_1 - celkovou spotřebu zkoušeného roztoku v mililitrech,

M - navážku vzorku v gramech,

D - obsah sušiny ve zkoušené látce.

Označování

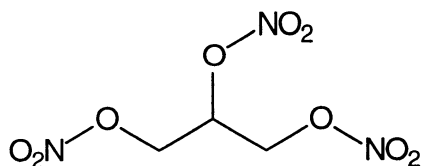
V označení na obalu se uvede hodnota glukosového ekvivalentu (DE).

†† *Glyceroli trinitratis solutio* 4257†† **Glyceroli trinitratis solutio**

Roztok glyceroltrinitratu



1999

 $C_3H_5N_3O_9$ M_r 227,09

CAS 55-63-0

Je to ethanolový roztok 1,2,3-propantriyltrinitratu. Obsahuje 9,85 g/l až 101,0 g/l glyceroltrinitratu a 98,5 % až 101,0 % deklarovaného obsahu glyceroltrinitratu uvedeného na označení.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý nebo slabě žlutý roztok. Je mísitelný s acetonem a ethanolem. Čistý glyceroltrinitrat je bezbarvá tekutina, snadno rozpustná v ethanolu, mísitelná s acetonem, nemísitelná s vodou.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

Při ředění glyceroltrinitratu je nutné vždy použít bezvodý ethanol, jinak mohou vypadávat z roztoku kapky čistého glyceroltrinitratu.

Po ukončení zkoušek totožnosti a zkoušek na čistotu se zbytky a zbylé roztoky zahřívají 5 min na vodní lázni s hydroxidem sodným zředěným RS.

A. 50 μ l roztoku, případně zředěného ethanolem R tak, aby obsahoval 10 g/l glyceroltrinitratu, se vnese na tabletu bromidu draselného R a rozpouštědlo se odpaří ve vakuu. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. glyceroltrinitratu.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

Zkoušený roztok. Množství roztoku odpovídající 50 mg glyceroltrinitratu se zředí acetonem R na 100 ml.

Porovnávací roztok. 0,05 ml roztoku glyceroltrinitratu CRL se zředí acetonem R na 1 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (20 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu. Pak se postříká čerstvě připraveným škrobem s jodidem draselným RS. Potom se deska vystaví na 15 min ultrafialovému světlu při 254 nm a pozoruje se na denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

4258 †† *Glyceroli trinitratis solutio*

C. K množství roztoku odpovídajícímu 10 mg glyceroltrinitratu se přidá 10 ml *etheru prostého peroxidických látek R*. Odpaří se do sucha v proudu dusíku při teplotě nepřevyšující 40 °C. Zbytek vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

D. Rozmezí obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Při ředění glyceroltrinitratu je nutné vždy použít bezvodý ethanol, jinak mohou z roztoku vypařovat kapky čistého glyceroltrinitratu.

Po ukončení zkoušek totožnosti a zkoušek čistoty se zbytky a zbylé roztoky zahřívají 5 min na vodní lázni s hydroxidem sodným zředěným RS.

Vzhled roztoku. Je-li to zapotřebí, roztok se zředí *ethanolem R* na koncentraci 10 g/l. Tento roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok Ž₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Anorganické dusičnany. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. Je-li třeba, roztok glyceroltrinitratu se zředí *ethanolem R* na koncentraci 10 g/l.

Porovnávací roztok. 5 mg *dusičnanu draselného R* se rozpustí v 1 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% R* na 100 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R* a *toluenu R* (15 + 30 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se důkladně vysuší v proudu vzduchu až do úplného odstranění kyseliny octové. Pak se vrstva postříká čerstvě připraveným *škrobem s jodidem draselným RS*. Vrstva se vystaví na 15 min ultrafialovému světlu při 254 nm a potom se pozoruje v denním světle. Skvrna odpovídající dusičnanovému iontu na chromatogramu zkoušeného roztoku není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 % obsahu glyceroltrinitratu počítaného jako dusičnan draselný).

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Množství odpovídající 2 mg glyceroltrinitratu se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,10 g roztoku glyceroltrinitratu CRL a množství *trituratione pentaerythryltetranitratu CRL* odpovídající 1,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. Je-li třeba, rozpouštění se usnadní ultrazvukem a roztok se zfiltruje.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktade-cylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R*, s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Odděleně se nastříkne po 20 µl porovnávacího roztoku (a) a (b). Upraví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 70 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky odpovídajícími glyceroltrinitratu a pentaerythryltetranitratu nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Zaznamená se chromatogram po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %, počítáno jako glyceroltrinitrat); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %, počítáno jako glyceroltrinitrat). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Stanovení obsahu

K množství odpovídajícímu 60,0 mg glyceroltrinitratu se přidá 80 ml *pyridinu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 7,57 mg $C_3H_5N_3O_9$.

Uchovávání

Zředěné roztoky (10 g/l) se uchovávají chráněné před světlem a při teplotě 2 °C až 15 °C. Koncentrovanější roztoky se uchovávají chráněné před světlem a při teplotě 15 °C až 20 °C.

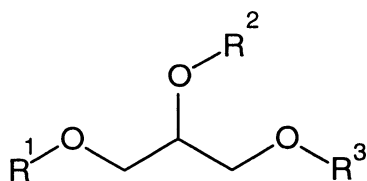
Venenum.

Označování

V označení na obalu se uvede deklarovaný obsah glyceroltrinitratu.

Nečistoty

A. anorganické dusičnany,



B. $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{H}$: 2,3-dihydroxypropan-1-ylnitrat,

C. $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{NO}_2$, $R^3 = \text{H}$: 1,3-dihydroxypropan-2-ylnitrat,

D. $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = \text{NO}_2$, $R^3 = \text{H}$: 3-hydroxypropan-1,2-diyldinitrat,

E. $R^1 = \text{NO}_2$, $R^2 = \text{H}$, $R^3 = \text{NO}_2$: 2-hydroxypropan-1,3-diyldinitrat.

4260 *Glyceromacrogoli caprylocapras*

Glyceromacrogoli caprylocapras



1999

Glyceromakrogolkaprylokaprinat

Synonymum. Macrogolglyceroli caprylocapras

Je to směs monoesterů, diesterů a triesterů glycerolu a monoesterů a diesterů makrogolů s průměrnou relativní molekulovou hmotností 200 až 400. Získávají se částečnou alkoholýzou triacylglycerolů se středně dlouhými řetězci s použitím makrogolu nebo esterifikací glycerolu a makrogolu s kyselinou kaprylovou a s kyselinou kaprinovou nebo smícháním esterů glycerolu a oxyethylenových kondenzátů s kyselinou kaprylovou (kyselinou oktanovou) a s kyselinou kaprinovou (kyselinou dekanovou).

Vlastnosti

Světle žlutá olejovitá kapalina. Je dispergovatelný v horké vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

Relativní hustota při 20 °C je asi 1,0, index lomu při 20 °C je asi 1,4.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 50 µl zkoušeného roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *lihu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu jsou skvrny odpovídající triacylglycerolům s R_F asi 0,9 ($R_{st} = 1$), 1,3-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,7$), 1,2-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,6$), monoacylglycerolům ($R_{st} = 0,1$) a esterům makrogolu ($R_{st} = 0$).

B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Viskozita (2.2.9). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 1; stanoví se při teplotě (20 ± 0,5) °C.

Tabulka 1.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Viskozita (mPa·s)
4	200	30 až 50
6	300	60 až 80
8	400	80 až 110

Glyceromacrogoli caprylocapras 4261

Číslo kyselosti (2.5.1) Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 2; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Tabulka 2.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Číslo hydroxylové
4	200	80 až 120
6	300	140 až 180
8	400	170 až 205

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 6,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 3; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Tabulka 3.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Číslo zmýdelnění
4	200	265 až 285
6	300	170 až 190
8	400	85 až 105

Alkalické nečistoty. 5,0 g se převede do zkumavky a opatrně se přidá směs obsahující 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*, 0,3 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Pokud je to nutné, směs se před přidáním neutralizuje *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* nebo *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS*. Protřepe se a nechá se stát. Ke změně zbarvení horní vrstvy na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Volný glycerol. Nejvýše 5,0 %. 1,20 g se rozpustí v 25,0 ml *dichlormethanu R*, je-li třeba zahřátím. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, protřepe se a přidá se 25,0 ml roztoku *kyseliny jodisté R* (6 g/l). Protřepe se, nechá se 30 min stát a pak se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (75 g/l) a nechá se stát 1 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,3 mg glycerolu.

Podíl mastných kyselin. Provede se plynová chromatografie (2.4.22). Frakce mastných kyselin má následující složení:

- kyselina kapronová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina kaprilová: 50,0 % až 80,0 %,
- kyselina kaprinová: 20,0 % až 50,0 %,
- kyselina laurová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina myristová: nejvýše 1,0 %.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

4262 *Glyceromacrogoli lauras*

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R* (30 + 70) jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede druh makrogolu (tj. relativní molekulová hmotnost makrogolu) nebo počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota).

Glyceromacrogoli lauras

Glyceromakrogollaurat

Synonymum. Macrogolglyceroli lauras



1999

Je to směs monoesterů, diesterů a triesterů glycerolu a monoesterů a diesterů makrogolů s průměrnou relativní molekulovou hmotností 300 až 1500. Získávají se částečnou alkoholýzou nasycených olejů s převažujícím obsahem triacylglycerolů kyseliny laurové s použitím makrogolu nebo esterifikací glycerolu a makrogolu s nasycenými mastnými kyselinami nebo smícháním esterů glycerolu a oxyethylenových kondenzátů s mastnými kyselinami těchto nasycených olejů.

Vlastnosti

Světle žlutá voskovitá pevná látka. Je dispergovatelný v horké vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 10 µl zkoušeného roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *líhu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu jsou skvrny odpovídající triacylglycerolům s R_F asi 0,9 ($R_{st} = 1$), 1,3-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,7$), 1,2-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,6$), monoacylglycerolům ($R_{st} = 0,1$) a esterům makrogolu ($R_{st} = 0$).

B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Číslo zmydelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Teplota skápnutí (2.2.17). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 1; zkoušená látka se 1 h taví v kelímku v sušárně při (100 ± 2) °C a nechá se 5 h stát při 5 °C.

Tabulka 1.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Teplota skápnutí (°C)
6	300	33 až 38
8	400	36 až 41
12	600	38 až 43
32	1500	42,5 až 47,5

Číslo kyselosti (2.5.1) Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 2; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Tabulka 2.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Číslo hydroxylové
6	300	65 až 85
8	400	60 až 80
12	600	50 až 70
32	1500	36 až 56

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 6,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo zmydelnění (2.5.6). Vyhovuje hodnotám uvedeným v tabulce 3; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Tabulka 3.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Druh makrogolu	Číslo zmydelnění
6	300	190 až 204
8	400	170 až 190
12	600	150 až 170
32	1500	79 až 93

Alkalické nečistoty. 5,0 g se převede do zkumavky a opatrně se přidá směs obsahující 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*, 0,3 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Pokud je to nutné, směs se před přidáním neutralizuje *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* nebo *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS*. Protřepe se a nechá se stát. Ke změně zbarvení horní vrstvy na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

4264 *Glyceromacrogoli linoleas*

Volný glycerol. Nejvýše 3,0 %. 1,20 g se rozpustí v 25,0 ml *dichlormethanu R*, je-li třeba zahřátím. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, protřepe se a přidá se 25,0 ml roztoku *kyseliny jodisté R* (6 g/l). Protřepe se, nechá se 30 min stát a pak se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (75 g/l) a nechá se stát 1 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,3 mg glycerolu.

Podíl mastných kyselin. Provede se plynová chromatografie (2.4.22). Frakce mastných kyselin má následující složení:

- kyselina kaprilová: nejvýše 15,0 %,
- kyselina kaprinová: nejvýše 12,0 %,
- kyselina laurová: 30,0 % až 50,0 %,
- kyselina myristová: 5,0 % až 25,0 %,
- kyselina palmitová: 4,0 % až 25,0 %,
- kyselina stearová: 5,0 % až 35,0 %.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního *roztoku olova (10 µg Pb/ml)*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R* (30 + 70) jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede druh makrogolu (tj. relativní molekulová hmotnost makrogolu) nebo počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota).

Glyceromacrogoli linoleas

Glyceromakrogollinoleat

Synonymum. Macrogolglyceroli linoleas



1999

Je to směs monoesterů, diesterů a triesterů glycerolu a monoesterů a diesterů makrogolů. Získávají se částečnou alkoholózou nenasycených olejů s převažujícím obsahem triacylglycerolů kyseliny linolové s použitím makrogolu s relativní molekulovou hmotností 300 až 400 nebo esterifikací glycerolu a makrogolu nenasycenými mastnými kyselinami nebo smícháním esterů glycerolu a oxyethylenových kondenzátů s mastnými kyselinami těchto nenasycených olejů.

Vlastnosti

Jantarově žlutá olejovitá kapalina, jejíž zbarvení se může prohloubit skladováním delší dobu při 20 °C. Je prakticky nerozpustný, ale dispergovatelný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

Viskozita při 40 °C je asi 35 mPa·s, relativní hustota při 20 °C je asi 0,95, index lomu při 20 °C je asi 1,47.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 10 µl zkoušeného roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *lihu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu jsou skvrny odpovídající triacylglycerolům s R_F asi 0,9 ($R_{st} = 1$), 1,3-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,7$), 1,2-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,6$), monoacylglycerolům ($R_{st} = 0,1$) a esterům makroglu ($R_{st} = 0$).

B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Číslo zmydlnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, *Metoda A*). 45 až 65; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). 90 až 110.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 12,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo zmydlnění (2.5.6). 150 až 170; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Alkalické nečistoty. 5,0 g se převede do zkumavky a opatrně se přidá směs obsahující 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*, 0,3 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Pokud je to nutné, směs se před přidáním neutralizuje *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* nebo *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS*. Protřepe se a nechá se stát. Ke změně zbarvení horní vrstvy na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Volný glycerol. Nejvýše 3,0 %. 1,20 g se rozpustí v 25,0 ml *dichlormethanu R*, je-li třeba zahřátím. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, protřepe se a přidá se 25,0 ml roztoku *kyseliny jodisté R* (6 g/l). Protřepe se, nechá se 30 min stát a pak se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (75 g/l) a nechá se stát 1 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,3 mg glycerolu.

Podíl mastných kyselin. Proveďte se plynová chromatografie (2.4.22). Frakce mastných kyselin má následující složení:

- kyselina palmitová: 4,0 % až 20,0 %,

4266 *Glyceromacrogoli oleas*

- kyselina stearová: nejvýše 6,0 %,
- kyselina olejová: 20,0 % až 35,0 %,
- kyselina linolová: 50,0 % až 65,0 %,
- kyselina linolenová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina eikosenová: nejvýše 1,0 %.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R* (30 + 70) jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem, při pokojové teplotě.

Označování

V označení na obalu se uvede druh makrogolu (tj. relativní molekulová hmotnost makrogolu) nebo počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota).

Glyceromacrogoli oleas

Glyceromakrogololeat .

Synonymum. Macrogolglyceroli oleas



1999

Je to směs monoesterů, diesterů a triesterů glycerolu a monoesterů a diesterů makrogolů. Získávají se částečnou alkoholózou nenasycených olejů s převažujícím obsahem triacylglycerolů kyseliny olejové s použitím makrogolu s relativní molekulovou hmotností 300 až 400 nebo esterifikací glycerolu a makrogolu s nenasycenými mastnými kyselinami nebo smícháním esterů glycerolu a oxyethylenových kondenzátů s mastnými kyselinami těchto nenasycených olejů.

Vlastnosti

Jantarově žlutá olejovitá kapalina, jejíž zbarvení se může prohloubit skladováním delší dobu při 20 °C. Je prakticky nerozpustný, ale dispergovatelný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

Viskozita při 40 °C je asi 35 mPa·s, relativní hustota při 20 °C je asi 0,95, index lomu při 20 °C je asi 1,47.

Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 10 μ l zkoušeného roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *lihu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu jsou skvrny odpovídající triacylglycerolům s R_F asi 0,9 ($R_{st} = 1$), 1,3-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,7$), 1,2-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,6$), monoacylglycerolům ($R_{st} = 0,1$) a esterům makroglu ($R_{st} = 0$).

B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Podíl Složení mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, *Metoda A*). 45 až 65; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). 75 až 95.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 12,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 150 až 170; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Alkalické nečistoty. 5,0 g se převede do zkumavky a opatrně se přidá směs obsahující 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*, 0,3 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Pokud je to nutné, směs se před přidáním neutralizuje *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* nebo *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS*. Protřepe se a nechá se stát. Ke změně zbarvení horní vrstvy na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Volný glycerol. Nejvýše 3,0 %. 1,20 g se rozpustí v 25,0 ml *dichlormethanu R*, je-li třeba zahřátím. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, protřepe se a přidá se 25,0 ml roztoku *kyseliny jodisté R* (6 g/l). Protřepe se, nechá se 30 min stát a pak se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (75 g/l) a nechá se stát 1 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,3 mg glycerolu.

Podíl mastných kyselin. Provede se plynová chromatografie (2.4.22). Frakce mastných kyselin má následující složení:

- kyselina palmitová: 4,0 % až 9,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 6,0 %,
- kyselina olejová: 58,0 % až 80,0 %,
- kyselina linolová: 15,0 % až 35,0 %,
- kyselina linolenová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina eikosenová: nejvýše 2,0 %.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 μ g/g zbytkového ethylenoxidu a 10 μ g/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

4268 *Glyceromacrogoli stearas*

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R* (30 + 70) jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem, při pokojové teplotě.

Označování

V označení na obalu se uvede druh makrogolu (tj. relativní molekulová hmotnost makrogolu) nebo počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota).

Glyceromacrogoli stearas

Glyceromakrogolstearat

Synonymum. Macrogolglyceroli stearas

1999

Je to směs monoesterů, diesterů a triesterů glycerolu a monoesterů a diesterů makrogolů s průměrnou relativní molekulovou hmotností 300 až 4000. Získávají se částečnou alkoholýzou nasycených olejů, obsahujících hlavně triacylglyceroly kyseliny stearové s užitím makrogolu nebo esterifikací glycerolu a makrogolu s nasycenými mastnými kyselinami nebo smícháním esterů glycerolu a oxyethylenových kondenzátů s mastnými kyselinami těchto nasycených olejů. Hydroxylové číslo se liší nejvýše o 15 jednotek od jmenovité hodnoty. Číslo zmydelnění se liší nejvýše o 10 jednotek od jmenovité hodnoty.

Výroba

Je-li glyceromakrogolstearat získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, např. tuku z vlny, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné authority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Světle žlutá voskovitá pevná látka. Je dispergovatelný v teplé vodě a v teplém parafinovém oleji, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v teplém ethanolu.

Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese 10 μ l zkoušeného roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *hexanu R* a *etheru R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *lihu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu jsou skvrny odpovídající triacylglycerolům s R_F asi 0,9 ($R_{st} = 1$), 1,3-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,7$), 1,2-diacylglycerolům ($R_{st} = 0,6$), monoacylglycerolům ($R_{st} = 0,1$) a esterům makrogolu ($R_{st} = 0$).

B. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, *Metoda A*). Liší se nejvýše o 15 jednotek od jmenovité hodnoty; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 6,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Liší se nejvýše o 10 jednotek od jmenovité hodnoty; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Alkalické nečistoty. 5,0 g se převede do zkumavky a opatrně se přidá směs obsahující 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*, 0,3 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Pokud je to nutné, směs se před přidáním neutralizuje *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* nebo *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS*. Protřepe se a nechá se stát. Ke změně zbarvení horní vrstvy na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Volný glycerol. Nejvýše 3,0 %. 1,20 g se rozpustí v 25,0 ml *dichlormethanu R*, je-li třeba zahřátím. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, protřepe se a přidá se 25,0 ml roztoku *kyseliny jodisté R* (6 g/l). Protřepe se, nechá se 30 min stát a pak se přidá 40 ml roztoku *jodidu draselného R* (75 g/l) a nechá se stát 1 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,3 mg glycerolu.

Podíl mastných kyselin. Provede se plynová chromatografie (2.4.22). Frakce mastných kyselin má následující složení:

- kyselina laurová: nejvýše 5,0 %,
- kyselina myristová: nejvýše 5,0 %,
- rozdílná jmenovitá množství kyseliny palmitové a kyseliny stearové. Součet množství $C_{16}H_{32}O_2$ a $C_{18}H_{36}O_2$ je nejméně 90,0 %.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 μ g/g zbytkového ethylenoxidu a 10 μ g/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μ g Pb/ml).

4270 † *Gonadorelini acetat*

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R* (30 + 70) jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

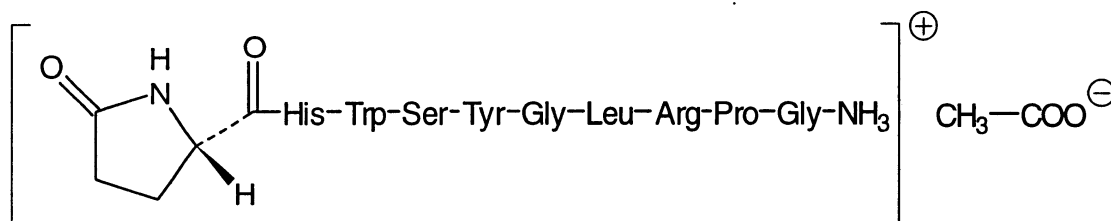
Označování

V označení na obalu se uvede jmenovitá hodnota čísla hydroxylového, jmenovitá hodnota čísla zmýdelnění a druh makrogolu (tj. relativní molekulová hmotnost makrogolu) nebo počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota).

† **Gonadorelini acetat**

Gonadoreliniumacetat

1998


 $C_{57}H_{79}N_{17}O_{15}$
 M_r 1242,35

Je to sůl peptidu hypotalamu povzbuzujícího uvolnění hormonu stimulujícího folikuly a luteinizačního hormonu z hypofýzy s kyselinou octovou. Počítáno na bezvodou látku prostou kyseliny octové, obsahuje 95,0 % až 102,0 % peptidu $C_{55}H_{75}N_{17}O_{13}$. Získává se chemickou syntézou.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v roztoku kyseliny octové ledové 1% (V/V), mírně rozpustný v methanolu.

Zkoušky totožnosti

- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku se přibližně shoduje s retenčním časem a velikostí hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Použije se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a) ze zkoušky Stanovení obsahu.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R*, *methanolu R* a *dichlorimethanu R* (6 + 14 + 45 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se 5 min suší na vzduchu. Na dno chromatografické komory se umístí odpařovací miska se směsí obsahující 10 ml roztoku *manganistanu draselného R* (50 g/l) a 3 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, komora se uzavře a nechá se stát. Suchá deska se umístí do komory a komora se uzavře. Vrstva se nechá 2 min v kontaktu s parami chloru, pak se deska vyjme a umístí do proudu studeného vzduchu, dokud se neodstraní přebytek chloru a vrstva pod nanášecími body se s 0,05 ml *škrobu s jodidem draselným RS* nezbarví modře. Postříká se *škrobem s jodidem draselným RS*; hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Roztok zkoušené látky (10 g/l) je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok \check{Z}_5 (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -54° až -66° , přepočteno na stanovený obsah peptidu, viz Stanovení obsahu. Měří se roztok připravený rozpuštěním 10,0 mg v 1,0 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* 1% (V/V).

Absorbance (2.2.25). 10,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Absorbance měřená v maximu při 278 nm je 0,55 až 0,61, přepočteno na stanovený obsah peptidu.

Aminokyseliny. Proveďte se za použití analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysín	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valín	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenylalanin
kyselina aspartová	prolin	isoleucin	

a polovinu ekvimolárního množství L-cystinu. Pro validaci metody se používá vhodný vnitřní standard jako je DL-norleucin.

Zkoušený roztok. 1,0 mg se umístí do vhodné, důkladně vyčištěné zkumavky z tvrdého skla, 100 mm dlouhé, s vnitřním průměrem 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50% (V/V). Zkumavka se ponoří do mrazicí směsi o teplotě -5°C , tlak se sníží pod 133 Pa a zkumavka se utěsní. Zahřívá se 16 h při 110°C až 115°C . Po ochlazení se zkumavka otevře a obsah se převede pětkrát 0,2 ml *vody R* do 10ml baňky a odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Zbytek se převede do tlumivého roztoku vhodného pro analyzátor aminokyselin a zředí se jím na vhodný objem.

Do analyzátoru aminokyselin se aplikuje vhodný, přesně změřený objem zkoušeného roztoku tak, aby výška píku aminokyseliny, přítomné v největším množství, byla nejméně 90 % celého rozsahu zapisovače.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. Relativní poměry aminokyselin se vypočítají tak, že jedna sedmina součtu látkového množství histidinu, kyseliny glutamové, leucinu, prolinu, glycinu, tyrosinu a argininu odpovídá jedné. Hodnoty klesají v následujících limitech: serin 0,7 až 1,05; kyselina glutamová 0,95 až 1,05; prolin 0,95 až 1,05; glycin 1,9 až 2,1; leucin 0,9 až 1,1;

4272 † *Gonadorelini acetat*

tyrosin 0,7 až 1,05; histidin 0,95 až 1,05 a arginin 0,95 až 1,05. Lysin a isoleucin nejsou přítomny, ostatní aminokyseliny s výjimkou tryptofanu jsou přítomny nejvýše ve stopových množstvích.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29), postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celého rozsahu zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času gonadorelinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %). Nepřihlíží se k pikům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Kyselina octová. Nejvýše 7,5 %, provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *1-butanolu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1 ml *1-butanolu R* se zředí *vodou R* na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 100 ml.

Zkoušený roztok. 0,150 g se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 g *kyseliny octové ledové R* se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem vnitřního standardu na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony kolony délky 50 m a vnitřního průměru 0,32 mm nebo 0,53 mm, s vnitřním povrchem potaženým 5 μ m vrstvou *poly(difenyl)(dimethyl)siloxanu R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu s lineární rychlostí asi 30 cm/s,
- dělicího poměru asi 15,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 95 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Nastříkne se po 2 μ l každého roztoku a vypočítá se obsah kyseliny octové v gonadoreliniumacetatu.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 7,0 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 70 m.j. endotoxinu v miligramu gonadoreliniumacetatu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 5,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg *gonadorelinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 2,5 mg se rozpustí v 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zahřívá se 4 h ve vodní lázni při 65 °C. Přidá se 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,0 mm, naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *kyseliny fosforečné R* 1,18% (V/V) (13 + 87), (pH se upraví na hodnotu 2,3 *triethylaminem R*); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním a druhým píkem je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Obsah gonadorelinu se vypočítá z deklarovaného obsahu *gonadorelinu CRL*.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- množství peptidu v lahvičce,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

Gossypii oleum hydrogenatum

Hydrogenovaný bavlníkový olej



1999

Je to produkt získaný čištěním a hydrogenací oleje získaného ze semen pěstovaných rostlin různých odrůd druhu *Gossypium hirsutum* L. nebo jiných druhů rodu *Gossypium*. Obsahuje většinou triacylglyceroly kyseliny palmitové a kyseliny stearové.

Vlastnosti

Bílá hmota nebo prášek, který zahřátím taje na čirou světle žlutou kapalinu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu a v toluenu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Zkouška Cizí masné oleje, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

4274 *Gossypii oleum hydrogenatum*

Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.14). 57 °C až 70 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; 10,0 g se rozpustí v 50 ml horké směsi stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *toluenu R*, předem zneutralizované *hydroxidem draselným 0,1 mol/l VS* za použití 0,5 ml *fenolftaleinu RS1* jako indikátoru. Titruje se ihned ještě horký roztok.

Peroxidové číslo (2.5.5). Nejvýše 5,0.

Nezmydlnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky. 2,0 g se rozpustí opatrným zahřátím ve směsi složené z 1,5 ml *lihu 96% R* a 3 ml *toluenu R* a přidá se 0,05 ml roztoku *modři bromfenolové R* (0,4 g/l) v *lihu 96% R*. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Cizí mastné oleje. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *poly(kyanopropyl)siloxanem R* (tloušťka filmu 0,2 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 0,65 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem (1 : 100).

Teplota kolony se udržuje 35 min na 180 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Podíl mastných kyselin oleje má toto složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než C₁₄: nejvýše 0,2 %,
- kyselina myristová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina palmitová: 19,0 % až 26,0 %,
- kyselina stearová: 68,0 % až 80,0 %,
- kyselina olejová a její izomery (C_{18:1} délkou řetězce odpovídá *poly(kyanopropyl)siloxanu 18,5 až 18,8*): nejvýše 4,0 %,
- kyselina linolenová a její izomery (C_{18:2} délkou řetězce odpovídá *poly(kyanopropyl)siloxanu 19,4 až 19,8*): nejvýše 1,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina behenová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina lignocerová: nejvýše 0,5 %.

Nikl. Nejvýše 1 μg Ni/g. Provede se atomová absorpční spektrometrie (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. 5,0 g se převede do předem zváženého vyžíhaného platinového nebo křemenného kelímku a opatrně se zahřívá. Zkoušená látka se zabalí do bezpopelného filtračního papíru a opatrně se spálí. Po spálení zkoušené látky se zahřívání přeruší a pak se žihá v muflové peci při 600 °C, dokud není popel bílý. Po ochlazení se zbytek převede dvakrát 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do 25ml odměrné baňky. Přidá se 0,3 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se tři porovnávací roztoky přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního roztoku niklu (0,2 μg Ni/ml) ke 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředěním *vodou destilovanou R* na 10,0 ml.

Měří se absorbance při 232 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pícky jako atomizátoru a *argonu R* jako nosného plynu.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Graminis radix

Oddenek pýru



1999

Synonyma. Graminis rhizoma, Radix graminis, Rhizoma graminis

Je to celý nebo řezaný omytý a usušený oddenek druhu *Agropyron repens* (L.) BEAUV. (*Elymus repens* (L.) GOULD), bez adventivních kořenů.

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A.** Lesklé, nažloutlé, světle hnědé nebo žlutohnědé kousky oddenku 2 mm až 3 mm silné, podélně rýhované. Nodia (kolénka) se zbytky velmi tenkých kořenů a bělavými nebo nahnědlými šupinovitými listy; internodia (články) jsou více než 6 cm dlouhá, podélně rýhovaná, uvnitř dutá. Na příčném řezu nodii je patrná nažloutlá dřev.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je bělavě žlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky kryté silnou kutikulou, buňky pokožky jsou pravoúhlé, protáhlé, se stěnami ztlustlými, tečkovanými, mírně vlnitě zprohýbanými, vzájemně se střídají s malými okrouhlými až téměř čtvercovými buňkami, buňky endodermis podkovovitě ztlustlé; četné úlomky mírně ztlustlých vláken a skupin cév se šterbinovitými tečkami nebo cév šroubovitě a prstencovitě ztlustlých.

Zkoušky na čistotu

Cynodon dactylon, *Imperata cylindrica*. Droga se pozoruje pod mikroskopem v *jodu RS1*.

Nejsou patrná modře zbarvená škrobová zrna ani podkovovitě ztlustlé buňky endodermis.

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 15,0 % šedočerných kousků oddenků (řezaná droga).

Látky extrahovatelné vodou. 5,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 200 ml vroucí vody *R* a za občasného protřepávání se nechá 10 min stát. Po ochlazení se doplní vodou *R* na 200,0 ml a zfiltruje se. 20,0 ml filtrátu se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C. Zbytek po vysušení váží nejméně 0,125 g (25 %).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

4276 *Gummiresina myrrha*

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 5,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 1,5 %.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Gummiresina myrrha

Myrhová klejoprskyřice

Synonymum. Myrrha



1999

Je to na vzduchu ztvrdlá klejoprskyřice získaná z kmenů a větví druhu *Commiphora molmol* ENGLER po naříznutí nebo samovolným vytékáním. Může pocházet i z jiných druhů rodu *Commiphora*.

Vlastnosti

Droga má hořkou chuť.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Světle nebo tmavě oranžově hnědá nepravidelná nebo okrouhlá zrna nebo kousky různé velikosti s různě zbarvenými částicemi. Na povrchu jsou většinou pokryty šedým až žlutohnědým prachem.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je hnědavě žlutý až červenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: jen malé množství úlomků tkáně matečné rostliny včetně červenohnědých úlomků korku; mnohohranných až podlouhlých sklereid, s výrazně ztlustlými tečkovanými, zdřevnatělými stěnami a hnědým obsahem, jednotlivých nebo ve skupinách; úlomků tenkostěnného parenchymu, sklerenchymatických vláken; nepravidelných hranolovitých až mnohohranných krystalů šťavelanu vápenatého asi 10 μm až 25 μm velkých.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Commiphora mukul*, viz Zkoušky na čistotu. Vrstva se postříká *anisaldehydem RS*, zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině oranžovočervená skvrna (thymol) a ve střední části fialová skvrna (anethol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivně fialová skvrna (furanoedesma-1,3-dien) s hodnotou R_F vyšší než hodnota R_F anetholu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Tato skvrna velikostí a intenzitou zbarvení převyšuje ostatní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další fialové skvrny, jedna z nich odpovídá polohou skvrně anetholu a dvě intenzivně zbarvené skvrny (horní je kurzerenon a dolní je 2-metho-

xyfuranodien) odpovídají polohou skvrně thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další fialové skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce na cizí příměsi.

Commiphora mukul. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok. 0,5 g práškované drogy (355) se smíchá s 5,0 ml lihu 96% R a zahřívá se 2 min až 3 min na vodní lázni. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 10 mg thymolu R a 40 µl anetholu R se rozpustí v 10 ml lihu 96% R.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (2 + 98) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není v dolní třetině skvrna s modrou až fialovou fluorescencí.

Látky nerozpustné v lihu. Nejvýše 70 %. 1,000 g práškované drogy (250) se smíchá se 30 ml lihu 96% R a 10 min se intenzivně protřepává. Supernatantní tekutina se zfiltruje předem zváženým filtrem ze slinutého skla (16) tak, aby sediment zůstal v baňce. Postup se provede ještě dvakrát s 20 ml lihu 96% R, pak se sediment kvantitativně převede na filtr a baňka se vypláchne lihem 96% R. Filtr se zbytkem se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C a pak se zváží.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 7,0 %.

Uchovávání

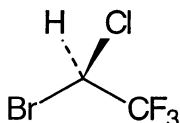
Chráněna před světlem.

4278 *Halothanum***Halothanum**

Halothan



1999



a enantiomer

 $C_2HBrClF_3$ M_r 197,38

CAS 151-67-7

Je to (*RS*)-2-brom-2-chlor-1,1,1-trifluorethan stabilizovaný 0,01 % thymolu.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkavá těžká nehořlavá kapalina. Je těžce rozpustný ve vodě, mísitelný s ethanolem, s etherem a s trichlorethylenem.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Destilační rozmezí, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. halotanu*. Měří se v 0,1 mm kyvetě.
- C. K 0,1 ml se přidají ve zkumavce 2 ml *terc.butanolu R*. Přidá se 1 ml *edetanu měďnatého RS*, 0,5 ml *amoniaku 26% R* a směs 0,4 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a 1,6 ml *vody R* (roztok a). Současně se připraví kontrolní roztok (roztok b). Obě zkumavky se ponoří na 15 min do vodní lázně při 50 °C, ochladí se a přidá se 0,3 ml *kyseliny octové ledové R*. K 1 ml každého roztoku (a) a (b) se přidá 0,5 ml směsi stejných objemových dílů čerstvě připraveného *alizarinu S RS* a *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS*. Roztok (a) je žlutý, roztok (b) je červený.
- K 1 ml každého roztoku (a) a (b) se přidá 1 ml *tlumivého roztoku o pH 5,2*, 1 ml *červeně fenolové RS* zředěné *vodou R* 1 : 10 a 0,1 ml *chloraminu T RS*. Roztok (a) je modrofialový, roztok (b) je žlutý.
- Ke 2 ml každého roztoku (a) a (b) se přidá 0,5 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R* (25 + 75), 0,5 ml *acetonu R* a 0,2 ml roztoku *bromičnanu draselného R* (50 g/l) a protřepe se. Zkumavky se zahřívají 2 min ve vodní lázni při 50 °C, ochladí se a přidá se 0,5 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R* a dále 0,5 ml *dusičnanu stříbrného RS2*. Roztok (a) opalizuje a po několika minutách vznikne bílá sraženina, roztok (b) zůstane čirý.

Zkoušky na čistotu

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 20 ml se přidá 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, 3 min se třepe a nechá se stát. Oddělí se vodná vrstva a přidá se 0,2 ml *červeně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* nebo 0,6 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Relativní hustota (2.2.5). 1,872 až 1,877.

Destilační rozmezí (2.2.11). 49,0 °C až 51,0 °C; 95 % předestiluje v rozmezí 1,0 °C.

Těkavé příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *trichlortrifluorethanu CRL* jako vnitřního standardu.

Zkoušený roztok (a). Použije se zkoušená látka.

Zkoušený roztok (b). 5,0 ml *trichlortrifluorethanu CRL* se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml. 1,0 ml roztoku se zředí zkoušenou látkou na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se dále zředí zkoušenou látkou na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 2,75 m a vnitřního průměru 5 mm naplněné *křemelinou silanizovanou pro chromatografii R1* (180 μm až 250 μm) impregnovanou 30 % *makrogolu 400 R* v prvních 1,8 m délky kolony a 30 % *dinonylftalatu R* ve zbytku délky kolony,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C. Nastříkuje se po 5 μl zkoušeného roztoku (a) a (b).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího vnitřnímu standardu, není větší než plocha píku vnitřního standardu korigovaná, je-li třeba, na nečistoty se stejným retenčním časem jako má vnitřní standard (0,005 %).

Bromidy a chloridy. K 10 ml se přidá 20 ml *vody R* a 3 min se třepe. K 5 ml vodné vrstvy se přidá 5 ml *vody R*, 0,05 ml *kyseliny dusičné R* a 0,2 ml *dusičnanu stříbrného RS1*. Roztok neopalizuje intenzivněji než směs 5 ml vodné vrstvy a 5 ml *vody R*.

Brom a chlor. K 10 ml vodné vrstvy získané ve zkoušce Bromidy a chloridy se přidá 1 ml *škrobu s jodidem draselným RS*; nevznikne modré zbarvení.

Thymol. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *mentholu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,10 g *mentholu R* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. K 20,0 ml se přidá 5,0 ml roztoku vnitřního standardu.

Porovnávací roztok. 20,0 mg *thymolu R* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. K 20,0 ml se přidá 5,0 ml roztoku vnitřního standardu.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární kolony z křemenného skla délky 15 m a vnitřního průměru 0,53 mm pokryté filmem 1,5 μm *polydimethylsiloxanu R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 15 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 150 °C, teplota nástřikového prostoru na 170 °C a teplota detektoru na 200 °C.

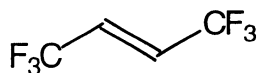
4280 *Halothanum*

Nastříkuje se odděleně po 1,0 μ l roztoku vnitřního standardu, zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je plocha píku odpovídajícího thymolu nejméně 75 % a nejvýše 115 % plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,008 % až 0,012 %).

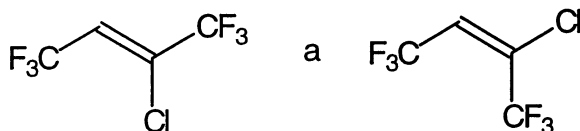
Netěkavé látky. 50 ml se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek sušený 2 h při 100 °C až 105 °C váží nejvýše 1 mg (20 mg/l).

Uchovávání

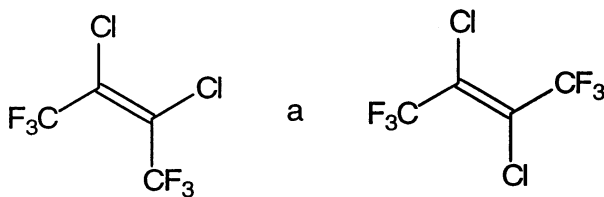
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nepřesahující 25 °C. Při výběru materiálu, ze kterého je vyroben obal, se bere v úvahu reaktivita halothanu s některými kovy.

Nečistoty

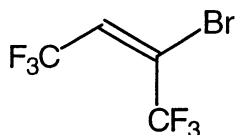
A. 1,1,1,4,4,4-hexafluor-2-buten,



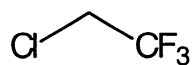
B. 2-chlor-1,1,1,4,4,4-hexafluor-2-buten (*Z* a *E*),



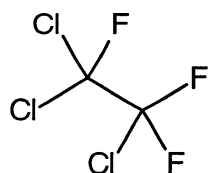
C. 2,3-dichlor-1,1,1,4,4,4-hexafluor-2-buten (*Z* a *E*),



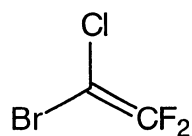
D. 2-brom-1,1,1,4,4,4-hexafluor-2-buten (*E*),



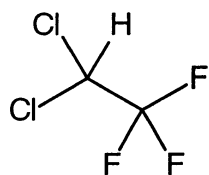
E. 2-chlor-1,1,1-trifluoethan,



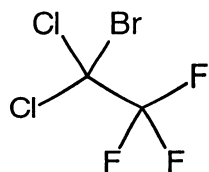
F. 1,1,2-trichlor-1,2,2-trifluoethan,



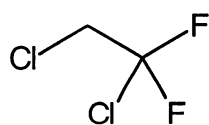
G. 1-brom-1-chlor-2,2-difluoethylen,



H. 2,2-dichlor-1,1,1-trifluoethan,



I. 1-brom-1,1-dichlor-2,2,2-trifluoethan,



J. 1,2-dichlor-1,1-difluoethan.

4282 *Helianthi oleum raffinatum*

Helianthi oleum raffinatum

Slunečnicový olej čištěný

*Synonymum.* Helianthi annui oleum raffinatum, Helianthi oleum

CAS 8001-21-6

Je to mastný olej získaný ze semen druhu *Helianthus annuus* C. lisováním nebo extrakcí a následným čištěním. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

Vlastnosti

Čirá světle žlutá tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96 %, mísitelný s etherem petrolejovým (TV: 40 °C až 60 °C).

Relativní hustota je asi 0,921 a index lomu je asi 1,474.

Zkoušky totožnosti

Provede se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušeného roztoku se shoduje s charakteristickým chromatogramem pro slunečnicový olej.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Nezmydelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky (2.4.19). Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

Podíl mastných kyselin. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). Podíl mastných kyselin v oleji má následující složení:

- kyselina palmitová: 4,0 % až 9,0 %,
- kyselina stearová: 1,0 % až 7,0 %,
- kyselina olejová: 14,0 % až 40,0 %,
- kyselina linolová: 48,0 % až 74,0 %.

Uchovávání

Ve zcela naplněných, vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

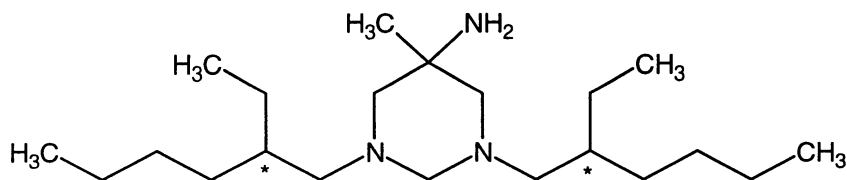
- název a množství přidaného antioxidantu,
- zda byl olej získán lisováním nebo extrakcí.

Hexetidinum 4283

Hexetidinum

Hexetidín

1998

 $C_{21}H_{45}N_3$ M_r 339,59

CAS 141-94-6

Je to 1,3-bis(2-ethylhexyl)-5-methylhexahydropyrimidin-5-amin. Obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{21}H_{45}N_3$.

Vlastnosti

Bezbarvá nebo slabě nažloutlá olejovitá kapalina. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *hexetidinu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** K 0,2 ml se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a 2 mg *kyseliny chromotropové sodné soli R* a zahřívá se ve vodní lázni při 60 °C; vzniká fialové zbarvení.
- D.** 0,2 ml se rozpustí v 1 ml *dichlormethanu R*. Přidá se 0,5 ml *síranu měďnatého RS*, 0,05 ml *kyseliny sírové v lihu 0,25 mol/l RS* a 5 ml *vody R*, protřepe se a nechá se stát; spodní vrstva má tmavě modré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevné roztoky Ž₅ nebo ZŽ₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Relativní hustota (2.2.5). 0,864 až 0,870.

Index lomu (2.2.6). 1,461 až 1,467.

Optická otáčivost (2.2.7). – 0,10 ° až + 0,10 °; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

4284 *Hexetidinum*

Absorbance (2.2.25). 0,50 g se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Absorbance roztoku měřená při 270 nm až 350 nm není větší než 0,1.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu H R*.

Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.

Zkoušený roztok (a). 2,0 g se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *heptanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *hexetidinu CRL* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 2 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *heptanem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *heptanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *dehydrohexetidinu CRL* se rozpustí ve zkoušeném roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 μ l každého roztoku. Na dno chromatografické komory se umístí odpařovací miska obsahující *amoniak 32% R*. Suchá deska se umístí do komory, komora se uzavře a na vrstvu se 15 min nechají působit páry amoniaku. Deska se vyjme a nechá se odvětrat v proudu vzduchu do vymizení pachu rozpouštědel. Vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se nechá uschnout na vzduchu a vystaví se na 30 min působení jodových par. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %) a nejvýše dvě skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (15 + 85) a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok olova (1 μ g Pb/ml) se připraví zředěním základního roztoku olova (100 μ g Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (15 + 85).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

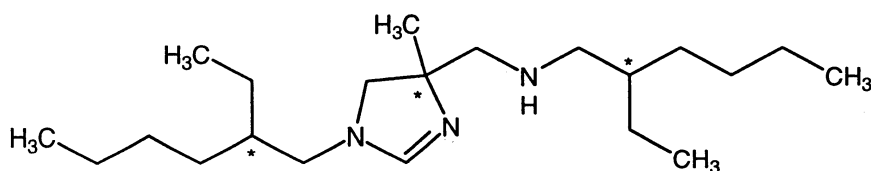
0,150 g se rozpustí v 80 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,98 mg $C_{21}H_{45}N_3$.

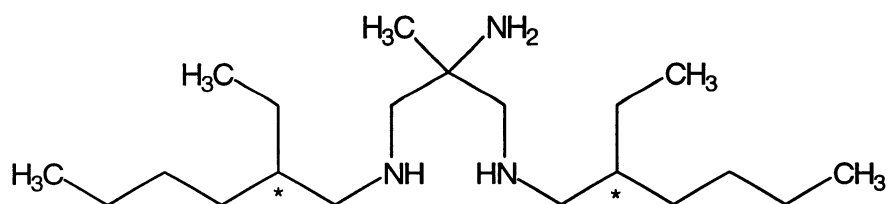
Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

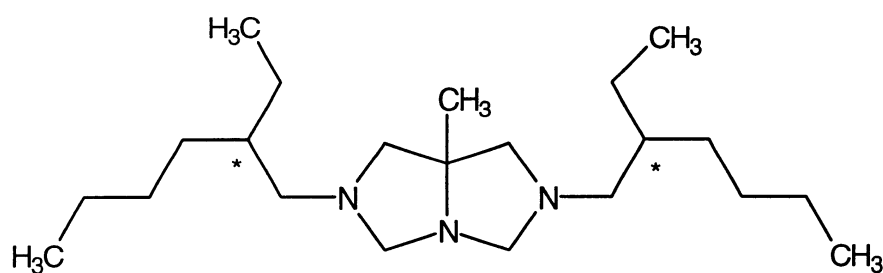
Nečistoty



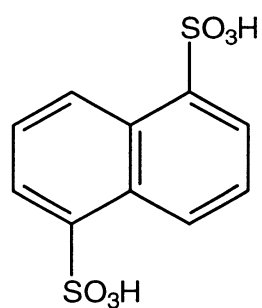
A. 2-ethyl-N-[[1-(2-ethylhexyl)-4-methyl-4,5-dihydro-1H-imidazol-4-yl]methyl]hexan-1-amin (dehydrohexetidinum),



B. N,N'-bis(2-ethylhexyl)-2-methylpropan-1,2,3-triamin (triamin),



C. 2,6-bis(2-ethylhexyl)-7a-methylhexahydro-1H-imidazo[1,5-c]imidazol (hexedin),



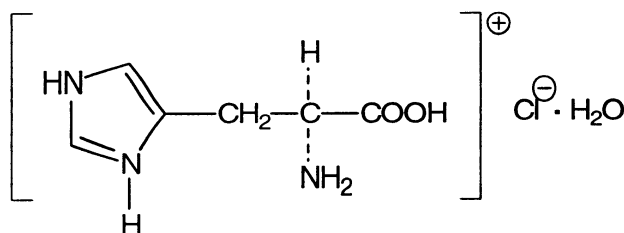
D. kyselina 1,5-naftalendisulfonová.

4286 † *Histidini hydrochloridum monohydricum*† **Histidini hydrochloridum monohydricum**¹⁾

Monohydrát histidiniumchloridu



RR99

 $C_6H_{10}ClN_3O_2 \cdot H_2O$ M_r 209,63

CAS 5934-29-2

Je to monohydrát (*S*)-4-(2-amino-2-karboxyethyl)imidazoliumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{10}ClN_3O_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B, C a F.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D, E a F, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety monohydrátu histidiniumchloridu CRL.
- D. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- E. Asi 0,1 g se rozpustí v 7 ml vody R a přidají se 3 ml roztoku hydroxidu sodného R (200 g/l) (roztok 1). 50 mg kyseliny sulfanilové R se rozpustí ve směsi 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové R a 10 ml vody R a přidá se 0,1 ml dusitanu sodného RS (roztok 2). Roztok 2 se přidá k roztoku 1 a promíchá se; vzniká oranžově červené zbarvení.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 561 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

F. Asi 20 mg vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 3,0 až 5,0; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +9,2° až +10,6°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,75 g ve 12,0 ml kyseliny chlorovodíkové RSI a zředěním vodou R na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg monohydrátu histidiniumchloridu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg monohydrátu histidiniumchloridu CRL a 10 mg prolinu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku, vysuší se v proudu vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček papíru lakmusového červeného R o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami vody R. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml vody R. K roztoku se přidá 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

4288 † *Histidinum*

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). 7,0 % až 10 %; 1,000 g se suší v sušárně při 145 °C až 150 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,160 g se rozpustí v 50 ml *voody prosté oxidu uhličitého R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 19,16 mg C₆H₉N₃O₂.

Uchovávání

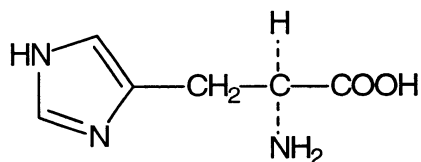
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

† **Histidinum**¹⁾

Histidin



RR99

C₆H₉N₃O₂M_r 155,16

CAS 71-00-1

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-(4-imidazolyl)propionová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₆H₉N₃O₂.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 562 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *histidinu CRL*. Jestliže se spektrum zkoušené látky liší od spektra referenční látky, rozpustí se odděleně obě látky v co nejmenším množství *vody R*, odpaří se při 60 °C do sucha a se získanými zbytky se zaznamenají nová spektra.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** Asi 0,1 g se rozpustí v 7 ml *vody R* a přidají se 3 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (200 g/l) (roztok 1). 50 mg *kyseliny sulfanilové R* se rozpustí ve směsi 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 10 ml *vody R* a přidá se 0,1 ml *dusitanu sodného RS* (roztok 2). Roztok 2 se přidá k roztoku 1 a promíchá se; vzniká oranžově červené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí zahřátím ve vodní lázni ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_7$ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +11,8° až +12,8°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,75 g ve 12,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zředěním *vodou R* na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *histidinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *histidinu CRL* a 10 mg *prolinu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku, vysuší se v proudu vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 5 ml roztoku S zředěného *vodou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

4290 † *Hydrocortisonum*

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o straně 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg jemně upráškované zkoušené látky se umístí na spodní hodinové sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního *roztoku amonia (100 µg NH₄/ml)*, 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g)*.

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního *roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,130 g se rozpustí v 50 ml *vody R* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 15,52 mg C₆H₉N₃O₂.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

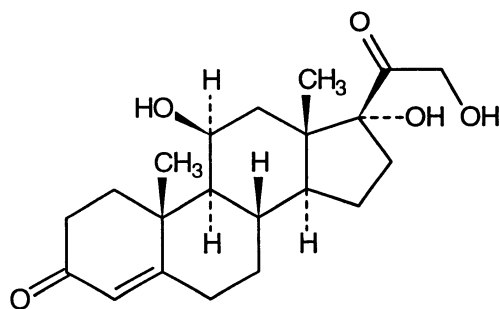
Separandum.

† **Hydrocortisonum**

Hydrokortison



1999

C₂₁H₃₀O₅M_r 362,46

CAS 50-23-7

Je to 11 β ,17,21-trihydroxy-4-pregnen-3,20-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny C₂₁H₃₀O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v acetonu a v lihu 96%, těžce rozpustný v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *hydrokortisonu CRL*. Jestliže spektrum zkoušené látky a spektrum referenční látky v tuhém stavu vykazují rozdíly, rozpustí se obě látky odděleně v co nejmenším množství *acetonu R*, odpaří se do sucha na vodní lázni a se zbytky se znovu zaznamenají spektra látek.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *hydrokortisonu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *prednisolonu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se mobilní fázi připravenou přidáním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) do směsi objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po dráze 15 cm. Potom se vrstva podruhé vyvíjí směsí objemových dílů *1-butanolu R* nasyceného *vodou R*, *toluenem R* a *etherem R* (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Vrstva se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a zahřívá se 10 min nebo do objevení skvrn při 120 °C. Po ochlazení se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením v denním světle a fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml (tento roztok se použije také k přípravě zkoušeného roztoku (b)). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě zkoušeného roztoku (a) se přenesou do skleněné zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm opatřené skleněnou nebo

4292 † *Hydrocortisonum*

polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se odpaří za mírného zahřátí pod proudem dusíku R. Přidají se 2 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a 1 h se třepe na mechanické třepačce za chánění před světlem. Přidají se 2 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se protřepe s 10 ml *dichlormethanu R*, organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se *síranem sodným bezvodým R*.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *hydrokortisonu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml (tento roztok se použije také k přípravě porovnávacího roztoku (b)). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku (a) se přenesou do skleněné zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm opatřené skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se odpaří za mírného zahřátí pod proudem dusíku R. Přidají se 2 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a 1 h se třepe na mechanické třepačce za chránění před světlem. Přidají se 2 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se protřepe s 10 ml *dichlormethanu R*, organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se *síranem sodným bezvodým R*.

Na vrstvu se odděleně nanese 5 µl zkoušeného roztoku (a), 5 µl porovnávacího roztoku (a), 25 µl zkoušeného roztoku (b) a 25 µl porovnávacího roztoku (b); poslední dva roztoky se nanášejí po malých množstvích do malých skvrn. Vyvíjí se mobilní fázi připravenou přidáním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) do směsi objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po dráze 15 cm. Potom se vrstva podruhé vyvíjí směsí objemových dílů *1-butanolu R* nasyceného *vodou R*, *toluenu R* a *etheru R* (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramech zkoušených roztoků odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu odpovídajícího porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a zahřívá se 10 min nebo do objevení skvrn při 120 °C. Po ochlazení se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramech zkoušených roztoků odpovídá polohou, zbarvením v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu odpovídajícího porovnávacího roztoku. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) mají hodnotu R_F zřetelně vyšší než hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

- D. Asi 2 mg se přidají ke 2 ml *kyseliny sírové R* a třepe se do rozpuštění; do 5 min vznikne intenzivní hnědočervené zbarvení se zelenou fluorescencí, která je intenzivní v ultrafialovém světle při 365 nm. Roztok se přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se; zbarvení zmizí a zůstane čirý roztok. Fluorescence v ultrafialovém světle zůstává.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +150° až +156°; počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). *Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.*

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí ve 2 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.
Porovnávací roztok (a). 2 mg *hydrokortisonu CRL* a 2 mg *prednisolonu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek s odstíněnými silanolo-vými skupinami R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: v 1000ml odměrné baňce se smíchá 220 ml *tetrahydrofuranu R* a 700 ml *vody R* a nechá se ustálit; zředí se na 1000 ml *vodou R* a znovu se promíchá, průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje na 45 °C.

Kolona se ustálí promýváním mobilní fází po dobu 30 min při průtokové rychlosti 1 ml/min.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy prednisolonu asi 14 min a hydrokortisonu asi 15,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky prednisolonu a hydrokortisonu je nejméně 2,2. Je-li třeba, upraví se koncentrace *tetrahydrofuranu R* v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 μl směsi rozpouštědel použitých pro zkoušený roztok jako slepá zkouška, 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b) Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) a k píkům získaným při slepé zkoušce.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 241,5 nm.

Obsah $C_{21}H_{30}O_5$ se vypočítá za použití specifické absorbance, která má hodnotu 440.

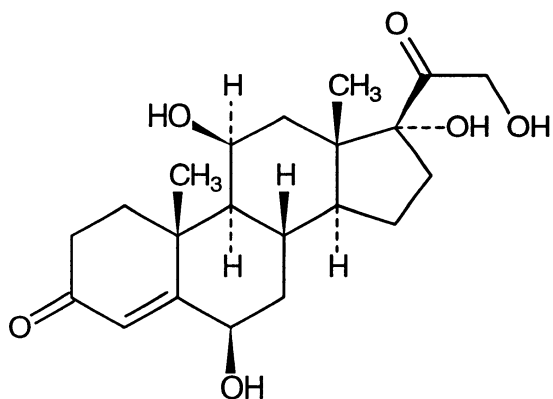
Uchovávání

Chráněn před světlem.

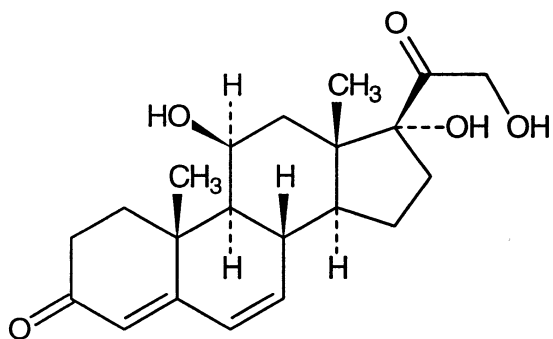
Separandum.

Nečistoty

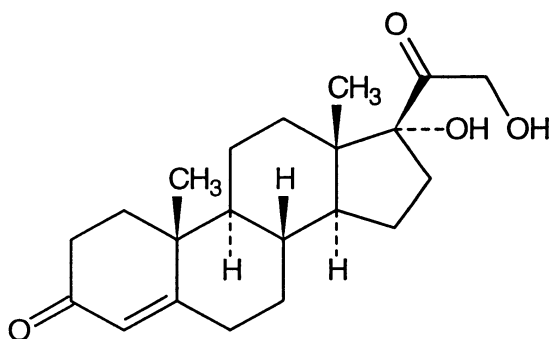
- A. prednisolon,
- B. kortison,
- C. hydrokortisonacetat,

4294 † *Hydrocortisonum*

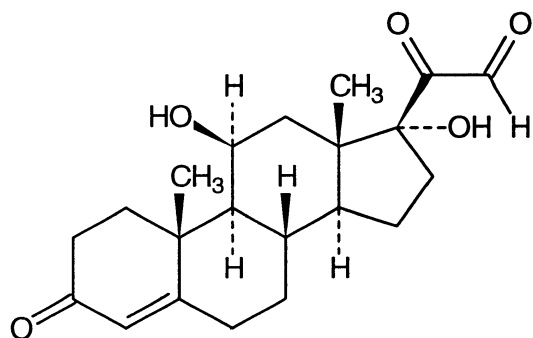
D. 6 β ,11 β ,17,21-tetrahydroxy-4-pregnen-3,20-dion (6 β -hydroxyhydrokortison),



E. 11 β ,17,21-trihydroxy-4,6-pregnadien-3,20-dion (Δ^6 -hydrokortison),



F. 17,21-dihydroxy-4-pregnen-3,20-dion (Reichsteinova látka),



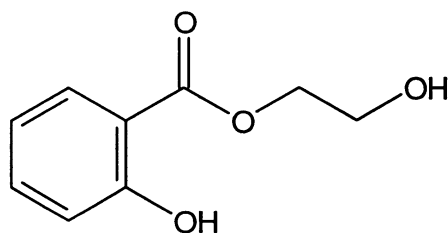
G. 11β,17-dihydroxy-3,20-dioxo-4-pregnen-21-al.

Hydroxyethylis salicylas

Hydroxyethylsalicylat



1998

 $C_9H_{10}O_4$ M_r 182,18

CAS 87-28-5

Je to 2-hydroxyethyl-2-hydroxybenzoat. Obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_9H_{10}O_4$.

Vlastnosti

Olejovitá bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina. Je mírně rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v acetonu, v etheru a v dichlormethanu, snadno rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Index lomu, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tenkého filmu zkoušené látky se shoduje se spektrem tenkého filmu *hydroxyethylsalicylatu* CRL.

4296 *Hydroxyethylis salicylas*

- C. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml vody R a 0,2 ml chloridu železitého RS2; vznikne fialovočervené zbarvení, které zmizí ihned po přidání 2 ml kyseliny octové zředěné RS. Může zůstat velmi slabé fialové zbarvení.
- E. 1 g se smíchá ve zkumavce 160 mm dlouhé se 2,0 g jemně rozetřeného síranu manganatého R. Do zkumavky se vloží 2 cm hluboko proužek filtračního papíru impregnovaného čerstvě připravenou směsí objemových dílů roztoku diethanolaminu R 20 % (V/V) a roztoku nitroprusidu sodného R (50 g/l) (1 + 11), jehož pH bylo upraveno kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS na hodnotu 9,8. Zkumavka se 1 min až 2 min zahřívá nad otevřeným plamenem. Filtrační papír zmodrá.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve 40 ml lihu 96% R a zředí se vodou destilovanou R na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. Ke 2 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně methylové RS a 0,2 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví žlutě. Přidá se 0,3 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví červeně.

Relativní hustota (2.2.5). 1,252 až 1,257.

Index lomu (2.2.6). 1,548 až 1,551.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,50 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 2 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí methanolem R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg hydroxyethylsalicylatu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 25 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí methanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,10 g ethylenglykolu R se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 50 ml. 1,25 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, ethylacetatu R a cyklohexanu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší v proudu chladného vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Vrstva se postříká vanadičnanem amonným RS, 10 min se zahřívá při 100 °C a po 10 min chladnutí se pozoruje v denním světle.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, odpovídající ethylenglykolu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající ethylenglykolu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je zřetelně viditelná skvrna.

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g).

Sírany (2.4.13). 12 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (250 µg/g).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,125 g se rozpustí ve 30 ml kyseliny octové ledové R v baňce se zabroušenou zátkou. Přidá se 10 ml kyseliny sírové zředěné RS, 1,5 g bromidu draselného R a 50,0 ml bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS. Baňka se ihned uzavře a ponechá se stát 15 min za ochrany před světlem. Ihned po otevření baňky se přidá 1,5 g jodidu draselného R a titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS. Před ukončením titrace se přidá 1 ml škrobu RS. Provede se slepá zkouška.

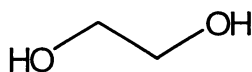
1 ml bromičnanu draselného 0,02 mol/l VS odpovídá 5,466 mg C₉H₁₀O₄.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

A. kyselina salicylová,

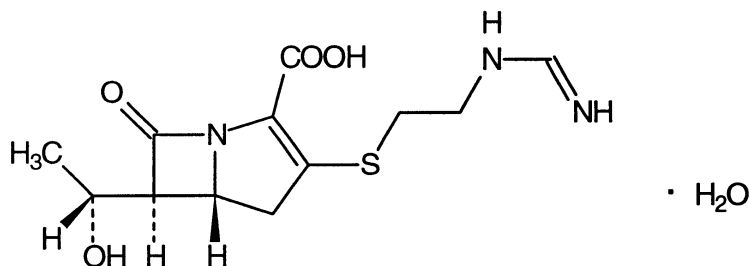


B. 1,2-ethandiol (ethylenglykol).

4298 *Imipenemum***Imipenemum**

Imipenem

1999

 $C_{12}H_{17}N_3O_4S \cdot H_2O$ M_r 317,36

CAS 74431-23-5

Je to monohydrát kyseliny (5*R*,6*S*)-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-3-[[2-[(iminomethyl)amino]ethyl]-thio]-7-oxo-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-en-2-karboxylové. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{12}H_{17}N_3O_4S$.

Vlastnosti

Bílý téměř bílý nebo světle žlutý prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *imipenemu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,500 g se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (3)* a zředí se jím na 50 ml. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější porovnávací barevný roztok intenzity 6 (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 7,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +84° až +89°, počítáno na bezvodou látku a měřeno při 25 °C; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,125 g v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (3)* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenční-

ho času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku thienamycinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku thienamycinu, není větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %), součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku thienamycinu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Aceton a 2-propanol. Celkem nejvýše 0,25 %; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. 0,100 g zkoušené látky a 1,0 g *síranu sodného bezvodého R* se rozpustí ve 20ml lahvičce ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml, uzavře se a 10 min se protřepává.

Porovnávací roztok. 0,250 g *acetonu R* a 0,250 g *2-propanolu R* se zředí *vodou R* na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml (odpovídá 0,25 % acetonu a 0,25 % 2-propanolu). 5,0 ml tohoto roztoku se převede do 20ml lahvičky a přidá se 1,0 g *síranu sodného bezvodého R*, uzavře se a 10 min se protřepává.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřním povrchem pokrytým 1,5 μ m filmem *makrogolu 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje po dobu 7 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 15 °C/min na teplotu 240 °C, při níž se udržuje 20 min, teplota nástřikového prostoru se udržuje při 140 °C a teplota detektoru při 260 °C. Lahvičky se zahřívají 60 min při 85 °C. Nastříkne se po 1 ml plynné fáze každého roztoku.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 5 % až 8 %, stanoví se s 0,200 g zkoušené látky. Použije se jodosiřičité činidlo obsahující imidazol místo pyridinu a ke každému stanovení čistá nádobka.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,17 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se uchovávají v ledové lázni a použijí se do 8 h od přípravy.

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 40,0 mg *imipenemu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 ml zkoušeného roztoku se 5 min zahřívá při 80 °C, pH roztoku bylo předem upraveno na hodnotu 10 *hydroxidem sodným RS*.

4300 Imipenemum

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (8,7 g/l), předem zneutralizovaného *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu pH 7,3 (0,7 + 99,3), při průtokové rychlosti 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas imipenemu asi 9 min a relativní retenční čas thienamycinu vztažený k imipenemu asi 0,8. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem imipenemu a píkem thienamycinu je nejméně 3,5. Nastříkne se šestkrát po 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku imipenemu je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

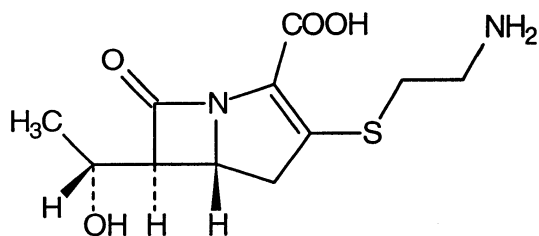
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

A. kyselina (5*R*,6*S*)-3-[(2-aminoethyl)thio]-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-en-2-karboxylová (thienamycin).

† *Insulinum* 4301† **Insulinum**

Insulin



1999

C₂₅₆H₃₈₁N₆₅O₇₆S₆ (prasečí)M_r 5777,58

CAS 12584-58-6

C₂₅₄H₃₇₇N₆₅O₇₅S₆ (hovězí)M_r 5733,52

CAS 11070-73-8

Je to čištěná přírodní antidiabetická látka získaná z hovězí nebo prasečí slinivky břišní. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 93,0 % až 105,0 % prasečího insulínu C₂₅₆H₃₈₁N₆₅O₇₆S₆ nebo hovězího insulínu C₂₅₄H₃₇₇N₆₅O₇₅S₆ a odpovídajícího příslušného A21 deamidoinsulínu.

1 m.j. insulínu odpovídá 0,0345 mg prasečího insulínu a 0,0342 mg hovězího insulínu.

Výroba

Zvířata, ze kterých je insulin získáván, musí splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, v ethanolu a v etheru. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a za rozkladu ve zředěných alkalických hydroxidech.

Zkoušky totožnosti

A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebo, kde je to vhodné, porovnávacímu roztoku (c).

B. Provede se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušené látky v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS tak, aby obsahoval 2,0 mg/ml insulínu a 500 µl tohoto roztoku se převede do čisté zkumavky. Přidají se 2,0 ml *tlumivého roztoku HEPES o pH 7,5* a 400 µl roztoku *proteasy kmene V8 zlatého stafylokoka R* (1 mg/ml). Zkumavka se uzavře a inkubuje se 6 h při 25 °C. Reakce se zastaví přidáním 2,9 ml *tlumivého roztoku síranového o pH 2,0*.

Porovnávací roztok. Připraví se současně stejným způsobem jako zkoušený roztok za použití *hovězího insulínu CRL* nebo *prasečího insulínu CRL*, co je vhodné, místo zkoušené látky.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - smíchá se 100 ml *acetonitrilu pro chromatografii R*, 700 ml *vody R* a 200 ml *tlumivého roztoku síranového o pH 2,0*, směs se zfiltruje a odplyní.
 - *mobilní fáze B* - smíchá se 400 ml *acetonitrilu pro chromatografii R*, 400 ml *vody R* a 200 ml *tlumivého roztoku síranového o pH 2,0*, směs se zfiltruje a odplyní.

4302 † *Insulinum*

Eluční podmínky jsou popsány v níže uvedené tabulce (pokud je třeba, upraví se gradient k dělení enzymaticky štěpeného insulinu):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 60	90 → 30	10 → 70	lineární gradient
60 - 65	30 → 0	70 → 100	lineární gradient
65 - 70	0	100	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se ustaluje při počátečních podmínkách nejméně 15 min. Provede se slepá zkouška za výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku a 50 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogram obou roztoků kvalitativně odpovídá *referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného hovězího insulinu* nebo *referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného prasečího insulinu*, jak je třeba. Na chromatogramu porovnávacího roztoku se určí totožnost píků štěpením vzniklých fragmentů I, II a III. Faktor symetrie píků fragmentu II a III je nejvýše 1,5 a rozlišení mezi dvěma píky je nejméně 1,9.

Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

Poznámka: Retenční čas fragmentu I prasečího insulinu je stejný jako pro lidský insulin. Retenční čas fragmentu II je stejný pro všechny insuliny. Retenční čas fragmentu III hovězího insulinu je stejný jako pro prasečí insulin.

Zkoušky na čistotu

Nečistoty s molekulovou hmotností větší než insulin. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. 4 mg se rozpustí v 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*.

Roztok pro rozlišení. Použije se roztok insulinu (asi 4 mg/ml), který obsahuje více než 0,4 % vysokomolekulárních bílkovin. Mohou být použity injekční přípravky insulinu, roztok nebo suspenze, které se vyčeří dostatečným množstvím *kyseliny chlorovodíkové 6 mol/l RS* obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin, nebo roztoky připravené z insulinu rozpuštěním v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*. Insulin obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin může být připraven tak, že se prášek insulinu asi 10 dní nechá stát při pokojové teplotě.

Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 7 dnů. Při použití automatického dávkovače se jeho teplota nastaví na 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru nejméně 7,5 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* (5 µm až 10 µm), vhodného stupně pro separaci monomerního insulinu z dimeru a polymerů,
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonitrilu R* a roztoku *argininu R* (1,0 g/l) (15 + 20 + 65), s průtokovou rychlostí 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 276 nm.

Ustalování kolony. Před použitím nové kolony pro chromatografickou analýzu se ustaluje kolona opakovaným nástřikem roztoku insulinu obsahujícího vysokomolekulární bílkoviny. Nejméně třikrát se nástříkne roztok pro rozlišení. Kolona je ustálena, když výsledky dvou po sobě následujících nástřiků jsou opakovatelné.

Nástříkne se 100 μ l roztoku pro rozlišení. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek retenční časy jsou: polymerní komplex insulinu 13 min až 17 min, kovalentní dimer insulinu asi 17,5 min, monomerní insulin asi 20 min, soli asi 22 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení, definované poměrem výšky píku dimery k výšce minima mezi píky monomeru a dimeru, je nejméně 2,0.

Nástříkne se 100 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává asi 35 min. Na získaném chromatogramu součet ploch píků s retenčním časem kratším než retenční čas hlavního píku není větší než 1,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k žádnému píku s retenčním časem delším než retenční čas píku insulinu.

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu, s elučními podmínkami popsanými v následující tabulce:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	42	58	izokraticky
30 - 44	42 \rightarrow 11	58 \rightarrow 89	lineární gradient
44 - 50	11	89	izokraticky

Roztoky se udržují při 2 °C až 10 °C a použijí se do 24 h. Zkontroluje se způsobilost systému (rozlišení, linearita) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu. Pokud je třeba, upraví se relativní poměry mobilních fází tak, aby se zajistila úplná eluce prasečího A21 deamidoinsulinu před začátkem gradientu. Profil gradientu může být upraven tak, aby se zajistila eluce všech příbuzných nečistot insulinu.

Nástříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b) nebo, kde je to vhodné, porovnávacího roztoku (c) a 20 μ l zkoušeného roztoku. Je-li třeba, upraví se nástřikovaný objem na objem mezi 10 μ l a 20 μ l v souladu s výsledky získanými pro zkoušku linearitu popsanou ve Stanovení obsahu. Chromatogramy se zaznamenávají asi 50 min. Na chromatogramu každého porovnávacího roztoku A21 se objeví deamidoinsulin jako malý pík za hlavním píkem s relativním retenčním časem asi 1,3 vzhledem k hlavnímu píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku A21 deamidoinsulinu není větší než 3,0 % z celkové plochy píku; součet ploch všech píků, kromě příslušného insulinu a A21 deamidoinsulinu, není větší než 3,0 % z celkové plochy píků.

Imunoreaktivita proinsulinu (PLI). Nejvýše 10 μ g/g; počítáno na vysušenou látku. Imunoreaktivita proinsulinu se zkouší vhodnou, dostatečně citlivou imunochemickou metodou (2.7.1), jako je radioimunoanalýza za použití mezinárodní referenční látky pro prasečí nebo, kde je to vhodné, pro hovězí proinsulin ke kalibraci metody.

Zinek. Nejvýše 1,0 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 25,0 ml. Je-li třeba, zředí se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na koncentraci např. 0,4 μ g Zn/ml až 1,6 μ g Zn/ml.

4304 † Insulinum

Porovnávací roztoky. Připraví se roztoky obsahující 0,40 µg Zn/ml, 0,80 µg Zn/ml, 1,00 µg Zn/ml, 1,20 µg Zn/ml, 1,60 µg Zn/ml za použití čerstvě připraveného základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS.

Měří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen vhodného složení (např. 1 l vzduchu/min a 2 l acetylen/min).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 0,200 g se suší 24 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 2,5 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 10 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Obsah lahvičky lidského insulinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí tak, aby výsledný roztok obsahoval 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (b). Obsah lahvičky prasečího insulinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí tak, aby výsledný roztok obsahoval 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (c). Jestliže je zkoušená látka hovězí insulin, rozpustí se 40,0 mg hovězího insulinu CRL v 10,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml.

Roztok pro rozlišení. 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 1,0 ml porovnávacího roztoku (b).

Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 48 h. Při použití automatického dávkovače se teplota udržuje při 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm);
 - mobilní fáze, kterou jsou následující roztoky připravené a uchovávané při teplotě nejméně 20 °C; průtoková rychlost je 1 ml/min;
 - mobilní fáze A - 28,4 g síranu sodného bezvodého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000 ml. Přidá se 2,7 ml kyseliny fosforečné R, je-li třeba, upraví se pH na hodnotu 2,3 ethanolinem R, zfiltruje se a roztok se odplyní;
 - mobilní fáze B - 550 ml mobilní fáze A se smíchá s 450 ml acetonitrilu R. Roztok se zahřeje na teplotu nejméně 20 °C, aby se předešlo srážení (smíchání mobilní fáze A s acetonitrem je endotermická reakce). Zfiltruje se a roztok se odplyní;
 - spektrofotometrického detektoru, 214 nm.
- Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se promývá směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (42 + 58). V případě potřeby se upraví složení mobilní fáze.

Nastříkne se 20 μ l roztoku pro rozlišení a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Zaznamenaná se chromatogram roztoku pro rozlišení až pík odpovídající hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je zřetelně viditelný. Na chromatogramu roztoku pro rozlišení se určí totožnost píků prasečího insulinu a lidského insulinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídající lidskému insulinu a prasečímu insulinu je nejméně 1,2. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby bylo dosaženo předepsaného rozlišení.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a pro prasečí insulin po 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a (d), nebo pro hovězí insulin po 20 μ l porovnávacího roztoku (c) a (e). Zkoušku lze hodnotit, jestliže plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebo (c) je $(10 \pm 0,5)$ násobkem plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) nebo (e). Pokud je tato zkouška neúspěšná, upraví se nastříkovaný objem na 10 μ l až 20 μ l, aby byl lineární rozsah detektoru.

Vypočítá se obsah insulinu ($C_{256}H_{381}N_{65}O_{76}S_6$ nebo $C_{254}H_{377}N_{65}O_{75}S_6$) a odpovídajícího A21 deamidoinsulinu z plochy hlavního píku a plochy píku A21 deamidoinsulinu na chromatogramu zkoušeného roztoku a vhodného porovnávacího roztoku a deklarovaného obsahu prasečího insulinu a A21 deamidoinsulinu v *prasečím insulinu CRL* nebo hovězího insulinu a A21 deamidoinsulinu hovězího insulinu v *hovězím insulinu CRL*, jak je třeba.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při -20 °C do uvolnění pro výrobu. Po rozpuštění se insulin uchovává při (5 ± 3) °C po krátkou dobu, než bude použit pro výrobu přípravku. Při vážení je třeba insulin chránit před vzdušnou vlhkostí, insulin musí mít pokojovou teplotu.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- druh zvířete, z kterého byla látka získána,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

† *Insulinum humanum*

Lidský insulin



1999

$C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$

M_r 5807,60

CAS 11061-68-0

Je to protein se strukturou antidiabetického hormonu produkovaného lidskou slinivkou břišní. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 105,0 % lidského insulinu $C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$ a lidského A21 deamidoinsulinu. 1 m.j. insulinu odpovídá 0,0347 mg lidského insulinu.

4306 † *Insulinum humanum*

Výroba

Lidský insulin je vyráběn za podmínek minimalizujících mikrobiální znečištění. Vyrábí se buď enzymatickou přeměnou a vhodným čištěním insulinu získaného z prasečí slinivky břišní, nebo metodou založenou na rekombinantní DNK (rDNK) technologii. Lidský insulin vyráběný rDNK technologií odpovídá článku *Producta ab ADN recombinante*.

U lidského insulinu vyráběného enzymatickou přeměnou insulinu získaného z prasečí slinivky se ve validovaném výrobním procesu odstraňuje zbytková proteolytická účinnost. Oprávněná autorita může požadovat dodatečné zkoušky.

U lidského insulinu vyráběného rDNK technologií se neprovádí následující zkouška u každé šarže konečného výrobku, pokud oprávněná autorita neudělila výjimku.

Bílkoviny hostitelské buňky. Nejvýše 10 µg/g; stanoví se postupem uvedeným v článku *Producta ab ADN recombinante*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, v ethanolu a v etheru. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a za rozkladu ve zředěných alkalických hydroxidech.

Zkoušky totožnosti

A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

B. Provede se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušené látky v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS tak, aby obsahoval 2,0 mg/ml lidského insulinu a 500 µl tohoto roztoku se převede do čisté zkumavky. Přidají se 2,0 ml tlumivého roztoku HEPES o pH 7,5 a 400 µl roztoku proteasy kmene V8 zlatého stafylokoka R (1 mg/ml). Zkumavka se uzavře a inkubuje se 6 h při 25 °C. Reakce se zastaví přidáním 2,9 ml tlumivého roztoku síranového o pH 2,0.

Porovnávací roztok. Připraví se současně stejným způsobem jako zkoušený roztok za použití lidského insulinu CRL místo zkoušené látky.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - smíchá se 100 ml acetonitrilu pro chromatografii R, 700 ml vody R a 200 ml tlumivého roztoku síranového o pH 2,0, směs se zfiltruje a odplyne,
 - mobilní fáze B - smíchá se 400 ml acetonitrilu pro chromatografii R, 400 ml vody R a 200 ml tlumivého roztoku síranového o pH 2,0, směs se zfiltruje a odplyne,

Eluční podmínky jsou popsány v níže uvedené tabulce (pokud je třeba, upraví se gradient k dělení enzymaticky štěpeného insulinu):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 60	90 → 30	10 → 70	lineární gradient
60 - 65	30 → 0	70 → 100	lineární gradient
65 - 70	0	100	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se ustaluje při počátečních podmínkách nejméně 15 min. Proveďte se slepá zkouška za výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku a 50 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogram obou roztoků kvalitativně odpovídá *referenčnímu chromatogramu Ph. Eur.* enzymaticky štěpeného lidského insulínu. Na chromatogramu porovnávacího roztoku se určí totožnost piků štěpením vzniklých fragmentů I, II a III. Faktor symetrie piků fragmentu II a III je nejvýše 1,5 a rozlišení mezi dvěma piky je nejméně 3,4.

Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

Poznámka: Retenční čas fragmentu I prasečího insulínu je stejný jako pro lidský insulin. Retenční čas fragmentu II je stejný pro všechny insuliny. Retenční čas fragmentu III hovězího insulínu je stejný jako pro prasečí insulin.

Zkoušky na čistotu

Nečistoty s molekulovou hmotností větší než insulin. Proveďte se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. 4 mg se rozpustí v 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS.

Roztok pro rozlišení. Použije se roztok insulínu (asi 4 mg/ml), který obsahuje více než 0,4 % vysokomolekulárních bílkovin. Mohou být použity injekční přípravky insulínu, roztok nebo suspenze, která se vyčeří dostatečným množstvím kyseliny chlorovodíkové 6 mol/l RS, obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin, nebo roztoky připravené z insulínu rozpuštěním v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS. Insulin obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin může být připraven tak, že se prášek insulínu asi 10 dní nechá stát při pokojové teplotě.

Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 7 dnů. Při použití automatického dávkovače se jeho teplota nastaví na 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru nejméně 7,5 mm naplněné silikagelem hydrofilním pro chromatografii R (5 µm až 10 µm), vhodného stupně pro separaci monomerního insulínu z dimeru a polymerů,
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů kyseliny octové ledové R, acetonitrilu R a roztoku argininu R (1,0 g/l) (15 + 20 + 65), průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 276 nm.

Ustalování kolony. Před použitím nové kolony pro chromatografickou analýzu se ustaluje rovnováha opakovaným nástřikem roztoku insulínu obsahujícího vysokomolekulární bílkoviny. Nejméně třikrát se nastříkne roztok pro rozlišení. Kolona je ustálená, když výsledky dvou po sobě následujících nástřiků jsou opakovatelné.

4308 † *Insulinum humanum*

Nastříkne se 100 µl roztoku pro rozlišení. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek retenční časy jsou: polymerní komplex insulinu 13 min až 17 min, kovalentní dimer insulinu asi 17,5 min, monomerní insulin asi 20 min, soli asi 22 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení, definované poměrem výšky píku dimeru k výšce minima mezi píky monomeru a dimeru, je nejméně 2,0.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává asi 35 min. Na získaném chromatogramu součet ploch píků s retenčním časem kratším než retenční čas hlavního píku není větší než 1,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píku s retenčním časem delším než retenční čas píku insulinu.

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu, s elučními podmínkami popsány v následující tabulce:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	42	58	izokraticky
30 - 44	42 → 11	58 → 89	lineární gradient
44 - 50	11	89	izokraticky

Roztoky se udržují při 2 °C až 10 °C a použijí se do 24 h. Zkontroluje se způsobilost systému (rozlišení, linearita) způsobem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu. Pokud je třeba, upraví se relativní poměry mobilních fází tak, aby se zajistila úplná eluce prasečího A21 deamidoinsulinu před začátkem gradientu. Profil gradientu může být upraven tak, aby se zajistila eluce všech příbuzných nečistot insulinu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a), 20 µl porovnávacího roztoku (b), 20 µl porovnávacího roztoku (c) a 20 µl zkoušeného roztoku. Je-li třeba, upraví se nastříkovaný objem na objem mezi 10 µl a 20 µl v souladu s výsledky získanými pro zkoušku linearitu popsanou ve Stanovení obsahu. Chromatogramy se zaznamenávají asi 50 min. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) se objeví lidský A21 deamidoinsulin jako malý pík za hlavním píkem s relativním retenčním časem asi 1,3 vzhledem k hlavnímu píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku lidského A21 deamidoinsulinu není větší než 2,0 % z celkové plochy píků; součet ploch všech píků, kromě lidského insulinu a lidského A21 deamidoinsulinu, není větší než 2,0 % z celkové plochy píků. Pouze pro semisyntetický lidský insulin: na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídající hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,0 % prasečího insulinu v lidském insulinu).

Imunoreaktivita proinsulinu (PLI). Nejvýše 10 µg/g; počítáno na vysušenou látku. Imunoreaktivita proinsulinu se zkouší vhodnou imunochemickou, dostatečně citlivou metodou (2.7.1), např. radioimunoanalýza. Pro lidský insulin vyráběný enzymatickou přeměnou prasečího insulinu se ke kalibraci metody použije mezinárodní referenční látka pro prasečí proinsulin. Pro lidský insulin vyráběný rDNA technologií se ke kalibraci metody použije mezinárodní referenční látka pro lidský proinsulin.

Zinek. Nejvýše 1,0 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 25,0 ml. Je-li třeba, zředí se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na koncentraci např. 0,4 µg Zn/ml až 1,6 µg Zn/ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se roztoky obsahující 0,40 µg Zn/ml, 0,80 µg Zn/ml, 1,00 µg Zn/ml, 1,20 µg Zn/ml, 1,60 µg Zn/ml za použití čerstvě připraveného základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS.

Měří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen vhodného složení (např. 1 l vzduchu/min a 2 l acetyleny/min).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 0,200 g se suší 24 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 2,5 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 10 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Obsah lahvičky lidského insulínu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí tak, aby výsledný roztok obsahoval 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (b). Obsah lahvičky prasečího insulínu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí tak, aby výsledný roztok obsahoval 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 50,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml.

Roztok pro rozlišení. 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 1,0 ml porovnávacího roztoku (b).

Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 48 h. Při použití automatického dávkovače se jeho teplota nastaví na 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm);
- mobilní fáze, kterou jsou následující roztoky připravené a uchováváné při teplotě nejméně 20 °C, průtoková rychlost je 1 ml/min;
 - mobilní fáze A - 28,4 g síranu sodného bezvodého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000 ml. Přidá se 2,7 ml kyseliny fosforečné R a, je-li třeba, upraví se pH na hodnotu 2,3 ethanolaminem R, zfiltruje se a roztok se odplyní;
 - mobilní fáze B - 550 ml mobilní fáze A se smíchá s 450 ml acetonitrilu R. Roztok se zahřeje na teplotu nejméně 20 °C, aby se předešlo srážení (smíchání mobilní fáze A s acetonitrem je endotermická reakce). Zfiltruje se a roztok se odplyní;
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se promývá směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (42 + 58). V případě potřeby se upraví složení mobilní fáze.

4310 † Iohexolum

Nastříkne se 20 μ l roztoku pro rozlišení a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Zaznamenaná se chromatogram roztoku pro rozlišení až pík odpovídající hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je zřetelně viditelný. Na chromatogramu roztoku pro rozlišení se určí totožnost píků prasečího insulinu a lidského insulinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídající lidskému insulinu a prasečímu insulinu je nejméně 1,2. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby bylo dosaženo předepsaného rozlišení.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku, 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je $(10 \pm 0,5)$ násobkem plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d). Pokud je tato zkouška neúspěšná, upraví se nastříkovaný objem na 10 μ l až 20 μ l, aby byl lineární rozsah detektoru.

Vypočítá se obsah lidského insulinu $C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$ a lidského A21 deamidoinsulinu z plochy hlavního píku a plochy píku lidského A21 deamidoinsulinu na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) a deklarovaného obsahu lidského insulinu a lidského A21 deamidoinsulinu v *lidském insulinu CRL*.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při -20 °C do uvolnění pro výrobu. Po rozpuštění se insulin uchovává při (5 ± 3) °C po krátkou dobu, než bude použit pro výrobu přípravku. Při vážení je třeba insulin chránit před vzdušnou vlhkostí, insulin musí mít pokojovou teplotu.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

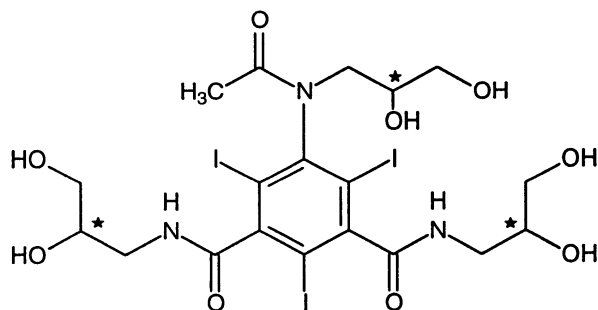
- zda byla látka vyrobena enzymatickou přeměnou prasečího insulinu nebo rDNK technologií,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

† Iohexolum

Iohexol



1999



$C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$

M_r 821,14

CAS 66108-95-04

Je to 5-[N-(2,3-dihydroxypropyl)acetamido]-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$.

Vlastnosti

Bílý nebo šedobílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v etheru a v dichlormethanu. Látka je směsí diastereoizomerů a atropizomerů.

Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *johexolu CRL*. Tablety se připraví za použití *bromidu draselného R*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky A Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou přibližně stejné jako retenční čas a velikost píků odpovídajících *johexolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky.

A. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Poznámka: Vzhledem k endo-exoizomerii jsou na chromatogramu dva nerozdělené píky *johexolu*. Kromě toho se na počátku prvního hlavního píku obvykle objevuje malý pík náležící rovněž *johexolu*. Retenční čas tohoto malého píku je asi o 1,2 min menší než retenční čas prvního hlavního píku.

Zkoušený roztok. 0,150 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 15,0 mg *johexolu CRL* a 15,0 mg *johexolu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi jedné až dvou kapek *hydroxidu sodného zředěného RS* a 10 ml *vody R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné vhodným *silika-gelem oktadecylsilanisovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 99) na počátku eluce a (13 + 87) na konci eluce, při průtokové rychlosti 1 ml/min a lineární gradientové eluci 60 min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se promývá mobilní fází o počátečním složení do ustavení rovnováhy po dobu nejméně 10 min. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku po nástřiku 10 μ l porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

4312 † *Iohexolum*

Odděleně se nastříkne 10 μ l *vody R* jako kontrolního roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy johexolu nečistoty A asi 17 min a obou píků johexolu (odpovídajících *endo/exoizomerním* formám) asi 20 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem odpovídajícím johexolu nečistotě A a druhým větším píkem odpovídajícím johexolu je nejméně 5. V případě potřeby se upraví konečná koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo se upraví program lineární gradientové eluce.

Odděleně se nastříkne po 10 μ l zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě píků johexolu (viz výše), větší než polovina plochy hlavních píků johexolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavních píků johexolu (viz výše), není větší než 1,5násobek plochy hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k žádnému píku odpovídajícímu kontrolnímu roztoku.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 50 mg *johexolu nečistoty J CRL* a 50 mg *johexolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Vrstva se promyje mobilní fází, která je směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R*, *2-propanolu R* a *acetonu R* (20 + 20 + 35 + 50), suší se 30 min při pokojové teplotě a pak 1 h při 90 °C.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se výše uvedenou směsí po dráze 10 cm. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

3-Chlorpropan-1,2-diol. Nejvýše 100 μ g/g. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí ve 2,0 ml *vody R*. Tento roztok se postupně čtyřikrát protřepe vždy 2 ml *methylacetatu R*. Spojené horní vrstvy se vysuší *síranem sodným bezvodým R*, zfiltrují se a zahustí na 2 ml.

Porovnávací roztok. 0,50 g *3-chlorpropan-1,2-diolu R* se rozpustí ve 100,0 ml *methylacetatu R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,33 mm s vnitřním povrchem potaženým *polyfenylmethylsiloxanem R* (tloušťka filmu 1 μ m),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje 2 min na 80 °C, pak se zvyšuje rychlostí 15 °C/min až na 170 °C, při níž se udržuje 2 min. Teplota nástřikového prostoru je 230 °C a detektoru 250 °C.

Odděleně se nastříkne po 2 μ l každého roztoku (bez děliče se nastříkuje po dobu 30 s). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas 3-chlorpropan-1,2-diolu asi 8 min.

Vypočte se obsah 3-chlorpropan-1,2-diolu.

Methanol, methoxyethanol a 2-propanol. Nejvýše 50 µg/g methanolu a nejvýše po 100 µg/g methoxyethanolu a 2-propanolu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) head-space metodou a metodou standardního přídávku za použití 2-butanolu R jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,50 g 2-butanolu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

Zkoušený roztok (a). 6,25 g se rozpustí ve vodě R, přidá se 5,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou R na 25,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a 1,0 ml vody R se převedou do 10ml lahvičky a lahvička se ihned uzavře.

Zkoušený roztok (c). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se převedou do 10ml lahvičky a lahvička se ihned uzavře (odpovídá standardnímu přídávku 10 µg methanolu R, 20 µg 2-propanolu R a 20 µg methoxyethanolu R na 1 g zkoušené látky).

Zkoušený roztok (d). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se převedou do 10ml lahvičky a lahvička se ihned uzavře (odpovídá standardnímu přídávku 25 µg methanolu R, 50 µg 2-propanolu R a 50 µg methoxyethanolu R na 1 g zkoušené látky).

Zkoušený roztok (e). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (d) se převedou do 10ml lahvičky a lahvička se ihned uzavře (odpovídá standardnímu přídávku 50 µg methanolu R, 100 µg 2-propanolu R a 100 µg methoxyethanolu R na 1 g zkoušené látky).

Porovnávací roztok (a). 0,625 g methanolu R, 1,250 g 2-propanolu R a 1,250 g methoxyethanolu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. Mezi přídávky jednotlivých složek se vždy směs přiměřeně naředí vodou R.

Porovnávací roztok (b). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 50,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 10,0 ml porovnávacího roztoku (d) se přidá k 10,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou R na 50,0 ml. 6,0 ml tohoto roztoku se převede do 10ml lahvičky a lahvička se ihned uzavře.

Postup head-space metodou se obvykle provádí za podmínek:

- teploty 95 °C v komoře s řízenou teplotou,
- doby ustavování rovnováhy 15 min,
- teploty spojovacího vedení 140 °C,
- doby tlakování 30 s,
- doby plnění smyčky 10 s,
- doby nástřiku 10 s.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,54 mm s vnitřním povrchem potaženým zesíťným poly[(kyanopropyl)(methyl)][(fenyl)methyl]siloxanem R o tloušťce filmu 3 µm,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti asi 14 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje 5 min na 40 °C, pak se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 100 °C, při níž se udržuje 1 min. Teplota nástřikového prostoru je 140 °C a teplota detektoru 250 °C.

Zaznamenají se chromatogramy zkoušených roztoků (b), (c), (d) a (e) a porovnávacího roztoku (e). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy methanolu asi 1,2 min, 2-propanolu asi 1,8 min, 2-butanolu asi 3,5 min a methoxyethanolu asi 4,5 min. Zkoušku

4314 † *Iohexolum*

lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky methanolu a 2-propanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) je nejméně 2,5.

Z chromatogramů zkoušených roztoků se vypočte poměr plochy píku k ploše píku vnitřního standardu pro každou stanovovanou látku, zjištěné hodnoty se zpracují lineární regresní analýzou a vypočtou se koncentrace stanovovaných složek ve zkoušené látce.

Alternativní možnost. Poměry ploch píků se vynesou proti přidanému množství dané stanovované látky na 1 g zkoušené látky. Křivka spojující jednotlivé body se extrapoluje až k průsečíku s osou koncentrace. Délka úsečky mezi tímto průsečíkem a průsečíkem obou os je hledaná koncentrací stanovované látky ve zkoušené látce (v $\mu\text{g/g}$).

Volné aromatické aminy. Nejvýše 0,05 %; stanoví se absorpční spektrofotometrií (2.2.25).

Zkoušený roztok. 0,200 g se v 25ml odměrné baňce rozpustí v 15,0 ml vody R.

Porovnávací roztok. 10,0 ml roztoku obsahujícího 10 $\mu\text{g/ml}$ *johexolu nečistoty J CRL* se převede do 25ml odměrné baňky, přidá se 5,0 ml vody R a promíchá se.

Kontrolní roztok. 15,0 ml vody R se převede do 25ml odměrné baňky.

V průběhu dalšího postupu jsou baňky umístěny ve vodě s ledem a pracuje se za ochrany před světlem pokud možno až do okamžiku, kdy jsou přidána všechna zkoumadla.

Baňky obsahující zkoušený roztok, porovnávací roztok a kontrolní roztok se umístí do vody s ledem a ponechají se za ochrany před světlem 5 min. Pak se přidá po 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, promíchá se, přidá se po 1,0 ml roztoku *dusitanu sodného R* (20 g/l), promíchá se a nechá se stát 4 min. Přidá se po 1,0 ml roztoku *kyseliny amidosírové R* (40 g/l) a mírně se promíchává až do ukončení vývinu plynů a nechá se stát 1 min. (*Upozornění: v baňkách vzniká přetlak*). Pak se přidá 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (3 g/l) ve směsi objemových dílů *vody R* a *propylenglykolu R* (30 + 70) a promíchá se. Baňky se vyjmou z vody s ledem, zředí se *vodou R* na 25 ml, promíchá se a nechá se 5 min stát. Absorbance zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku se změří souběžně při vlnové délce 495 nm v tloušťce vrstvy 5 cm proti kontrolnímu roztoku.

Vypočte se obsah volných aromatických aminů.

Jodidy. Nejvýše 20 $\mu\text{g/g}$. Provede se potenciometrická titrace (2.2.20). 6,000 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml. Přidají se 2,0 ml *jodidu draselného 0,001 mol/l VS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,001 mol/l VS* za použití stříbrné elektrody jako indikační a vhodné referenční elektrody.

Provede se slepá zkouška; 2,0 ml *jodidu draselného 0,001 mol/l VS* se zředí *vodou R* na 20 ml. Z rozdílu spotřeb se vypočte obsah jodidů.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,001 mol/l VS* odpovídá 126,9 μg jodidu.

Iontové sloučeniny. Nejvýše 0,05 %, počítáno jako chlorid sodný. Provede se stanovení měrné vodivosti (2.2.38).

Veškeré potřebné laboratorní sklo se před použitím pětkrát promyje vodou destilovanou R.

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 mg *chloridu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Na vhodném konduktometru se změří měrná vodivost zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku. Měrná vodivost zkoušeného roztoku není větší než měrná vodivost porovnávacího roztoku.

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (1 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 4,0 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,500 g se v 250ml baňce s kulovitým dnem smíchá s 25 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a přidá se několik skleněných varných kuliček. Vaří se pod zpětným chladičem 30 min. Pak se nechá vychladnout a chladič se promyje 20 ml *vody R*, které se přidají do baňky. Obsah baňky se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla, filtr se promyje několika podíly *vody R*, které se spojí s filtrátem. Přidá se 5 ml *kyseliny octové ledové R* a ihned se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Vhodným elektrodovým systémem je použití stříbrné a merkurosulfátové elektrody.

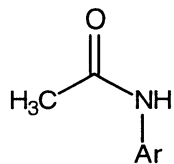
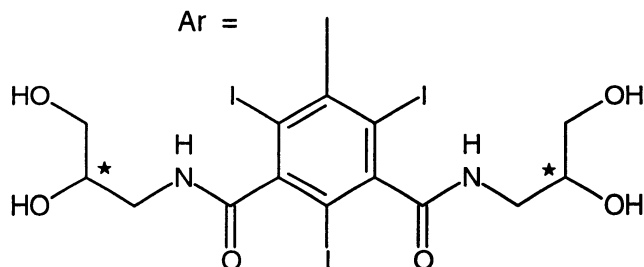
1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 27,37 mg $C_{19}H_{26}I_3N_3O_9$.

Uchovávání

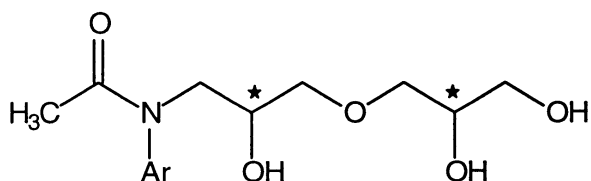
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem a vlhkostí.

Separandum.

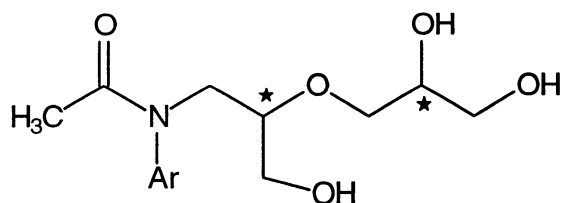
Nečistoty



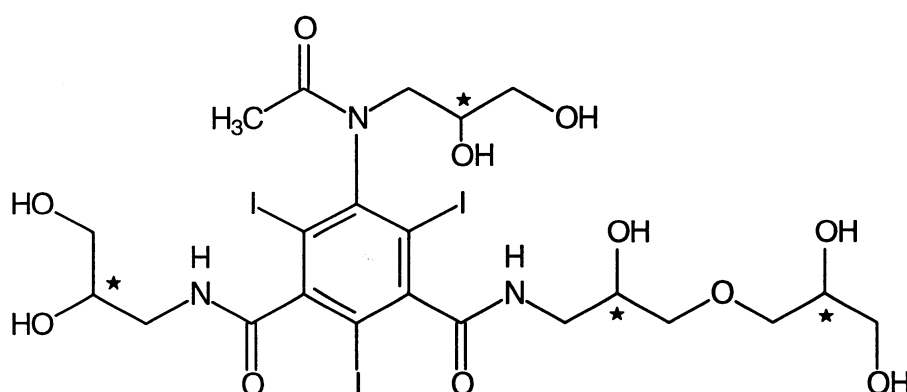
A. 5-acetylamino-*N,N'*-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,



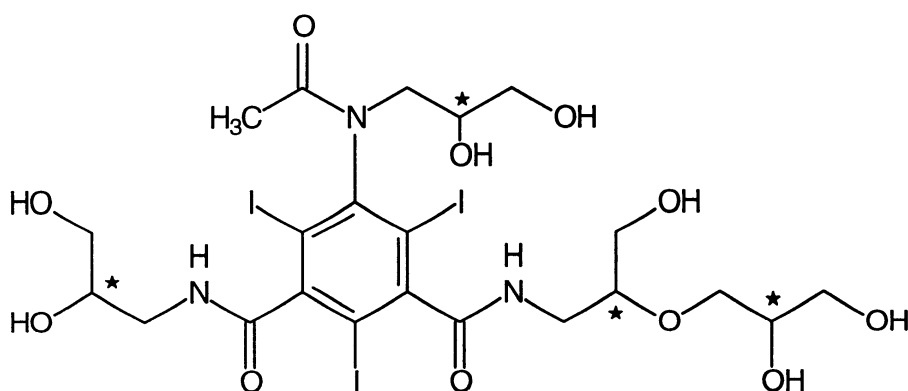
B. 5-[*N*-(2,6,7-trihydroxy-4-oxaheptyl)acetamido]-*N,N'*-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

4316 † *Iohexolum*

C. N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)-5-[N-(5,6-dihydroxy-2-hydroxymethyl-3-oxaheptyl)acetamido]-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,



D. 5-[N-(2,3-dihydroxypropyl)acetamido]-N-(2,3-dihydroxypropyl)-N'-(2,6,7-trihydroxy-4-oxaheptyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,



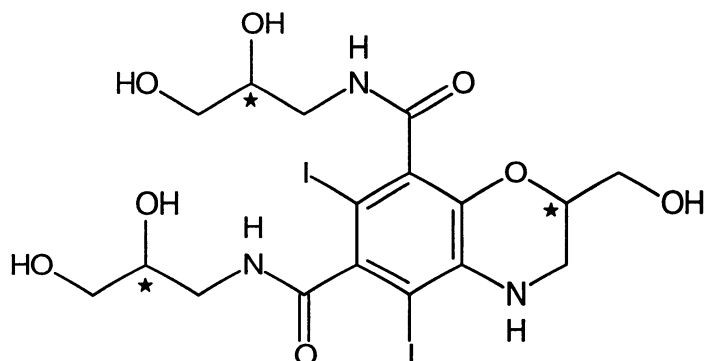
E. 5-[N-(2,3-dihydroxypropyl)acetamido]-N-(5,6-dihydroxy-2-hydroxymethyl-3-oxaheptyl)-N'-(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

F. 5-amino-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)dijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

G. 5-acetamido-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)dijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

H. 5-[N-(2,3-dihydroxypropyl)acetamido]-N,N'-bis(2,3-dihydroxypropyl)dijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

† Iopamidolum 4317



I. 2-hydroxymethyl-*N,N'*-bis(2,3-dihydroxypropyl)-5,7-dijod-2,3-dihydro-4*H*-1,4-benzoxazin-6,8-dikarboxamid,



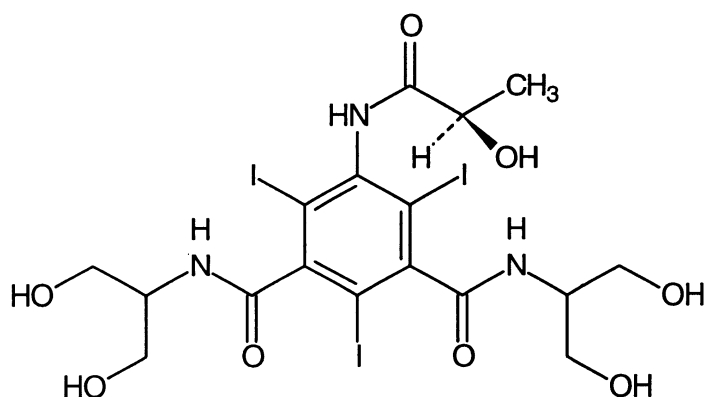
J. 5-amino-*N,N'*-bis(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid.

† Iopamidolum

Jopamidol



1999



$C_{17}H_{22}I_3N_3O_8$

M_r 777,09

CAS 60166-93-0

Je to (*S*)-*N,N'*-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-5-(2-hydroxypropionamido)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{17}H_{22}I_3N_3O_8$.

4318 † *Iopamidolum***Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v lihu 96 % a dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *jopamidolu CRL*.
- B. Zkouška Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 10,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml. K dosažení hodnoty pH 7,0 (2.2.3) se spotřebuje nejvýše 0,75 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* nebo 1,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-4,6^\circ$ až $-5,2^\circ$, počítáno na vysušenou látku. Měří se při 436 nm. Tento roztok: 10,0 g se rozpustí ve *vodě R*, je-li třeba zahřátím, a zředí se stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *jopamidolu nečistoty B CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 5 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanisovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí *vody R* (mobilní fáze A) a roztoku *methanolu R 25% (V/V)* (mobilní fáze B), s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min a s gradientovou elucí podle níže uvedené tabulky:

Čas (min)	Mobilní fáze A %(V/V)	Mobilní fáze B %(V/V)
0	92,5	7,5
6	92,5	7,5
18	65	35
30	8	92
34	8	92
36	92,5	7,5

- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.
Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výšky obou píků na chromatogramu byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu rozlišení mezi píkem jopamidolu nečistoty B a jopamidolu je nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %). Nepřihlíží se k žádnému píku, jehož plocha je menší než 0,02násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Volné aromatické aminy. *V průběhu zkoušky jsou roztoky a zkoumadla umístěny ve vodě s ledem, pracuje se za ochrany před světlem.*

Zkoušený roztok. 0,500 g se v 25ml odměrné baňce rozpustí v 20,0 ml vody R.

Porovnávací roztok. 4,0 ml roztoku jopamidolu nečistoty A CRL (25,0 mg/l) se smíchá ve 25ml odměrné baňce se 16,0 ml vody R.

Kontrolní roztok. 20,0 ml vody R se převede do 25ml odměrné baňky.

Všechny tři baňky se umístí do vody s ledem a ponechají se 5 min za ochrany před světlem. Pak se přidá po 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové R, obsahy baněk se promíchají a ponechá se 5 min stát. Přidá se po 1,0 ml roztoku dusitanu sodného R (20 g/l) připraveného těsně před použitím, promíchá se a opět se ponechá 5 min stát. Přidá se po 1,0 ml roztoku amidosíranu amonného R (120 g/l), mírně se promíchává, dokud unikají plyny. (*Upozornění: v baňkách vzniká přetlak*). Po 5 min se přidá po 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku naftylethylendiamoniumdichloridu R (1 g/l) a promíchá se. Baňky se vyjmou z vody s ledem a nechají se stát 10 min. Pak se obsahy zředí vodou R na 25,0 ml, promíchá se a ihned se měří absorbance (2.2.25) zkoušeného a porovnávacího roztoku proti kontrolnímu roztoku při 500 nm.

Absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku (200 μ g/g).

Volný jod. Do kyvety pro odstředování opatřené zátkou se naváží 2,0 g a rozpustí se v 25 ml vody R. Přidá se 5 ml toluenu R a 5 ml kyseliny sírové zředěné RS. Obsah se protřepe a pak odstředí. V horní vrstvě nevznikne červené zbarvení.

Jodidy. Nejvýše 10 μ g/g. Stanoví se potenciometrickou titrací (2.2.20). 6,000 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. Přidají se 2,0 ml jodidu draselného 0,001 mol/l VS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,001 mol/l VS za použití stříbrné elektrody jako indikační a vhodné referenční elektrody. Provede se slepá zkouška za použití 20 ml vody R a 2,0 ml jodidu draselného 0,001 mol/l VS a z rozdílu spotřeb odměrného roztoku se vypočte obsah jodidů.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,001 mol/l VS odpovídá 126,9 μ g jodidu.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 1,4 m.j. endotoxinu v gramu.

4320 † Iopamidolum

Stanovení obsahu

0,300 g v 250ml baňce s kulatým dnem se smíchá s 5 ml *hydroxidu sodného koncentrované* RS, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškováného R* a přidá se několik skleněných varných kuliček. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Pak se nechá vychladnout, chladič se promyje 20 ml *vody R* a promývací kapalina se přidá do baňky.

Obsah baňky se zfiltruje filtrem ze slinutého skla, který se promyje několika podíly *vody R*. Filtrát se spojí s promývací tekutinou, přidá se 5 ml *kyseliny octové ledové R* a ihned se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence a za použití vhodného elektrodového systému jakým je stříbrná a merkurosulfátová elektroda.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 25,90 mg $C_{17}H_{22}I_3N_3O_8$.

Uchovávání

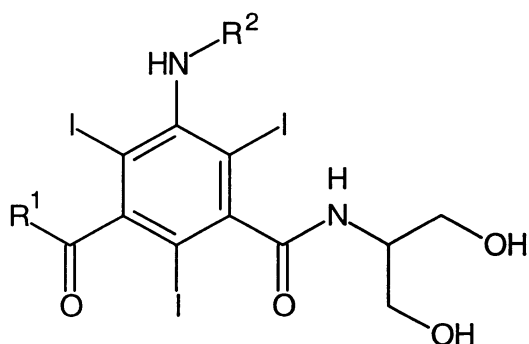
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

- A. $R^1 = NHCH(CH_2OH)_2$; $R^2 = H$: 5-amino-A,A'-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,
- B. $R^1 = NHCH(CH_2OH)_2$; $R^2 = COCH_2OH$: N,N'-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-5-(2-hydroxyacetamido)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,
- C. $R^1 = NHCH(CH_2OH)_2$; $R^2 = COCH_3$: N,N'-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-5-acetamido-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,
- D. $R^1 = OH$; $R^2 = COCHOHCH_3$: kyselina 3-{N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]karbamoyl}-5-(2-hydroxypropionamido)-2,4,6-trijodbenzoová,
- E. $R^1 = NHCH(CH_2OH)_2$; $R^2 = COCH(CH_3)OCOCH_3$: 5-(2-acetoxypionamido)-N,N'-bis[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

Isoleucinum 4321

F. $R^1 = N(CH_3)_2$; $R^2 = COCHOHCH_3$: N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-5-(2-hydroxypropionamido)-N'-dimethyl-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid,

G. $R^1 = NHCH_2-CHOH-CH_2OH$; $R^2 = COCHOHCH_3$: 5-(2-hydroxypropionamido)-N-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl]-N'-(2,3-dihydroxypropyl)-2,4,6-trijodbenzen-1,3-dikarboxamid.

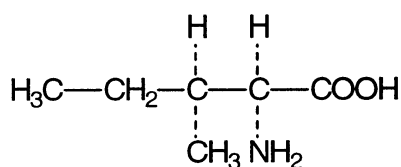
Isoleucinum¹⁾

Isoleucin

Synonymum. L-Isoleucinum



RR99

 $C_6H_{13}NO_2$ M_r 131,17

CAS 73-32-5

Je to kyselina (2*S*,3*S*)-2-amino-3-methylvalerová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{13}NO_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo vločky. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. 0,5 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml; roztok je pravotočivý.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *isoleucinu CRL*.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 574 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4322 *Isoleucinum*

D. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +39,0° až +42,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *isoleucinu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *isoleucinu CRL* a 10 mg *valinu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μg/g).

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se nebo suspenduje v 0,5 ml *vody R*. K roztoku nebo suspenzi se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s papírem lakmusovým se ihned překllopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia (100 μg NH₄/ml)*, 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 μg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,12 mg C₆H₁₃NO₂.

Uchovávání

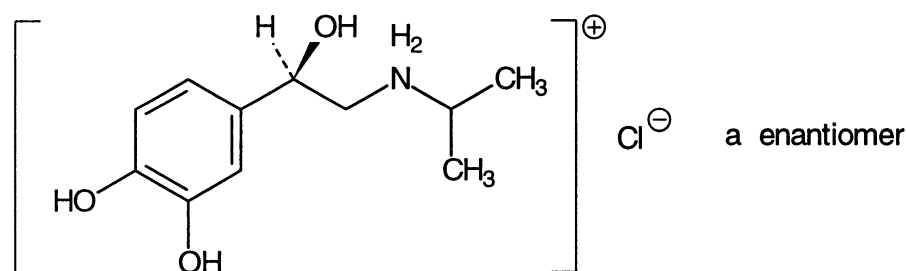
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† *Isoprenalini hydrochloridum*

Isoprenaliniumchlorid



1999



C₁₁H₁₈ClNO₃

M_r 247,72

CAS 51-30-9

Je to (*RS*)-*N*-isopropyl-[2-hydroxy-2-(3,4-dihydroxyfenyl)ethyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,5 % sloučeniny C₁₁H₁₈ClNO₃.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C, E.

4324 † *Isoprenalini hydrochloridum*

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Teplota tání (2.2.14). 166 °C až 170 °C.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *isoprenaliniumchloridu CRL*.
- C.** Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D.** K 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,05 ml *chloridu železitého RS1* a 0,9 ml *vody R*; vznikne zelené zbarvení. Po kapkách se přidá *hydrogenuhličitan sodný RS*; vznikne nejprve modré, potom červené zbarvení.
- E.** K 0,5 ml roztoku S se přidá 1,5 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok H₇ nebo HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,3 až 5,5; měří se směs 5 ml roztoku S a 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

Optická otáčivost (2.2.7). -0,10° až +0,10°; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg *isoprenaliniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,5 mg *orciprenaliniumsulfatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). K 1,0 ml zkoušeného roztoku (b) se přidá 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a roztoku *kyseliny fosforečné R* (11,5 g/l) (5 + 95), průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Upraví se koncentrace methanolu v mobilní fázi tak, aby retenční čas hlavního píku byl asi 3 min. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku (a) a 20 μl porovnávacího roztoku (c). Chromatogram zkoušeného roztoku (a) se zaznamenává po dobu odpovídající sedminásobku retenčního času isoprenalinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 3 a poměr signálu k šumu píku isoprenalinu je nejméně 3.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %) a součet ploch takových píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %. 1,000 g se suší 4 h ve vakuové sušárně při 15 °C až 25 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Aby se zabránilo přehřátí reakčního prostředí, důkladně se míchá a titrace se ukončí ihned po dosažení bodu ekvivalence.

0,150 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a přidá se 50 ml *acetanhydridu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

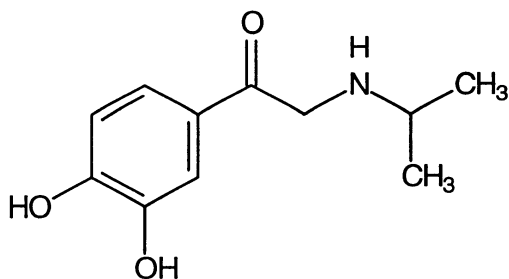
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 24,77 mg $C_{11}H_{18}ClNO_3$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty



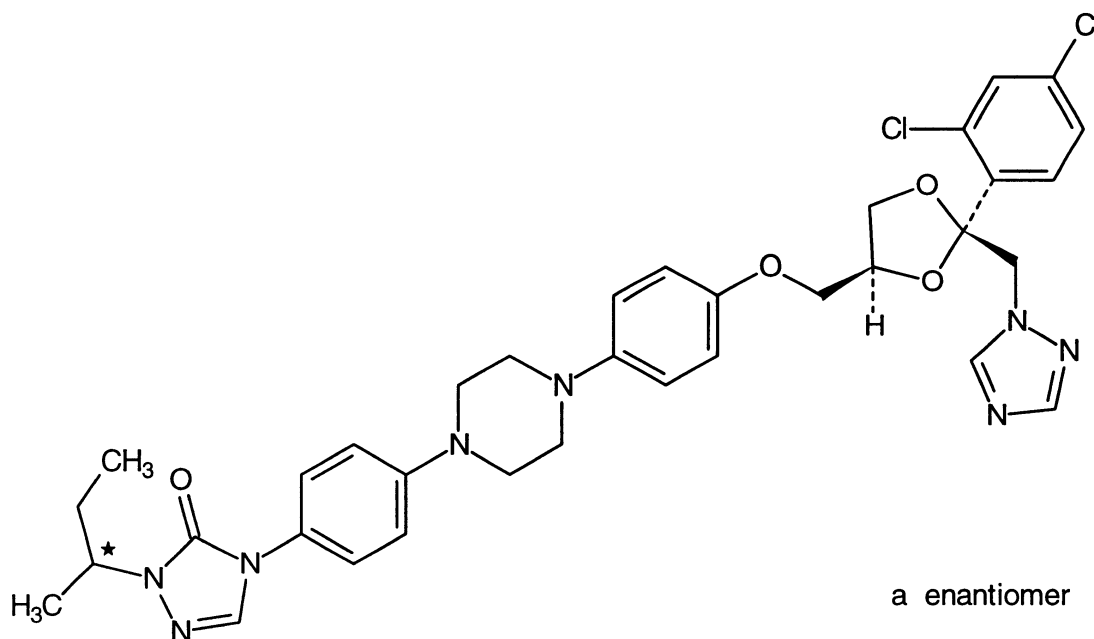
A. (3,4-dihydroxyfenyl)isopropylaminomethylketon.

4326 † *Itraconazolum*† **Itraconazolum**

Itrakonazol



1999

 $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ M_r 705,64

CAS 84625-61-6

Je to 4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]-methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v tetrahydrofuranu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14): 166 °C až 170 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *itakonazolu CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu okta-decylsilanizovaného.

Zkoušený roztok. 30 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg *itraconazolu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 30 mg *itraconazolu CRL* a 30 mg *ketokonazolu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsí objemových dílů *octanu amonného RS*, *dioxanu R* a *methanolu R* (20 + 40 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se 15 min suší v proudu horkého vzduchu a vystaví se působení par jodu, dokud se neobjeví skvrny. Pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. Ke 30 mg se v porcelánovém kelímku přidá 0,3 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R*. Zahřívá se 10 min nad plamenem. Po ochlazení se zbytek rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). -0,10° až +0,10°. Měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R* a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg *itraconazolu CRL* a 5,0 mg *mikonazolu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R* a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min a gradientovým programem za následujících podmínek:
 - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (27,2 g/l),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,

4328 † *Itraconazolum*

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	80 → 50	20 → 50	lineární gradient
20 - 25	50	50	izokratická eluce
25 - 30	80	20	přepnutí na počáteční složení eluentu
30 = 0	80	20	začátek dalšího gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 225 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 30 min *acetonitrilem R* při průtokové rychlosti 1,5 ml/min a pak nejméně 5 min eluentem o počátečním složení.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy mikonazolu asi 10,5 min a itraconazolu asi 11 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky mikonazolu a itraconazolu je nejméně 2,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo se upraví časový program lineární gradientové eluce.

Nastříkne se odděleně 10 µl směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *tetrahydrofuranu R* jako slepá zkouška, 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,25 %). Nepřihlíží se k píkům získaným ve slepé zkoušce a k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %. 1,000 g se suší 4 h v sušárně při teplotě 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace do druhého inflexního bodu (2.2.20).

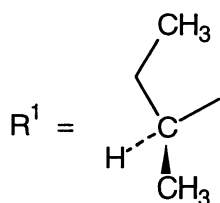
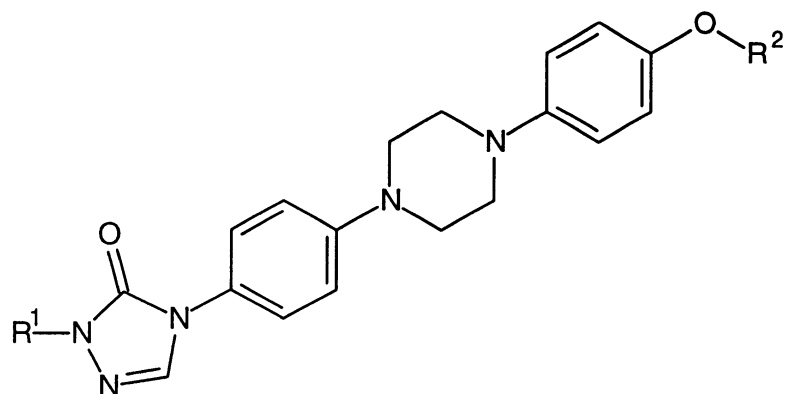
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 35,3 mg $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$.

Uchovávání

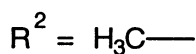
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

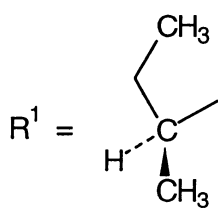
Nečistoty



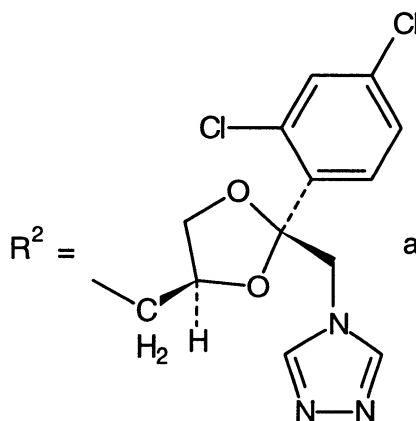
a enantiomer



A. 4-{4-[4-(4-methoxyfenyl)piperazin-1-yl]fenyl}-2-[(1*R*S)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,



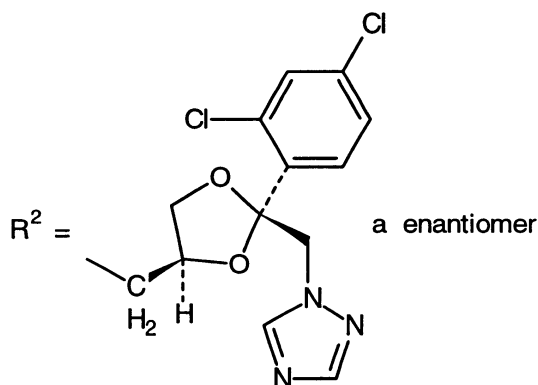
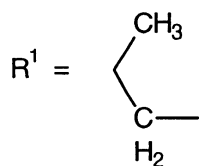
a enantiomer



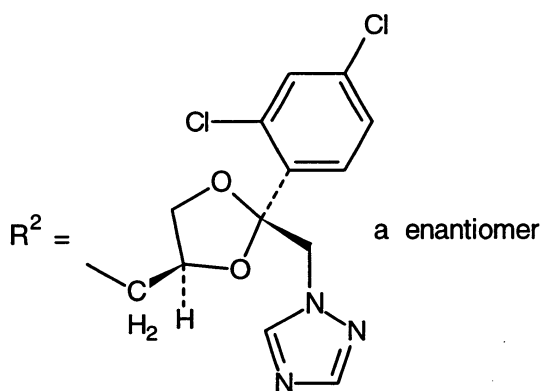
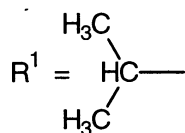
a enantiomer

B. 4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(4*H*-1,2,4-triazol-4-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-[(1*R*S)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,

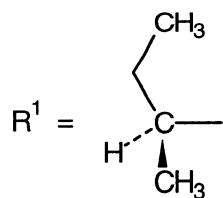
4330 † Itraconazolium



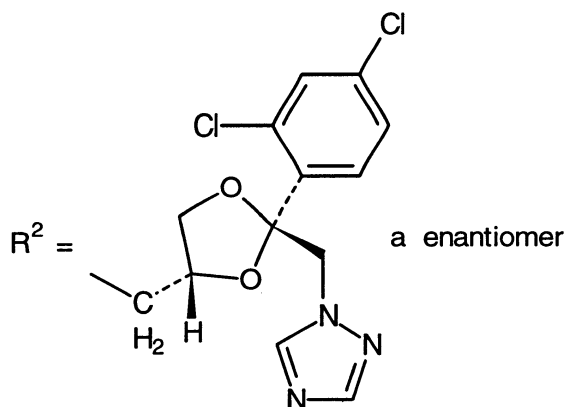
C. 4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-(1-propyl)-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,



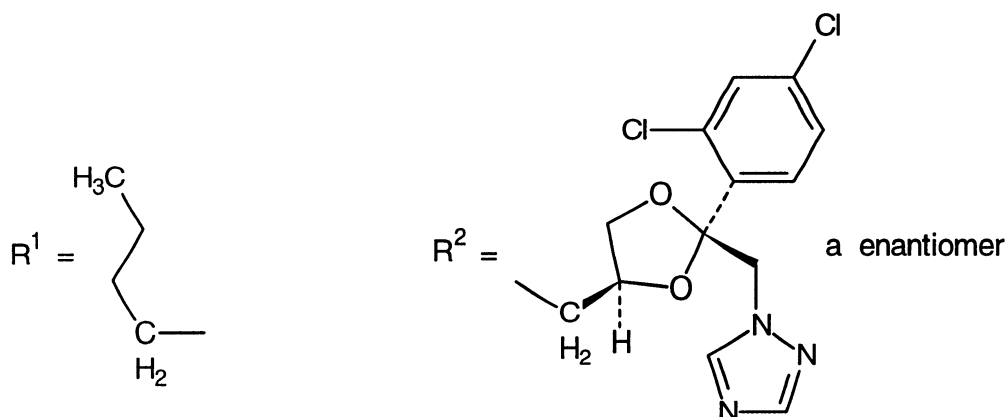
D. 4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-isopropyl-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,



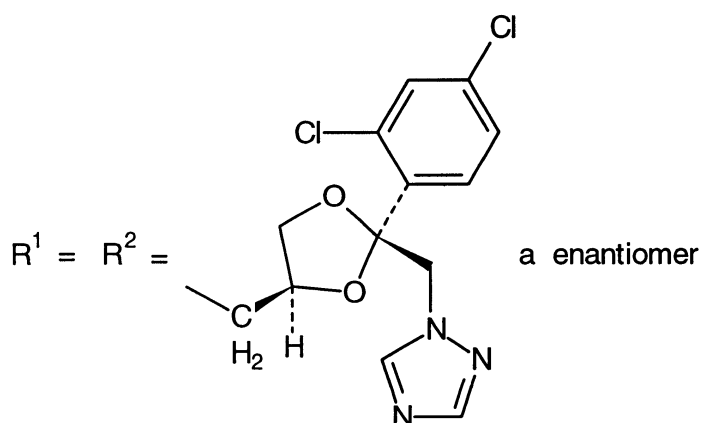
a enantiomer



E. 4-{4-[4-[4-[[*trans*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,



F. 2-butyl-4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,



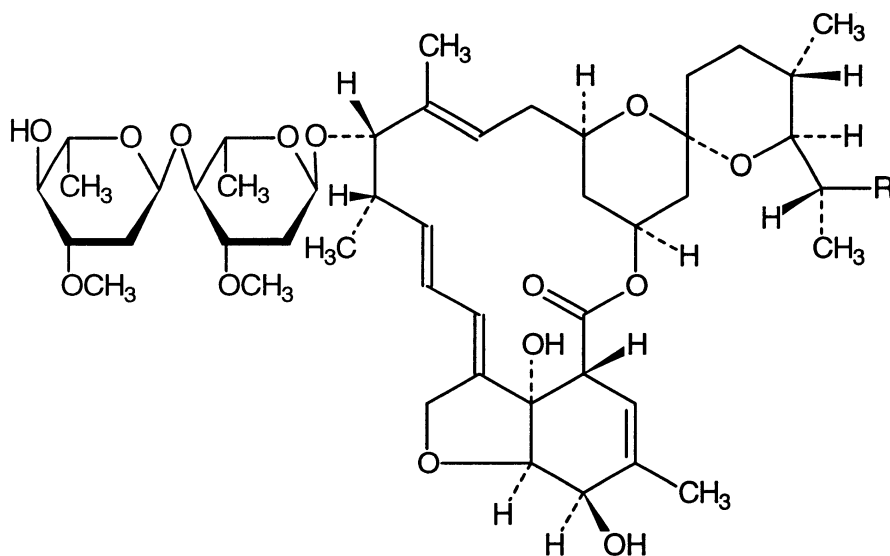
G. 4-{4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]piperazin-1-yl]fenyl}-2-{[*cis*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methyl}-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.

4332 † Ivermectinum

† Ivermectinum

Ivermektin

1999



Složka	R	Sumární vzorec	M_r	
H ₂ B _{1a}	CH ₂ -CH ₃	C ₄₈ H ₇₄ O ₁₄	875,10	CAS 70161-11-4
H ₂ B _{1b}	CH ₃	C ₄₇ H ₇₂ O ₁₄	861,07	CAS 70209-81-3
Směs H ₂ B _{1a} a H ₂ B _{1b}				CAS 70288-86-7

Je to směs (2a*E*,4*E*,8*E*)-(5′*S*,6′*S*,6′*R*,7′*S*,11′*R*,13′*R*,15′*S*,17a′*R*,20′*R*,20a′*R*,20b′*S*)-20,20b-dihydroxy-5′,6,8,19-tetramethyl-7-[[[(3-O-methyl-4-O-(3-O-methyl-2,6-dideoxy- α -*L*-arabino-hexopyranosyl)-2,6-dideoxy- α -*L*-arabino-hexopyranosyl]oxy]-6′-[(1*S*)-1-methylpropyl]-3′,4′,5′,6,6′,7,10,-11,14,15,17a,20,20a,20b-tetradekahydrospiro[11,15-methano-2*H*,13*H*,17*H*-furo[4,3,2-*pq*][2,6]-benzodioxacyklooktadecen-13,2′-[2*H*]pyran]-17-on (nebo 5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektin A_{1a}) (složka H₂B_{1a}) a (2a*E*,4*E*,8*E*)-(5′*S*,6′*S*,6′*R*,7′*S*,11′*R*,13′*R*,15′*S*,17a′*R*,20′*R*,20a′*R*,20b′*S*)-20,20b-dihydroxy-5′,6,8,19-tetramethyl-6′-isopropyl-7-[[[(3-O-methyl-4-O-(3-O-methyl-2,6-dideoxy- α -*L*-arabino-hexopyranosyl)-2,6-dideoxy- α -*L*-arabino-hexopyranosyl]oxy]-3′,4′,5′,6,6′,7,10,11,-14,15,17a,20,20a,20b-tetradekahydrospiro[11,15-methano-2*H*,13*H*,17*H*-furo[4,3,2-*pq*][2,6]benzodioxacyklooktadecen-13,2′-[2*H*]pyran]-17-on (nebo 25-(isopropyl)-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydroavermektin A_{1a}) (složka H₂B_{1b}). Obsahuje nejméně 90,0 % sloučeniny C₄₈H₇₄O₁₄ (složka H₂B_{1a}) a součet obsahů složek H₂B_{1a} a H₂B_{1b} je 95,0 % až 100,5 %, oboje počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku.

Vlastnosti

Bílý nebo žlutobílý krystalický prášek, mírně hygroskopický. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *ivermektinu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané při zkoušce Stanovení obsahu. Retenční časy a velikosti dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají dvěma hlavním píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v 50 ml *toluenu R*. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -17° až -20° , počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem uvedeným ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času ivermektinu. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b) a 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku s relativním retenčním časem 1,3 až 1,5 vztaheno k hlavnímu píku není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,5 %); plocha žádného dalšího píku, kromě dvou hlavních píků, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); součet ploch všech píků, kromě dvou hlavních píků, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Ethanol a formamid. Nejvýše 5,0 % ethanolu a nejvýše 3,0 % formamidu. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) s použitím *2-propanolu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,5 ml *2-propanolu R* se zředí *vodou R* na 100 ml.

Zkoušený roztok. 0,120 g se rozpustí v odstředivací zkumavce ve 2,0 ml *m-xylenu R* (v případě potřeby se zahřeje na vodní lázni na 40 °C až 50 °C). Přidají se 2,0 ml *vody R*, dobře se promíchá a odstředí se. Horní vrstva se odstraní a extrahuje se 2,0 ml *vody R*. Opět se odstraní horní vrstva a vodné vrstvy se spojí. Přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Odstředí se a odstraní se zbývající *m-xylen*.

Porovnávací roztok (a). 3,0 g *ethanolu R* se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 g *formamidu R* se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 50,0 ml. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v odstředivací zkumavce se přidají 2,0 ml *m-xylenu R*, dobře se promíchá a odstředí se. Horní vrstva se odstraní a extrahuje se 2,0 ml *vody R*. Opět se odstraní horní vrstva a vodné vrstvy se spojí. Přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Odstředí se a odstraní se zbývající *m-xylen*.

Porovnávací roztok (d). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 10,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *vodou R* na 50,0 ml. Dále se postupuje jako u porovnávacího roztoku (c) (od „Ke 2,0 ml tohoto roztoku v odstředivací zkumavce..“).

4334 † Ivermectinum

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm nebo 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *poly[[kyanopropyl](fenyl)][dimethyl]siloxanem R* (tloušťka filmu 1,8 μm nebo 3 μm),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu s dělicím poměrem 1 : 5 a lineární rychlostí asi 35 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru,
s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
Kolona	0 - 5 5 - 12	40 40 → 180	20	izotermicky lineární gradient izotermicky
Nástřikový prostor	12 - 14	180		
Detektor		140 250		

Nastříkuje se zkoušený roztok, porovnávací roztok (c) a porovnávací roztok (d).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví s použitím 2 ml základního roztoku olova (10 μg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 40,0 mg *ivermektinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze o průtokové rychlosti 1,0 ml/min:
 - mobilní fáze A - *voda R*,
 - mobilní fáze B - směs objemových dílů *methanolu R* a *acetonitrilu R* (35 + 53),
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se ustaluje mobilní fází o poměru A : B 15 : 85.

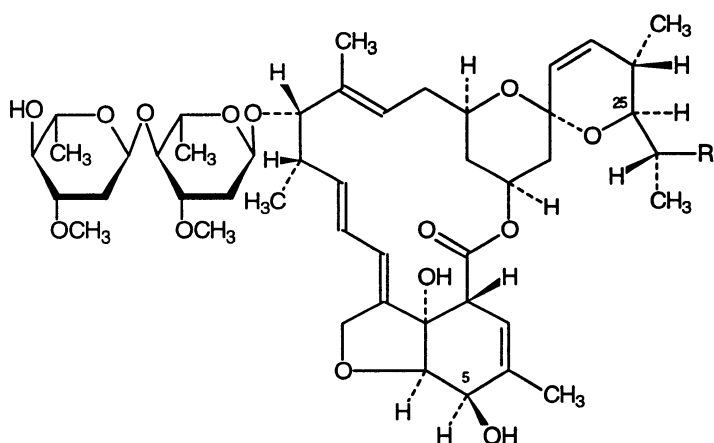
Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (složka H₂B_{1b}) a druhým píkem (složka H₂B_{1a}) je nejméně 3,0 (je-li třeba upraví se poměr mobilní fáze A : B) a faktor symetrie hlavního píku je nejvýše 2,5. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby byl poměr signálu k šumu hlavního píku nejméně deset. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže

je relativní směrodatná odchylka ploch píku složky H₂B_{1a} nejvýše 1,0 %. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok a porovnávací roztok (a). Vypočítá se obsah složky H₂B_{1a} a ivermektinu (součet složek H₂B_{1a} a H₂B_{1b}) v procentech.

Uchovávání

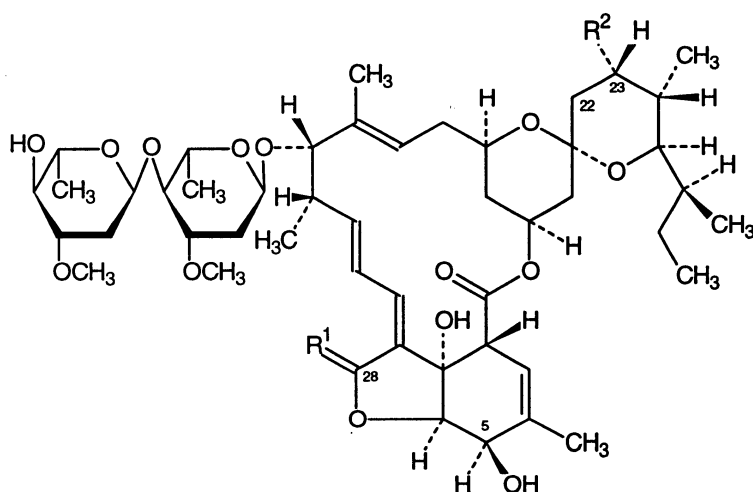
Ve vzduchotěsných obalech.
Separandum.

Nečistoty



A. R = CH₂-CH₃: 5-O-demethylavermektin A_{1a} (avermektin B_{1a}),

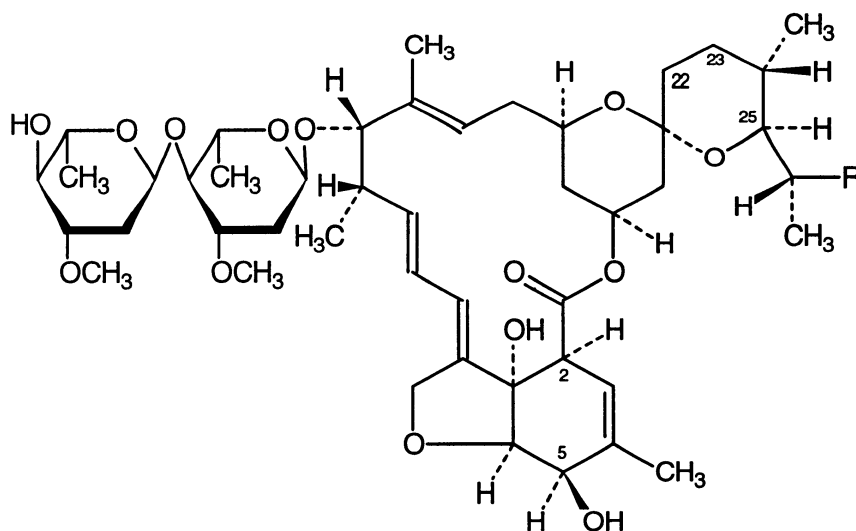
B. R = CH₃: 25-isopropyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)avermektin A_{1a} (avermektin B_{1b}),



C. R¹ = H₂, R² = OH: (23*S*)-23-hydroxy-5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektin A_{1a}
(avermektin B_{2a}),

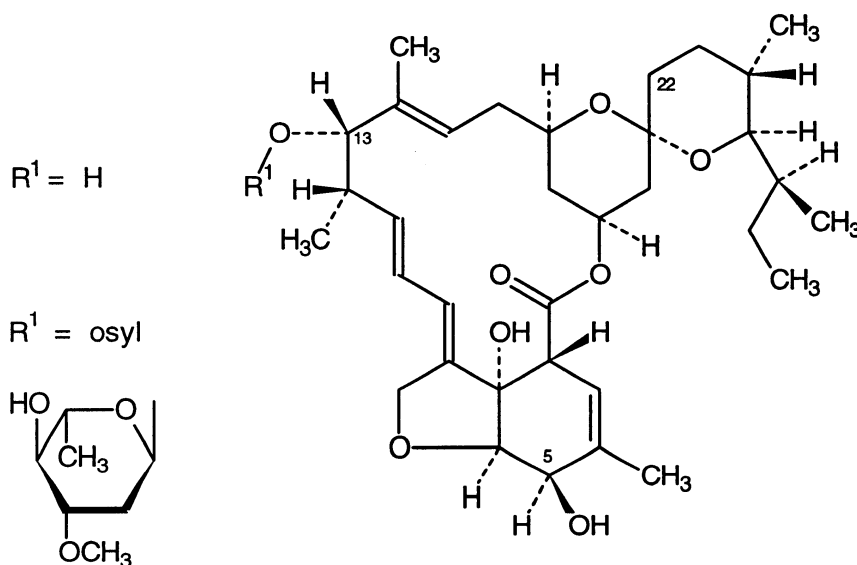
D. R¹ = O, R² = H: 28-oxo-5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektin A_{1a} (28-oxo H₂B_{1a}),

4336 † Ivermectinum



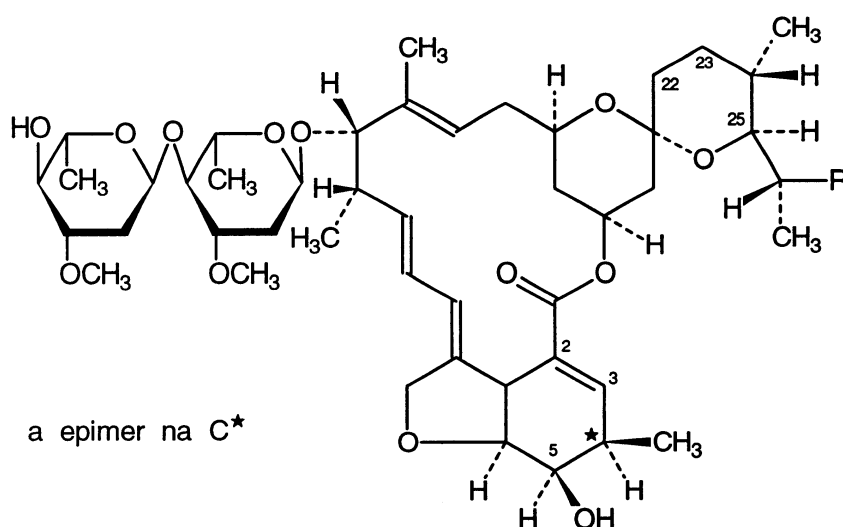
E. R = CH₂-CH₃: (2*S*)-5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektin A_{1a} (2-epimer H₂B_{1a}),

F. R = CH₃: (2*S*)-25-isopropyl-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-22,23-dihydroavermektin -A_{1a} (2-epimer H₂B_{1b}),

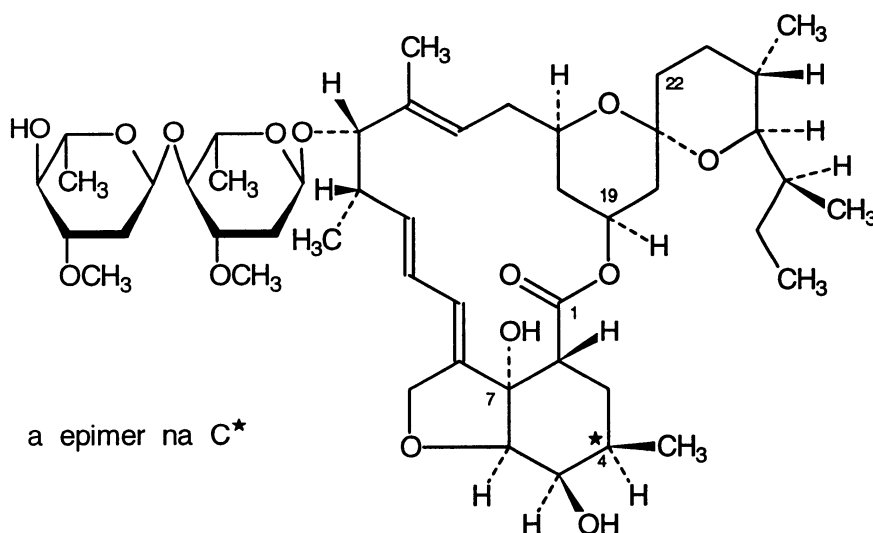


G. R¹ = H: aglykon 5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektinu A_{1a} (aglykon H₂B_{1a}),

H. R¹ = osyl: 4'-O-de(2,6-dideoxy-3-O- α -L-arabino-hexopyranosyl)-5-O-demethyl-22,23-dihydroavermektin A_{1a},



- I. R = CH₂-CH₃: 2,3-didehydro-5-O-demethyl-3,4,22,23-tetrahydroavermektin A_{1a} ($\Delta^{2,3}$ H₂B_{1a}),
 J. R = CH₃: 25-isopropyl-2,7,-didehydro-5-O-demethyl-25-de(1-methylpropyl)-3,4,22,23-
 -tetrahydroavermektin A_{1a} ($\Delta^{2,3}$ H₂B_{1b}),



- K. (4R)- a (4S)-5-O-demethyl-3,4,22,23-tetrahydroavermektin A_{1a} (H₄B_{1a} izomery).

4338 *Jecoris aselli oleum (typus A)*

Jecoris aselli oleum (typus A)



1999

Rybí olej (typ A)

Je to čištěný olej získaný z čerstvých jater druhu *Gadus morhua* L. a z jiných druhů čeledi *Gadidae*, pevné látky jsou odstraněny ochlazením a filtrací. Obsahuje 600 m.j. (180 µg) až 2500 m.j. (750 µg) vitaminu A a 60 m.j. (1,5 µg) až 250 m.j. (6,25 µg) vitaminu D₃ v gramu.

Oprávněná autorita může povolit přísadu přípustných antioxidantů v předepsaném množství.

Vlastnosti

Čirá nažloutlá viskózní tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a C.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A. Zkouška Vitamin A, metoda A, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Zkoušený roztok (2.2.25) vykazuje maximum při (325 ± 2) nm.
Zkouška Vitamin A, metoda B, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je pík odpovídající píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- B. Zkouška Vitamin D₃, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) je pík odpovídající píku cholecalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D. K 0,1 g se přidá 0,5 ml *chloroformu R* a 1 ml *chloridu antimonitého RS* a protřepe se; do asi 10 s vznikne tmavě modré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Barva. Zkoušená látka není zbarvena intenzivněji (2.2.2, *Metoda II*) než porovnávací roztok připravený takto: ke 3,0 ml základního červeného roztoku se přidá 25,0 ml základního žlutého roztoku a zředí se roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (10 g/l) na 50,0 ml.

Relativní hustota (2.2.5). 0,917 až 0,930.

Index lomu (2.2.6). 1,477 až 1,484.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Číslo anisidinové. Nejvýše 30,0.

Anisidinové číslo je definováno jako stonásobek absorbance roztoku obsahujícího 1 g zkoušené látky ve 100 ml směsi rozpouštědel a zkoumadel při tloušťce vrstvy 10 mm, viz níže uvedený postup.

Zkouška se provádí co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem.

Zkoušený roztok (a). 0,500 g se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Jecoris aselli oleum (typus A) 4339

Zkoušený roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se smíchá s 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*; roztok se protřepe a nechá se stát chráněn před světlem.

Porovnávací roztok. 5,0 ml *trimethylpentanu R* se smíchá s 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*; roztok se protřepe a nechá se stát chráněn před světlem.

Měří se absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku (a) při 350 nm za použití *trimethylpentanu R* jako kontrolní tekutiny. Přesně 10 min po přípravě se měří absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku (b) při 350 nm za použití porovnávacího roztoku jako kontrolní tekutiny.

Anisidinové číslo se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{25 \cdot (1,2A_s - A_b)}{m},$$

v němž značí:

A_s - absorbanci zkoušeného roztoku (b) při 350 nm,

A_b - absorbanci zkoušeného roztoku (a) při 350 nm,

m - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v gramech.

Číslo jodové (2.5.4). 150 až 180.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Stearin. 10 ml se nechá stát 3 h ve vodě s ledem; olej zůstane čirý.

Podíl mastných kyselin

Název mastné kyseliny	Označení mastné kyseliny	Rozmezí plochy píku (%)
<i>Nasyčené mastné kyseliny</i>		
Kyselina myristová	14 : 0	2,0 až 6,0
Kyselina palmitová	16 : 0	7,0 až 14,0
Kyselina stearová	18 : 0	1,0 až 4,0
<i>Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou</i>		
Kyselina palmitolejová	16 : 1 n-7	4,5 až 11,5
Kyselina <i>cis</i> -vakcenová	18 : 1 n-7	2,0 až 7,0
Kyselina olejová	18 : 1 n-9	12,0 až 21,0
Kyselina gadolejová	20 : 1 n-11	1,0 až 5,5
Kyselina gondoová	20 : 1 n-9	5,0 až 17,0
Kyselina eruková	22 : 1 n-9	0 až 1,5
Kyselina cetolejová (22 : 1 n-11)	22 : 1 n-11 + 13	5,0 až 12,0
<i>Nenasycené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami</i>		
Kyselina linolová	18 : 2 n-6	0,5 až 3,0
Kyselina α -linolenová	18 : 3 n-3	0 až 2,0
Kyselina moroktová	18 : 4 n-3	0,5 až 4,5
Kyselina timnodonová (eikosapentaenová) (EPA)	20 : 5 n-3	7,0 až 16,0
Kyselina cervonová (dokosahexaenová) (DHA)	22 : 6 n-3	6,0 až 18,0

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

4340 *Jecoris aselli oleum (typus A)*

Zkoušený roztok. Asi 0,45 g se převede do 10ml odměrné baňky, rozpustí se v *hexanu R*, který obsahuje 50 mg *butylhydroxytoluenu R* v 1 litru a zředí se stejným rozpouštědlem na 10,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se převedou do křemenné zkumavky a rozpouštědlo se opatrně odpaří v proudě *usíku R*. Přidá se 1,5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (20 g/l) v *methanolu R*, převrství se *usíkem R*, zkumavka se těsně uzavře zátkou s polytetrafluoroethylenovým těsněním, obsah zkumavky se promíchá a zahřívá se 7 min ve vodní lázni. Po ochlazení se smíchá se 2 ml roztoku *chloridu boritého* v *methanolu RS*, roztok se převrství *usíkem R*, zkumavka se těsně uzavře, promíchá se a zahřívá se 30 min ve vodní lázni. Pak se ochladí na 40 °C až 50 °C, přidá se 1 ml *trimethylpentanu R*, zkumavka se uzavře a obsah se intenzivně protřepává nejméně 30 s. Pak se okamžitě přidá 5 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, roztok se převrství *usíkem R*, zkumavka se uzavře a protřepává se důkladně nejméně 15 s. Po oddělení vrstev se horní čirá vrstva převede do jiné zkumavky. Methanolvá vrstva se protřepe ještě jednou 1 ml *trimethylpentanu R* a trimethylpentanové extrakty se spojí. Spojené extrakty se protřepou dvakrát 1 ml *vody R* a pak se vysuší *síranem sodným bezvodým R*. Připraví se vždy dva roztoky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky nejméně 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm se stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R* (tloušťka vrstvy 0,25 μm),
- *vodíku pro chromatografii R* nebo *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu za použití zařízením pro odstranění kyslíku,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem 1 : 200,
- vhodného integrátoru.

Teplota kolony je 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 1 °C/min až na 225 °C, při níž se udržuje 20 min; teplota vstřikovacího prostoru je 250 °C a teplota detektoru je 280 °C.

Nastříkne se dvakrát 1 μl zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- patnáct nalezených mastných kyselin se shoduje s mastnými kyselinami na vzorovém chromatogramu, viz obrázek č. 1,
- po nástřiku směsi stejných množství *methylpalmitatu R*, *methylstearatu R*, *methylarachidatu R* a *methylbehenatu R* jsou plochy píků těchto látek v procentech: 24,4, 24,8, 25,2 a 25,6,
- rozlišení mezi píky methyloleatu a methyl-*cis*-vakcenatu je nejméně 1,3 a dvojice píků odpovídajících methylgadolatu a methylgondoatu je dostatečně rozdělená, aby bylo možné výše uvedené látky identifikovat a změřit plochy píků.

Plocha píku v procentech pro každý methylester mastné kyseliny se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{A_x}{A_t} \cdot 100,$$

v němž značí:

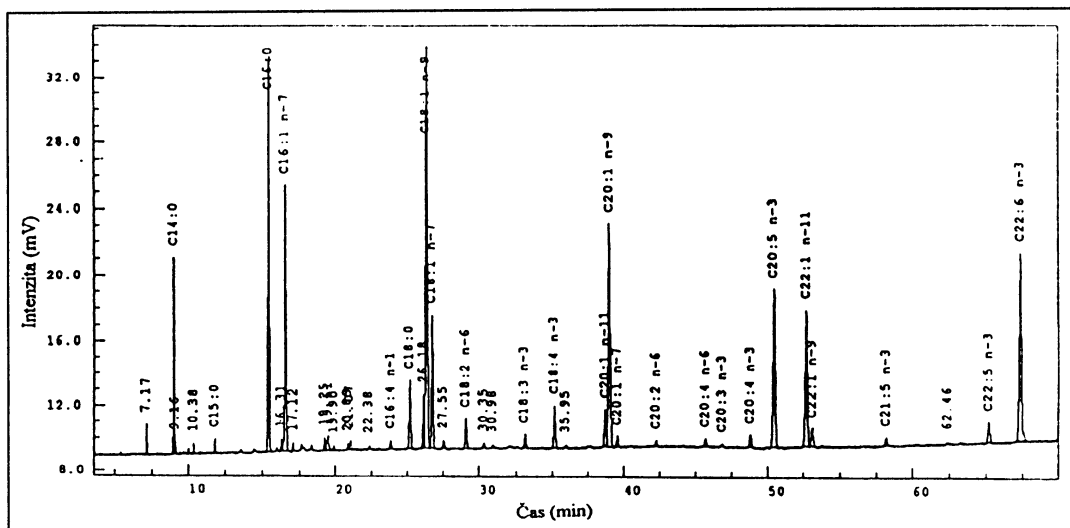
A_x - plochu píku mastné kyseliny x ,

A_t - součet ploch všech píků.

Výpočet lze hodnotit, jestliže:

- součet ploch všech píků zahrnuje pouze píky jednotlivých methylesterů mastných kyselin,
- počet píků methylesterů mastných kyselin, jejichž plocha je větší než 0,05 % součtu ploch, činí nejméně dvacet čtyři,
- dvacet čtyři největších píků methylesterů mastných kyselin tvoří více než 90 % součtu ploch, (v elučním pořadí: 14 : 0, 15 : 0, 16 : 0, 16 : 1 n-7, 16 : 4 n-1, 18 : 0, 18 : 1 n-9, 18 : 1 n-7, 18 : 2 n-6, 18 : 3 n-3, 18 : 4 n-3, 20 : 1 n-11, 20 : 1 n-9, 20 : 1 n-7, 20 : 2 n-6, 20 : 4 n-6, 20 : 3 n-3, 20 : 4 n-3, 20 : 5 n-3, 22 : 1 n-11, 22 : 1 n-9, 21 : 5 n-3, 22 : 5 n-3 a 22 : 6 n-3).

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram pro zkoušku Podíl mastných kyselin

Stanovení obsahu

Zkouška se provede co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (např. mědi a železem) a kyselinami.

Vitamin A. Provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25) (Metoda A). Jestliže výsledky Metody A nelze hodnotit, provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) (Metoda B).

Metoda A

Zkoušený roztok. 1,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchá se 3 ml čerstvě připraveného roztoku hydroxidu draselného R 50% a 30 ml ethanolu R. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem v proudě dusíku R. Pak se rychle ochladí, přidá se 30 ml vody R a protřepe se čtyřikrát 50 ml etheru R, po posledním protřepání se dokonale oddělená spodní vrstva odstraní. Spojené horní vrstvy se protřepou čtyřikrát 50 ml vody R a odpaří se opatrně proudem dusíku R do sucha při teplotě nepřevyšující 30 °C nebo v rotační vakuové odparce za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v dostatečném množství 2-propanolu R1, tak aby koncentrace vitamínu A byla 10 m.j. až 15 m.j. v 1 mililitru roztoku.

Měří se absorbance roztoku při 300 nm, 310 nm, 325 nm a 334 nm a při vlnové délce maximální absorpce vhodným spektrofotometrem ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití 2-propanolu R1 jako kontrolní tekutiny.

Obsah vitamínu A, počítáno jako all-*trans*-retinol, v mezinárodních jednotkách v 1 gramu zkoušené látky se vypočítá ze vztahu:

$$A_{325} \cdot \frac{1830}{100m} \cdot V,$$

v němž značí:

A_{325} - absorbanci při 325 nm,

m - navážku zkoušené látky v gramech,

4342 *Jecoris aselli oleum (typus A)*

V - celkový objem roztoku obsahujícího 10 m.j. až 15 m.j. vitamínu A v 1 mililitru,
 1830 - přepočítávací faktor pro specifickou absorpční hodnotu all-*trans*-retinolu v mezinárodních jednotkách.

Uvedený vzorec lze použít pouze v případě, že hodnota A_{325} není větší než hodnota $A_{325,corr}/0,970$, kde $A_{325,corr}$ je upravená absorpční hodnota při 325 nm daná vztahem:

$$A_{325,corr} = 6,815 A_{325} - 2,555 A_{310} - 4,260 A_{334},$$

Dolní index písmene A značí odpovídající vlnovou délku.

Je-li hodnota A_{325} větší než hodnota $A_{325,corr}/0,970$, vypočítá se obsah vitamínu A ze vztahu:

$$A_{325,corr} \cdot \frac{1830}{100m} \cdot V \cdot$$

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- absorpčního maxima je dosaženo při 323 nm až 327 nm,
- poměr absorpční hodnoty při 300 nm k absorpční hodnotě při 325 nm je nejvýše 0,73.

Metoda B

Zkoušený roztok. 2,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchají s 5 ml čerstvě připraveného roztoku kyseliny askorbové R (100 g/l), 10 ml čerstvě připraveného roztoku hydroxidu draselného R (800 g/l) a 100 ml ethanolu R. Vaří se 15 min pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se přidá 100 ml roztoku chloridu sodného R (10 g/l) a ochladí se. Roztok se převede do 500ml dělicí nálevky spolu s asi 75 ml roztoku chloridu sodného R (10 g/l) a pak 150 ml směsi stejných objemových dílů etheru petrolejového R3 a etheru R, kterými byla promyta baňka. Protřepává se 1 min. Po dokonalém oddělení se postupně odstraní spodní vrstva a horní vrstva se protřepe nejprve 50 ml roztoku hydroxidu draselného R (30 g/l) v roztoku ethanolu R 10% (V/V) a pak třikrát 50 ml roztoku chloridu sodného R (10 g/l). Horní vrstva se zfiltruje přes 5 g síranu sodného bezvodého R do 250ml baňky vhodné pro odpařování za sníženého tlaku (rotační vakuová odparka). Nálevka se promyje 10 ml čerstvě připravené extrakční směsi. Promývací tekutina a horní vrstvy se spojí a odpaří se za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C, zbytek po odpaření se převrství dusíkem R. Rozpouštědla se mohou odpařit i v proudu dusíku R při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v 2-propanolu R, převede se do odměrné baňky a zředí se 2-propanolem R na 25 ml, je-li třeba opatrně se zahřeje v ultrazvukové lázni (velký podíl bílého zbytku tvoří cholesterol, který představuje přibližně 50 % nezmýdelnitelných látek rybího oleje).
Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok retinylacetátu CRL v 2-propanolu R1 tak, aby 1 ml obsahoval asi 1000 m.j. all-*trans*-retinolu.

Přesná koncentrace porovnávacího roztoku (a) se určí absorpční spektrofotometrií v ultrafialové oblasti (2.2.25). Porovnávací roztok (a) se zředí 2-propanolem R1 tak, aby koncentrace vitamínu A byla 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru a změří se absorpční hodnoty při 326 nm ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití 2-propanolu R1 jako kontrolní tekutiny.

Obsah vitamínu A v porovnávacím roztoku (a) v mezinárodních jednotkách v mililitru se vypočítá s přihlédnutím k udanému obsahu retinylacetátu CRL ze vztahu:

$$A_{326} \cdot \frac{1900 \cdot V_2}{100 \cdot V_1},$$

v němž značí:

- A_{326} - absorpční při 326 nm,
 V_2 - objem zředěného roztoku,
 V_1 - použitý objem porovnávacího roztoku (a),
 1900 - přepočítávací faktor pro specifickou absorpční *retinylacetatu CRL* v mezinárodních jednotkách.

Porovnávací roztok (b). Připraví se způsobem uvedeným v odstavci Zkoušený roztok. Místo zkoušené látky se použijí 2,00 ml porovnávacího roztoku (a).

Přesná koncentrace porovnávacího roztoku (b) se určí absorpční spektrofotometrií v ultrafialové oblasti (2.2.25). Porovnávací roztok (b) se zředí 2-propanolem *RI* tak, aby koncentrace all-*trans*-retinolu v roztoku byla 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru a změří se absorpce při 325 nm ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití 2-propanolu *RI* jako kontrolní tekutiny.

Obsah all-*trans*-retinolu v porovnávacím roztoku (b) v mezinárodních jednotkách v mililitru se vypočítá ze vztahu:

$$A_{325} \cdot \frac{1830 \cdot V_4}{100 \cdot V_3},$$

v němž značí:

- A_{325} - absorpční při 325 nm,
 V_3 - objem zředěného roztoku,
 V_4 - použitý objem porovnávacího roztoku (b),
 1830 - přepočítávací faktor pro specifickou absorpční all-*trans*-retinolu v mezinárodních jednotkách.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m až 10 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (3 + 97), při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 325 nm,
- injektorové smyčky (10 μ l),
- elektronického integrátoru.

Nastříkne se třikrát zkoušený roztok a porovnávací roztok (b). Retenční čas all-*trans*-retinolu je (5 \pm 1) min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu zkoušeného roztoku je pík odpovídající all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- při použití metody standardního přídávku ke zkoušenému roztoku je návratnost *retinylacetatu CRL* nejméně 95 %,
- návratnost all-*trans*-retinolu v porovnávacím roztoku (b) určená přímou absorpční spektrofotometrií je větší než 95 %.

Obsah vitamínu A se vypočítá ze vztahu:

$$A_1 \cdot \frac{C \cdot V}{A_2} \cdot \frac{1}{m},$$

v němž značí:

- A_1 - plochu píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
 A_2 - plochu píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),

4344 *Jecoris aselli oleum (typus A)*

C - koncentraci *retinylacetatu CRL* v porovnávacím roztoku (a) před zmýdelněním, v mezinárodních jednotkách v mililitru (= 1000 m.j. v mililitru),

V - použitý objem porovnávacího roztoku (a) (2,00 ml),

m - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v gramech (2,00 g).

Vitamin D₃. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkouška se provádí co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.

Roztok vnitřního standardu. 0,50 mg *ergokalciferolu CRL* se rozpustí ve 100 ml *ethanolu R*.

Zkoušený roztok (a). 4,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchají s 5 ml čerstvě připraveného roztoku *kyseliny askorbové R* (100 g/l), 10 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (800 g/l) a 100 ml *ethanolu R*. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se přidá 100 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a ochladí se na pokojovou teplotu. Roztok se převede do 500ml dělicí nálevky spolu s asi 75 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a pak 150 ml směsi stejných objemových dílů *etheru petrolejového R3* a *etheru R*, kterými byla promyta baňka, a 1 min se protřepává. Po dokonalém oddělení se spodní vrstva odstraní, horní vrstva se protřepe nejprve 50 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (30 g/l) v roztoku *ethanolu R* 10% (V/V) a pak třikrát 50 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l). Horní vrstva se zfiltruje přes 5 g *síranu sodného bezvodého R* do 250ml baňky vhodné pro odpařování za sníženého tlaku (vakuová odparka). Nálevka se promyje 10 ml čerstvě připravené extrakční směsi, promývací tekutina a horní vrstvy se spojí a odpaří se za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C; zbytek po odpaření se převrství *dusíkem R*. Rozpouštědla se mohou opatrně odpařit i v proudu *dusíku R* při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v 1,5 ml mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *isoamylalkoholu R* v *hexanu R* (1,6 + 98,4), je-li třeba opatrně se zahřeje v ultrazvukové lázni (velký podíl bílého zbytku tvoří cholesterol, který představuje asi 50 % nezmýdelnitelných látek rybího oleje).

Zkoušený roztok (b). 4,00 g se smíchají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a dále se postupuje způsobem uvedeným v odstavci *Zkoušený roztok (a)*.

Porovnávací roztok (a). 0,50 mg *cholecalciferolu CRL* se rozpustí ve 100,0 ml *ethanolu R*.

Porovnávací roztok (b). V baňce s kulatým dnem se smíchají 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a dále se postupuje způsobem uvedeným v odstavci *Zkoušený roztok (a)*.

Čištění

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem kyansilanizovaným pro chromatografii R* (10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *isoamylalkoholu R* a *hexanu R* (1,6 + 98,4), při průtokové rychlosti 1,1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm.

Nastříkne se 350 μl porovnávacího roztoku (b). Eluát se jímá 2 min před a 2 min po retenčním času odpovídajícím *cholecalciferolu* do zkumavky se zábrusem, která obsahuje 1 ml roztoku *butylhydroxytoluenu R* (1 g/l) v *hexanu R*. Postup se opakuje se zkoušeným roztokem (a) a zkoušeným roztokem (b). Eluáty získané z porovnávacího roztoku (b), zkoušeného roztoku (a) a zkoušeného roztoku (b) se odděleně odpaří do sucha v mírném proudu *dusíku R* při teplotě nepřevyšující 30 °C. Každý zbytek se rozpustí odděleně v 1,5 ml *acetonitrilu R*.

Stanovení

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

Jecoris aselli oleum (typus A) 4345

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
 - mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R* a roztoku *acetonitrilu R* 96% (V/V) (0,2 + 99,8), při průtokové rychlosti 1 ml/min,
 - spektrofotometrického detektoru, 265 nm.
- Nastříkne se dvakrát nejvýše 200 μl každého ze tří roztoků uvedených v odstavci Čištění.
- Zkoušku lze hodnotit, jestliže:
- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky ergokalciferolu a cholekalciferolu nejméně 1,4,
 - při použití metody standardního přídatku ke zkoušenému roztoku (a) je návratnost *cholekalciferolu CRL* nejméně 95 %, vztaženo na vnitřní standard.
- Obsah vitamínu D₃ v mezinárodních jednotkách v gramu zkoušené látky, s přihlédnutím k udanému obsahu *cholekalciferolu CRL*, se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{A_2}{A_6} \cdot \frac{A_3}{A_4 - \left[\frac{A_5}{A_1} \right] \cdot A_2} \cdot \frac{m_2}{m_1} \cdot \frac{V_2}{V_1} \cdot 40,$$

v němž značí:

- m_1 - navážku zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (b) v gramech,
- m_2 - celkovou hmotnost *cholekalciferolu CRL* použitého k přípravě porovnávacího roztoku (a) v mikrogramech (500 μg),
- A_1 - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),
- A_2 - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),
- A_3 - plochu (nebo výšku) píku ergokalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- A_4 - plochu (nebo výšku) píku ergokalciferolu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),
- A_5 - plochu (nebo výšku) případného píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), jehož retenční čas odpovídá ergokalciferolu a který se eluuje současně s ergokalciferolem zkoušeného roztoku (b),
- A_6 - plochu (nebo výšku) píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- V_1 - celkový objem porovnávacího roztoku (a) (100 ml),
- V_2 - objem porovnávacího roztoku (a) použitý k přípravě porovnávacího roztoku (b) (2,0 ml).

Uchovávání

Pod inertním plynem ve vzduchotěsných, zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

Po otevření obalu se olej spotřebovuje co nejrychleji; nespoteřovaný olej by měl být uchováván pod inertním plynem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- název a množství přidaného antioxidantu, byl-li přidán,
- počet mezinárodních jednotek vitamínu A,
- počet mezinárodních jednotek vitamínu D₃.

4346 *Jecoris aselli oleum (typus B)*

Jecoris aselli oleum (typus B)

Rybí olej (typ B)

Synonymum. Oleum jecoris aselli

Je to čištěný olej získaný z čerstvých jater druhu *Gadus morhua* L. a z jiných druhů čeledi *Gadidae*, pevné látky jsou odstraněny ochlazením a filtrací. Obsahuje 600 m.j. (180 µg) až 2500 m.j. (750 µg) vitamínu A a 60 m.j. (1,5 µg) až 250 m.j. (6,25 µg) vitamínu D₃ v gramu.

Oprávněná autorita může povolit přísadu přípustných antioxidantů v předepsaném množství.

Vlastnosti

Čirá nažloutlá viskózní tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a C.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Vitamin A, metoda A, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Zkoušený roztok vykazuje maximum (2.2.25) při (325 ± 2) nm.
Zkouška Vitamin A, metoda B, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je pík odpovídající píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- B. Zkouška Vitamin D₃, viz Stanovení obsahu, je zároveň zkouškou totožnosti. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) je pík odpovídající píku cholekalciferolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D. K 0,1 g se přidá 0,5 ml *chloroformu R* a 1 ml *chloridu antimonitého RS* a protřepe se; do asi 10 s vznikne tmavě modré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Barva. Zkoušená látka není zbarvena intenzivněji (2.2.2., *Metoda II*) než porovnávací roztok připravený takto: ke 3,0 ml základního červeného roztoku se přidá 25,0 ml základního žlutého roztoku a zředí se roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (10 g/l) na 50,0 ml.

Relativní hustota (2.2.5). 0,917 až 0,930.

Index lomu (2.2.6). 1,477 až 1,484.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). 150 až 180.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Stearin. 10 ml se nechá stát 3 h ve vodě s ledem; olej zůstane čirý.

Podíl mastných kyselin

Název mastné kyseliny	Označení mastné kyseliny	Rozmezí plochy píku (%)
<i>Nasycené mastné kyseliny</i>		
Kyselina myristová	14 : 0	2,0 až 6,0
Kyselina palmitová	16 : 0	7,0 až 14,0
Kyselina stearová	18 : 0	1,0 až 4,0
<i>Nenasycené mastné kyseliny s jednou dvojnou vazbou</i>		
Kyselina palmitolejová	16 : 1 n-7	4,5 až 11,5
Kyselina cis-vakcenová	18 : 1 n-7	2,0 až 7,0
Kyselina olejová	18 : 1 n-9	12,0 až 21,0
Kyselina gadolejová	20 : 1 n-11	1,0 až 5,5
Kyselina gondoová	20 : 1 n-9	5,0 až 17,0
Kyselina eruková	22 : 1 n-9	0 až 1,5
Kyselina cetolejová (22 : 1 n-11)	22 : 1 n-11 + 13	5,0 až 12,0
<i>Nenasycené mastné kyseliny s více dvojnými vazbami</i>		
Kyselina linolová	18 : 2 n-6	0,5 až 3,0
Kyselina α -linolenová	18 : 3 n-3	0 až 2,0
Kyselina moroktová	18 : 4 n-3	0,5 až 4,5
Kyselina timnodonová (eikosapentaenová) (EPA)	20 : 5 n-3	7,0 až 16,0
Kyselina cervonová (dokosahexaenová) (DHA)	22 : 6 n-3	6,0 až 18,0

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Asi 0,45 g se převede do 10ml odměrné baňky, rozpustí se v *hexanu R*, který obsahuje 50 mg *butylhydroxytoluenu R* v 1 litru a zředí se stejným rozpouštědlem na 10,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se převedou do křemenné zkumavky a rozpouštědlo se opatrně odpaří v proudu *dusíku R*. Přidá se 1,5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (20 g/l) v *methanolu R*, převrství se *dusíkem R*, zkumavka se těsně uzavře zátkou s polytetrafluoroethylenovým těsněním, obsah zkumavky se promíchá a zahřívá se 7 min ve vodní lázni. Po ochlazení se smíchá se 2 ml roztoku *chloridu boritého v methanolu RS*, roztok se převrství *dusíkem R*, zkumavka se těsně uzavře, promíchá se a zahřívá se 30 min ve vodní lázni. Pak se ochladí na 40 °C až 50 °C, přidá se 1 ml *trimethylpentanu R*, zkumavka se uzavře a obsah se intenzivně protřepává nejméně 30 s. Pak se okamžitě přidá 5 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, roztok se převrství *dusíkem R*, zkumavka se uzavře a protřepává se důkladně nejméně 15 s. Po oddělení vrstev se horní čirá vrstva převede do jiné zkumavky. Methanolová vrstva se protřepe ještě jednou 1 ml *trimethylpentanu R* a trimethylpentanové extrakty se spojí. Spojené extrakty se protřepou dvakrát 1 ml *vody R* a pak se vysuší *síranem sodným bezvodým R*. Připraví se vždy dva roztoky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky nejméně 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm se stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R* (tloušťka vrstvy 0,25 μ m),
- *vodíku pro chromatografii R* nebo *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu za použití zařízení pro odstranění kyslíku,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem 1:200,

4348 *Jecoris aselli oleum (typus B)*

- vhodného integrátoru.

Teplota kolony je 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 1 °C/min až na 225 °C, při níž se udržuje 20 min; teplota vstřikovacího prostoru je 250 °C a teplota detektoru je 280 °C.

Nastříkne se dvakrát 1 µl zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- patnáct nalezených mastných kyselin se shoduje s mastnými kyselinami na *vzorovém chromatogramu viz obrázek č. 1*,
- po nástřiku směsi stejných množství *methylpalmitatu R, methylstearatu R, methylarachidatu R a methylbehenatu R* jsou plochy píků těchto látek v procentech: 24,4, 24,8, 25,2 a 25,6,
- rozlišení mezi píky methyloleatu a methyl-*cis*-vakcenatu je nejméně 1,3 a dvojice píků odpovídajících methylgadleatu a methylgongoatu je dostatečně rozdělená, aby bylo možné výše uvedené látky identifikovat a změřit plochy píků.

Plocha píku v procentech pro každý methylester mastné kyseliny se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{A_x}{A_t} \cdot 100,$$

v němž značí:

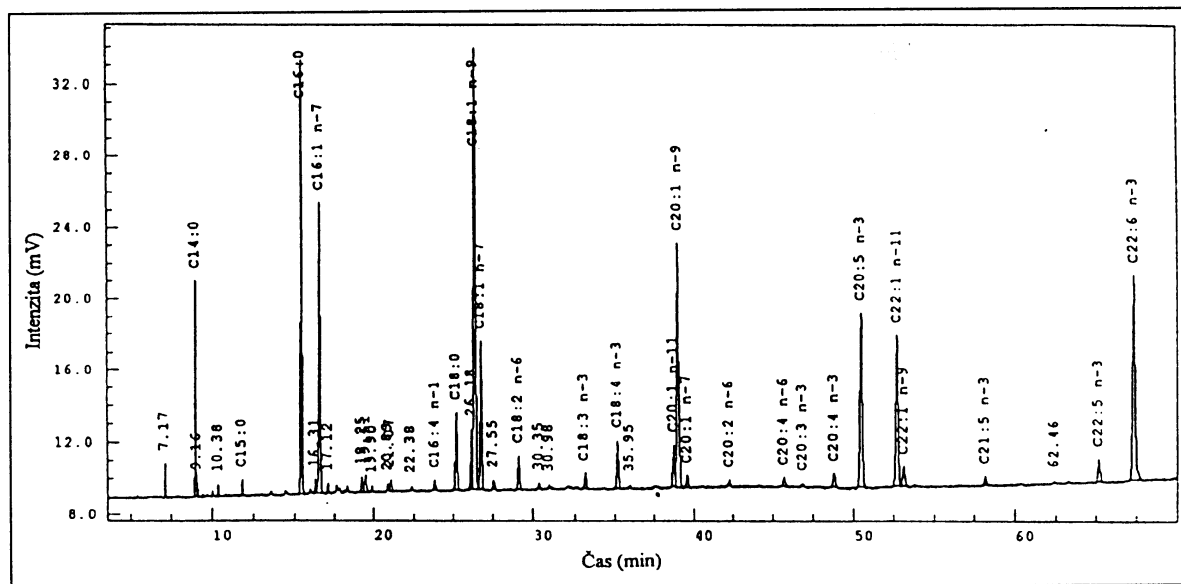
A_x - plochu píku mastné kyseliny x ,

A_t - součet ploch všech píků.

Výpočet lze hodnotit, jestliže:

- součet ploch všech píků zahrnuje pouze píky jednotlivých methylesterů mastných kyselin,
- počet píků methylesterů mastných kyselin, jejichž plocha je větší než 0,05 % součtu ploch, činí nejméně dvacet čtyři,
- dvacet čtyři největších píků methylesterů mastných kyselin tvoří více než 90 % součtu ploch, v elučním pořadí: 14:0, 15:0, 16:0, 16:1 n-7, 16:4 n-1, 18:0, 18:1 n-9, 18:1 n-7, 18:2 n-6, 18:3 n-3, 18:4 n-3, 20:1 n-11, 20:1 n-9, 20:1 n-7, 20:2 n-6, 20:4 n-6, 20:3 n-3, 20:4 n-3, 20:5 n-3, 22:1 n-11, 22:1 n-9, 21:5 n-3, 22:5 n-3 a 22:6 n-3).

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram ke zkoušce Podíl mastných kyselin

Stanovení obsahu

Zkouška se provede co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (např. mědí a železem) a kyselinami.

Vitamin A. Provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25) (Metoda A). Jestliže výsledky Metody A nelze hodnotit, provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) (Metoda B).

Metoda A

Zkoušený roztok. 1,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchá se 3 ml čerstvě připraveného roztoku hydroxidu draselného *R* 50% a 30 ml *ethanolu R*. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem v proudu *dusíku R*. Pak se rychle ochladí, přidá se 30 ml *vody R* a protřepe se čtyřikrát 50 ml *etheru R*, po posledním protřepání se dokonale oddělená spodní vrstva odstraní. Spojené horní vrstvy se protřepou čtyřikrát 50 ml *vody R* a odpaří se opatrně proudem *dusíku R* do sucha při teplotě nepřevyšující 30 °C nebo v rotační vakuové odparce za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v dostatečném množství *2-propanolu R1*, tak aby koncentrace vitamínu A byla 10 m.j. až 15 m.j. v 1 mililitru roztoku.

Měří se absorbance roztoku při 300 nm, 310 nm, 325 nm a 334 nm a při vlnové délce maximální absorpce vhodným spektrofotometrem ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití *2-propanolu R1* jako kontrolní tekutiny.

Obsah vitamínu A, počítáno jako *all-trans-retinol*, v mezinárodních jednotkách v 1 gramu zkoušené látky se vypočítá ze vztahu:

$$A_{325} \cdot \frac{1830}{100m} \cdot V,$$

v němž značí:

A_{325} - absorbanci při 325 nm,

m - navážku zkoušené látky v gramech,

V - celkový objem roztoku obsahujícího 10 m.j. až 15 m.j. vitamínu A v 1 mililitru,

1830 - přepočítávací faktor pro specifickou absorbanci *all-trans-retinolu* v mezinárodních jednotkách.

Uvedený vzorec lze použít pouze v případě, že hodnota A_{325} není větší než hodnota $A_{325,corr}/0,970$, kde $A_{325,corr}$ je upravená absorbance při 325 nm daná vztahem:

$$A_{325,corr} = 6,815 A_{325} - 2,555 A_{310} - 4,260 A_{334},$$

Dolní index písmene A značí odpovídající vlnovou délku.

Je-li hodnota A_{325} větší než hodnota $A_{325,corr}/0,970$, vypočítá se obsah vitamínu A ze vztahu:

$$A_{325,corr} \cdot \frac{1830}{100m} \cdot V,$$

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- absorpčního maxima je dosaženo při 323 nm až 327 nm,
- poměr absorbance při 300 nm k absorbanci při 325 nm je nejvýše 0,73.

4350 *Jecoris aselli oleum (typus B)***Metoda B**

Zkoušený roztok. 2,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchají s 5 ml čerstvě připraveného roztoku *kyseliny askorbové R* (100 g/l), 10 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (800 g/l) a 100 ml *ethanolu R*. Vaří se 15 min pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se přidá 100 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a ochladí se. Roztok se převede do 500ml dělicí nálevky spolu s asi 75 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a pak 150 ml směsi stejných objemových dílů *etheru petrolejového R3* a *etheru R*, kterými byla promyta baňka. Protřepává se 1 min. Po dokonalém oddělení se postupně odstraní spodní vrstva a horní vrstva se protřepe nejprve 50 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (30 g/l) v roztoku *ethanolu R* 10% (V/V) a pak třikrát 50 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l). Horní vrstva se zfiltruje přes 5 g *síranu sodného bezvodého R* do 250ml baňky vhodné pro odpařování za sníženého tlaku (rotační vakuová odparka). Nálevka se promyje 10 ml čerstvě připravené extrakční směsi. Promývací tekutina a horní vrstvy se spojí a odpaří se za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C, zbytek po odpaření se převrství *dusíkem R*. Rozpouštědla se mohou odpařit i v proudu *dusíku R* při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v *2-propanolu R*, převede se do odměrné baňky a zředí se *2-propanolem R* na 25 ml, je-li třeba opatrně se zahřeje v ultrazvukové lázni (velký podíl bílého zbytku tvoří cholesterol, který představuje přibližně 50 % nezmýdelnitelných látek rybího oleje).

Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok *retinylacetatu CRL* v *2-propanolu R1* tak, aby 1 ml obsahoval asi 1000 m.j. all-*trans*-retinolu.

Přesná koncentrace porovnávacího roztoku (a) se určí absorpční spektrofotometrií v ultrafialové oblasti (2.2.25). Porovnávací roztok (a) se zředí *2-propanolem R1* tak, aby koncentrace vitamínu A byla 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru a změří se absorbance při 326 nm ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití *2-propanolu R1* jako kontrolní tekutiny.

Obsah vitamínu A v porovnávacím roztoku (a) v mezinárodních jednotkách v mililitru se vypočítá s přihlédnutím k udanému obsahu *retinylacetatu CRL* ze vztahu:

$$A_{326} \cdot \frac{1900 \cdot V_2}{100 \cdot V_1},$$

v němž značí:

A_{326} - absorbanci při 326 nm,

V_2 - objem zředěného roztoku,

V_1 - použitý objem porovnávacího roztoku (a),

1900 - přepočítávací faktor pro specifickou absorbanci *retinylacetatu CRL* v mezinárodních jednotkách.

Porovnávací roztok (b). Připraví se způsobem uvedeným v odstavci Zkoušený roztok. Místo zkoušené látky se použijí 2,00 ml porovnávacího roztoku (a).

Přesná koncentrace porovnávacího roztoku (b) se určí absorpční spektrofotometrií v ultrafialové oblasti (2.2.25). Porovnávací roztok (b) se zředí *2-propanolem R1* tak, aby koncentrace all-*trans*-retinolu v roztoku byla 10 m.j. až 15 m.j. v mililitru a změří se absorbance při 325 nm ve zvlášť upravených kyvetách při tloušťce vrstvy 10 mm za použití *2-propanolu R1* jako kontrolní tekutiny.

Obsah all-*trans*-retinolu v porovnávacím roztoku (b) v mezinárodních jednotkách v mililitru se vypočítá ze vztahu:

$$A_{325} \cdot \frac{1830 \cdot V_4}{100 \cdot V_3},$$

v němž značí:

- A_{325} - absorpční při 325 nm,
 V_3 - objem zředěného roztoku,
 V_4 - použitý objem porovnávacího roztoku (b),
 1830 - přepočítávací faktor pro specifickou absorpční all-*trans*-retinolu v mezinárodních jednotkách.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m až 10 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (3 + 97), při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 325 nm,
- injektorové smyčky (10 μ l),
- elektronického integrátoru.

Nastříkne se třikrát zkoušený roztok a porovnávací roztok (b). Retenční čas all-*trans*-retinolu je (5 \pm 1) min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu zkoušeného roztoku je pík odpovídající all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- při použití metody standardního přídatku ke zkoušenému roztoku je návratnost *retinylacetatu CRL* nejméně 95 %,
- návratnost all-*trans*-retinolu v porovnávacím roztoku (b) určená přímou absorpční spektrofotometrií je větší než 95 %.

Obsah vitamínu A se vypočítá ze vztahu:

$$A_1 \cdot \frac{C \cdot V}{A_2} \cdot \frac{1}{m},$$

v němž značí:

- A_1 - plochu píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- A_2 - plochu píku all-*trans*-retinolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- C - koncentraci *retinylacetatu CRL* v porovnávacím roztoku (a) před zmýdelněním, v mezinárodních jednotkách v mililitru (=1000 m.j.v mililitru),
- V - použitý objem porovnávacího roztoku (a) (2,00 ml),
- M - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v gramech (2,00 g).

Vitamin D₃. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkouška se provádí co nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem a vzduchem.

Roztok vnitřního standardu. 0,50 mg *ergokalciferolu CRL* se rozpustí ve 100 ml *ethanolu R*.

Zkoušený roztok (a). 4,00 g se v baňce s kulatým dnem smíchají s 5 ml čerstvě připraveného roztoku *kyseliny askorbové R* (100 g/l), 10 ml čerstvě připraveného roztoku *hydroxidu draselného R* (800 g/l) a 100 ml *ethanolu R*. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem na vodní lázni, pak se přidá 100 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a ochladí se na pokojovou teplotu. Roztok se převede do 500ml dělicí nálevky spolu s asi 75 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a pak 150 ml směsi stejných objemových dílů *etheru petrolejového R3* a *etheru R*, kterými byla promyta baňka, a 1 min se protřepává. Po dokonalém oddělení se spodní vrstva odstraní, horní vrstva se protřepe nejprve 50 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (30 g/l) v roztoku *ethanolu R* 10% (V/V) a pak třikrát 50 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l). Horní vrstva se zfiltruje přes 5 g *síranu sodného bezvodného R* do 250ml baňky vhodné pro odpařování za sníženého tlaku (vakuová odparka). Nálevka se promyje 10 ml čerstvě připravené extrakční směsí, promývací

4352 *Jecoris aselli oleum (typus B)*

tekutina a horní vrstvy se spojí a odpaří se za sníženého tlaku při teplotě nepřevyšující 30 °C; zbytek po odpaření se převrství *dusíkem R*. Rozpouštědla se mohou opatrně odpařit i v proudě *dusíku R* při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se rozpustí v 1,5 ml mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *isoamylalkoholu R* v *hexanu R* (1,6 + 98,4), je-li třeba opatrně se zahřeje v ultrazvukové lázni (velký podíl bílého zbytku tvoří cholesterol, který představuje asi 50 % nezmýdelnitelných látek rybího oleje).

Zkoušený roztok (b). 4,00 g se smíchají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a dále se postupuje způsobem uvedeným v odstavci *Zkoušený roztok (a)*.

Porovnávací roztok (a). 0,50 mg *cholecalciferolu CRL* se rozpustí ve 100,0 ml *ethanolu R*.

Porovnávací roztok (b). V baňce s kulatým dnem se smíchají 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a dále se postupuje způsobem uvedeným v odstavci *Zkoušený roztok (a)*.

Čištění

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem kyan-silanizovaným pro chromatografii R* (10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *isoamylalkoholu R* a *hexanu R* (1,6 + 98,4), při průtokové rychlosti 1,1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm.

Nastříkne se 350 μl porovnávacího roztoku (b). Eluát se jímá 2 min před a 2 min po retenčním času odpovídajícím *cholecalciferolu* do zkumavky se zábrusem, která obsahuje 1 ml roztoku *butylhydroxytoluenu R* (1 g/l) v *hexanu R*. Postup se opakuje se zkoušeným roztokem (a) a zkoušeným roztokem (b). Eluáty získané z porovnávacího roztoku (b), zkoušeného roztoku (a) a zkoušeného roztoku (b) se odděleně odpaří do sucha v mírném proudě *dusíku R* při teplotě nepřevyšující 30 °C. Každý zbytek se rozpustí odděleně v 1,5 ml *acetonitrilu R*.

Stanovení

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R* a roztoku *acetonitrilu R* 96% (V/V) (0,2 + 99,8), při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm.

Nastříkne se dvakrát nejvýše 200 μl každého ze tří roztoků uvedených v odstavci *Čištění*.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky *ergocalciferolu* a *cholecalciferolu* nejméně 1,4,
- při použití metody standardního přídatku ke zkoušenému roztoku (a) je návratnost *cholecalciferolu CRL* nejméně 95 %, vztaženo na vnitřní standard.

Obsah vitamínu D₃ v mezinárodních jednotkách v gramu zkoušené látky, s přihlédnutím k udanému obsahu *cholecalciferolu CRL*, se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{A_2}{A_6} \cdot \frac{A_3}{A_4 - \left[\frac{A_5}{A_1} \right] \cdot A_2} \cdot \frac{m_2}{m_1} \cdot \frac{V_2}{V_1} \cdot 40,$$

v němž značí:

m_1 - navážku zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (b) v gramech,

- m_2 - celkovou hmotnost *cholecalciferolu CRL* použitého k přípravě porovnávacího roztoku (a) v mikrogramech (500 μg),
- A_1 - plochu (nebo výšku) píku *cholecalciferolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),
- A_2 - plochu (nebo výšku) píku *cholecalciferolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),
- A_3 - plochu (nebo výšku) píku *ergocalciferolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- A_4 - plochu (nebo výšku) píku *ergocalciferolu* na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),
- A_5 - plochu (nebo výšku) případného píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), jehož retenční čas odpovídá *ergocalciferolu* a který se eluuje současně s *ergocalciferolem* zkoušeného roztoku (b),
- A_6 - plochu (nebo výšku) píku *cholecalciferolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (b),
- V_1 - celkový objem porovnávacího roztoku (a) (100 ml),
- V_2 - objem porovnávacího roztoku (a) použitý k přípravě porovnávacího roztoku (b) (2,0 ml).

Uchovávání

Pod inertním plynem ve vzduchotěsných, zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

Po otevření obalu se olej spotřebuje co nejdříve; nespotřebovaný olej by měl být uchováván pod inertním plynem.

Označování

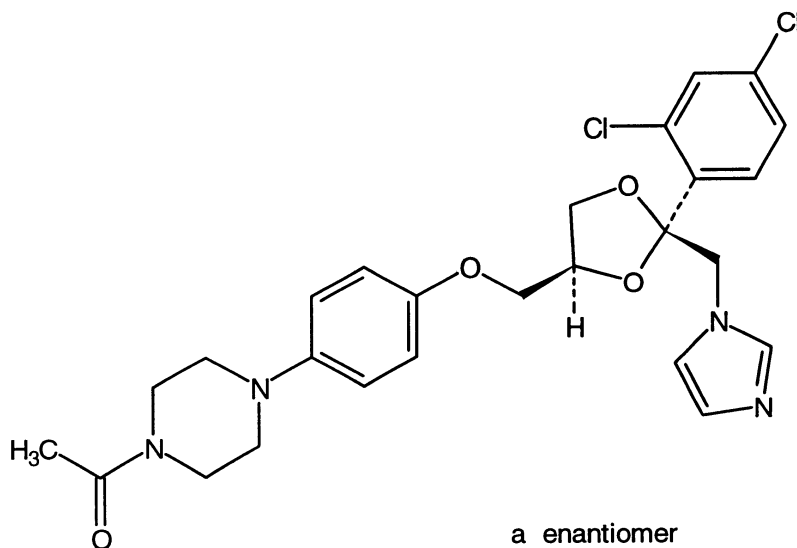
V označení na obalu se uvede:

- název a množství přidaného antioxidantu, byl-li přidán,
- počet mezinárodních jednotek vitamínu A,
- počet mezinárodních jednotek vitamínu D₃.

4354 † *Ketoconazolum*† **Ketoconazolum**

Ketokonazol

1998

 $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ M_r 531,44

CAS 65277-42-1

Je to 1-acetyl-4-{4-[[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1-imidazolylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]met-hoxy]fenyl}piperazin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormetanu, dobře rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 148 °C až 152 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *ketokonazolu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu.

Zkoušený roztok. 30 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg *ketokonazolu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 30 mg *ketokonazolu CRL* a 30 mg *ekonazoliumnitratu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *octanu amonného RS*, *dioxanu R* a *methanolu R* (20 + 40 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu teplého vzduchu a potom se vystaví působení par jodu do vzniku skvrn. Pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. K asi 30 mg se v porcelánovém kelímku přidá 0,3 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R*, zahřívá se 10 min nad plamenem a nechá se vychladnout. Zbytek se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*; roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₄ (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg *ketokonazolu CRL* a 2,5 mg *loperamidiumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (3,4 g/l) (0,5 + 9,5). Složení směsi se mění lineární gradientovou elucí během 10 min tak, aby konečné složení směsi bylo 5 objemových dílů *acetonitrilu R* a 5 objemových dílů roztoku *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (3,4 g/l); následuje eluce konečnou směsí po dobu 5 min. Průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 30 min promýváním *acetonitrilem R* a potom se nejméně 5 min ustaluje počáteční mobilní fází.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy ketokonazolu asi 6 min, loperamidiumchloridu asi 8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem ketokonazolu a píkem loperamidiumchloridu je nejméně 15. Je-li třeba, upraví se konečná koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo se upraví časový program lineární gradientové eluce.

Nastříkne se 10 μ l *methanolu R* jako kontrolní kapaliny, 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům získaným u kontrolní kapaliny a k píkům s plochou menší než je 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

4356 † *Ketoconazolum*

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

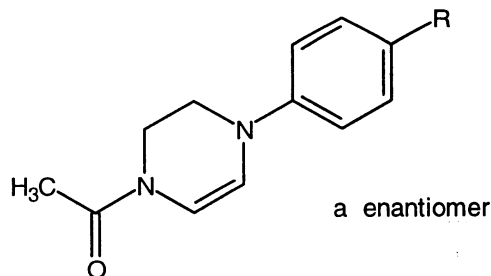
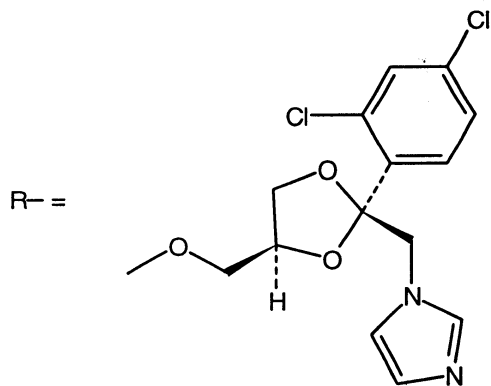
0,200 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a 2-butanonu R (1 + 7) a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 26,57 mg C₂₆H₂₈Cl₂N₄O₄.

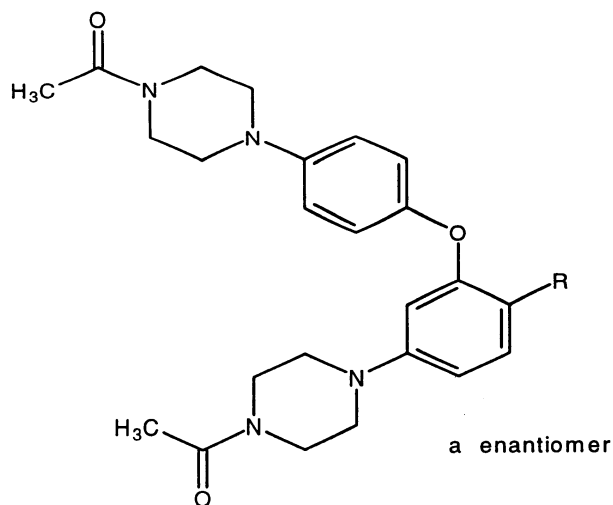
Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

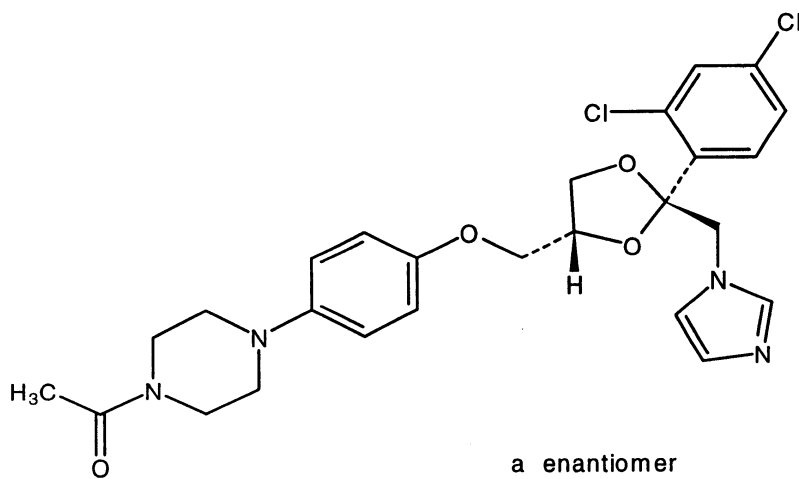
Separandum.

Nečistoty

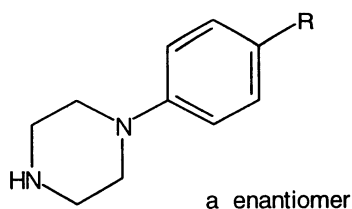
A. 1-acetyl-4-{4[[[(2RS,4SR)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1-imidazolylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]met-hoxy]fenyl]-1,2,3,4-tetrahydropyrazin,



B. 1-acetyl-4-{4-[[*(2RS,4SR)*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1-imidazolylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]-3-[4-(4-acetyl-1-piperazinyl)fenoxy]fenyl}piperazin,



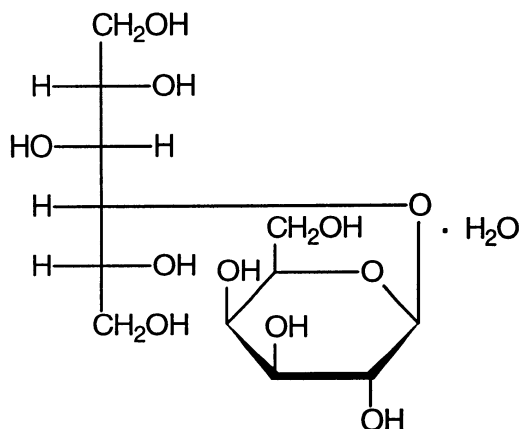
C. 1-acetyl-4-{4-[[*(2RS,4SR)*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1-imidazolylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl}piperazin,



D. 1-{4-[[*(2RS,4SR)*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-(1-imidazolylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl}piperazin.

4358 *Lactitolum monohydricum***Lactitolum monohydricum**¹⁾

Monohydrát laktitolu

 $C_{12}H_{24}O_{11} \cdot H_2O$ M_r 362,33

CAS 81025-04-9

Je to monohydrát 4-O-(β -D-galaktopyranosyl)-D-glucitolu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje nejméně 97,0 % sloučeniny $C_{12}H_{24}O_{11}$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz. *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *monohydrátu laktitolu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 50 mg *monohydrátu laktitolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve 2 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *methanolem R* na 20 ml.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 581 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (25 + 75) po dráze 8 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Potom se vrstva suší v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonitrilu. 15 min se zahřívá při 100 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l). Vrstva se znovu suší v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,000 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásadité reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,05 ml *fenolftaleinu RS*. Po přidání nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* se zbarvení indikátoru změní na růžové. K dalším 10 ml roztoku se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*. Po přidání nejvýše 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* se zbarvení indikátoru změní na červené.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +13,5° až +15,5°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Obsah příbuzných látek v procentech se vypočítá z plochy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku metodou vnitřní normalizace. Obsah laktitolu je nejvýše 1,5 % a součet dalších příbuzných látek je nejvýše 1,5 %.

Redukující cukry. 5,0 g se rozpustí mírným zahřátím ve 3 ml *vody R*, ochladí se a přidá se 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Směs se během 4 min uvede do varu a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V)* a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého protřepávání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (6 + 94). Po rozpuštění sraženiny se nadbytek jodu titruje *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,2 %).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce Olovo v cukrech (0,5 µg/g).

Nikl (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce Nikl v polyolech (1 µg/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 4,5 % až 5,5 %; stanoví se s 0,30 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10³ mikroorganismů v gramu. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli*, *Salmonella* a *Pseudomonas aeruginosa*.

Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *monohdrátu laktitolu CRL* a 10 mg *glycerolu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50,0 ml.

4360 *Lactitolum monohydricum*

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma) R*,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,6 ml/min,
- refraktometrického detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 60 °C.

Nastříkne se 100 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (lactitol) a druhým píkem (glycerol) je nejméně 5.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času laktitolu. Retenční čas laktitolu je asi 13 min a relativní retenční časy jsou: laktosa asi 0,7, laktulitol asi 0,8, glycerol asi 1,3, mannitol asi 1,5, dulcitol (galaktitol) asi 1,8 a sorbitol asi 1,9.

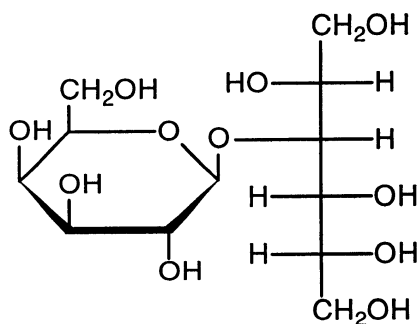
Obsah $C_{12}H_{24}O_{11}$ v procentech se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku metodou vnitřní normalizace. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Nečistoty

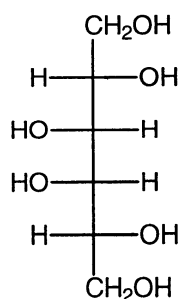
A. laktosa,



B. laktulitol,

C. mannitol,

Lactulosum 4361



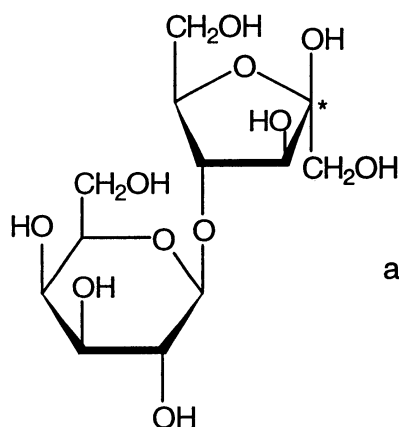
D. dulcitol (galaktitol),
E. sorbitol.

Lactulosum

Laktulosa



1998



a epimer na C*

 $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ M_r 342,30

CAS 4618-18-2

Je to 4-O- β -D-galaktopyranosyl-D-fruktofuranosa. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v methanolu a prakticky nerozpustná v toluenu.

Taje při asi 168 °C.

4362 *Lactulosum***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: B, C, D a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 50,0 mg *laktulose CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, roztoku *kyseliny borité R* (50 g/l), *methanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 15 + 20 + 55) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min při 100 °C až 105 °C a nechá se vychladnout. Potom se postříká roztokem *1,3-dihydroxynaftalenu R* (1,0 g/l) ve směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *methanolu R* (10 + 90) a zahřívá se 5 min při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavním píkem na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

C. 0,05 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Přidají se 3 ml *vinanu měďnatého RS* a zahřeje se; vznikne červená sraženina.

D. 0,125 g se rozpustí v 5 ml *vody R*. Přidá se 5 ml *amoniaku 17,5% RS*. Zahřívá se 10 min na vodní lázni při 80 °C; vzniká červené zbarvení.

E. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 3,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *HŽ₅* (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,0 až 7,0; měří se roztok připravený smícháním 10 ml roztoku S a 0,1 ml nasyceného roztoku *chloridu draselného R*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-46,0^\circ$ až $-50,0^\circ$, počítáno na bezvodou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,25 g ve *vodě R*, přidáním 0,2 ml *amoniaku 26% R* a zředěním *vodou R* na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků odpovídajících hlavním píkům na chromatogramech porovnávacích roztoků (d,e,f,g,h) (*galaktosa*, *laktosa*, *epilaktosa*, *tagatosa* a *fruktosa*) není větší než plocha píku *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (3 %).

Methanol. Nejvýše 50 μ g/g. Stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28, *Metoda II*).

Roztok vnitřního standardu. 0,5 ml *1-propanolu R* se smíchá s 100,0 ml *vody R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. 5,0 ml se dále zředí *vodou R* na 50,0 ml.

Zkoušený roztok. K 79 mg v 20ml lahvičce se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a 5 μ l roztoku *methanolu R* 0,1% (V/V).

Porovnávací roztok. K 1,0 ml roztoku vnitřního standardu v 20ml lahvičce se přidá 5 μ l roztoku methanolu R 0,1% (V/V).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R (180 μ m),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 140 °C, teplota nástřikového prostoru na 200 °C a teplota detektoru na 220 °C. Každý roztok se udržuje 1 h při 60 °C, tlakuje se 1 min a na kolonu se nastříkuje 1 ml plynné fáze.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku poměr ploch píků methanolu a vnitřního standardu není větší než dvojnásobek tohoto poměru na chromatogramu porovnávacího roztoku (50 μ g/g, za použití hustoty methanolu při 20 °C, která je 0,79 g/cm³).

Bor. Pokud je to možné, nepoužívá se skleněné laboratorní nádobí.

Porovnávací roztok. 50,0 mg kyseliny borité R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. Uchovává se v dobře uzavřené polyethylenové nádobě.

Do čtyř polyethylenových 25ml baněk se převede:

- 0,50 g zkoušené látky rozpuštěné ve 2,0 ml vody R (roztok A),
- 0,50 g zkoušené látky rozpuštěné v 1,0 ml porovnávacího roztoku a 1,0 ml vody R (roztok B),
- 1,0 ml porovnávacího roztoku a 1,0 ml vody R (roztok C),
- 2,0 ml vody R (roztok D).

Do každé baňky se přidají 4,0 ml tlumivého roztoku octan-edetanového o pH 5,5. Zamíchá se a přidají se 4,0 ml čerstvě připraveného azomethinu H RS. Zamíchá se a nechá 1 h stát. Měří se absorbance (2.2.25) roztoků A, B a C při 420 nm proti roztoku D jako kontrolnímu roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže absorbance roztoku C je nejméně 0,25. Absorbance roztoku B není menší než dvojnásobek absorbance roztoku A (9 μ g B/g).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 μ g/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 2,5 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10² živých aerobních mikroorganismů v gramu. Stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na *Escherichia coli* (2.6.13).

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí v 10 ml vody R. Za mírného zahřátí se přidá 12,5 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Ke 3 ml zkoušeného roztoku se za mírného zahřátí přidá 47,5 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,00 g laktulose CRL se rozpustí v 10 ml vody R. Za mírného zahřátí se přidá 12,5 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg laktulose CRL a 20 mg epilaktose CRL se rozpustí ve 2,0 ml vody R. Za mírného zahřátí se přidá 2,5 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 0,2 g galaktose R se rozpustí ve 20 ml vody R. Za mírného zahřátí se přidá 25,0 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 50,0 ml.

4364 *Lactulosum*

Porovnávací roztok (e). 0,2 g *laktosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*. Za mírného zahřátí se přidá 25,0 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (f). 20 mg *epilaktosy CRL* se rozpustí ve 2 ml *vody R*. Za mírného zahřátí se přidá 2,5 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (g). 0,2 g *tagatosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*. Za mírného zahřátí se přidá 25,0 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (h). 0,2 g *fruktosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*. Za mírného zahřátí se přidá 25,0 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 5 cm a vnitřního průměru 4,6 mm a následné nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm, které jsou obě naplněné *silikagelem amino-propylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm) a udržované při teplotě (38 ± 1) °C,
- mobilní fáze, která je směsí připravenou rozpuštěním 0,253 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* v 220 ml *vody R* a přidáním 780 ml *acetonitrilu R*, průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas *laktosy* asi 18,3 min a relativní retenční časy vztažené na *laktulosu* jsou pro *tagatosu* asi 0,38, pro *fruktosu* asi 0,42, pro *galaktosu* asi 0,57, pro *epilaktosu* asi 0,90 a pro *laktosu* asi 1,17.

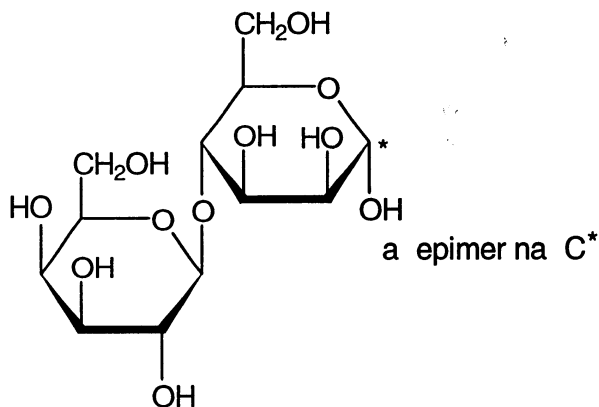
Nastříkne se 20 μl *porovnávacího roztoku (c)*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *laktosy* a *epilaktosy* je nejméně 1,3. Je-li třeba, upraví se koncentrace *acetonitrilu* v mobilní fázi na 75 % (V/V) až 82 % (V/V), aby bylo dosaženo požadovaného rozlišení.

Nastříkne se odděleně 20 μl *zkoušeného roztoku* a 20 μl *porovnávacího roztoku (b)* a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času *laktosy*. Vypočítá se obsah C₁₂H₂₂O₁₁ (*laktosy*) v procentech z ploch píků a z deklarovaného obsahu *laktosy CRL*.

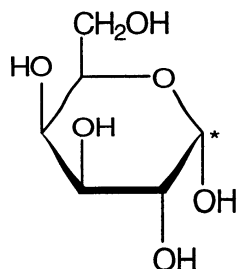
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Nečistoty

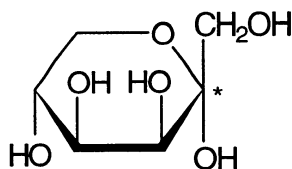


A. *epilaktosa*,



a epimer na C*

- B. galaktosa,
- C. laktosa,
- D. fruktosa,



a epimer na C*

- E. tagatosa.

Lactulosi solutio

Roztok laktulosity

Synonymum. Lactulosum liquidum



1999

Je to vodný roztok laktulosity (4-O-β-D-galaktopyranosyl-D-fruktofuranosy), běžně připravované alkalickou izomerizací laktosy. Může obsahovat menší množství jiných cukrů, včetně laktosy, epilaktosy, galaktosy, tagatosy a fruktosy. Obsahuje nejméně 620 g/l laktulosity (C₁₂H₂₂O₁₁; M_r 342,30) a 95,0 % až 105,0 % deklarovaného obsahu laktulosity. Může obsahovat vhodnou protimikrobní přísadu.

Vlastnosti

Čirá viskózní bezbarvá nebo slabě hnědavě žlutá kapalina, mísitelná s vodou. Může se vyskytovat ve formě přesyceného roztoku nebo může obsahovat krystalky, které se zahřátím rozpustí.

10% roztok (V/V) je levotočivý.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

4366 *Lactulosi solutio*

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 0,50 g se zředí vodou *R* na 50 ml.

Porovnávací roztok. 60 mg *laktulose CRL* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, roztoku *kyseliny borité R* (50 g/l), *methanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 15 + 20 + 55) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min při 100 °C až 105 °C, nechá se ochladit, postříká se roztokem *1,3-dihydroxynaftalenu R* (1,0 g/l) ve směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *methanolu R* (10 + 90) a zahřívá se 5 min při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se shoduje polohou, barvou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku je přibližně stejný s retenčním časem hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. K 0,1 g se přidá 10 ml *vody R* a 3 ml *vínanu měďnatého RS* a zahřeje se; vzniká červená sraženina.

D. K 0,25 g se přidá 5 ml *vody R* a 5 ml *amoniaku 17,5 % RS* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při 80 °C; vzniká červené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10 g se smíchá s *vodou prostou oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *HŽ₅* (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,0 až 7,0; měří se 10 ml roztoku *S*, k němuž bylo přidáno 0,1 ml nasyceného roztoku *chloridu draselného R*.

Příbuzné látky. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku:

- plocha žádného píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (galaktosa) není větší než trojnásobek plochy píku odpovídajícího *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (15 %),
- plocha žádného píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (*laktosa*) není větší než dvojnásobek plochy píku odpovídajícího *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (10 %),
- plocha žádného píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (*epilaktosa*) není větší než dvojnásobek plochy píku odpovídajícího *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (10 %),
- plocha žádného píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (g) (*tagatosa*) není větší než 0,8násobek plochy píku odpovídajícího *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4 %),
- plocha žádného píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (h) (*fruktosa*) není větší než 0,2násobek plochy píku odpovídajícího *laktulose* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %).

Methanol. Stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28, *Metoda II*).

Roztok vnitřního standardu. 0,5 ml 1-propanolu R se smíchá se 100,0 ml vody R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 50,0 ml.

Zkoušený roztok. K 0,13 g ve 20ml lahvičce se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a 5 µl roztoku methanolu R 0,1% (V/V).

Porovnávací roztok. K 1,0 ml roztoku vnitřního standardu ve 20ml lahvičce se přidá 5 µl roztoku methanolu R 0,1% (V/V).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R (180 µm),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 140 °C, teplota nástřikového prostoru na 200 °C a teplota detektoru na 220 °C. Každý roztok se zahřívá 1 h na 60 °C, 1 min se udržuje pod tlakem a na kolonu se převede 1 ml plynné fáze.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku poměr plochy píku odpovídajícího methanolu k ploše píku odpovídajícího vnitřnímu standardu není větší, než je dvojnásobek tohoto poměru na chromatogramu porovnávacího roztoku (50 µg/g, počítáno s hustotou methanolu při 20 °C, která je 0,79 g/cm³).

Siřičitaný. 5,0 g se smíchá se 40 ml vody R, přidají se 2,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové RS, 2,0 ml fuchsínu RS1, 2,0 ml roztoku formaldehydu R 0,5% (V/V) a 30 min se nechá stát.

Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 583 nm proti kontrolnímu roztoku připravenému současně stejným způsobem za použití 10,0 ml vody R místo roztoku zkoušené látky. Absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 10,0 ml základního roztoku siřičitanů (1,5 µg SO₂/ml) (30 µg/g).

Bor. Pokud je to možné, nepoužívá se skleněné laboratorní nádobí.

Porovnávací roztok. 56,0 mg kyseliny borité R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. Uchovává se v dobře uzavřené polyethylenové nádobě.

Do čtyř polyethylenových 25ml baněk se převede:

- 1,00 g zkoušené látky a 1 ml vody R (roztok A),
- 1,00 g zkoušené látky a 1 ml porovnávacího roztoku (roztok B),
- 1 ml porovnávacího roztoku a 1 ml vody R (roztok C),
- 2 ml vody R (roztok D).

Do každé baňky se přidají 4,0 ml tlumivého roztoku octan-edetanového o pH 5,5. Zamíchá se a přidají se 4,0 ml čerstvě připraveného azomethinu H RS. Zamíchá se a nechá se 1 h stát. Měří se absorbance (2.2.25) roztoků A, B a C při 420 nm proti roztoku D jako kontrolnímu roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže absorbance roztoku C je nejméně 0,25. Absorbance roztoku B není menší než dvojnásobek absorbance roztoku A (5 µg/g).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g, počítáno na deklarovaný obsah laktulosity).

Siřanový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; počítáno na deklarovaný obsah laktulosity. Stanoví se s 1,50 g zkoušené látky.

4368 *Lactulosi solutio*

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10^2 živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 4,00 g se smíchají s 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). K 5 ml zkoušeného roztoku se přidá 47,5 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,00 g *laktulosy CRL* se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg *laktulosy CRL* a 20 mg *epilaktosy CRL* se rozpustí ve 2,0 ml *vody R*. Přidá se 2,5 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 0,2 g *galaktosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 0,2 g *laktosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (f). 20 mg *epilaktosy CRL* se rozpustí ve 2 ml *vody R*, přidá se 2,5 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (g). 0,2 g *tagatosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (h). 0,2 g *fruktosy R* se rozpustí ve 20 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *acetonitrilu R* za mírného zahřátí a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 5 cm a vnitřního průměru 4,6 mm, následné nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm, obě naplněné *silikagelem aminopropylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μ m) a udržované při $(38 \pm 1) ^\circ\text{C}$,
- mobilní fáze, která je směsí připravenou rozpuštěním 0,253 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* v 220 ml *vody R* a přidáním 780 ml *acetonitrilu R*, průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas laktulosy asi 18 min a relativní retenční časy látek vztahované k laktulose jsou: asi 0,38 pro tagatosu, asi 0,42 pro fruktosu, asi 0,57 pro galaktosu, asi 0,90 pro epilaktosu a asi 1,17 pro laktosu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími laktulose a epilaktose je nejméně 1,3. Je-li třeba, upraví se koncentrace *acetonitrilu R* v mobilní fázi na 75,0 % (V/V) až 82,0 % (V/V), aby bylo dosaženo požadovaného rozlišení.

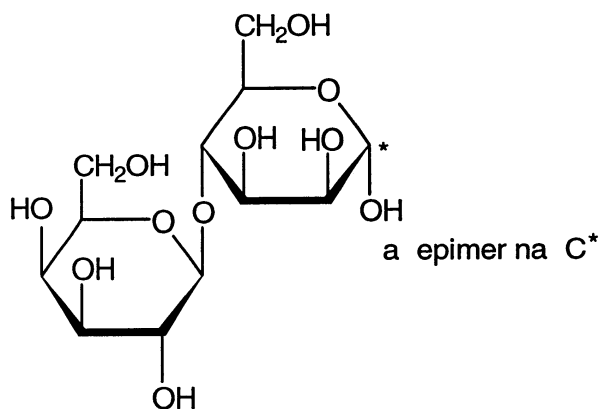
Nastříkne se odděleně po 20 μ l zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času laktulosy. Vypočítá se obsah $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ (laktulosy) v procentech z ploch píků a deklarovaného obsahu *laktulosy CRL*.

Označování

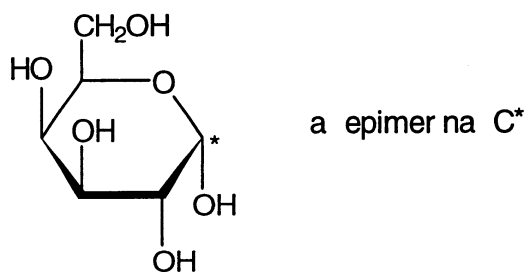
V označení na obalu se uvede:

- deklarovaný obsah laktulosy,
- název a koncentrace případně přidané protimikrobní přísady.

Nečistoty



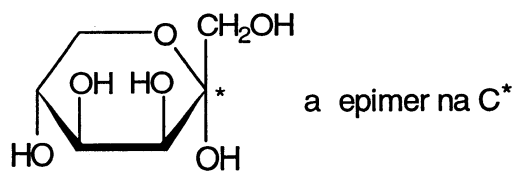
A. epilaktosa,



B. galaktosa,

C. laktosa,

D. fruktosa,



E. tagatosa.

4370 *Lavandulae etheroleum*

Lavandulae etheroleum

Levandulová silice

Synonymum. Oleum lavandulae

1999

Je to silice získaná z čerstvých kvetoucích vrcholů druhu *Lavandula angustifolia* MILLER (*Lavandula officinalis* CHAIX) destilací s vodní parou.

Vlastnosti

Bezbarvá nebo světle žlutá čirá kapalina, charakteristického pachu. Je mísitelná s lihem 90% (V/V), s etherem a s mastnými oleji.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 20 μ l se rozpustí v 1 ml *toluenu R*.

Porovnávací roztok. 10 μ l *linalolu R* a 10 μ l *linalylacetatu R* se rozpustí v 1 ml *toluenu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 μ l každého roztoku. Vyvíjí se dvakrát (po prvním vyvíjení se vrstva suší 5 min) směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině skvrna odpovídající linalolu, ve střední části skvrna odpovídající linalylacetatu; obě skvrny jsou fialově zbarveny. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Pod skvrnou odpovídající linalolu jsou další skvrny (obvykle dvě až pět); hnědozelené jsou zbarveny intenzivněji, pod nimi fialovočervené skvrny. Nad skvrnou odpovídající linalolu je fialovočervená skvrna (karyofylenepoxid), mezi těmito skvrnami může být slabě fialovohnědá skvrna (cineol).

B. Na chromatogramu zkoušeného roztoku ze zkoušky Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu, jsou retenční časy hlavních píků shodné s retenčními časy hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,878 až 0,892.

Index lomu (2.2.6). 1,455 až 1,466.

Optická otáčivost (2.2.7). $-12,5^\circ$ až -7° .

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 1,0; 5,0 g se rozpustí v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Cizí estery (2.8.6). Vyhovuje požadavkům zkoušky Cizí estery.

Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice (2.8.7). Vyhovuje požadavkům zkoušky Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice v silicích.

Podíl rozpustný ve vodě. 20 ml *chloridu sodného nasyceného RS* se v 50ml odměrném válci opatrně převrství 10 ml silice. Rozhraní obou vrstev se označí, směs se důkladně protřepe a pak se nechá stát. Objem silice zůstane nezměněn.

Chromatografický profil. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok. 0,1 g *limonenu R*, 0,2 g *cineolu R*, 0,2 g *3-oktanonu R*, 0,05 g *kafru R*, 0,4 g *linalolu R*, 0,6 g *linalylacetatu R*, 0,2 g *terpinen-4-olu R*, 0,1 g *lavandulylacetatu R*, 0,2 g *lavandulolu R* a 0,2 g *α-terpineolu R* se rozpustí v 1 ml *hexanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 60 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100.

Teplota kolony se udržuje po dobu 15 min na 70 °C, pak se zvyšuje rychlostí 2 °C/min až na 180 °C. Teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 220 °C.

Nastříkne se 0,2 μl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek se eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek. Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet teoretických pater je nejméně 30 000, počítáno pro pík *limonenu* při 110 °C, a rozlišení pík *limonenu* a *cineolu* je nejméně 1,5.

Nastříkne se 0,2 μl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů pík na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy pík na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky, které jsou přítomny ve zkoušeném roztoku (nepřihlíží se k píku odpovídajícímu *hexanu*).

Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví metodou vnitřní normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

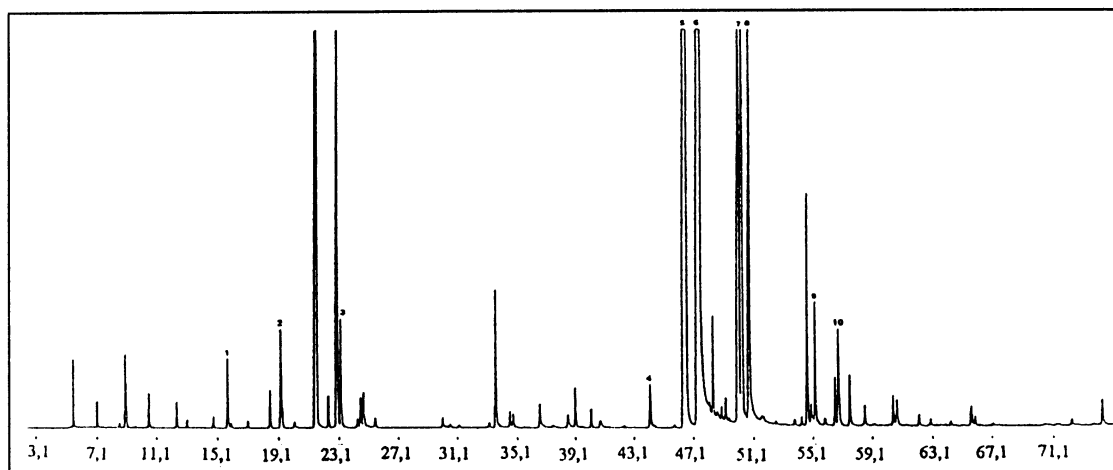
limonen	méně než 1,0 %
cineol	méně než 2,5 %
3-oktanon	méně než 2,5 %
kafr	méně než 1,2 %
linalol	20,0 % až 45,0 %
linalylacetat	25,0 % až 46,0 %
terpinen-4-ol	1,2 % až 6,0 %
lavandulylacetat	více než 1,0 %
lavandulol	více než 0,1 %
α-terpineol	méně než 2,0 %

Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.

4372 *Leucinum*

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část netvoří součást požadavků článku.

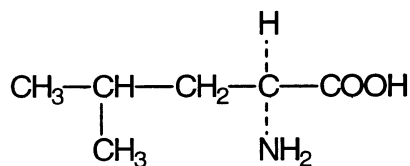


Obr. 1. Vzorový chromatogram levandulové silice

- | | |
|------------------|-------------------------|
| 1. limonen | 2. cineol |
| 3. 3-oktanon | 4. kafr |
| 5. linalol | 6. linalylacetat |
| 7. terpinen-4-ol | 8. lavandulylacetat |
| 9. lavandulol | 10. α -terpineol |

Leucinum¹⁾

Leucin



$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$

M_r 131,17

CAS 61-90-5

Je to kyselina (*S*)-2-amino-4-methylvalerová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 573 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Vlastnosti

Lesklé vločky nebo bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. 0,5 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml; roztok je levotočivý.
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety leucinu CRL.
- D. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +14,5° až +16,5°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,00 g v kyselině chlorovodíkové RS a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg leucinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg leucinu CRL a 10 mg valinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku, usuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

4374 Levocarnitinum

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a navlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia (100 µg NH₄/ml)*, 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g)*.

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru do změny hnědavě žlutého zbarvení na zelené.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,12 mg C₆H₁₃NO₂.

Uchovávání

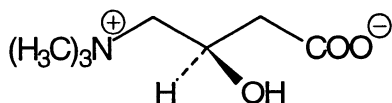
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Levocarnitinum

Levokarnitin



1999

C₇H₁₅NO₃M_r 161,20

CAS 541-15-1

Je to (3R)-3-hydroxy-4-(trimethylamonio)butanoat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_7H_{15}NO_3$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé hygroskopické krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucím lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety levokarnitinu CRL. Látky se předem suší 5 h ve vakuu při 50 °C.
- C. K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 9 ml vody R, 10 ml kyseliny sírové zředěné RS a 30 ml Reineckovy soli RS; vznikne růžová sraženina. Nechá se 30 min stát, zfiltruje se, promyje vodou R, lihem 96% R a acetonem R a suší se při 80 °C; sraženina taje (2.2.14) při 147 °C až 150 °C.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,00 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 8,5; měří se roztok připravený zředěním 10 ml roztoku S vodou prostou oxidu uhličitého R na 20 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-29,0^\circ$ až $-32,0^\circ$, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 12,5 mg levokarnitinu nečistoty A CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 mg levokarnitinu nečistoty A CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 0,100 g levokarnitinu CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (c) a zředí se jím na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné silikagelem aminopropylmethylsilanizovaným pro chromatografii R (10 μ m),

4376 *Levocarnitinum*

- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,81 g/l), jehož pH bylo upraveno *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 4,7, a *acetonitrilu R* (35 + 65), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy levokarnitinu asi 9,6 min a levokarnitinu nečistoty A asi 10,6 min. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 25 µl porovnávacího roztoku (d) a chromatogram se zaznamenává 15 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky levokarnitinu a levokarnitinu nečistoty A nejméně 0,9.

Nastříkne se 25 µl zkoušeného roztoku, 25 µl porovnávacího roztoku (a) a 25 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku levokarnitinu nečistoty A větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního a píku levokarnitinu nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %).

Chloridy (2.4.4). 2,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

Sírany (2.4.13). 5 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní *roztok olova* (1 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %, stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,125 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *kyseliny octové bezvodé R* (3 + 50), přidá se 0,2 ml *violeti krystalové RS* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* z fialového do zeleného zbarvení.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,12 mg C₇H₁₅NO₃.

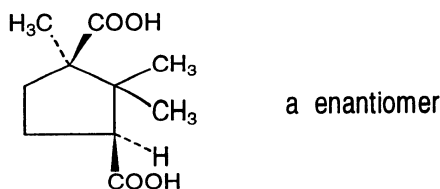
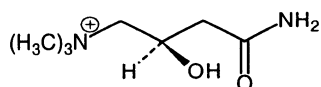
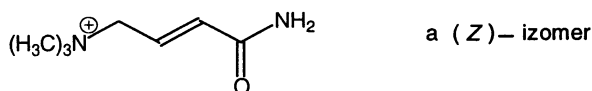
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Nečistoty

A. (E)- nebo (Z)-4-(trimethylammonio)-2-butenolat,

§† Lorazepamum 4377

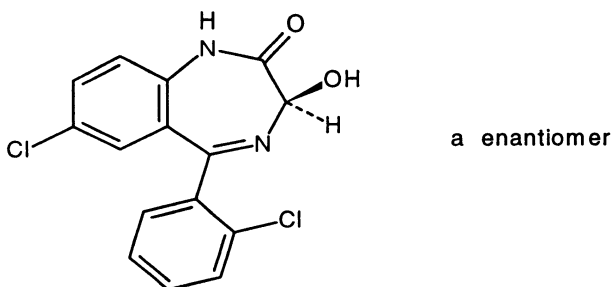
B. kyselina (1*RS*,3*SR*)-1,2,2-trimethylcyklopentan-1,3-dikarboxylová (kyselina kafrová),C. [(2*R*)-2-hydroxy-3-karbamoylpropyl]trimethylamonium (karnitinamid),D. (*E*)- nebo (*Z*)-(3-karbamoyl-2-propenyl)trimethylamonium.

§† Lorazepamum

Lorazepam



1999

C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₂*M*, 321,16

CAS 846-49-1

Je to (*RS*)-7-chlor-5-(2-chlorfenyl)-3-hydroxy-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 102,0 % sloučeniny C₁₅H₁₀Cl₂N₂O₂.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, mírně rozpustný nebo těžce rozpustný v dichlormethanu.

Vykazuje polymorfismus.

4378 §† Lorazepamum

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 10,0 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 100,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 210 nm až 280 nm. Roztok vykazuje absorpční maximum při 230 nm. Specifická absorbance v maximum je 1070 až 1170.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky měřené při 600 cm^{-1} až 2000 cm^{-1} se shoduje se spektrem tablety *lorazepamu CRL*. Tablety se připraví za použití *bromidu draselného R*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*. Deska s vrstvou se umístí do chromatografické komory a vyvíjí se *methanolem R* po dráze nejméně 17 cm, pak se usuší na vzduchu a zahřívá se 1 h při 100 °C až 105 °C.

Zkoušený roztok (a). 0,200 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 2 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *lorazepamu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 25 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *acetonem R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (d). 4 mg *nitrazepamu CRL* se rozpustí v *acetonu R*, přidá se 5 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 20 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 100) ve směru předchozího pohybu *methanolu R* po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a nejvýše jedna tato skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně ve vysokém vakuu při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

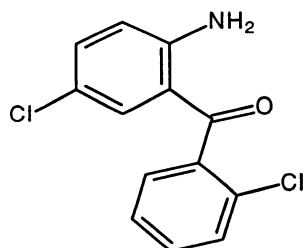
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 30 ml *dimethylformamidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Roztok se během titrace chrání před atmosférickým oxidem uhličitým.

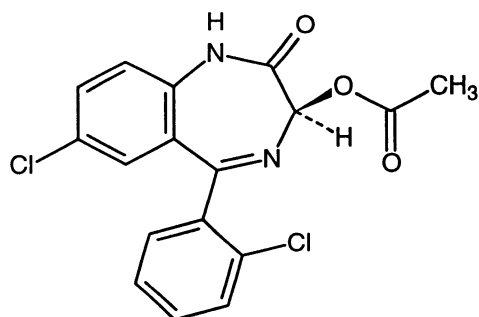
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidů 0,1 mol/l VS* odpovídá 32,12 mg $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_2$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.
Psychotropní látka. Separandum.

Nečistoty

A. 2-amino-2',5-dichlorobenzofenon,



a enantiomer

B. (*RS*)-3-acetoxy-7-chloro-5-(2-chlorofenyl)-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on.

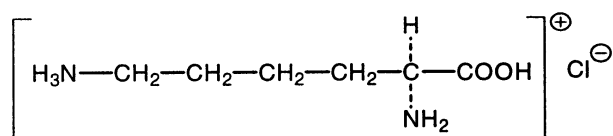
Lysini hydrochloridum¹⁾

Lysiniumchlorid

Synonymum. L-Lysinium chloratum



RR99



$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}_2$

M_r 182,65

CAS 657-27-2

¹⁾ Pharmeuropa 10,4,559 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4380 *Lysin hydrochloridum*

Je to (S)-5-karboxy-5-aminopentylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{15}ClN_2O_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *lysiniunchloridu CRL*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství *vody R*, odpaří se do sucha při 60 °C a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. K asi 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidají 2 ml *vody R* a 1 ml roztoku *kyseliny fosfomolybdenové R* (50 g/l); vznikne žlutobílá sraženina.
- E. K 0,1 ml roztoku S se přidají 2 ml *vody R*; roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H₇ nebo ZŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +21,0° až +22,5°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *lysiniunchloridu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *lysiniunchloridu CRL* a 10 mg *argininu CRL* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amonia-ku 26% R* a *2-propanolu R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se suší při 100 °C až do 105 °C do úplného odstranění amoniaku, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Sírany (2.4.13). 5 ml roztoku *S* se zředí vodou destilovanou *R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a navlhčí se několika kapkami vody *R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml vody *R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia (100 µg NH₄/ml)*, 0,5 ml vody *R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 0,33 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody *R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (30 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku *S* vyhovuje limitní zkoušce *A* na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,27 mg $C_6H_{15}ClN_2O_2$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4382 *Macrogoli stearas*

Macrogoli stearas

Makrogolstearat



1999

Je to směs monoesterů a diesterů převážně kyseliny stearové a makrogolů. Získává se částečnou ethoxylací kyseliny stearové nebo esterifikací makrogolů kyselinou stearovou. Může obsahovat volné makrogoly. Průměrná délka polymeru je ekvivalentní 6 až 100 oxyethylenovým jednotkám na molekulu (jmenovitá hodnota).

Výroba

Je-li makrogolstearat získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Bílá nebo slabě žlutá voskovitá hmota. Je dobře rozpustný v lihu 96% a v 2-propanolu. Produkt s 6 až 9 oxyethylenovými jednotkami v molekule je prakticky nerozpustný, ale snadno dispergovatelný ve vodě a mísitelný s mastnými oleji a s vosky. Produkt s 20 až 100 oxy-ethylenovými jednotkami v molekule je dobře rozpustný ve vodě a prakticky nerozpustný v mastných olejích a ve voscích.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu pro vysokoúčinnou tenkovrstvou chromatografii.

Zkoušený roztok. K 1 g se přidá 100 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (100 g/l) a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Teplý roztok se okyslí 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, rozpustí se v něm 10 g *chloridu sodného R* a nechá se vychladnout. Směs se protřepe 50 ml *etheru R* a nechá se stát do viditelného rozdělení vrstev. 20 ml vrchní zakalené vrstvy se převede do vhodné zkumavky a odstředí se 10 min. 10 ml čirého etherového roztoku se převede do vhodné baňky a odpaří se do sucha na vodní lázni. Zbytek se rozpustí ve 2,0 ml *etheru R*.

Porovnávací roztok. 30 mg *kyseliny palmitové R* a 30 mg *kyseliny stearové R* se rozpustí ve 2,0 ml *etheru R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *dichlormethanu R*, *kyseliny octové ledové R* a *acetonu R* (10 + 40 + 50) po dráze 8 cm. Vysuší se v proudu studeného vzduchu a pak se postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (200 g/l) v *lihu 96% R* a asi 10 min se zahřívá při 120 °C. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelné hlavní skvrny na zelenomodrém pozadí, odpovídající podle vzrůstajícího R_F kyselině stearové a kyselině palmitové. Na horním okraji skvrny odpovídající kyselině stearové může být viditelná obloukovitá modrá skvrna. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou

a barvou shodují se skvrnami na chromatogramu porovnávacího roztoku. Nepřihlíží se k žádným dalším skvrnám.

Zkoušky na čistotu

Kyselce nebo zásaditě reagující látky. 1,0 g se rozpustí v 10,0 ml roztoku *ethanolu R 90% (V/V)*. K 2,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*; roztok má oranžové zbarvení. K dalším 2,0 ml roztoku se přidá 0,05 ml *modři bromthymolové RS1*; roztok není zbarven modře.

Teplota tání (2.2.15). Sloupec práškové látky je minimálně 10 cm od konce kapiláry. Hodnoty teploty tání jsou uvedeny v tabulce 1.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A). Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 1.

Číslo jodové. (2.5.4). Nejvýše 2,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Hodnoty jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1.

Počet oxyethylenových jednotek v molekule (jmenovitá hodnota)	Teplota tání [°C]	Číslo hydroxylové	Číslo zmýdelnění
6	-	90 - 110	85 - 105
8 - 9	26 - 35	80 - 105	88 - 100
20	33 - 40	50 - 62	46 - 56
40 - 50	38 - 52	23 - 40	20 - 35
100	48 - 55	15 - 30	5 - 20

Redukující látky. 2,0 g se rozpustí nebo dispergují ve *vodě R* a zředí se jí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 9,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a s 0,5 ml *trifenylnitrazoliumchloridu RS* a zahřívá se ve vodní lázni při 70 °C. Po 5 min není roztok zbarven intenzivněji než směs obsahující 0,15 ml základního žlutého roztoku, 0,9 ml základního červeného roztoku a 8,95 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R (10 g/l) (2.2.2, Metoda II)*.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky za použití směsi stejných objemových dílů *dichlormethanu R* a *methanolu bezvodého R* jako rozpouštědla.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

4384 *Magnesii chloridum tetrahemihydricum*

Označování

V označení na obalu se uvede počet oxyethylenových jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota).

Magnesii chloridum tetrahemihydricum

Tetrahemihydrát chloridu hořečnatého

Synonymum. Magnesii chloridum 4,5-hydricum



1999

$MgCl_2 \cdot \sim 4,5H_2O$

M_r bezvodého 95,21

Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $MgCl_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý zrněný hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Voda, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- C. Vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5 ml roztoku S se přidá 0,05 ml červeně fenolové RS. Ke změně zbarvení roztoku se spotřebuje nejvýše 0,3 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

Bromidy. 2,0 ml roztoku S se zředí vodou R na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidají 4,0 ml vody R, 2,0 ml červeně fenolové RS3, 1,0 ml chloraminu T RS2 a ihned se zamíchá. Přesně po 2 min se přidá 0,30 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS, promíchá se a zředí se na 10,0 ml vodou R. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 590 nm za použití vody R jako kontrolní kapaliny není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku bromidu draselného R (3 mg/l) (500 µg/g).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

Hliník (2.4.17). Pokud je látka určena pro výrobu roztoků pro peritoneální dialýzu, hemodialyzačních roztoků nebo hemofiltračních roztoků, vyhovuje následující zkoušce na hliník.

4 g se rozpustí ve 100 ml *vody R* a přidá se 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (1 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 2 ml základního *roztoku hliníku (2 µg Al/ml)*, 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 98 ml *vody R*. Kontrolní roztok se připraví za použití směsi 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 100 ml *vody R*.

Arsen (2.4.2). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 µg/g).

Vápník (2.4.3). 1 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (0,1 %).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního *roztoku olova (1 µg Pb/ml)*.

Železo (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Draslík. Pokud je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků, obsahuje nejvýše 500 µg K/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,144 g *chloridu draselného R* sušeného 3 h při 100 °C až 105 °C se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml (600 µg K/ml). Zředí se podle potřeby.

Měří se emisní intenzita při 768 nm.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 44,0 % až 48,0 %; stanoví se s 50,0 mg zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *vody R*. Provede se chelatometrická titrace hořčíku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,521 mg MgCl₂.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka vhodná pro výrobu roztoků pro peritoneální dialýzu, hemodialyzačních roztoků nebo hemofiltračních roztoků,
- zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních přípravků.

4386 *Magnesii chloridum hexahydricum*

Magnesii chloridum hexahydricum

Hexahydrát chloridu hořečnatého

1999

*Synonyma.* Magnesium chloratum, Magnesii chloridumMgCl₂ · 6H₂OM_r 203,30

CAS 7791-18-6

Obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny MgCl₂ · 6H₂O.

Vlastnosti

Bezbarvé hygroskopické krystalky. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Voda, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- C. Vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5 ml roztoku S se přidá 0,05 ml červeně fenolové RS. Ke změně zbarvení roztoku se spotřebuje nejvýše 0,3 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

Bromidy. 2,0 ml roztoku S se zředí vodou R na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidají 4,0 ml vody R, 2,0 ml červeně fenolové RS3, 1,0 ml chloraminu T RS2 a ihned se zamíchá. Přesně po 2 min se přidá 0,30 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS promíchá se a zředí se na 10,0 ml vodou R. Absorbance (2.2.25) tohoto roztoku měřená při 590 nm za použití vody R jako kontrolní tekutiny není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku bromidu draselného R (3 mg/l) (500 µg/g).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

Hliník (2.4.17). Pokud je látka určena pro výrobu roztoků pro peritoneální dialýzu, hemodialyzačních roztoků nebo hemofiltračních roztoků, vyhovuje následující zkoušce na hliník.

4 g se rozpustí ve 100 ml vody R a přidá se 10 ml tlumivého roztoku octanového o pH 6,0. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (1 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 2 ml základního roztoku hliníku (2 µg Al/ml), 10 ml tlumivého roztoku octanového o pH 6,0 a 98 ml vody R. Kontrolní roztok se připraví za použití směsi 10 ml tlumivého roztoku octanového o pH 6,0 a 100 ml vody R.

Arsen (2.4.2). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 µg/g).

Vápník (2.4.3). 1 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (0,1 %).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Draslík. Pokud je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků, obsahuje nejvýše 500 µg K/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, Metoda I).

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,144 g chloridu draselného R sušeného 3 h při 100 °C až 105 °C se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml (600 µg K/ml). Zředí se podle potřeby.

Měří se emisní intenzita při 768 nm.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 51,0 % až 55,0 %; stanoví se s 50,0 mg zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 50 ml vody R. Proveďte se chelatometrická titrace hořčíku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 20,33 mg MgCl₂ · 6H₂O.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Označování

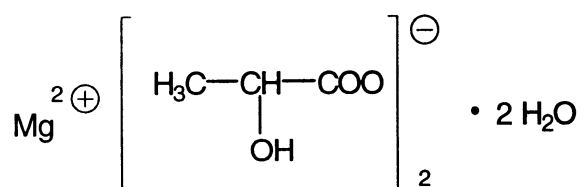
V označení na obalu se uvede:

- zda je látka vhodná pro výrobu roztoků pro peritoneální dialýzu, hemodialyzačních roztoků nebo hemofiltračních roztoků,
- zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních přípravků.

Magnesii lactas dihydricus

N

Dihydrát mléčnanu hořečnatého



C₆H₁₀O₆Mg · 2H₂O

M_r 238,48
M_r bezvodého 202,45

4388 *Magnesii lactas dihydricus*

Je to dihydrát hořečnaté soli kyseliny (S)-2-hydroxypropionové. Vysušen předepsaným způsobem, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_6H_{10}O_6Mg$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucí vodě, prakticky nerozpustný v ethanolu.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Ztráta sušením, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Vyhovuje zkoušce na mléčnany (2.3.1).
- C. Vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,000 g se rozpustí zahřátím ve vodě prosté oxidu uhličitého R a po ochlazení se jí zředí na 100,0 ml.

Roztok S1. 5,0 g se rozpustí zahřátím ve vodě destilované R a po ochlazení se jí zředí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 7,5 až 9,0; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -10° až -12° , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok S.

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S1 se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 $\mu g/g$).

Sírany (2.4.13). 7,5 ml roztoku S1 se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200 $\mu g/g$).

Vápník (2.4.3). 1 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (0,5 %).

Těžké kovy (2.4.8). 20 ml roztoku S1 se zředí vodou R na 24 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 $\mu g/g$). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základní roztoku olova (10 $\mu g Pb/ml$).

Železo (2.4.9). 2 ml roztoku S1 se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (50 $\mu g/g$).

Ztráta sušením (2.2.32). 12,0 % až 15,5 %; 0,500 g se suší v sušárně při 125 °C. Vysušená látka se použije ke Stanovení obsahu.

Stanovení obsahu

0,200 g vysušené látky se rozpustí zahřátím ve vodě R, zředí se jí po ochlazení na 200 ml a provede se chelatometrická titrace hořčíku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 20,25 mg $C_6H_{10}O_6Mg$.

† *Malathionum* 4389**Uchovávání**

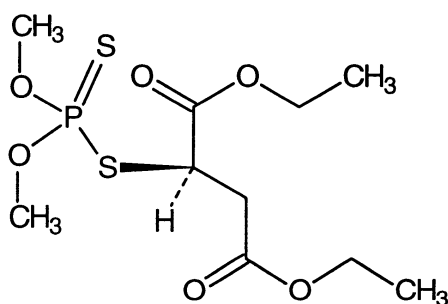
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† Malathionum

Malathion



1999



a enantiomer

 $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ M_r 330,36

CAS 121-75-5

Je to S-[(2RS)-1,2-bis(ethoxykarbonyl)ethyl]-O,O'-dimethyldithiofosfat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{10}H_{19}O_6PS_2$.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá kapalina. Je těžce rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a acetonem, cyklohexanem a rostlinnými oleji.

Tuhne při asi 3 °C.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *malathionu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 1,220 až 1,240.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,1^\circ$ až $+0,1^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v lihu 96% R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku odpovídajícího nečistotě A není větší než trojnásobek plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,3 %)

4390 † *Malathionum*

a plocha žádného píku odpovídajícího nečistotě B není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků odpovídajících nečistotě A nebo nečistotě B, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,000 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 5,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,100 g *malathionu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 mg *malathionu nečistoty A CRL* a 5,0 mg *malathionu nečistoty B CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 2,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (1 + 3) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (c).

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy nečistoty B asi 3,5 min, nečistoty A asi 5 min a malathionu asi 16 min. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píky nečistoty A a nečistoty B nejméně 2,0. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku malathionu nejvýše 1,0 %.

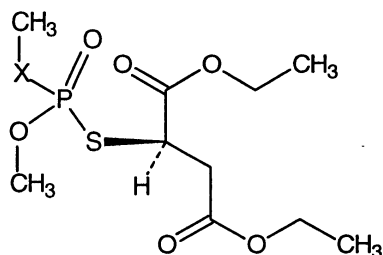
Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a). Vypočte se obsah malathionu v procentech.

Uchovávání

Uchovává se ve vzduchotěsném obalu, chráněn před světlem.

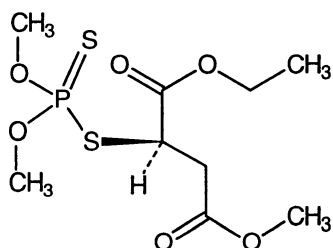
Separandum.

Nečistoty



a enantiomer

- A. X = S: S-[(2RS)-1,2-bis(ethoxykarbonyl)ethyl]-O-methyl-S-methyldithiofosfat (isomalation),
 B. X = O: S-[(2RS)-1,2-bis(ethoxykarbonyl)ethyl]-O,O'-dimethylthiofosfat,



a enantiomer

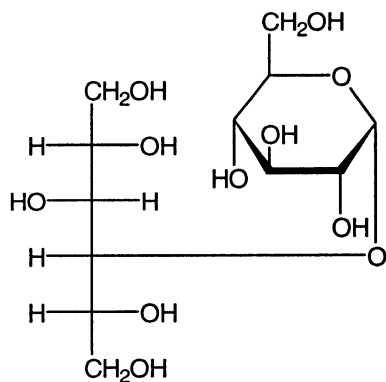
- C. S-[(2RS)-(2-ethoxykarbonyl-1-methoxykarbonyl)ethyl]-O,O'-dimethyldithiofosfat (methylalanogon).

Maltitolum

Maltitol



1998

C₁₂H₂₄O₁₁M_r 344,32

CAS 585-88-6

4392 Maltitolum

Je to 4-O- α -D-glukopyranosyl-D-glucitol. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{12}H_{24}O_{11}$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v ethanolu.

Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14) je 148 °C až 151 °C.

B. Ke 3 ml čerstvě připraveného roztoku *pyrokatecholu R* (100 g/l) se za chlazení ve vodě s ledem přidá 6 ml *kyseliny sírové R*. Ke 3 ml ochlazené směsi se přidá 0,3 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, a opatrně se 30 s zahřívá nad plamenem; vzniká růžové zbarvení.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *maltitolu CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Suší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a pak se 15 min zahřívá při 100 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí se ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 10 ml vody prosté oxidu uhličitého R. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,05 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. K dalším 10 ml roztoku se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +105,5° až +108,5°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 5,0 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Redukující cukry. 10,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 6 ml vody R. Po ochlazení se přidá 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V)* a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého míchání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a vody R (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se titruje přebytek jodu *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,1 %).

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku *S* zředěných vodou *R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 µg/g).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku *S* vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g).

Nikl (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 µg/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí ve 20 ml vody *R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 50,0 mg maltitolu *CRL* se rozpustí ve 2,0 ml vody *R* a zředí se jí na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma)* *R* (9 µm), udržované při teplotě (85 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná voda *R*, průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Nastříkne se odděleně po 20 µl každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *D*-maltitolu.

Z ploch píků a deklarovaného obsahu maltitolu *CRL* se vypočítá obsah $C_{12}H_{24}O_{11}$ (*D*-maltitol) v procentech.

Maltitolum liquidum

Roztok maltitolu



1998

Je to vodný roztok hydrogenovaného, částečně hydrolyzovaného škrobu. Obsahuje nejméně 70,0 % pevné hmoty složené ze směsi převážně *D*-maltitolu s *D*-sorbitolem a s hydrogenovanými oligo- a polysacharidy. Obsahuje nejméně 50,0 % *D*-maltitolu ($C_{12}H_{24}O_{11}$) a nejvýše 8,0 % *D*-sorbitolu ($C_6H_{14}O_6$), oba počítány na bezvodou látku. Obsahuje 95,0 % až 105,0 % deklarovaného obsahu *D*-maltitolu.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá sirupovitá kapalina. Je mísitelný s vodou a s glycerolem.

Zkoušky totožnosti

A. Ke 3 ml čerstvě připraveného roztoku *pyrokatecholu* *R* (100 g/l) se za chlazení ve vodě s ledem přidá 6 ml *kyseliny sírové* *R*. Ke 3 ml ochlazené směsi se přidá 0,3 ml roztoku *S*, viz Zkoušky na čistotu, a opatrně se 30 s zahřívá nad otevřeným plamenem; vzniká růžové zbarvení.

4394 *Maltitolum liquidum*

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 0,350 g se zředí *vodou R* na 100 ml.

Porovnávací roztok. 50 mg *maltitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku. Vyvívá se směsí objemových dílů *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 17 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *kyselinou 4-aminobenzoovou RS*. Suší se v proudu studeného vzduchu do vymizení pachu acetonu a pak se 15 min zahřívá při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a 15 min se zahřívá při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, barvou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Zkouška Redukující cukry, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 7,0 g se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,05 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. K dalším 10 ml roztoku se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,3 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

Redukující cukry. K 7,0 g se přidají 3 ml *vody R*, 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min a nechá se 3 min vařit. Rychle se ochladí a přidá 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R 2,4% (V/V)* a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého míchání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se titruje přebytek jodu *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru, který se přidá před koncem titrace. Spotřebuje se nejvýše 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,2 %).

Chloridy (2.4.4). 7,5 ml roztoku S zředěného *vodou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (50 μ g/g).

Sírany (2.4.13). 1,5 g zředěného *vodou destilovanou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 μ g/g).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 μ g/g).

Nikl (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 μ g/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 30,0 %; stanoví se s 0,100 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 1,00 g se smíchá s 20 ml *vody R* a zředí se jí na 50,0 ml.

† *Maprotilini hydrochloridum* 4395

Porovnávací roztok. 50,0 mg *maltitolu CRL* a 8,0 mg *sorbitolu CRL* se rozpustí ve 2,0 ml *vody R* a zředí se jí na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem silně kyselým (vápníková forma) R* (9 μm), udržované při teplotě (85 ± 1) °C,
- mobilní fáze, kterou je odplyněná *voda R*, průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného při konstantní teplotě.

Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je relativní retenční čas sorbitolu vztažený k maltitolu asi 1,7.

Nastříkne se odděleně po 20 μl každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času maltitolu.

Z ploch píků a deklarovaného obsahu *maltitolu CRL* a *sorbitolu CRL* se vypočítá obsah $C_{12}H_{24}O_{11}$ (D-maltitol) a $C_6H_{14}O_6$ (D-sorbitol) v procentech.

Označování

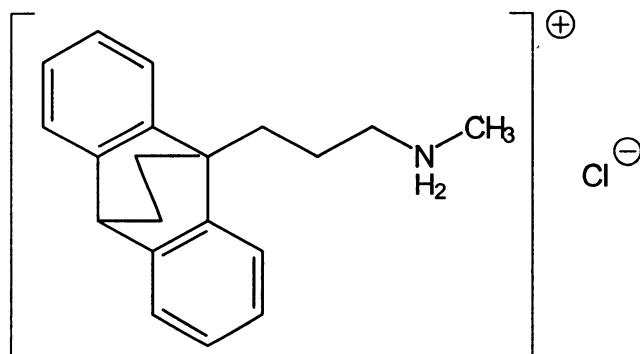
V označení na obalu se uvede obsah D-maltitolu.

† *Maprotilini hydrochloridum*

Maprotiliniumchlorid



1999



$C_{20}H_{24}ClN$

M_r 313,87

CAS 10347-81-6

Je to N-methyl-3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)propylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{20}H_{24}ClN$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%, mírně rozpustný v dichlormethanu, velmi těžce rozpustný v acetonu.

4396 † *Maprotilini hydrochloridum*

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 10 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 100 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 250 nm až 300 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima při 265 nm a 272 nm a absorpční minimum při 268 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 272 nm k absorbanci naměřené v maximu při 265 nm je 1,1 až 1,3.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *maprotiliniumchloridu CRL*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *methanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

C. Proveďte se tenkovrstevná chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *maprotiliniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *maprotilinu nečistoty D CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R*, *amoniaku zředěného RS1* a *2-butanolu R* (4 + 5 + 14) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

D. 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí *methanolem R* na 2 ml; roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 mg *maprotilinu nečistoty D CRL* se rozpustí ve zkoušeném roztoku a zředí se jím na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená následujícím způsobem: asi 0,580 g *octanu amonného R* se rozpustí ve 200 ml *vody R* a přidají se 2 ml roztoku *amoniaku 26% R* (70 g/l), pak se přidá

150 ml 2-propanolu *R* a 650 ml methanolu *R*; výsledná hodnota pH je 8,2 až 8,4, průtoková rychlost je 1 ml/min.

- spektrofotometrického detektoru, 272 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas maprotilinu asi 10,3 min a relativní retenční časy vztažené k maprotilinu jsou: asi 0,3 pro nečistotu A; asi 0,47 pro nečistotu B; asi 0,74 pro nečistotu C; asi 0,81 pro nečistotu D; asi 1,26 pro nečistotu E.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku (maprotilin) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty D a maprotilinu je 1,8 až 3,2. Pokud je to nutné, upraví se mobilní fáze přidáním roztoku kyseliny octové *R* 50% (V/V) (je-li rozlišení menší než 1,8) nebo přidáním roztoku amoniaku 26% *R* (70 g/l) (je-li rozlišení větší než 3,2), přičemž se hodnota pH mění v krocích po 0,1.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 80 °C a tlaku nepřevyšujícím 2,5 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

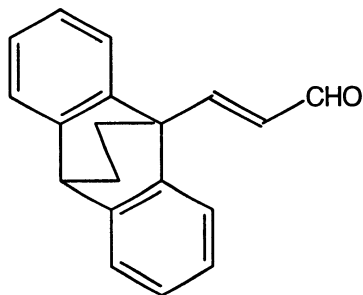
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi obsahující 5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS a 50 ml lihu 96% *R* a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body. 1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 31,39 mg C₂₀H₂₄ClN.

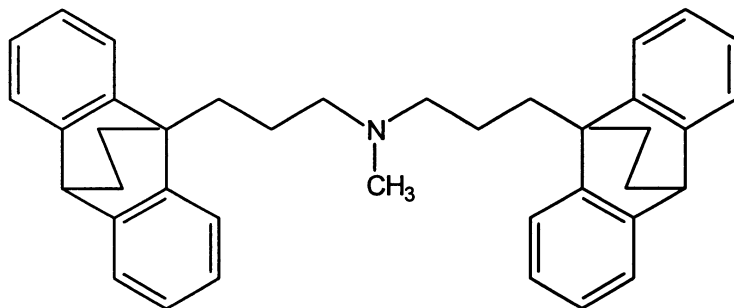
Uchovávání

Separandum.

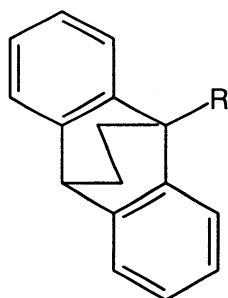
Nečistoty



A. 3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)-2-propenal,

4398 *Maydis oleum raffinatum*

B. N-methylbis[3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)propyl]amin,



C. R = CH₂CH₂CH₂NH₂: 3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)propylamin,

D. R = CH=CHCH₂NHCH₃: N-methyl-3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)-2-propen-1-ylamin (dehydromaprotilin),

E. R = CH₂CH₂CH₂N(CH₃)₂: N,N-dimethyl-3-(9,10-dihydro-9,10-ethanoanthracen-9-yl)-propylamin.

Maydis oleum raffinatum

Čištěný kukuřičný olej

Synonymum. Oleum maydis



1999

CAS 8001-30-7

Je to čišťený mastný olej získaný ze semen *Zea mays* L. lisováním nebo extrakcí.

Vlastnosti

Čirý světle žlutý nebo žlutý olej. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, je mísitelný s etherem petrolejovým (TV: 40 °C až 60 °C) a dichlormethanem.

Hustota je asi 0,920 a index lomu asi 1,474.

Zkoušky totožnosti

- A. Provede se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.
- B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, je číslo kyselosti nejvýše 0,3.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, je číslo peroxidové nejvýše 5,0.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 2,8 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky (2.4.19). Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

Podíl mastných kyselin. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích (2.4.22). Frakce mastných kyselin oleje má následující složení:

- mastné kyseliny s délkou řetězce menší než C₁₆: nejvýše 0,6 %,
- kyselina palmitová: 8,6 % až 16,5 %,
- kyselina stearová: nejvýše 3,3 %,
- kyselina olejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,3): 20,0 % až 42,2 %,
- kyselina linolová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,9): 39,4 % až 65,6 %,
- kyselina linolenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 19,7): 0,5 % až 1,5 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,8 %,
- kyselina ikosenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 20,3): nejvýše 0,5 %,
- kyselina behenová: nejvýše 0,5 %,
- ostatní mastné kyseliny: nejvýše 0,5 %.

Steroly. Stanoví se plynovou chromatografií (2.4.23); podíl sterolů oleje obsahuje nejvýše 0,3 % brassikasterolu.

Voda, mikrostanovení (2.5.32). Pokud je látka určená k výrobě parenterálních přípravků, obsahuje nejvýše 0,1 % vody, stanoví se s 5,00 g zkoušené látky. Použije se směs stejných objemových dílů *dekanolu R* a *methanolu bezvodého R* jako rozpouštědla.

Uchovávání

Chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující 25 °C.

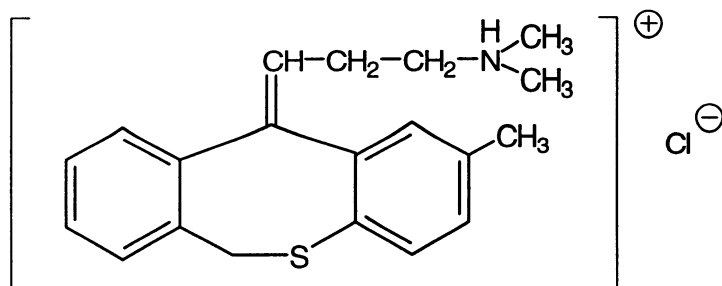
Označování

V označení na obalu se uvede, zda:

- je látka vhodná k výrobě parenterálních přípravků,
- byl olej připraven mechanickým lisováním nebo extrakcí.

4400 † *Medosulepini hydrochloridum*† **Medosulepini hydrochloridum****N**

Medosulepiniumchlorid

Synonymum. Chlorid medosulepinia $C_{20}H_{24}ClNS$ M_r 345,93

CAS 53046-96-1

Je to (*E*)-[3-(2-methyl-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-yliden)propyl]dimethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{20}H_{24}ClNS$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý mikrokrytalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, těžce rozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *medosulepiniumchloridu CRL*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku retenční čas hlavního píku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).
- C. Asi 2 mg se rozpustí v 5 ml *kyseliny sírové R* a nechá se 5 min stát; vznikne hnědozelené zbarvení.
- D. Asi 50 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidá se 0,25 ml *amoniaku RS1* a vzniklá sraženina se odfiltruje. 2 ml filtrátu vyhovují zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S1. 0,625 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 25 ml.

Roztok S2. 0,50 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S1 je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH. 4,0 až 5,0; měří se roztok S2.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) postupem uvedeným ve Stanovení obsahu za použití následujících roztoků. *Roztoky se připraví těsně před použitím.*

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí pomocí ultrazvukové lázně (asi 3 min) v 8 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku rozpouštědel, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku rozpouštědel, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,2 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) připraveného ve zkoušce Stanovení obsahu.

Z-Izomer. Nejvýše 0,5 %. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 25,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R*, *2-propanolu R* a *hexanu R* (13 + 17 + 70) a zředí se stejnou směsí na 25,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *methanolu R*, *2-propanolu R* a *hexanu R* (13 + 17 + 70) na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 mg *dosulepiniumchloridu CRL* a 10,0 mg *medosulepiniumchloridu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R*, *2-propanolu R* a *hexanu R* (13 + 17 + 70) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem amino-propylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *methanolu R* obsahujícího 0,15 % (V/V) *kyseliny chloristé R*, *2-propanolu R* a *hexanu R* (13 + 17 + 70), průtoková rychlost je 1,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje na 20 °C až 25 °C.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (medosulepin) a druhým píkem (dosulepin) je nejméně 1,5.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže u píku medosulepinu je poměr signálu k šumu nejméně 10.

Nastříkne se 10 μl čerstvě připraveného zkoušeného roztoku (a). Za dodržení předepsaných podmínek je relativní retenční čas Z-izomeru vzhledem k medosulepinu 0,92.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha píku odpovídajícího Z-izomeru není větší než pětinašobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova* (10 μg Pb/ml).

Železo. Nejvýše 20 μg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v *kyselině dusičné 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

4402 † *Medosulepini hydrochloridum*

Porovnávací roztoky. Připraví se porovnávací roztoky obsahující 0,2 µg Fe/ml, 0,5 µg Fe/ml a 0,8 µg Fe/ml zředěním základního roztoku železa (20 µg Fe/ml) kyselinou dusičnou 0,1 mol/l RS.

Změří se absorbance roztoků při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Nula na přístroji se nastaví za použití kyseliny dusičné 0,1 mol/l RS.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím.*

Zkoušený roztok. 4,0 mg se rozpustí za použití ultrazvukové lázně (asi 3 min) v 8 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 15,0 mg kyseliny 2-(4-tolylthiomethyl)benzoové R se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). Je směsí stejných objemových dílů porovnávacího roztoku ze zkoušky Příbuzné látky a porovnávacího roztoku (a).

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml porovnávacího roztoku ze zkoušky Příbuzné látky se zředí methanolem R na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 4,0 mg medosulepiniumchloridu CRL se rozpustí za použití ultrazvukové lázně (asi 3 min) v 8 ml acetonitrilu R a zředí se vodou R na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm) se specifickou plochou 220 m²/g a velikostí póru 100 nm,
- mobilní fáze, která je směsí připravenou následovně: 2 g pentansulfonanu sodného R se rozpustí v 600 ml vody R, přidá se 1 ml kyseliny octové R, upraví se pH směsi cyklohexylaminem R na hodnotu 6,0, zfiltruje se, zředí se vodou R na 640 ml a smíchá se s 260 ml acetonitrilu R a 100 ml 2-propanolu R, průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 231 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C. Nastříkne se 25 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem kyseliny 2-(4-tolylthiomethyl)benzoové a medosulepiniumchloridu je nejméně 8.

Nastříkne se šestkrát 25 µl zkoušeného roztoku a 25 µl porovnávacího roztoku (d) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času medosulepiniumchloridu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka ploch hlavních píků ze 6 chromatogramů zkoušeného roztoku není větší než 2,0.

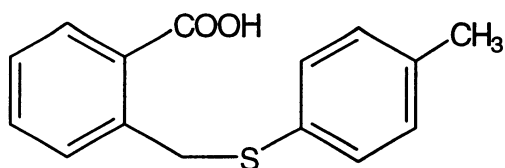
Z ploch hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku, koncentrací roztoků, skutečného obsahu medosulepiniumchloridu CRL se vypočítá obsah C₂₀H₂₄Clns v procentech a přepočte se na vysušenou látku.

Uchovávání

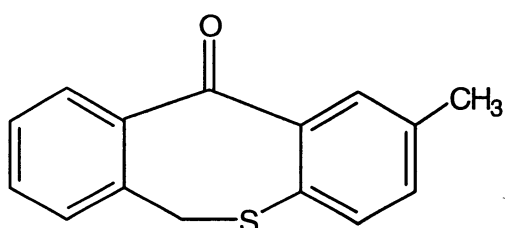
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

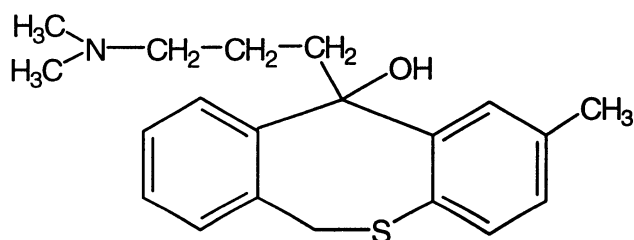
Nečistoty



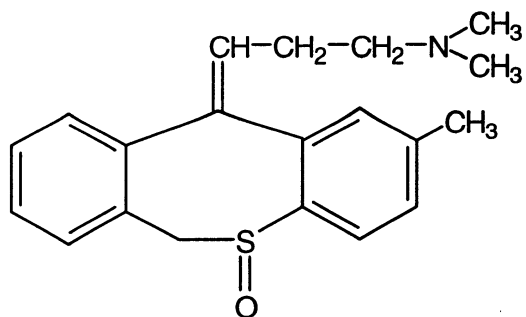
A. kyselina 2-(4-tolylthiomethyl)benzoová,



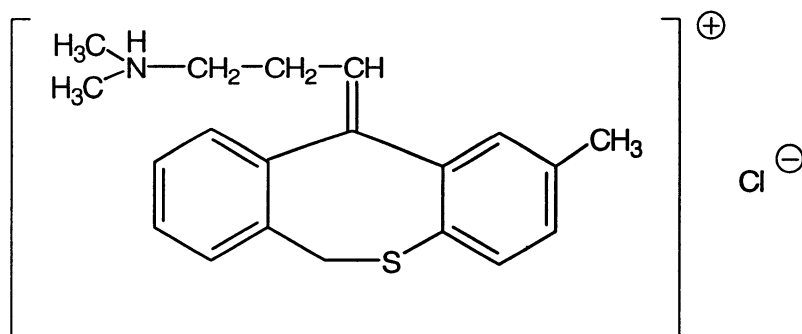
B. 2-methyl-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-on,



C. (*RS*)-2-methyl-11-(3-dimethylaminopropyl)-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-ol,



D. (*E*)-2-methyl-11-(3-dimethylaminopropyliden)-6*H*-dibenzo[*b,e*] thiepin-5-oxid,

4404 † *Medroxyprogesteroni acetat*

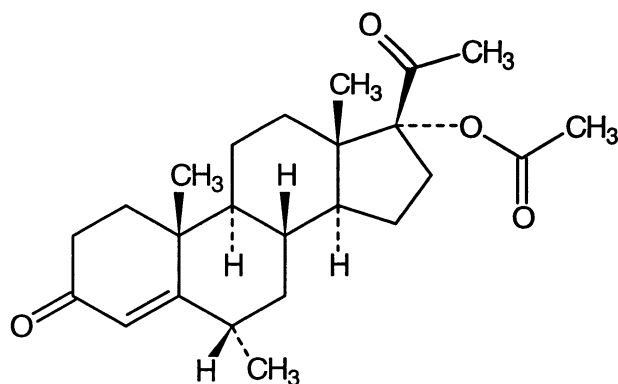
E. (Z)-[3-(2-methyl-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-ylidene)propyl]dimethylamoniumchlorid (Z-izomer medosulepiniumchloridu).

† **Medroxyprogesteroni acetat**

Medroxyprogesteronacetat



1999



$C_{24}H_{34}O_4$

M_r 386,53

CAS 71-58-9

Je to 6 α -methyl-3,20-dioxo-4-pregnen-17-ylacetat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{24}H_{34}O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v acetonu a v dioxanu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 205 °C až 209 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *medroxyprogesteronacetatu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Nečistota F po postřikání při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +45° až +51°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Nečistota F (6 α -methyl-3,20-dioxo-5 β -pregnan-17-ylacetat). Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,200 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dichlormethanem R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). K 20,0 mg *medroxyprogesteronacetatu pro zkoušku způsobilosti CRL* (obsahuje 0,5 % nečistoty F) se přidá 1,0 ml *dichlormethanu R* a rozpustí se.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *medroxyprogesteronacetatu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *tetrahydrofuranu R*, *terc.butylmethyletheru R* a *hexanu R* (10 + 45 + 45) po dráze 10 cm. Vrstva se suší na vzduchu, potom se provede druhé vyvíjení ve stejném směru stejnou směsí po dráze 10 cm. Vrstva se suší 10 min při 120 °C. Postříká se roztokem *kyseliny 4-toluensulfonové R* (200 g/l) v *lihu 96% R*, zahřívá se 10 min při 120 °C. Po ochlazení se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná modře fluoreskující skvrna s hodnotou R_F vyšší než hlavní skvrna *medroxyprogesteronacetatu* není intenzivnější než odpovídající modře fluoreskující skvrna nečistoty F na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v 1 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2 mg *medroxyprogesteronacetatu CRL* a 5 mg *megestrolacetatu CRL* se rozpustí v mobilní fází a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μ m),
 - mobilní fáze, která je směsí připravenou takto: v 1000ml odměrné baňce se smíchá 100 ml *tetrahydrofuranu R* s 350 ml *acetonitrilu R* a 500 ml *vody R*; nechá se ustálit a upraví se objem na 1000 ml *vodou R* a opět se promíchá, průtoková rychlost je 2 ml/min
 - spektrofotometrického detektoru, 254 nm.
- Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

4406 † *Medroxyprogesteroni acetat*

Kolona se ustaluje 30 min mobilní fází s průtokovou rychlostí 2 ml/min.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy megestrolacetatu asi 14,5 min a medroxyprogesteronacetatu asi 16,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídající megestrolacetatu a medroxyprogesteronacetatu je nejméně 3,3. Pokud je třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu nebo tetrahydrofuranu v mobilní fázi.

Nastříkne se 20 μ l směsi rozpouštědel zkoušeného roztoku jako slepá zkouška, 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamená po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %), součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému při slepé zkoušce a k žádnému píku s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

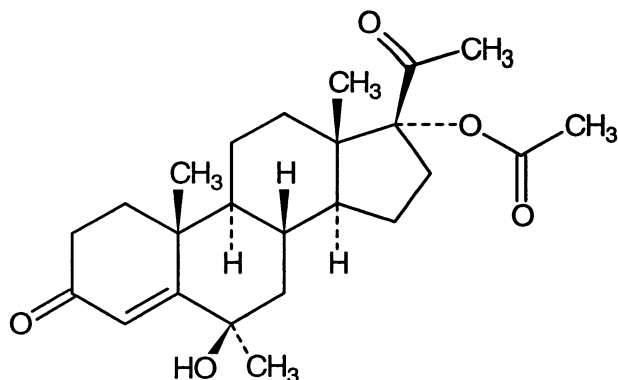
Stanovení obsahu

50,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximu při 241 nm.

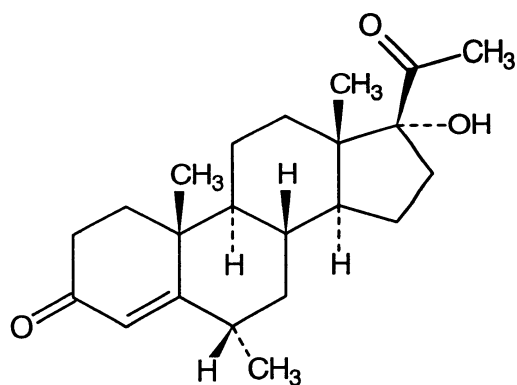
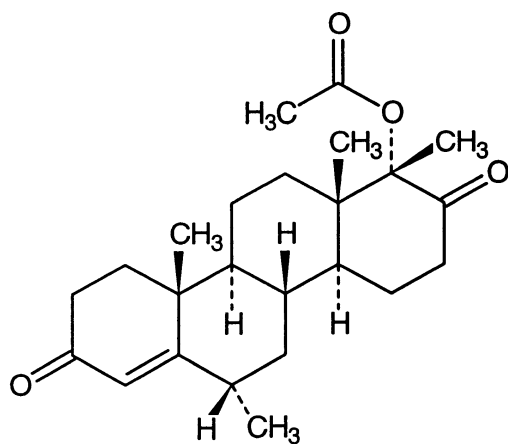
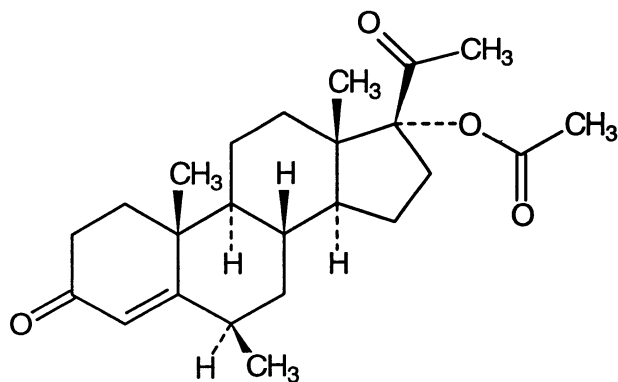
Vypočítá se obsah $C_{24}H_{34}O_4$ za použití specifické absorbance, jejíž hodnota je 420.

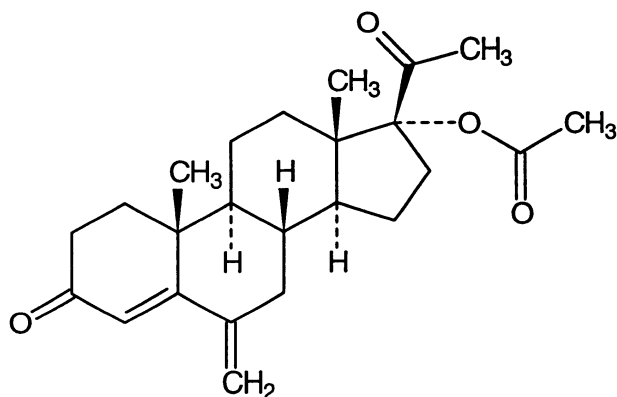
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

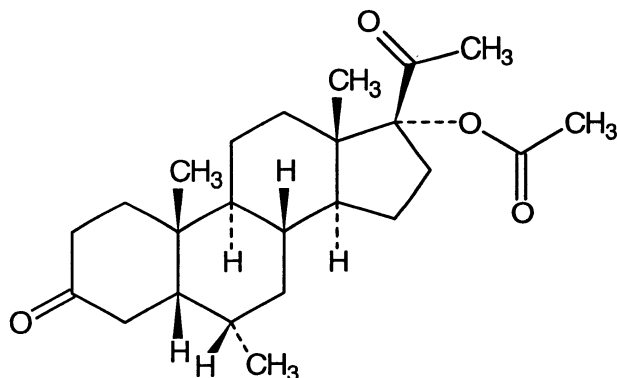
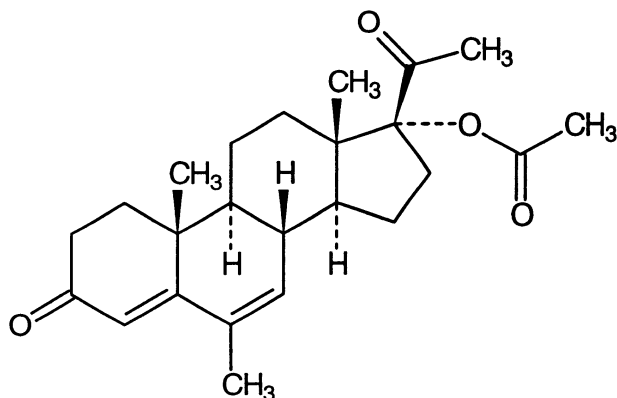
Nečistoty

A. 6 β -hydroxy-6-methyl-3,20-dioxo-4-pregnen-17-ylacetat (6 β -hydroxymedroxyprogesteronacetat),

† *Medroxyprogesteroni acetat* 4407B. 17-hydroxy-6 α -methyl-4-pregnen-3,20-dion (medroxyprogesteron),C. 6 α ,17 β -dimethyl-3,16-dioxo-D-homo-4-androsten-17 α -ylacetat,D. 6 β -methyl-3,20-dioxo-4-pregnen-17-ylacetat (6-epimedroxyprogesteronacetat),

4408 † *Medroxyprogesteroni acetat*

E. 6-methylen-3,20-dioxo-4-pregnen-17-ylacetat (6-methylenhydroxyprogesteronacetat),

F. 6 α -methyl-3,20-dioxo-5 β -pregnan-17-ylacetat (4,5 β -dihydromedroxyprogesteronacetat),

G. 6-methyl-3,20-dioxo-4,6-pregnandien-17-ylacetat.

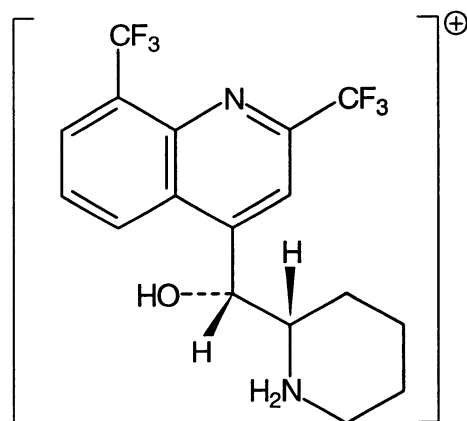
† Mefloquini hydrochloridum 4409

† Mefloquini hydrochloridum

Meflochiniumchlorid



1998

Cl[⊖] a enantiomerC₁₇H₁₇ClF₆N₂OM_r 414,77

CAS 51773-92-3

Je to (*SR*)-2-[[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinoly]-(*RS*)-hydroxymethyl]piperidiniumchlorid. Počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₇H₁₇ClF₆N₂O.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 260 °C, za rozkladu.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *meflochiniumchloridu CRL*. Tablety se připraví za použití *chloridu draselného R*. Pokud se získaná spektra liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *methanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se shoduje polohou, barvou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. Asi 10 mg se smíchá v kelímku s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se do získání prakticky bílého zbytku. Po ochlazení se přidají 2 ml *vody R*, 0,05 ml *fenoltaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do získání bezbarvého roztoku a směs se zfiltruje.

4410 † *Mefloquini hydrochloridum*

K filtrátu se přidá čerstvě připravená směs obsahující 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS*, promíchá se a po 5 min stání se porovná zbarvení roztoku s kontrolním roztokem připraveným současně stejným způsobem. Zbarvení zkoušeného roztoku je žluté a zbarvení kontrolního roztoku je červené.

D. K asi 20 mg se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R*; roztok vykazuje v ultrafialovém světle při 365 nm modrou fluorescenci.

E. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda I*).

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,2^\circ$ až $+0,2^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm. Před použitím se vrstva promyje směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (20 + 80) a 15 min se zahřívá při 105 °C.

Zkoušený roztok (a). 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 8 mg *meflochiniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchá s 1 ml roztoku *chinidinium-sulfatu R* (0,016 g/l) v *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese po 20 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Potom se slabě postříká čerstvě připravenou směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *zkoumadla jodoplatičitého R* (1 + 40) a pak se postříká *peroxidem vodíku koncentrovaným R*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zbytková rozpouštědla. Celkový obsah ethanolu, methanolu a acetonu je nejvýše 0,5 %. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí v *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 g *methanolu R*, 1,0 g *ethanolu R* a 1,0 g *acetonu R* se smíchá ve 100ml odměrné baňce a zředí se *dimethylformamidem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dimethylformamidem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *styrendivinylnbenzenkopolymerem R* (135 µm až 175 µm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 20 ml/min až 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se 5 min udržuje na 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min na 220 °C, při níž se udržuje 10 min; teplota nástřikového prostoru a teplota detektoru se udržuje na 230 °C.

Nastříkne se 1 µl zkoušeného roztoku a 1 µl porovnávacího roztoku. Jednotlivé látky se eluují v následujícím pořadí: methanol, ethanol a aceton. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je poměr signálu píku acetonu k šumu nejméně 5.

Vypočítá se plocha píků methanolu, ethanolu a acetonu.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí v 15 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 40 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

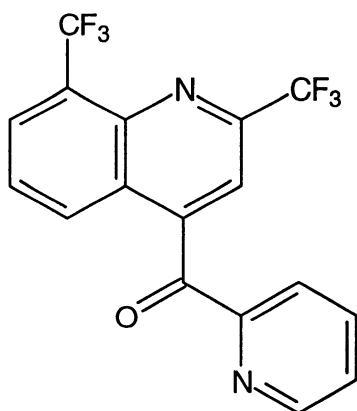
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 41,48 mg C₁₇H₁₇ClF₆N₂O.

Uchovávání

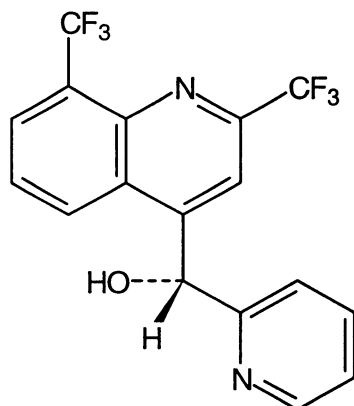
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

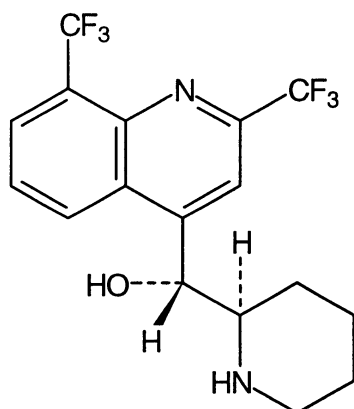
Nečistoty



A. [2,8-bis(trifluoromethyl)-4-chinolyl]-(2-pyridyl)keton,

4412 *Melissae folium*

a enantiomer

B. (*RS*)-[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinolyl]-(2-pyridyl)methanol,

a enantiomer

C. (*RS*)-[2,8-bis(trifluormethyl)-4-chinolyl]-[(*RS*)-2-piperidyl]methanol.**Melissae folium****N**

Meduňkový list

Je to usušený list druhu *Melissa officinalis* L. Obsahuje nejméně 0,8 ml silice v 1 kg drogy.

Vlastnosti

Droga slabého charakteristického pachu po citronu. Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. List řapíkatý až dlouze řapíkatý, široce vejčitý až kosočtverečný, na bázi široce klínovitý až uťatý, až 8 cm dlouhý a 5 cm široký. Čepel tenká, pomačkaná, hrubě pilovitě zubatá. Svrchní strana čepele zelenošedá, spodní strana světlejší.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je zelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: jednobuněčné, velmi krátké, široce kuželovité krycí chlupy; mnohobuněčné, jednořadé krycí chlupy, na povrchu zrnité, se ztlustlými stěnami; osmibuněčné žláznaté chlupy; malé žláznaté chlupy s jednobuněčnou až tříbuněčnou nohou a jednobuněčnou, řidčeji dvoubuněčnou hlavičkou; úlomky pokožky s diacytickými průduchy (2.8.3).
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 1 g práškované drogy (355) se protřepává 5 min s 10 ml *dichlormethanu R* a pak se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí malým množstvím *dichlormethanu R*. Spojené tekutiny se opatrně odpaří na vodní lázni na asi 0,5 ml.

Porovnávací roztok. 5 µl *citralu R* a 5 µl (+)-*citronellalu R* se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směs objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku; mohou být i další, méně intenzivní skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 2 % a nejvýše 10 % stonků silnějších než 1 mm; stanoví se s 20 g drogy.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 12,0 %.

Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 50 g drogy se destiluje 3 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 1000ml baňce s 500 ml *vody R*; do dělené trubice se přidá 0,50 ml *xylenu R*.

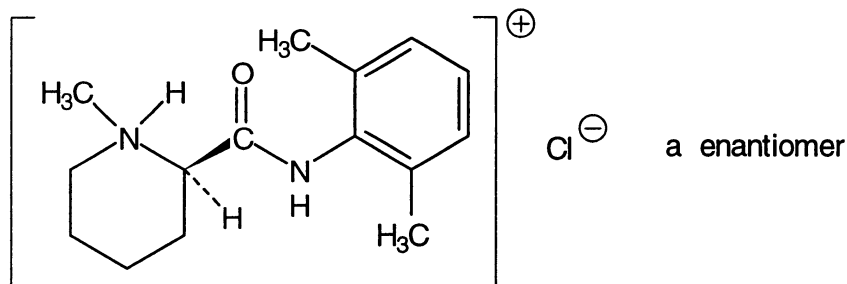
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4414 † *Mepivacaini hydrochloridum*† **Mepivacaini hydrochloridum**

Mepivakainiumchlorid

1998

 $C_{15}H_{23}ClN_2O$ M_r 282,81

CAS 1722-62-9

Je to (*RS*)-1-methyl-2-[(2,6-dimethylfenyl)aminokarbonyl]piperidiniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{15}H_{23}ClN_2O$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v dichlormethanu.

Taje při 260 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety mepivakainiumchloridu CRL.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg mepivakainiumchloridu CRL se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg mepivakainiumchloridu CRL a 20 mg lidokainiumchloridu CRL se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R a etheru R (1 + 5 + 100) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

C. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a protřepe se dvakrát 10 ml *etheru R*. Spojené horní vrstvy se suší nad *síranem sodným bezvodým R*, zfiltrují se a ether se odpaří na vodní lázni. Zbytek se suší 2 h při 100 °C až 105 °C. Teplota tání (2.2.14) je 151 °C až 155 °C.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,5 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 30 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,0; měří se roztok připravený zředěním 2 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 5 ml.

Optická otáčivost (2.2.7). -0,10° až +0,10°; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg zkoušené látky a 30,0 mg *mepivakainu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *kyseliny fosforečné 0,02 mol/l RS* (35 + 65) (upravené na hodnotu pH 7,6 *hydroxidem sodným koncentrovaným RS*), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky obou hlavních píků na získaném chromatogramu byly nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *mepivakainu nečistoty B* a *mepivakainu* je nejméně 2,5.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času *mepivakainu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a plocha nejvýše jednoho z těchto píků je větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

2,6-Dimethylanilin. 0,50 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. Ke 2 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml čerstvě připraveného roztoku *dimethylaminobenzaldehydu R* (10 g/l) v *methanolu R* a 2 ml *kyseliny octové ledové R* a nechá se 10 min stát. Žluté zbarvení roztoku není

4416 † *Mepivacaini hydrochloridum*

intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 2 ml roztoku 2,6-dimethylanilinu R (5 mg/l) v methanolu R (100 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se rozpustí ve vodě R, zředí se jí na 25 ml a zfiltruje se. 10 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

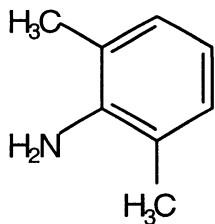
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi obsahující 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

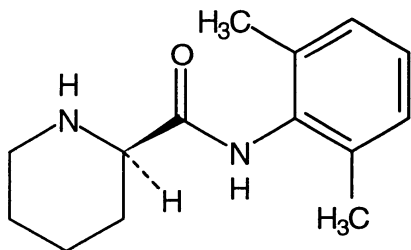
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 28,28 mg C₁₅H₂₃ClN₂O.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.
Separandum.

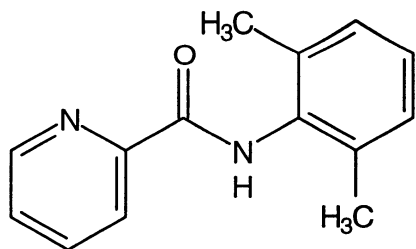
Nečistoty

A. 2,6-dimethylanilin,

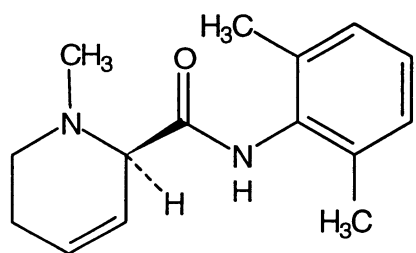


a enantiomer

B. (RS)-N-(2,6-dimethylfenyl)piperidin-2-karboxamid,

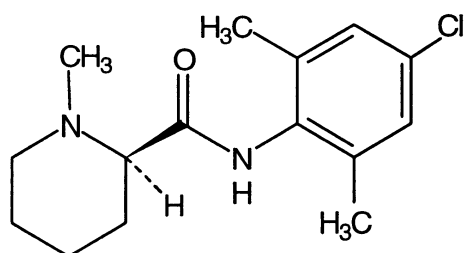


C. N-(2,6-dimethylfenyl)pyridin-2-karboxamid,



a enantiomer

D. (*RS*)-N-(2,6-dimethylfenyl)-1-methyl-1,2,5,6-tetrahydropyridin-2-karboxamid,



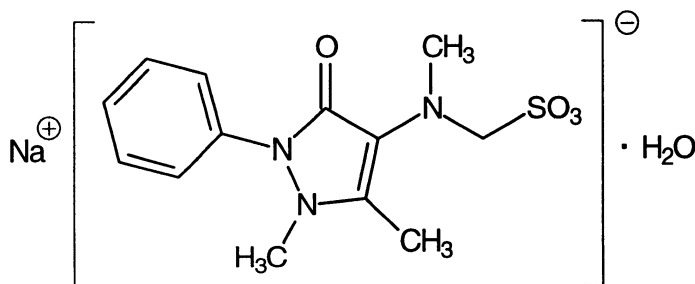
a enantiomer

E. (*RS*)-N-(4-chlor-2,6-dimethylfenyl)-1-methylpiperidin-2-karboxamid.

4418 † *Metamizolum natricum monohydricum*† **Metamizolum natricum monohydricum**

Monohyrát sodné soli metamizolu

1999

Synonymum. Metamizolum natricum $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ M_r 351,35

CAS 5907-38-0

Je to monohyrát natrium-[(1-fenyl-2,3-dimethyl-5-oxo-1,5-dihydro-2*H*-pyrazol-4-yl)-*N*-met-hylamino]methansulfonatu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje nejméně 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *monohydrátu sodné soli metamizolu CRL*.
- B.** 50 mg se rozpustí v 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*; vznikne modré zbarvení, které rychle vybledne a během několika minut se změní v intenzivní červené.
- C.** 0,10 g se ve zkumavce s několika skleněnými kuličkami rozpustí v 1,5 ml *vody R*. Přidá se 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vloží se do otevřeného konce zkumavky filtrační papír navlhčený roztokem 20 mg *jodidu draselného R* ve 2 ml *škrobu RS*. Mírně se zahřívá, uvolněné páry oxidu siřičitého zbarví filtrační papír modře. Po mírném zahřívání po dobu 1 min se vezme skleněná tyčinka s kapkou roztoku *sodné soli kyseliny chromotropové R* (10 g/l) v *kyselině sírové R* a vloží se do zkumavky. Do 10 min se kapka zkoumadla zbarví modrofialově.
- D.** 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 40 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezprostředně po přípravě není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda I).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *fenoltaleinu* RS1. Roztok je bezbarvý a ke změně zbarvení na růžové se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného* 0,02 mol/l VS.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg *metamizolu nečistoty A* CRL se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem* R na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 40 mg *monohydrátu sodné soli metamizolu* CRL se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 ml porovnávacího roztoku (c) se 10 min vaří pod zpětným chladičem. Po vychladnutí při pokojové teplotě se zředí *methanolem* R na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (e). K 6 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (c).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek* R (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *methanolu* R a tlumivého roztoku (28 + 72) připraveného ze směsi objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného* R (6,0 g/l) a *triethylaminu* R (1000 + 1), jejíž pH bylo upraveno na hodnotu pH 7,0 *hydroxidem sodným koncentrovaným* RS, průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek se jednotlivé látky eluují v následujícím pořadí: nečistota A, metamizol, nečistota B, nečistota C a nečistota D. Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (d). Na chromatogramu jsou dva hlavní píky odpovídající metamizolu a nečistotě C.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (e). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky nečistoty A a metamizolu nejméně 2,5.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času metamizolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty C není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřehlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

4420 † *Metamizolum natriicum monohydricum*

Sírany (2.4.13). 0,150 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,1 %).

Těžké kovy (2.4.8) 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml čerstvě připraveného roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32) 4,9 % až 5,3 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

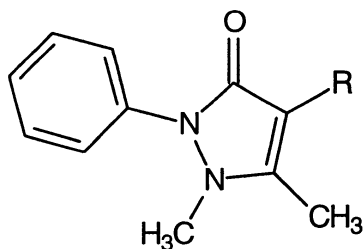
0,200 g se rozpustí v 10 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS předem ochlazené ve vodě s ledem a ihned se titruje po kapkách jodem 0,05 mol/l VS. Před každým dalším přidáním jodu 0,05 mol/l VS se sraženina rozpustí krouživým mícháním. Na konci titrace se přidají 2 ml škrobu RS a titruje se dokud modré zbarvení roztoku je stále nejméně 2 min. Teplota roztoku nesmí během titrace přesáhnout 10 °C.

1 ml jodu 0,05 mol/l VS odpovídá 16,67 mg sloučeniny C₁₃H₁₆N₃NaO₄S.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

- A. R = NHCHO: 1-fenyl-4-formylamino-2,3-dimethyl-1,5-dihydro-2H-pyrazol-5-on,
B. R = NH₂: 4-amino-1-fenyl-2,3-dimethyl-1,5-dihydro-2H-pyrazol-5-on,
C. R = NHCH₃: 1-fenyl-2,3-dimethyl-4-methylamino-1,5-dihydro-2H-pyrazol-5-on,
D. R = N(CH₃)₂: 1-fenyl-2,3-dimethyl-4-dimethylamino-1,5-dihydro-2H-pyrazol-5-on.

Methioninum 4421

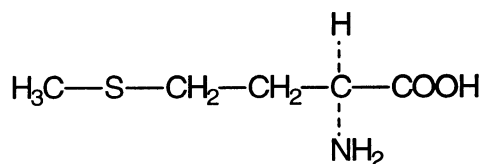
Methioninum¹⁾

Methionin

Synonymum. L-Methioninum



RR99

C₅H₁₁NO₂SM_r 149,21

CAS 63-68-3

Je to kyselina (*S*)-2-amino-4-(methylthio)máselná. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₅H₁₁NO₂S.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *methioninu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. Asi 0,1 g zkoušené látky a 0,1 g *glycinu R* se rozpustí ve 4,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidá se 1 ml roztoku *nitroprussidu sodného R* (25 g/l) a zahřívá se 10 min při 40 °C. Po ochlazení se přidají 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny fosforečné R* a *kyseliny chlorovodíkové R* (1 + 9); vzniká tmavě červené zbarvení.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 558 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4422 *Methioninum***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 5,5 až 6,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +22,5° až +24,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,00 g v kyselině chlorovodíkové RS a zředěním stejnou kyselinou na 50,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve kyselině chlorovodíkové zředěné RS a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg methioninu CRL se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R (10 g/l) a zředí se stejnou kyselinou na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg methioninu CRL a 10 mg serinu CRL se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R (10 g/l) a zředí se stejnou kyselinou na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Chloridy. K 10 ml roztoku S se přidá 25 ml vody R, 5 ml kyseliny dusičné zředěné RS a 10 ml dusičnanu stříbrného RS2 a roztok se nechá 5 min stát chráněn před světlem. Opalescence tohoto roztoku není intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 10 ml základního roztoku chloridů (5 μ g Cl/ml) (200 μ g/g). Zkumavky se pozorují ze strany proti černému pozadí.

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve 3 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zředí se vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium (2.4.1). 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,2 ml základního roztoku amonia (100 μ g NH₄/ml).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μ g/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,125 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,92 mg $C_5H_{11}NO_2S$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

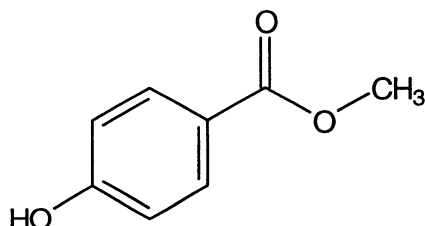
Methylparabenum

Methylparaben

Synonymum. Methylis parahydroxybenzoas



1999



$C_8H_8O_3$

M_r 152,15

CAS 99-76-3

Je to methyl-4-hydroxybenzoat. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_8H_8O_3$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 125 °C až 128 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *methylparabenu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

4424 *Methylparabenum*

D. K asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*, 30 s se vaří a ochladí se (roztok a). K dalším asi 10 mg se v podobné zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*; látka se částečně rozpustí (roztok b). K roztokům (a) a (b) se současně přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS* a promíchá se; roztok (b) je žlutý až oranžově hnědý; roztok (a) je oranžový až červený a jeho zbarvení je zřetelně intenzivnější než zbarvení roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. Ke 2 ml roztoku S se přidají 3 ml *lihu 96% R*, 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *zeleně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu oktadecylsilanizovaného s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *methylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *ethylparabenu CRL* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

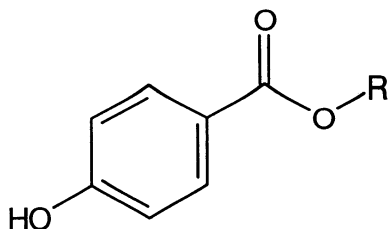
Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2,000 g se odváží do baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 40,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zpětný chladič propláchně *vodou R*. Nadbytek hydroxidu sodného se titruje *kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS* do druhého bodu inflexe za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 152,1 mg C₈H₈O₃.

Methylparabenun natricum 4425

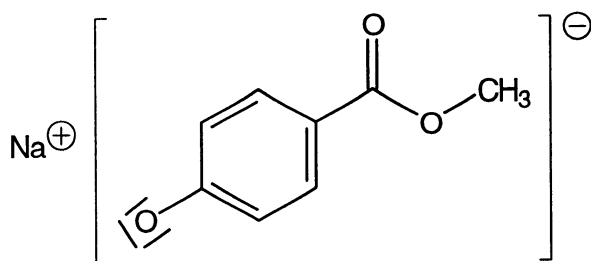
Nečistoty

- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
 B. R = CH₂-CH₃: ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben),
 C. R = CH₂-CH₂-CH₃: propyl-4-hydroxybenzoat (propylparaben),
 D. R = CH₂-CH₂-CH₂-CH₃: butyl-4-hydroxybenzoat (butylparaben).

Methylparabenun natricum

1999

Sodná sůl methylparabenu

Synonymum. Methylis parahydroxybenzoas natricusC₈H₇NaO₃M_r 174,13

CAS 5026-62-0

Je to 4-(methoxykarbonyl)fenolat sodný. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 102,0 % sloučeniny C₈H₇NaO₃.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v lihu 96%, prakticky nerozpustná v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

4426 *Methylparabenun natricum*

- A.** 0,5 g se rozpustí v 50 ml *vody R* a ihned se přidá 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Zfiltruje se a sraženina se promyje *vodou R*. Suší se 2 h ve vakuu při 80 °C. Získaná sraženina taje při 125 °C až 128 °C (2.2.14).
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) sraženiny získané ve zkoušce A se shoduje se spektrem *methylparabenu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).
- D.** K asi 10 mg ve zkumavce se přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*, vaří se 30 s a ochladí se. Pak se přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS* a promíchá se; vzniká oranžové až červené zbarvení.
- E.** K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je ihned po přípravě čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda I*).

Hodnota pH (2.2.3). 9,5 až 10,5; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,100 g se rozpustí v 10 ml *vody R* a ihned se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a protřepe se 50 ml *etheru R*. Horní vrstva se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 10 ml *acetonu R*.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *kyseliny 4-hydroxybenzoové R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *methylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *ethylparabenu CRL* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna odpovídající kyselině 4-hydroxybenzoové není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající kyselině 4-hydroxybenzoové, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). K 10 ml roztoku S se přidá 30 ml vody R a 1 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 50 ml, protřepe se a zfiltruje. 10 ml filtrátu se zředí vodou R na 15 ml; roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (350 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 14 ml základního roztoku chloridů (5 $\mu\text{g Cl/ml}$), k němuž se přidá 1 ml vody R.

Sírany (2.4.13). K 25 ml roztoku S se přidá 5 ml vody destilované R a 10 ml kyseliny chlorovodíkové R a roztok se zředí vodou destilovanou R na 50 ml, protřepe se a zfiltruje. 10 ml filtrátu se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 $\mu\text{g/g}$).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

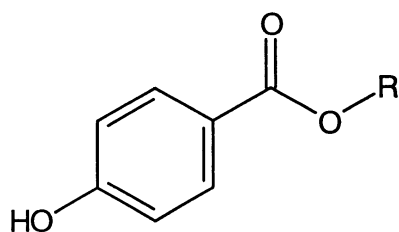
0,150 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 17,41 mg $\text{C}_8\text{H}_7\text{NaO}_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Nečistoty



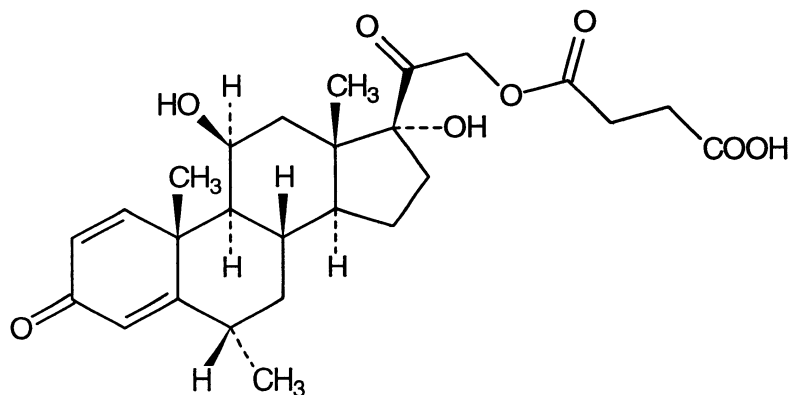
- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
- B. R = $\text{CH}_2\text{-CH}_3$: ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben),
- C. R = $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$: propyl-4-hydroxybenzoat (propylparaben),
- D. R = $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$: butyl-4-hydroxybenzoat (butylparaben).

4428 † *Methylprednisoloni hydrogenosuccinas*† **Methylprednisoloni hydrogenosuccinas**

Methylprednisolonhydrogensukcinat



1999

 $C_{26}H_{34}O_8$ M_r 474,55

CAS 2921-57-5

Je to 11 β ,17-dihydroxy-6 α -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-21-ylhydrogensukcinat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{26}H_{34}O_8$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygrokopický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v etheru, těžce rozpustný v acetonu a v ethanolu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *methylprednisolonhydrogensukcinatu CRL*.
- B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu F254 pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *methylprednisolonhydrogensukcinatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *hydrokortisonhydrogensukcinatu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se mobilní fázi, kterou je směs objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *ethanolu R* a *dichlormethanu R* (0,1 + 1 + 15) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a veli-

kostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Pak se vrstva postříká *kyselinou sírovou* v *lihu RS* a 10 min se zahřívá při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, zbarvením při denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě skvrny, které však nemusí být zcela rozděleny.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu F254 pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 25 mg se rozpustí za mírného zahřátí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě zkoušeného roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 2 ml roztoku získaného při přípravě zkoušeného roztoku (a) se převedou do 15ml skleněné zabroušené zkumavky se skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Přidá se 10 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (0,8 g/l) v *methanolu R* a ihned se probublává intenzivním proudem *dusíku R* po dobu 5 min. Zkumavka se uzavře a zahřívá se ve vodní lázni 30 min při 45 °C za ochrany před světlem a pak se nechá vychladnout.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *methylprednisolonhydrogensukcinatu CRL* se rozpustí za mírného zahřátí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě porovnávacího roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku (a) se převedou do 15ml skleněné zábrusové zkumavky se skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Přidá se 10 ml *hydroxidu sodného R* (0,8 g/l) v *methanolu R* a ihned se probublává intenzivním proudem *dusíku R* po dobu 5 min. Zkumavka se uzavře a zahřívá se ve vodní lázni 30 min při 45 °C za ochrany před světlem a ochladí se.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se mobilní fázi připravenou smícháním směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) a směsi objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušených roztoků odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu příslušných porovnávacích roztoků. Pak se vrstva postříká *kyselinou sírovou* v *lihu RS* a 10 min se zahřívá při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušeného roztoku polohou, zbarvením v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) má hodnotu R_F zřetelně vyšší než hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

D. K asi 2 mg se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a třepe se do rozpuštění; během 5 min vznikne intenzivní červenohnědé zbarvení. K roztoku se přidá 10 ml *vody R* a promíchá se; zbarvení zmizí a tvoří se sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,100 g se rozpustí v 5 ml *hydrogenuhlíčitamu sodného RS*; roztok je čirý (2.2.1).

4430 † *Methylprednisoloni hydrogenosuccinas*

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +87° až +95°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpouštěním 0,250 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *methylprednisolonhydrogensukcinatu pro zkoušku způsobilosti R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *kyseliny octové ledové R 3% (V/V)* (33 + 67), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Při průtoku mobilní fáze 1 ml/min se kolona ustaluje po dobu asi 30 min.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy látek *methylprednisolonhydrogensukcinatu* asi 22 min a *methylhydrokortison-21-hydrogensukcinatu* (nečistoty, k jejíž eluci dochází těsně po hlavním píku a tvořící prodlevu) asi 24 min. Změří se výška (*A*) píku *methylhydrokortison-21-hydrogensukcinatu* nad základní linií a výška (*B*) nad základní linií nejnižšího bodu křivky oddělujícího tento pík od píku *methylprednisolonhydrogensukcinatu*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže hodnota *A* je větší než čtyřnásobek hodnoty *B*. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

50,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 243 nm.

Vypočítá se obsah $C_{26}H_{34}O_8$ za použití specifické absorbance, která má hodnotu 316.

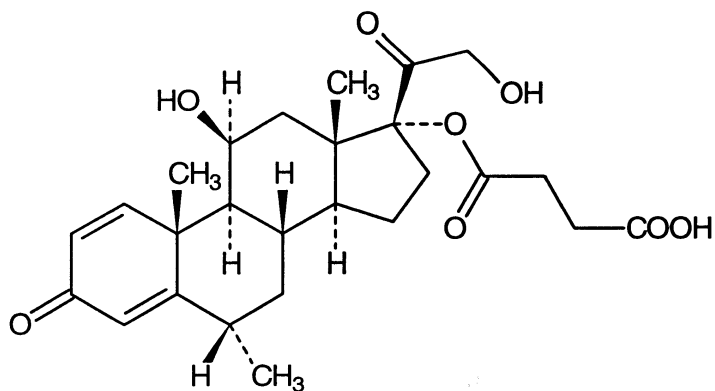
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

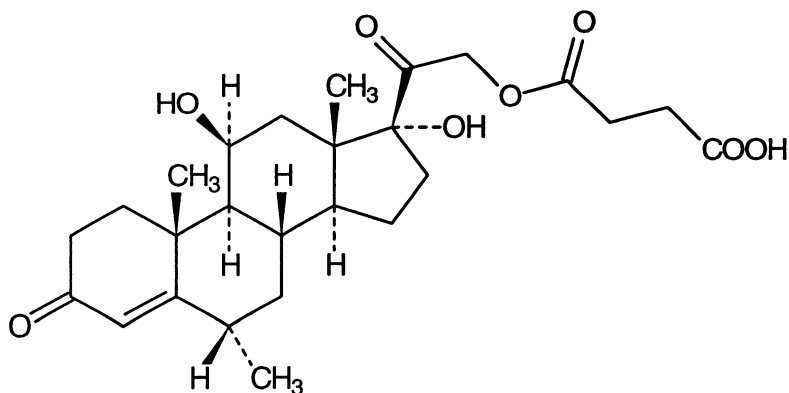
Nečistoty

A. methylprednisolon,



B. methylprednisolon-17-hydrogensukcinat,

C. methylprednisolonacetat,



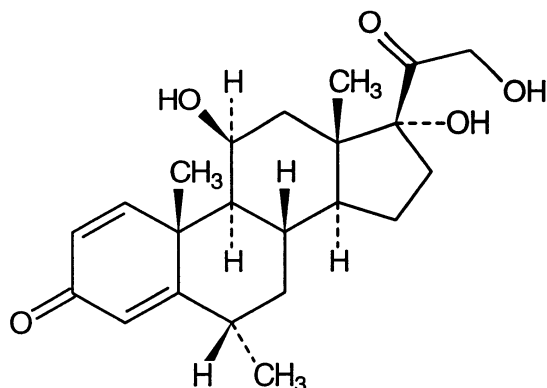
D. methylhydrokortison-21-hydrogensukcinat.

4432 † *Methylprednisolonum*† **Methylprednisolonum**

Methylprednisolon



1999

 $C_{22}H_{30}O_5$ M_r 374,48

CAS 83-43-2

Je to 11 β ,17,21-trihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnen-3,20-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{22}H_{30}O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, těžce rozpustný v acetonu a v dichlormethanu.

Vyukazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *methylprednisolonu CRL*. Pokud se získaná spektra v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství *acetonu R*, odpaří se na vodní lázni do sucha a se zbytky se zaznamenají spektra znovu.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *methylprednisolonu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *hydrokortisonu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se mobilní fázi, kterou je směs objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) smíchaná se směsí objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77), po dráze 15 cm. Provede se druhé vyvíjení směsí objemových dílů *1-butanolu R* nasyceného *vodou R*, *toluenu R* a *etheru R* (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Pak se vrstva postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a 10 min se zahřívá při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, zbarvením při denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 25 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě zkoušeného roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě zkoušeného roztoku (a) se převede do skleněné zabroušené zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se pod proudem dusíku odpaří za opatrného zahřívání. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a suspenze se mechanicky třepe 1 h za ochrany před světlem. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se protřepe s 10 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se nad *síranem sodným bezvodým R*.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *methylprednisolonu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě porovnávacího roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku (a) se převede do skleněné zabroušené zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se pod proudem dusíku odpaří za opatrného zahřívání. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a suspenze se mechanicky třepe 1 h za ochrany před světlem. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se protřepe s 10 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se nad *síranem sodným bezvodým R*.

Na vrstvu se odděleně nanese 5 μ l zkoušeného roztoku (a), 5 μ l porovnávacího roztoku (a), 10 μ l zkoušeného roztoku (b) a 10 μ l porovnávacího roztoku (b) nanesených ve dvou dávkách, aby se získaly malé skvrny a vyvíjí se směsí objemových dílů *1-butanolu R* nasyceného *vodou R*, *toluenu R* a *etheru R* (5 + 10 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu příslušných porovnávacích roztoků. Pak se vrstva postříká *kyselinou sírovou v lihu RS* a 15 min se zahřívá

4434 † *Methylprednisolonum*

při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušeného roztoku polohou, zbarvením v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) mají hodnotu R_F zřetelně vyšší než hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

D. K asi 2 mg se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a třepe se do rozpuštění; během 5 min vznikne intenzivní červené zbarvení. Při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm roztok vykazuje hnědavočervenou fluorescenci. K roztoku se přidá 10 ml *vody R* a promíchá se; zbarvení zmizí a při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm roztok vykazuje žlutozelenou fluorescenci.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +79,0° až +86,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2 mg *methylprednisolonu CRL* a 2 mg *betamethasonu CRL* se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází A na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2,5 ml/min a s lineárním gradientovým programem za použití následujících podmínek:
 - *mobilní fáze A* - v odměrné baňce na 1000 ml se smíchá 250 ml *acetonitrilu R* se 700 ml *vody R*, nechá se ustálit, doplní se *vodou R* na 1000 ml a opět se promíchá,
 - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0	100	0	izokraticky
15	100	0	počátek lineárního gradientu
40	0	100	konec chromatogramu návrat na 100 A
41	100	0	počátek ustalování s A
46 = 0	100	0	konec ustalování, počátek dalšího chromatogramu

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje při 45 °C. Kolona se ustaluje s mobilní fází B při průtokové rychlosti 2,5 ml/min po dobu nejméně 30 min a potom 5 min s mobilní fází A. Pro následující chromatogramy se použijí podmínky popsané mezi 40 min až 46 min. Nastaví se citlivost systému tak,

aby výška hlavního píku na chromatogramu při nastříknutí 20 μ l porovnávacího roztoku (b) činila nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a při zaznamenání chromatogramu za výše popsaných podmínek retenční časy látek jsou: methylprednisolonu asi 11,5 min a betamethasonu asi 12,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky methylprednisolonu a betamethasonu je nejméně 1,5. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi A.

Nastříkne se odděleně po 20 μ l směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *methanolu R* jako slepá zkouška, 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

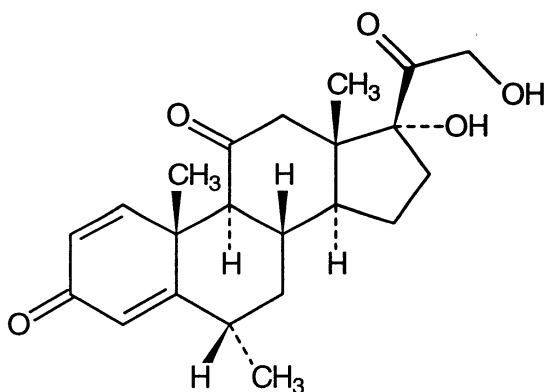
0,100 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 243 nm.

Vypočítá se obsah $C_{22}H_{30}O_5$ za použití specifické absorbance, která má hodnotu 395.

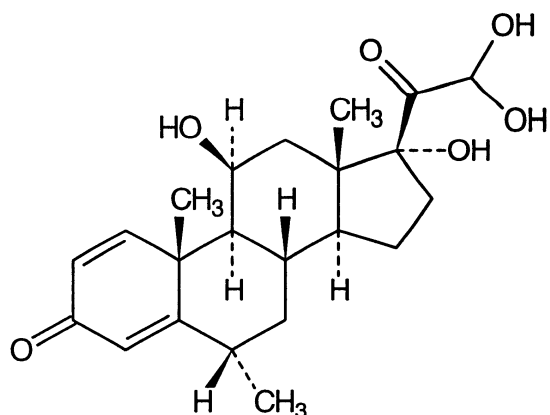
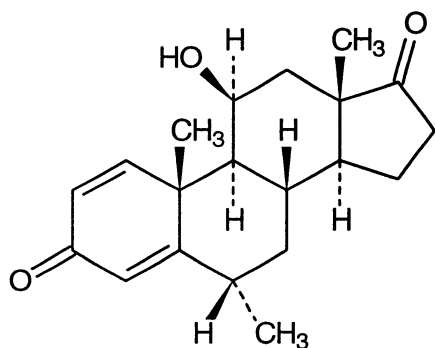
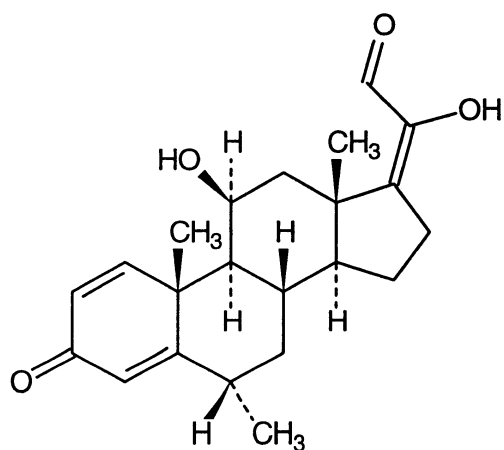
Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty



A. 17,21-dihydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,11,20-trion,

4436 † *Methylprednisolonum*B. 11 β ,17,21,21-tetrahydroxy-6 α -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion,C. 11 β -hydroxy-6 α -methyl-1,4-androstadien-3,17-dion,

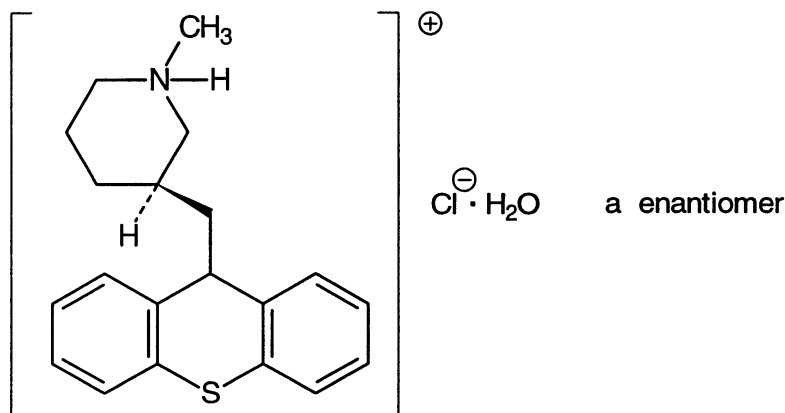
a (Z)-izomer

D. (E) a (Z)-11 β ,20-dihydroxy-6 α -methyl-1,4,17(20)-pregnatrien-3,21-dion.

† *Metixeni hydrochloridum monohydricum* 4437† **Metixeni hydrochloridum monohydricum**

Monohydrát metixeniumchloridu

1999

*Synonymum.* Metixeni hydrochloridum $C_{20}H_{24}ClNS \cdot H_2O$ M_r 363,95

CAS 7081-40-5

Je to monohydrát (*RS*)-1-methyl-3-[(9*H*-thioxanthen-9-yl)methyl]piperidiniumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{20}H_{24}ClNS$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický nebo jemně krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *monohydrátu metixeniumchloridu CRL*.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,40 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_6 (2.2.2, *Metoda I*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,4 až 5,8; bezprostředně po přípravě se měří následující roztok: 0,18 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, je-li potřeba, zahřeje se na asi 50 °C, ochladí se a zředí se stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*. Zkouška se provede za *chránění před světlem*.

4438 † *Metixeni hydrochloridum monohydricum*

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *monohydrátu metixeniumchloridu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *thioxanthenu CRL* se rozpustí v 50 ml *dichlormethanu R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 mg *thioxanthonu CRL* se rozpustí v 50 ml *dichlormethanu R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 4 ml *porovnávacího roztoku (a)* se zředí *dichlormethanem R* na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese do úzkých proužků po 5 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se vysuší v proudu studeného vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny sírové R* a *lihu 96% R* (1 + 9) a zahřívá se 10 min při 100 °C. Po vychladnutí se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající thioxanthenu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu *porovnávacího roztoku (b)* (0,2 %); žádná skvrna odpovídající thioxanthonu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu *porovnávacího roztoku (c)* (0,05 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících thioxanthenu a thioxanthonu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu *porovnávacího roztoku (a)* (0,5 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu *porovnávacího roztoku (d)* (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramech *porovnávacích roztoků (b)* a *(c)* jsou zřetelně viditelné a oddělené skvrny.

Ztráta sušením (2.2.32). 4,0 % až 6,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 138 °C až 142 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a 50 ml *lihu 96% R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). K výpočtu se použije spotřeba hydroxidu sodného zjištěná mezi dvěma inflexními body.

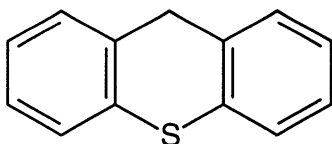
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 34,59 mg $C_{20}H_{24}ClNS$.

Uchovávání

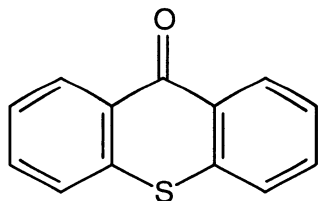
Chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty



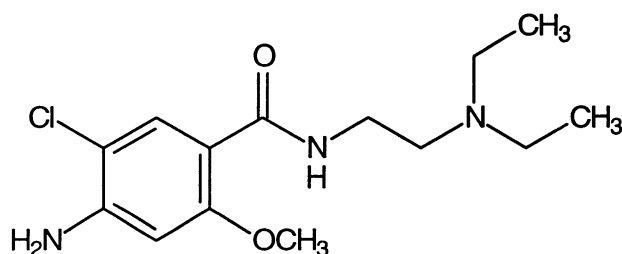
A. 9H-thioxanthen,

† *Metoclopramidum* 4439B. 9*H*-thioxanthen-9-on (thioxanthon).† **Metoclopramidum**

Metoklopramid



1999

 $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ M_r 299,81

CAS 364-62-5

Je to 4-amino-5-chlor-N-(2-diethylaminoethyl)-2-methoxybenzamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v dichlormethanu, mírně až těžce rozpustný v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 145 °C až 149 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety metoklopramidu CRL.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, část A, viz Zkoušky na čistotu. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm před postřikáním dimethylamino-

4440 † *Metoclopramidum*

benzaldehydem RS1. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,5 g se rozpustí v 25 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Čerstvě připravený roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *metoklopramidu CRL* a 10 mg *sulpiridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *2-diethylaminoethylamin R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *dioxanu R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (2 + 10 + 14 + 90) po dráze 12 cm. Vrstva se suší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm (zkouška totožnosti C). Potom se vrstva postříká *dimethylaminobenzaldehydem RS1* a opět se suší na vzduchu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě E (není viditelná v ultrafialovém světle při 254 nm) není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

B. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,2 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *metoklopramidu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 0,1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze připravené takto: 6,8 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 700 ml *vody R*, přidá se 0,2 ml *N,N-dimethyloktylaminu R* a pH roztoku se upraví na hodnotu 4,0 *kyselinou fosforečnou zředěnou RS*, doplní se *vodou R* na 1000 ml a smíchá se s 250 ml *acetonitrilu R*, průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se po 10 µl každého roztoku a citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 2,0. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající osminásobku retenčního času metoklopramidu. Na chro-

matogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a součet ploch všech píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,6 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

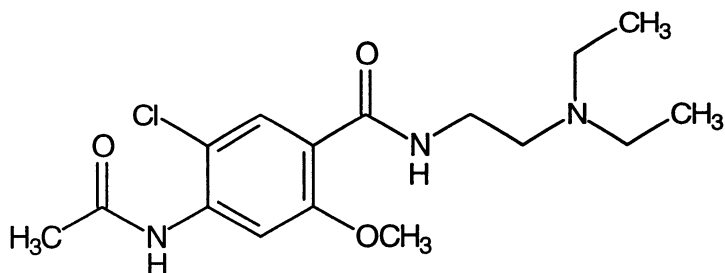
0,250 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové ledové R a přidá se 5 ml acetanhydridu R. Titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 29,98 mg C₁₄H₂₂ClN₃O₂.

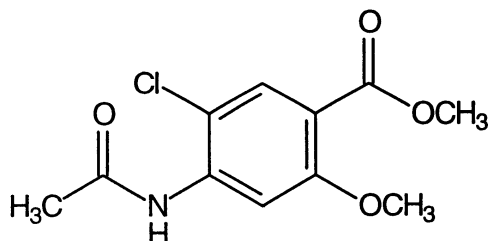
Uchovávání

Separandum.

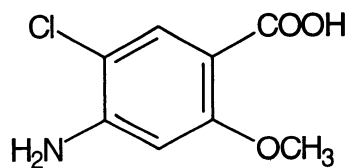
Nečistoty



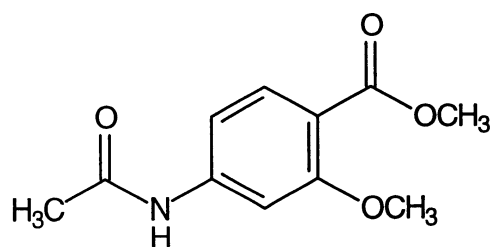
A. 4-acetyl-5-chlor-N-(2-diethylaminoethyl)-2-methoxybenzamid,



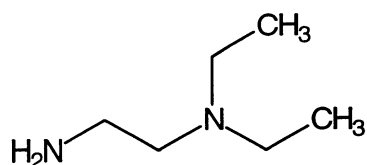
B. methyl-4-acetyl-5-chlor-2-methoxybenzoat,

4442 † *Metoclopramidum*

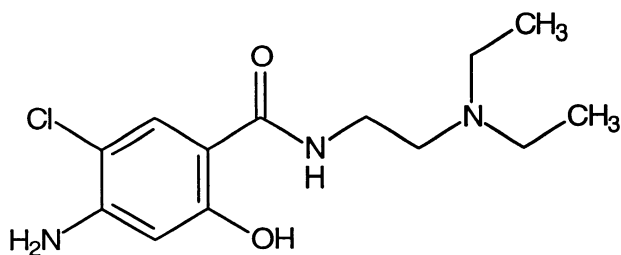
C. kyselina 4-amino-5-chlor-2-methoxybenzoová,



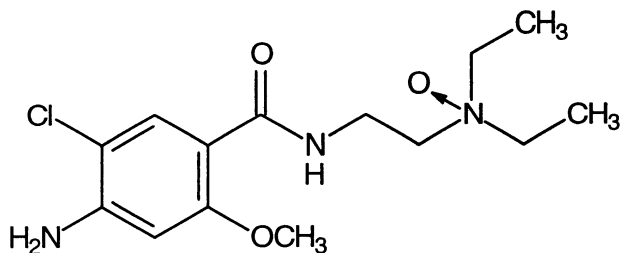
D. methyl 4-acetylamino-2-methoxybenzoat,



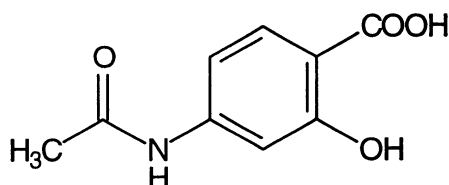
E. 2-diethylaminoethylamin,



F. 4-amino-5-chlor-N-(2-diethylaminoethyl)-2-hydroxybenzamid,



G. N,N-diethyl-[2-(4-amino-5-chlor-2-methoxybenzamido)ethyl]aminoxid,



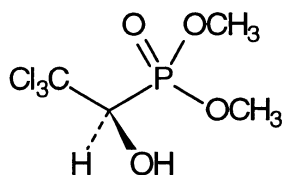
H. kyselina 4-acetylamino-2-hydroxybenzoová.

Metrifonatum

Metrifonat



1999



a enantiomer

$C_4H_8Cl_3O_4P$

M_r 257,44

CAS 52-68-6

Je to dimethyl-(*RS*)-(2,2,2-trichlor-1-hydroxyethyl)fosfonat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_4H_8Cl_3O_4P$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, snadno rozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Taje při 76 °C až 81 °C.

4444 *Metrifonatum***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *metrifonatu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *metrifonatu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *dioxanu R* a *toluenu R* (5 + 25 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *4-(4-nitrobenzyl)pyridinu R* (50 g/l) v *acetonu R* a suší se 15 min při 120 °C. Před ochlazením se postříká roztokem *tetraethylenpentaminu R* (100 g/l) v *acetonu R* a ihned se pozoruje. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, barvou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Asi 20 mg se rozpustí v 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidá se 1 ml *pyridinu R*, protřepe se a 2 min se zahřívá na vodní lázni; horní vrstva se zbarví červeně.

D. K 0,1 g se přidá 0,5 ml *kyseliny dusičné R*, 0,5 ml roztoku *dusičnanu amonného R1* (500 g/l) a 0,1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a zahřívá se 10 min na vodní lázni. Pak se zahřeje k varu a přidá se 1 ml *molybdenanu hexaamonného RS*; vznikne žluté zbarvení nebo žlutá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 5,0 g se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž₇* (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. 2,5 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, zředí se jí na 50 ml a přidá se 0,1 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Optická otáčivost. $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g v *lihu 96% R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. Připraví se směs objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (10 + 90).

Zkoušený roztok. 0,20 g se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Použije se *čerstvě připravený roztok*. 10,0 mg *demethylmetrifonatu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,10 g *dichlorvosu R* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí na 10,0 ml rozpouštěcí směsí. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). Použije se *čerstvě připravený roztok*. Smíchá se 1,0 ml porovnávacího roztoku (a), 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) a 0,025 ml zkoušeného roztoku.

Porovnávací roztok (e). 4,0 ml zkoušeného roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné vhodným oktadecylsilanizovaným silikagelem (10 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok *dihydrogenfosforečnananu draselného R* (1,36 g/l) upraveného na hodnotu pH 2,9 *kyselinou fosforečnou R*,
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 5	90	10
5 - 25	90 → 85	10 → 15
25 - konec	85 → 45	10 → 55

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy po dobu 5 min stejnou směsí mobilních fází, jaká byla použita pro prvních 5 min v gradientovém programu. Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou píky eluovány v následujícím pořadí: demethylmetrifonat, metrifonat a dichlorvos. Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (e) a nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla asi 50 % až 70 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 50 µl porovnávacího roztoku (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem demethylmetrifonatu a píkem metrifonatu je nejméně 3,0 a rozlišení mezi píkem metrifonatu a píkem dichlorvosu je nejméně 4,5.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku a po 50 µl porovnávacího roztoku (a), (b) a (c). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času metrifonatu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku odpovídajícího demethylmetrifonatu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); plocha žádného píku odpovídajícího dichlorvosu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků demethylmetrifonatu a dichlorvosu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %); součet ploch všech těchto píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Chloridy. Nejvýše 500 µg/g. 5,00 g se rozpustí v 30 ml *lihu 96% R* a přidá se směs obsahující 15 ml *kyseliny dusičné R* a 100 ml *vody R*. Titruje se *dusičnanem stříbrným 0,01 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) s použitím stříbrné elektrody.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,01 mol/l VS* odpovídá 0,3546 mg Cl.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve 20 ml *vody R*. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 3,000 g zkoušené látky.

4446 *Metrifonatum***Stanovení obsahu**

0,300 g se rozpustí v 30 ml *lihu 96% R* a přidá se 10 ml *ethanolaminu R* a nechá se stát 1 h při 20 °C až 22 °C. Přidá se ochlazená směs obsahující 15 ml *kyseliny dusičné R* a 100 ml *vody R*; teplota směsi se udržuje na 20 °C až 22 °C. Při této teplotě se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) s použitím stříbrné elektrody.

Vypočítá se obsah $C_4H_8Cl_3O_4P$ v procentech, vztažený na obsah chloridů za použití vzorce:

$$\left[\frac{V_p}{M_p} - \frac{V_{Cl} \cdot 0,1}{M_{Cl}} \right] \cdot 25,74 \cdot 0,1,$$

v němž značí:

V_p - spotřebu dusičnanu stříbrného ve zkoušce stanovení obsahu v mililitrech,

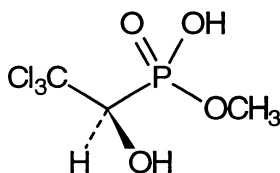
M_p - navážku zkoušené látky ve zkoušce stanovení obsahu v gramech,

V_{Cl} - spotřebu dusičnanu stříbrného ve zkoušce na chloridy v mililitrech,

M_{Cl} - navážku zkoušené látky ve zkoušce na chloridy v gramech.

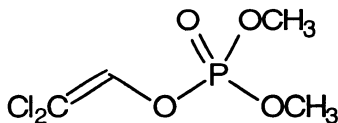
Uchovávání

Chráněn před světlem.

Nečistoty

a enantiomer

A. methyl-hydrogen-(*RS*)-(2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl)fosfonat (demethylmetrifonát),



B. 2,2-dichlorovinyl-dimethylfosfat (dichlorvos).

Millefolii herba

Řebříčková nat'

Synonymum. Herba millefolii



1999

Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky druhu *Achillea millefolium* L. Obsahuje nejméně 2 ml silice v kilogramu drogy a nejméně 0,02 % proazulenů, počítáno jako chamazulen ($C_{14}O_{16}$; M_r 184,3), vztaženo na vysušenou drogu.

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Listy zelené nebo šedozelené, na svrchní straně slabě pýřité, na spodní straně pýřité, dvakrát až třikrát peřenosečné, úkrojky listů čárkovité, ukončené bělavým hrotem, květenství chocholičnaté, koncové, úbory o průměru 3 mm až 5 mm, květní lůžko na obvodu se čtyřmi nebo pěti jazykovitými květy a ve střední části se třemi až dvaceti trubkovitými květy. Zákrov třířadý, listeny kopinaté, pýřité, na okrajích s nahnědlým nebo bílým blanitým lemem. Lůžko je slabě vypouklé, plevkaté, jazykovité květy s korunou bělavou nebo načervenalou, trojzubou. Terčové květy s korunou pětícípou, nažloutlou nebo slabě nahnědlou. Stonky pýřité, zelené, hnědě nebo fialově naběhlé, podélně rýhované, až 3 mm silné, uvnitř vyplněné bělavou dřeninou.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je zelený nebo šedozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky stonků, listů a listenů s roztroušenými žláznatými chlupy s krátkou nohou a dvouřadou tříbuněčnou až pětibuněčnou hlavičkou, krytou měchýřovitou kutikulou, jednořadě krycí chlupy na bázi se čtyřmi až šesti malými, více nebo méně isodiametrickými buňkami, koncová buňka ztlustlá, často zkroucená asi 400 μ m až více než 1000 μ m dlouhá; úlomky pokožky jazykovité koruny s buňkami papilózně vychlípenými; parenchym koruny terčových květů z malých buněk obsahujících drůzy šťavelanu vápenatého; skupiny zdřevnatělých a tečkovaných buněk listenů; kulovitá pylová zrna o průměru asi 30 μ m, se třemi klíčními póry a ostnitou exinou; skupiny sklerenchymatických vláken a malé šroubovitě nebo kruhovitě ztlustlé cévy stonku.
- C. 2,5 ml *dimethylaminobenzaldehydu RS8* se smíchá s 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, a zahřívá se 2 min na vodní lázni. Po ochlazení se přidá 5 ml *etheru petrolejového R* a směs se důkladně protřepe. Vodná vrstva se zbarví modře nebo zelenomodře.
- D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu.

Porovnávací roztok. 10 mg *cineolu R* a 10 mg *guajazulenu R* se rozpustí ve 20 ml *toluenu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS*, suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C a pak se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní části červená skvrna (guajazulen) a ve střední části modrá nebo šedomodrá skvrna (cineol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je fialová skvrna s hodnotou R_F vyšší než hodnota R_F skvrny odpovídající

4448 *Millefolii herba*

guajazulenu na chromatogramu porovnávacího roztoku, pod ní je červenofialová skvrna a pod touto skvrnou jedna nebo dvě nepřilíš zřetelně rozlišené šedofialové až šedé skvrny (jejich zbarvení se mění po několika hodinách na zelenošedé). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je červenofialová skvrna s hodnotou R_F vyšší než hodnota R_F skvrny odpovídající cineolu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Mohou být přítomny další málo výrazné skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g práškové drogy (710) se protřepává 5 min s 25 ml *ethylacetatu R* a pak se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha na vodní lázni a zbytek se rozpustí v 0,5 ml *toluenu R*.

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 5 % stonků o průměru větším než 3 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 0,500 g práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 2,5 %.

Stanovení obsahu

Silice. Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12) ve 1000ml baňce s 20,0 g řezané drogy a 500 ml směsi objemových dílů *vody R* a *ethylenglykolu R* (1 + 9) jako destilační tekutiny; do dělené trubice se přidá 0,2 ml *xylenu R*. Destiluje se 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min.

Po ukončení destilace se přeruší chlazení a v destilaci se pokračuje, dokud modře zbarvená silice nedosáhne spodní části chladiče, pak se ihned zapne chlazení tak, aby nedošlo k zahřátí separačního prostoru. Destiluje se 5 min, pak se 1000ml baňka nahradí 250ml baňkou se směsí 0,4 ml *xylenu R* a 50 ml *vody R* a destiluje se 15 min. Po 10 min po ukončení destilace se odečte celkový objem destilátu. Provede se slepá zkouška se směsí 0,4 ml *xylenu R* a 50 ml *vody R*, do dělené trubice se přidá 0,2 ml *xylenu R*, destiluje se 15 min.

Proazulený. Modře zbarvená směs silice a xylenu ze zkoušky Silice se převede za použití malých dávek *xylenu R* do 50ml odměrné baňky tak, aby byla znečištěna nejmenším možným množstvím vody. Dělená trubice se promyje *xylemem R* a roztok v baňce se zředí *xylemem R* na 50,0 ml. Změří se absorbance (2.2.25) roztoku při 608 nm za použití *xylenu R* jako kontrolní tekutiny.

Vypočítá se obsah proazulenů v procentech, počítáno jako chamazulen ($C_{14}O_{16}$), podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 2,1}{m},$$

v němž značí:

A - absorbanci zkoušeného roztoku při 608 nm,

m - navážku drogy v gramech.

Specifická absorbance chamazulenu je 23,8.

Uchovávání

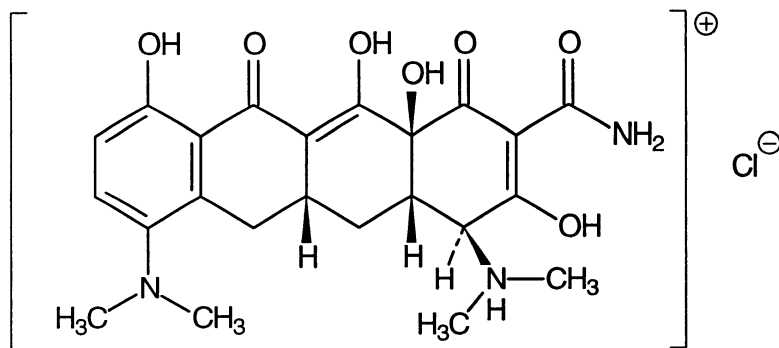
V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

† *Minocyclini hydrochloridum* 4449† **Minocyclini hydrochloridum**

Minocykliniumchlorid



1999

 $C_{23}H_{28}ClN_3O_7$ M_r 493,94

CAS 13614-98-7

Je to (4*S*,4*aS*,5*aR*,12*aS*)-(7-dimethylamino-3,10,12,12*a*-tetrahydroxy-2-karbamoyl-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-oktahydronaftacen-4-yl)dimethylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 102,5 % sloučeniny $C_{23}H_{28}ClN_3O_7$.

Vlastnosti

Žlutý krystalický hygroskopický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů a uhličitánů.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF_{254} pro TLC R. Vrstva se stejnoměrně postříká roztokem edetanu disodného R (100 g/l), jehož pH bylo upraveno hydroxidem sodným koncentrovaným RS na hodnotu 9,0 (asi 10 ml na desku rozměrů 100 mm x 200 mm). Vrstva se suší nejméně 1 h ve vodorovné poloze. Před použitím se vrstva 1 h zahřívá v sušárně při 110 °C.

Zkoušený roztok. 5 mg se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg minocykliniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg minocykliniumchloridu CRL a 5 mg doxycykliniumhyklatu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, methanolu R a dichlormethanu R (6 + 35 + 59) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

4450 † *Minocyclini hydrochloridum*

B. K asi 2 mg se přidá 5 ml *kyseliny sírové R*; vznikne jasně žluté zbarvení. K roztoku se přidá 2,5 ml *vody R*; zbarvení se změní na bledě žluté.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,100 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Vzhled roztoku. 1,0 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 50,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než stupeň 4 porovnávacího barevného roztoku nejvhodnějšího zbarvení (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok S.

Světlo absorbující nečistoty. *Měření se provede do 1 h po přípravě roztoku.* Měří se absorbance (2.2.25) roztoku S při 560 nm; absorbance není vyšší než 0,06.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Nastříknou se odděleně porovnávací roztoky (b) a (c). Nastříkne se zkoušený roztok (a) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající nejméně 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku odpovídajícího 4-epiminocyklinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,2 %); plocha žádného píku nacházejícího se mezi píkem rozpouštědla a píkem 4-epiminocyklinu nebo jakéhokoliv píku na sestupné části hlavního píku není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,2 %) a součet ploch takových píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %).

Těžké kovy (2.4.8). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (50 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 2,5 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 5,0 % až 8,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 1,25 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 12,5 mg *minocycliniumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,2 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *minocykliniumchloridu CRL* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 5 ml. 5 ml tohoto roztoku se 60 min zahřívá na vodní lázni a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí v 25 ml mobilní fáze.

Zkouška se provádí za ochrany před přímým světlem. Roztoky se uchovávají při teplotě 2 °C až 8 °C a použijí se do 3 h od přípravy.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,20 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *edetanu disodného R* (4 g/l), *dimethylformamidu R* a roztoku *šřavelanu amonného R* (28 g/l) (25 + 27 + 50) a jejíž pH bylo upraveno roztokem *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (104 g/l) na hodnotu 7,0, průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm,
- injektorové smyčky, 20 μl.

Nastříkne se porovnávací roztok (d). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma hlavními píky je nejméně 2. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku minocyklinu nejvýše 1,5 % a jestliže počet teoretických pater vypočítaný z píku minocyklinu je nejméně 15 000 na metr. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a).

Obsah $C_{23}H_{28}ClN_3O_7$ se vypočítá v procentech.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

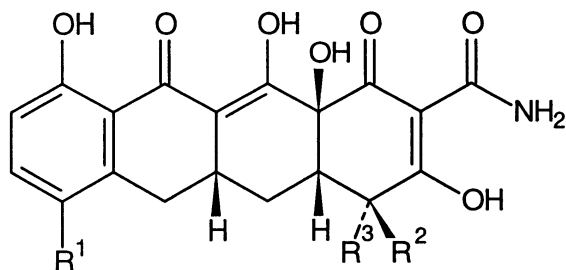
Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty



A. $R^1 = N(CH_3)_2$, $R^2 = H$, $R^3 = N(CH_3)_2$: (4*R*,4*aS*,5*aR*,12*aS*)-4,7-bis(dimethylamino)-3,10,12,12*a*-tetrahydroxy-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-oktahydronaftacen-2-karboxamid (4-epiminocyclin),

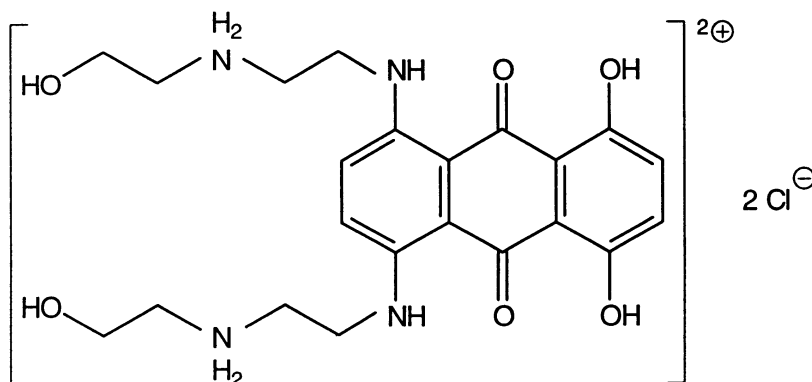
4452 † *Mitoxantroni dihydrochloridum*

- B. $R^1 = H$, $R^2 = N(CH_3)_2$, $R^3 = H$: (4*S*,4*aS*,5*aR*,12*aS*)-4-dimethylamino-3,10,12,12*a*-tetrahydroxy-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-oktahydronaftacen-2-karboxamid (sancyklin),
 C. $R^1 = NHCH_3$, $R^2 = N(CH_3)_2$, $R^3 = H$: (4*S*,4*aS*,5*aR*,12*aS*)-4-dimethylamino-3,10,12,12*a*-tetrahydroxy-7-methylamino-1,11-dioxo-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-oktahydronaftacen-2-karboxamid (7-monodemethylminocyklin).

† **Mitoxantroni dihydrochloridum**

Mitoxantroniumdichlorid

1998

*Synonymum.* Mitoxantroni hydrochloridum $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$ M_r 517,41

CAS 70476-82-3

Je to 1,4-dihydroxy-5,8-bis[2-(2-hydroxyethylamonio)ethylamino]-9,10-dioxo-anthracendi-chlorid. Počítáno na bezvodou a ethanolu prostou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$.

Vlastnosti

Tmavě modrý elektrostatický a hygroskopický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu a prakticky nerozpustný v acetonu.

UPOZORNĚNÍ: *Mitoxantroniumdichlorid a mitoxantron nečistota A jsou elektrostatické. Pro navažování a další manipulaci s nimi se doporučuje použít vhodné antistatické pomůcky.*

Zkoušky totožnosti

- A. 2 mg až 3 mg se rozpustí v 1 ml *methanolu R* zahřátím ve vodní lázni 40 °C až 50 °C teplé a potom se odpaří do sucha proudem dusíku, je-li třeba mírným zahřátím. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. mitoxantroniumdichloridu*.
- B. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Ethanol. Nejvýše 1,6 %. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití 1-propanolu R jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 2,0 ml 1-propanolu R se zředí vodou R na 100 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100 ml.

Zkoušený roztok. 0,100 g se smíchá s 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou R na 5,0 ml. Baňka se umístí na 2 min do ultrazvukové lázně a pak se 2 min protřepává. Pokud je to nutné, opakuje se postup v ultrazvukové lázni a třepání do rozpuštění.

Porovnávací roztok. 2,0 ml ethanolu R se zředí vodou R na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku a 10,0 ml roztoku vnitřního standardu se zředí vodou R na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 2 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 19 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 120 °C, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 175 °C a detektoru na 210 °C.

Nastříkne se 1 µl zkoušeného roztoku a 1 µl porovnávacího roztoku. Retenční časy jsou asi 1 min pro ethanol a asi 2 min pro 1-propanol. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky ethanolu a 1-propanolu nejméně 6. Vypočítá se obsah ethanolu v procentech za použití jeho hustoty při 20 °C (2.2.5), která je 0,790 g/cm³.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 6,0 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v asi 40 ml mobilní fáze, je-li třeba v ultrazvukové lázni, a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg mitoxantroni dichloridu CRL se rozpustí v asi 40 ml mobilní fáze, je-li třeba v ultrazvukové lázni, a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 2,0 mg mitoxantronu nečistoty A CRL se rozpustí v 1,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Porovnávací roztok (d). 1 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 3,0 mm naplněné silikagelem fenylovaným pro chromatografii R (10 µm),

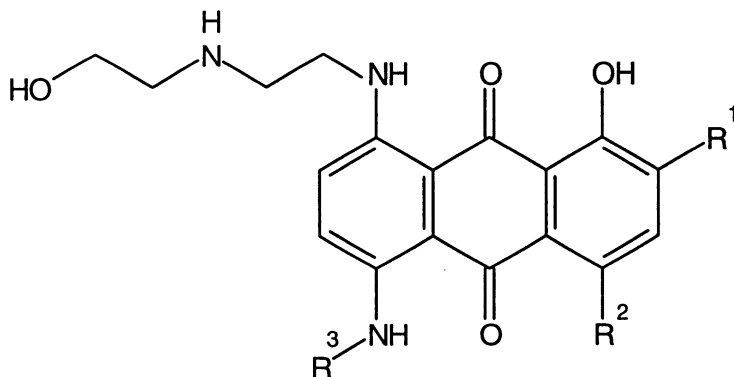
4454 † *Mitoxantroni dihydrochloridum*

- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů vody R, acetonitrilu R a roztoku připraveného takto: 22,0 g *heptansulfonanu sodného R* se rozpustí v asi 150 ml vody R, zfiltruje se přes filtr (0,45 μ m) a filtr se promyje vodou R. Filtrát a promývací kapalina se spojí, přidá se 32,0 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se vodou R na 250 ml (750 + 250 + 25), průtoková rychlost je 3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky.

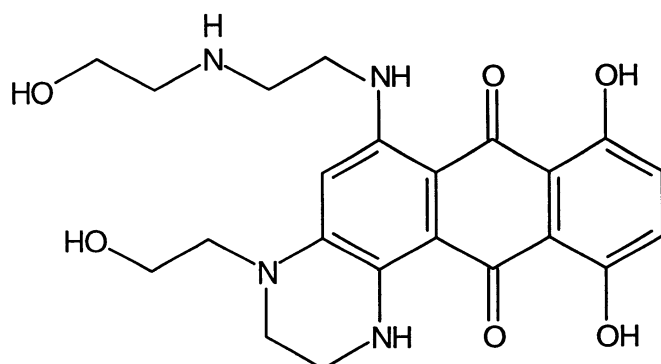
Nastříkne se odděleně po 50 μ l každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 3,0. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času hlavního píku. Vypočítá se obsah $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$ v procentech z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a) a deklarovaného obsahu $C_{22}H_{30}Cl_2N_4O_6$ v *mitoxantroni dichloridu CRL*.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.
Separandum.

Nečistoty

- A. $R^1 = R^3 = H, R^2 = OH$: 1-amino-5,8-dihydroxy-4-[2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino]anthracen-9,10-dion,
 B. $R^1 = R^2 = H, R^3 = CH_2-CH_2-NH-CH_2-CH_2OH$: 5-hydroxy-1,4-bis[2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino]anthracen-9,10-dion,
 C. $R^1 = Cl, R^2 = OH, R^3 = CH_2-CH_2-NH-CH_2-CH_2OH$: 2-chlor-1,4-dihydroxy-5,8-bis[2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino]anthracen-9,10-dion,



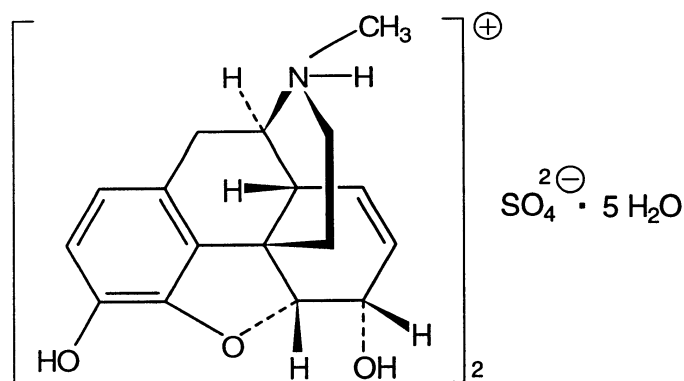
D. 8,11-dihydroxy-4-(2-hydroxyethyl)-6-[2-(2-hydroxyethylamino)ethylamino]-1,2,3,4-tetrahydro-nafto[2,3-f]chinoxalin-7,12-dion.

§§ Morphini sulfas

Morfiniumsulfat



1999



$C_{34}H_{40}N_2O_{10}S \cdot 5H_2O$

M_r 758,82

CAS 6211-15-0

Je to pentahydrát bis(4,5 α -epoxy-3,6 α -dihydroxy-17-methyl-7-morfinenium)sulfátu. Počítáno na bezvodou a ethanolu prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{34}H_{40}N_2O_{10}S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v toluenu.

4456 §§ *Morphini sulfas***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a E.

Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky předem sušené 1 h při 145 °C se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. morfiniumsulfatu*.
- B.** 0,100 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml (roztok *A*). 10,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 100,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 250 nm až 300 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 285 nm, specifická absorbance je 37 až 43. 10,0 ml roztoku *A* se zředí hydroxidem sodným 0,1 mol/l *RS* na 100,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 250 nm až 350 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 298 nm, specifická absorbance je 64 až 72.
- C.** K asi 1 mg upráškované zkoušené látky v porcelánové misce se přidá 0,5 ml kyseliny sírové *R* a 0,05 ml formaldehydu *R*. Vznikne červenofialové zbarvení, které po chvíli přechází na fialové.
- D.** Vyhovuje zkoušce na alkaloidy (2.3.1).
- E.** Vyhovuje zkouškám na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,500 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž*₆ nebo *HŽ*₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10 ml roztoku *S* se přidá 0,05 ml červeně methylové *RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l *VS* nebo kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l *VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). –107° až –110°, počítáno na bezvodou a ethanolu prostou látku; měří se roztok *S*.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu *G R*.

Zkoušený roztok. 0,20 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů lihu 96% *R* a vody *R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg kodeiniumdihydrogenfosfatu *R* se rozpustí v 5 ml zkoušeného roztoku. 0,2 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů lihu 96% *R* a vody *R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,1 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů lihu 96% *R* a vody *R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů lihu 96% *R* a vody *R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů lihu 96% *R* a vody *R* na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů amoniaku 26% *R*, acetonu *R*, lihu *R* 70% (V/V) a toluenu *R* (2,5 + 32,5 + 35 + 35) po dráze 10 cm. Rozpouštědla se smíchají v uvedeném pořadí. Vrstva se usuší v proudu vzduchu, postříká se jodobismutitanem draselným *RS* a opět se suší 15 min v proudu vzduchu. Poté se postříká peroxidem

vodíku zředěným RS. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající kodeinu není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající kodeinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); nejvýše dvě skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny a skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je zřetelně viditelná.

Ethanol (2.4.24). Nejvýše 0,5 %.

Železo (2.4.9). Zbytek ze zkoušky Síranový popel se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (5 µg/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 10,4 % až 13,4 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,500 g se rozpustí ve 120 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 66,88 mg $C_{34}H_{40}N_2O_{10}S$.

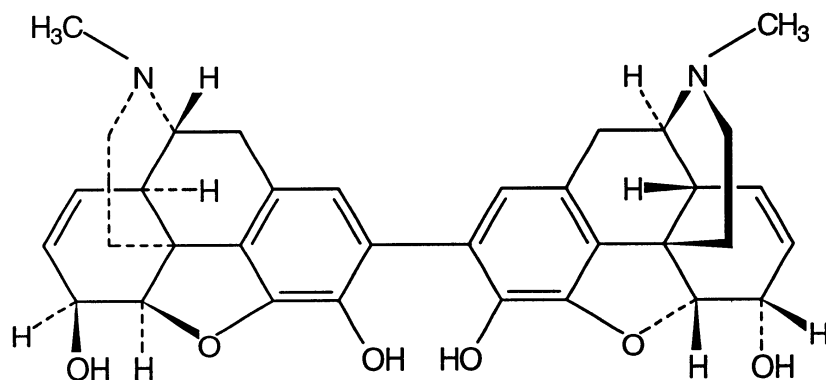
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Omamná látka.

Nečistoty

A. kodein,



B. 2,2'-bimorfin (pseudomorfin),

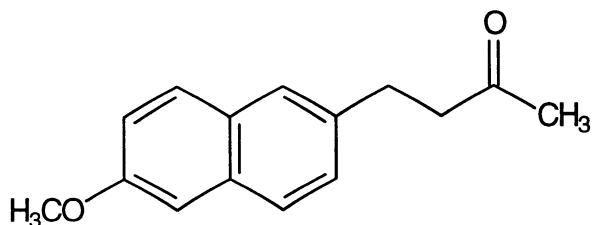
C. morfin-N-oxid.

4458 † *Nabumetonum*† **Nabumetonum**

Nabumeton



1999

 $C_{15}H_{16}O_2$ M_r 228,29

CAS 42924-53-8

Je to 4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-2-butanon. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{15}H_{16}O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v methanolu.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *nabumetonu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinašobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku s relativním retenčním časem 0,3 vztaženým k nabumetonu, odpovídajícího nabumetonu nečistotě F, není větší než šestinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 % nečistoty F, v úvahu se bere relativní odezvový faktor 0,1); součet ploch všech vedlejších píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 50,0 mg se rozpustí v *dichlorethanu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dichlorethanem R* na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dichlorethanem R* na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *nabumetonu CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R* a zředí se jím na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *dichlorethanem R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dichlorethanem R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 4 mg *nabumetonu nečistoty A CRL* se rozpustí v *dichlorethanu R* a zředí se jím na 100 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 5 ml zkoušeného roztoku (b).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je *dichlorethan R*, s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (c). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebyla menší než 70 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas nabumetonu asi 13 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píky nabumetonu a nečistoty A nejméně 3,0. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a).

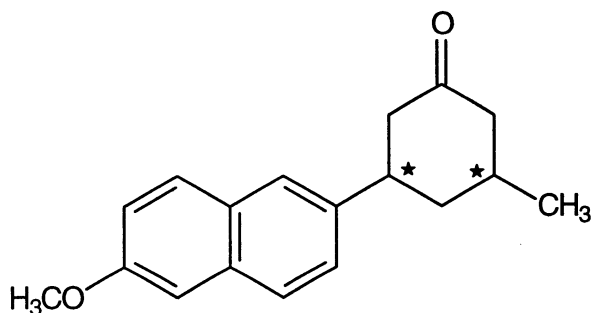
Vypočítá se obsah nabumetonu v procentech za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

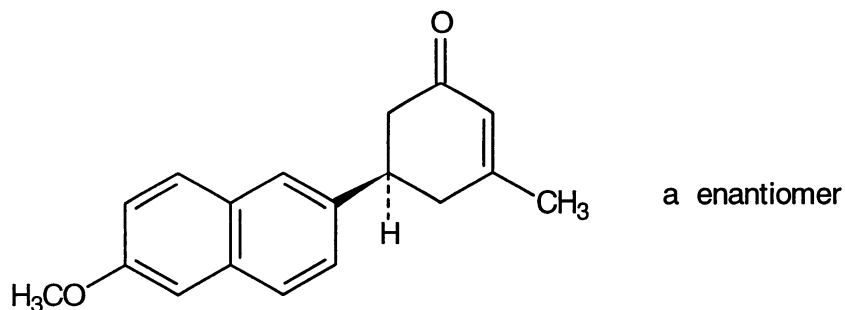
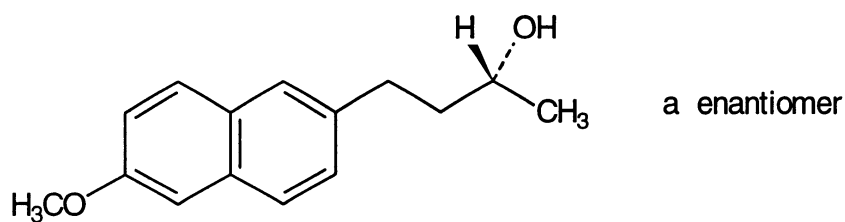
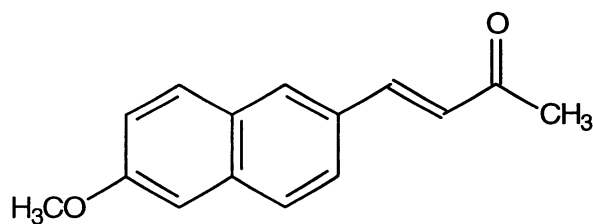
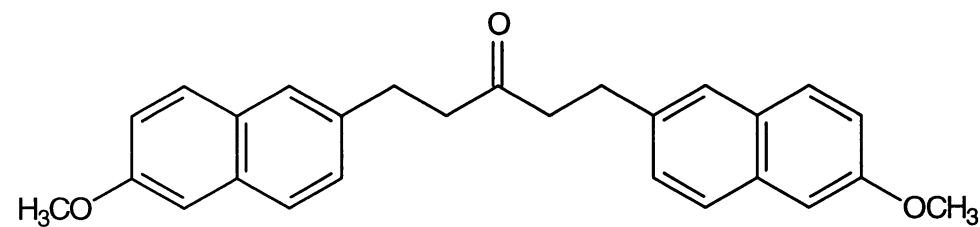
Separandum.

Nečistoty

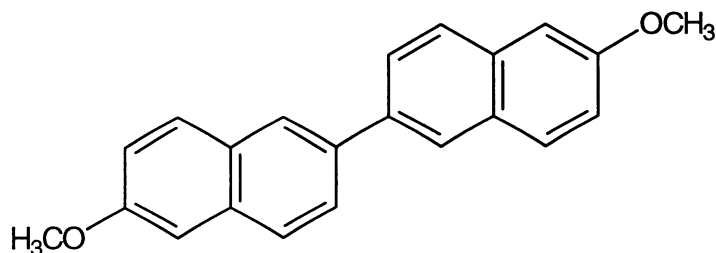


A. 5-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-methylcyclohexanon,

4460 † Nabumetonum

B. (5*RS*)-5-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-methyl-2-cyklohexenon,C. (2*RS*)-4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-2-butanol,D. (*E*)-4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-buten-2-on,

E. 1,5-bis(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-pentanon,

† *Nadroparinum calcicum* 4461

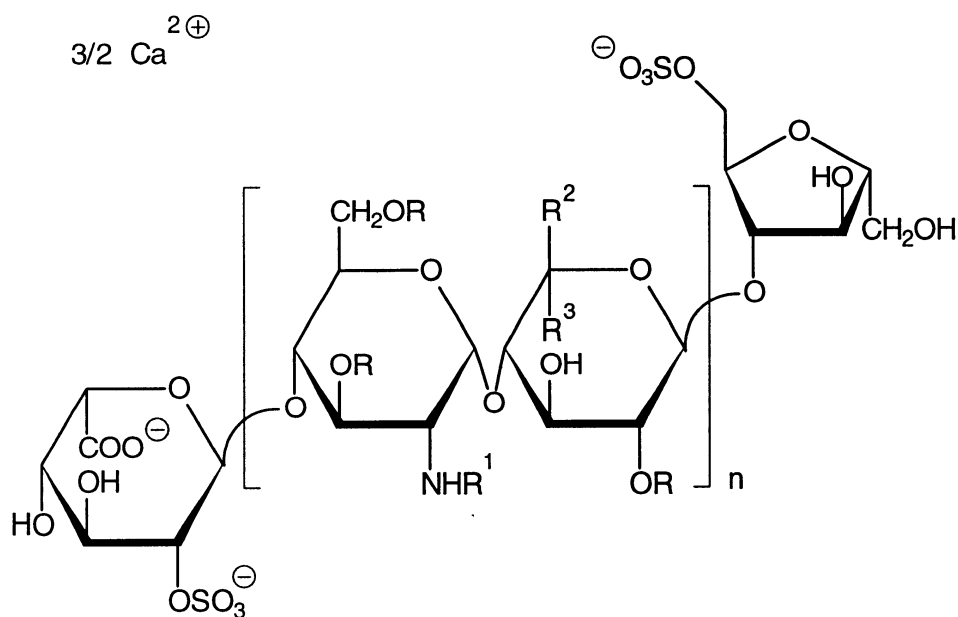
F. 6,6'-dimethoxy-2,2'-binaftyl.

† **Nadroparinum calcicum**

Vápenatá sůl nadroparinu



1999

R = H nebo $\text{SO}_3(\frac{1}{2}\text{Ca})$, R^1 = H nebo $\text{SO}_3(\frac{1}{2}\text{Ca})$ nebo COCH_3 , R^2 = H a R^3 = $\text{COO}(\frac{1}{2}\text{Ca})$ nebo R^2 = $\text{COO}(\frac{1}{2}\text{Ca})$ a R^3 = H.

Je to vápenatá sůl nízkomolekulárního heparinu získaného depolymerizací heparinu z prasečí střešní sliznice kyselinou dusitou a následnou frakcionací k selektivní eliminaci většiny řetězců s molekulovou hmotností nižší než 2000. Většina složek má na neredukujícím konci řetězce strukturu kyseliny 2-O-sulfo- α -L-idopyranosuronové a na redukujícím konci řetězce strukturu 6-O-sulfo-2,5-anhydro-D-mannitolu.

4462 † *Nadroparinum calcicum*

Vyhovuje článku *Heparina massae molecularis minoris* s modifikacemi a dodatečnými následujícími požadavky.

Průměrná molekulová hmotnost se pohybuje mezi 3600 a 5000 s charakteristickou hodnotou asi 4300.

Stupeň sulfatace je asi 2 na disacharidovou jednotku.

Počítáno na vysušenou látku, účinnost je nejméně 95 m.j. až 130 m.j. účinnosti protifaktoru Xa na miligram. Poměr účinnosti protifaktoru Xa k účinnosti protifaktoru IIa je 2,5 až 4,0.

Zkouška totožnosti

Provede se zkouška totožnosti C uvedená v článku *Heparina massae molecularis minoris* s dodatečnými požadavky.

Průměrná molekulová hmotnost se pohybuje mezi 3600 a 5000. Hmotnostní procento řetězců nižších než 2000 je nejvýše 15 %. Hmotnostní procento řetězců mezi 2000 a 8000 se pohybuje mezi 75 % a 95 %. Hmotnostní procento řetězců mezi 2000 a 4000 se pohybuje mezi 35 % a 55 %.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Ethanol. Nejvýše 1,0 %; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28, *Metoda II*) za použití 2-propanolu *R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1,0 ml 2-propanolu *R* se zředí vodou *R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 ml *ethanolu R* se zředí vodou *R* na 100,0 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí vodou *R* na 20,0 ml.

Plnění nádobek. Do čtyř jednotlivých nádobek, které mohou být vzduchotěsně uzavřeny a jsou kompatibilní se vstřikovacím systémem se převede:

- 1,0 ml *vody R* (slepá zkouška),
- 0,50 ml porovnávacího roztoku a 0,50 ml roztoku vnitřního standardu (porovnávací nádobka),
- 10,0 mg zkoušené látky, přidá se 1,0 ml *vody R* (zkušební nádobka A),
- 10,0 mg zkoušené látky, přidá se 0,50 ml *vody R* a 0,50 ml roztoku vnitřního standardu (zkušební nádobka B).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- niklové kolony délky 1,5 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R* (150 μm až 180 μm),
- *helium pro chromatografii R* nebo *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 150 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C. Každá nádobka se uvede do rovnovážného stavu v head-space systému za 15 min při 90 °C. Doba tlakování před nástřikem je 1 min.

Na chromatogram roztoku z porovnávací nádoby jsou dva píky, které odpovídají podle pořadí vzrůstajícího retenčního času ethanolu a 2-propanolu (s retenčními časy přibližně 2,5 min a 4 min). Obsah ethanolu ve zkoušené látce se vypočítá za použití hustoty, jejíž hodnota činí 0,792 g/cm³ při 20 °C.

N-NO skupiny. Nejvýše 0,25 µg/g; stanoví se po rozštěpení N-NO vazby kyselinou bromovodíkovou v ethylacetatu pod zpětným chladičem a stanovením uvolněného NO chemiluminiscencí.

Popis přístroje, viz obrázek 1 s popisem.

Použije se 500ml baňka s kulatým dnem z borokřemičitého skla, na níž je připojen chladič a která je opatřena:

- na jedné straně spojkou torion, kterou může být zaváděn kanylou proud *argonu R*,
- na druhé straně šroubovou spojkou opatřenou ventilem se septem, kterým se vstřikuje porovnávací roztok a zkoušený roztok.

Baňka s kulatým dnem je připojena k řadě za sebou spojených tří probublávacích odlučovačů, které jsou připojeny ke dvěma vymrazovacím odlučovačům spojeným otočným uzávěrem s chemiluminiscenčním detektorem. Vhodnými dobře těsnícími trubičkami je zajištěno spojení.

Příprava chemiluminiscenčního detektoru.

Chemiluminiscenční detektor se zapne 48 h před použitím a zapne se vakuová pumpa. Vakuum musí být nižší než 0,5 mm rtuti. Jednu hodinu před použitím se otevře kyslíkový ventil pod tlakem 0,2 MPa a průtokovou rychlostí 9,4 ml/min.

Příprava probublávacího odlučovače. Do každého probublávacího odlučovače se přenese 30 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (300 g/l) ve *vodě R*.

Příprava vymrazovacího odlučovače.

Odlučovač při $-120\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kapalný dusík se pomalu přidává do termosky obsahující 250 ml *ethanolu R* za míchání dřevěným míchadlem, dokud nevznikne pasta. Chladný odlučovač se umístí do připravené termosky, jak je popsáno.

Odlučovač při $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kapalný dusík se pomalu přidává do termosky obsahující 250 ml *2-methylbutanu R* za míchání dřevěným míchadlem, dokud nevznikne pasta. Chladný odlučovač se umístí do připravené termosky, jak je popsáno.

Sušení 500ml baňky s kulatým dnem z borokřemičitého skla a chladiče. 50 ml *ethylacetatu R* se vaří pod zpětným chladičem 1 h pod *argonem R* bez spojení systému s chemiluminiscenčním detektorem.

Zkoušený roztok. Zkoušená látka se suší 12 h nad *oxidem fosforečným R* při $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ ve vakuu. 0,10 g upravené zkoušené látky se rozpustí v 1,0 ml *formamidu upraveném RS*. Získaný roztok se třepe 30 min.

Porovnávací roztok. 0,1 ml *nitrosodipropylaminu RS* se zředí *ethanolem R* na 6,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí *formamidem upraveným RS* na 1,0 ml. (Tento roztok odpovídá 0,05 µg N-NO skupin/ml).

50 ml *ethylacetatu upraveného RS* se přemístí do 500ml baňky s kulatým dnem z borokřemičitého skla opatřené septem. Baňka s kulatým dnem se připojí k chladiči, který byl před tím chlazen 2 h při $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Připojí se kanyla pro zavádění *argonu R* a upraví se průtoková rychlost na 0,1 l/min.

Zkontroluje se těsnost systému. Jen přípojka k chemiluminiscenčnímu detektoru se nechá otevřená pro odstranění přebytečného tlaku.

Ethylacetat upravený RS se zahřeje k varu.

Systém se evakuuje pomalým otáčením ventilu chemiluminiscenčního detektoru. Současně se uzavře přívod chemiluminiscenčního detektoru.

Když je systém v rovnováze, vakuum dosahuje 4 mm sloupce rtuti.

Signál seřizovače nuly na chemiluminiscenčním detektoru se nastaví na 10 % rozsahu stupnice zapisovače. Skrz septum 500ml baňky s kulatým dnem z borokřemičitého skla se postupně za sebou vstříkne 0,5 ml *vody R*, 2,0 ml *kyseliny bromovodíkové zředěné RS* a potom další 2,0 ml *kyseliny bromovodíkové zředěné RS* pro ubezpečení, že pisátko zapisovače se vrátilo na základní linii mezi každým vstříkem.

Nastříkne se 50,0 µl porovnávacího roztoku a po vrácení pisátka zapisovače na základní linii 50,0 µl zkoušeného roztoku.

Vypočítá se obsah N-NO skupin zkoušené látky.

4464 † *Nadroparinum calcicum*

Volné sírany. Nejvýše 0,5 %; provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití přístroje s vodivostním detektorem.

Zkoušený roztok. 30,0 mg zkoušené látky se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

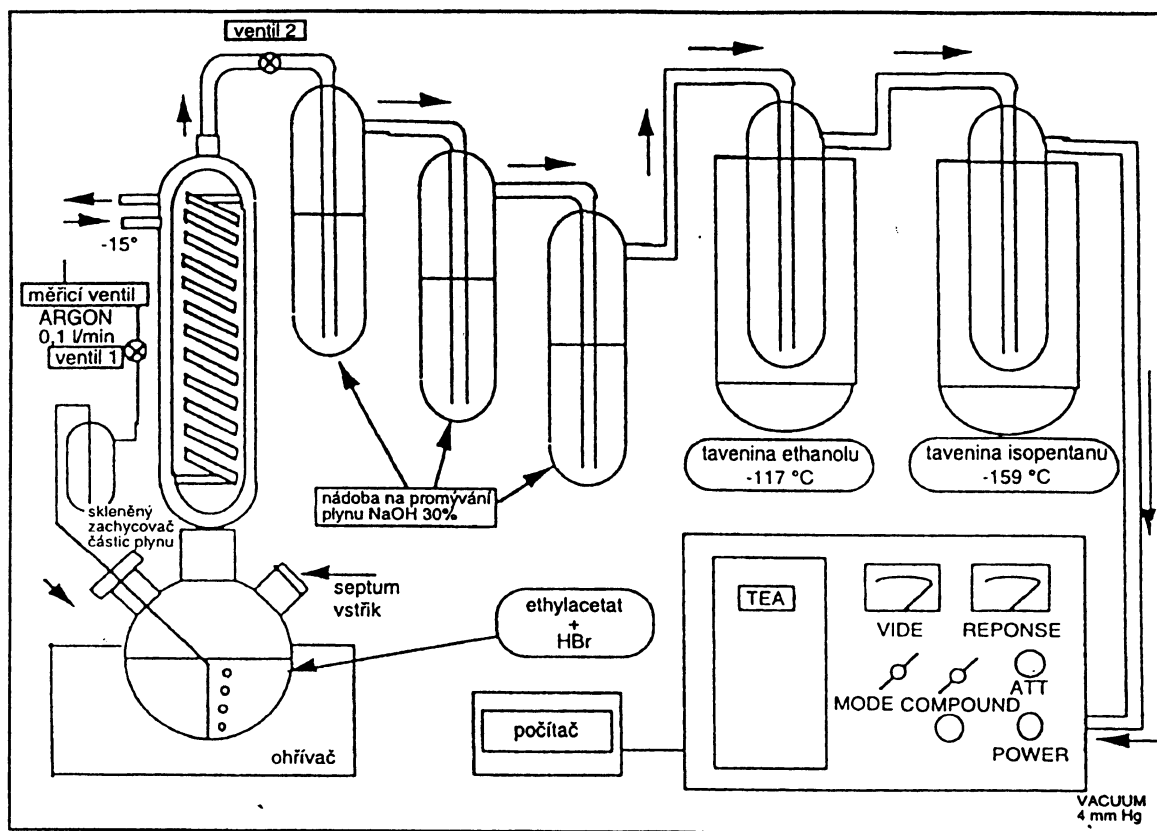
Porovnávací roztok. 1,4787 g síranu sodného bezvodého R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou destilovanou R na 200,0 ml (5 µg SO₄/ml).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- aniontové dělicí kolony délky 50 mm a vnitřního průměru 4,6 mm,
- chemického neutralizačního systému: neutralizační mikromembrána v řadě s mobilní fází pro detekci aniontů,
- promývání roztokem 1,91 g *tetraboritanu sodného R* v 1000 ml *vody R* jako mobilní fází po dobu 15 min. 100% výměna *hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS* během 0,5 min, kterým se vymývá po dobu 10 min. Počáteční podmínky se vrátí během 0,5 min. Průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- detektoru s citlivostí 30 µS.

Chemický neutralizační systém se čerpá nepřetržitě v protiproudu s roztokem *kyseliny sírové R* (2,45 g/l) s průtokovou rychlostí 4 ml/min.

Nastříkne se 50 µl každého roztoku. Chromatogram porovnávacího roztoku vykazuje hlavní pík, který odpovídá síranovému iontu (retenční čas asi 7,5 min). V případě nutnosti se složení mobilní fáze upraví pro dosažení předepsaného retenčního času. Vypočítá se obsah síranů zkoušené látky.



Obr. 1. Přístroj na stanovení N-NO skupin

Přístroj na stanovení N-NO skupin

Probublávací odlučovač. Výška 24 cm, vnitřní průměr 2,5 cm, délka vnitřní trubice 23 cm s vnitřním průměrem 0,5 cm. Centrální umístění objímkou Rotulex. Opatřen spojkami torion na přívodu a odvodu.

Chemiluminiscenční detektor.

Vymrazovací odlučovač. Výška 16,5 cm, vnitřní průměr 4 cm, vnitřní trubice délky 14 cm s vnitřním průměrem 1,3 cm. Opatřen je spojkami torion na přívodu a odvodu.

Chladič. Výška 21 cm, vnitřní průměr 3 cm. Spodní spojka rodavis a horní spojka torion.

Nádoba. Baňka s kulatým dnem z borokřemičitého skla opatřená centrální spojkou rodavis, spojkou torion na levém hrdle a šroubovou spojkou 15 na pravém hrdle.

Izotermická nádoba. Vnitřní hloubka 22 cm, vnitřní průměr 8 cm.

Septum. Silikonový materiál, průměr 14 mm, tloušťka 3,5 mm.

Spojka torion.

Materiál na spojování trubic. Polytetrafluoroethylenové hadice, vnitřní průměr 3,2 mm, tloušťka 0,8 mm.

Natrii alginas

Natriumalginat

Synonymum. Sodná sůl kyseliny alginové



1999

CAS 9005-38-3

Je to převážně sodná sůl kyseliny alginové, která je směsí polyuronových kyselin $(C_6H_8O_6)_n$ tvořených zbytky kyseliny D-mannuronové a kyseliny L-gulonové. Látka se získává především z řas rodu *Phaeophyceae*.

Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutohnědý prášek. Je pomalu rozpustný ve vodě za tvorby viskózního koloidního roztoku, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru.

Zkoušky totožnosti

- 0,2 g se rozpustí protřepáváním ve 20 ml vody R. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml chloridu vápenatého RS; vznikne objemná rosolovitá hmota.
- K 10 ml roztoku ze zkoušky A se přidá 1 ml kyseliny sírové zředěné RS; vznikne rosolovitá hmota.
- K 5 mg se přidá 5 ml vody R, 1 ml čerstvě připraveného roztoku 1,3-dihydroxynaftalenu R (10 g/l) v lihu 96% R a 5 ml kyseliny chlorovodíkové R. Roztok se 3 min vaří, ochladí se, přidá se 5 ml vody R a protřepe se s 15 ml diisopropyletheru R. Současně se provede slepá zkouška. Horní vrstva je intenzivněji modročerveně zbarvená než vrstva získaná při slepé zkoušce.

4466 *Natrii alginas*

D. Zbytek ze zkoušky Síranový popel, viz Zkoušky na čistotu, se rozpustí ve 2 ml vody R; roztok vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,10 g se za stálého míchání rozpustí ve vodě R, zředí se jí na 30 ml a nechá se 1 h stát.

Vzhled roztoku. 1 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji, než je intenzita 6 porovnávacího roztoku nejpodobnější barvy (2.2.2, Metoda II).

Chloridy. Nejvýše 1,0 %. Ke 2,50 g se přidá 50 ml kyseliny dusičné zředěné RS, 1 h se protřepává a zředí se kyselinou dusičnou zředěnou RS na 100,0 ml. Zfiltruje se a k 50,0 ml filtrátu se přidá 10,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS a 5 ml toluenu R. Přidají se 2 ml síranu amonno-železitého RS2 jako indikátor a titruje se za silného protřepávání před koncem titrace thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 3,545 mg Cl.

Vápník. Nejvýše 1,5 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v 50 ml amoniaku zředěného RS2 zahřátím na vodní lázni. Nechá se zchladnout a zředí se vodou destilovanou R na 100,0 ml (roztok a). 3,0 ml roztoku (a) se zředí vodou destilovanou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se tři porovnávací roztoky stejným způsobem jako zkoušený roztok, ale ke 3,0 ml roztoku (a) se přidá 0,75 ml, 1,0 ml a 1,5 ml základního roztoku vápníku (100 µg Ca/ml).

Nulová poloha přístroje se nastaví za použití směsi objemových dílů amoniaku zředěného RS2 a vody destilované R (1,5 + 98,5). Měří se absorbance při 422,7 nm za použití vápnické lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 0,1000 g se 4 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

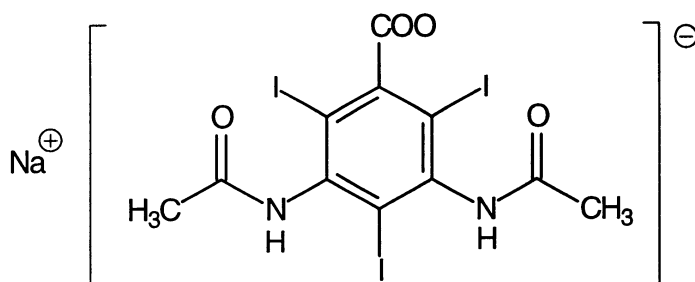
Síranový popel (2.4.14). 30,0 % až 36,0 %, počítáno na vysušenou látku. Stanoví se s 0,1000 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Celkový počet živých aerobních mikroorganismů je nejvýše 10³ v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

† **Natrii amidotrizoas**

Natriumamidotrizoat

1999

*Synonymum.* Sodná sůl kyseliny amidotrizoové $C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$ M_r 635,90

CAS 737-31-5

Je to natrium-3,5-bis(acetamido)-2,4,6-trijodbenzoat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

Taje při asi 261 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *natrium amidotrizoatu* CRL. Zkouší se látky sušené 3 h při 100 °C až 105 °C.
- B. Hodnotí se chromatogramy ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- C. 50 mg se mírně zahřeje v malé porcelánové misce nad otevřeným plamenem; vyvíjejí se fialové páry.
- D. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20 ml.

Vzhled roztoku. 1 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

4468 † *Natrii amidotrizoas***Hodnota pH (2.2.3).** 7,5 až 9,5; měří se roztok S.**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF₂₅₄ R*. *Roztoky se připravují za tlumeného světla a při vyvíjení se chromatogramy chrání před světlem.**Zkoušený roztok (a).* 0,50 g se rozpustí v roztoku *amoniaku 17,5% R (3 % (V/V))* v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.*Zkoušený roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí roztokem *amoniaku 17,5% R (3 % (V/V))* v *methanolu R* na 10 ml.*Porovnávací roztok (a).* 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí roztokem *amoniaku 17,5% R (3 % (V/V))* v *methanolu R* na 50 ml.*Porovnávací roztok (b).* 50 mg *natriumamidotrizoatu CRL* se rozpustí v roztoku *amoniaku 17,5% R (3 % (V/V))* v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *2-butanonu R* a *toluenu R* (20 + 25 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se suší do vytěkání rozpouštědel a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %).

Volné aromatické aminy. *Roztoky a zkoumadla se udržují ve vodě s ledem chráněny před světlem.* 0,50 g se naváží do odměrné baňky na 50 ml, přidá se 15 ml *vody R*, protřepe se, přidá se 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a ochladí se ve vodě s ledem. Ke směsi se přidá 5 ml čerstvě připraveného roztoku *dusitanu sodného R* (5 g/l) a 12 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Opatrně se protřepe a nechá se stát přesně 2 min po přidání *kyseliny chlorovodíkové*. Potom se přidá 10 ml roztoku *amidosíranu amonného R* (20 g/l). Nechá se stát 5 min za častého protřepání, pak se přidá 0,15 ml roztoku *1-naftolu R* (100 g/l) v *lihu 96% R*, protřepe se a nechá se stát dalších 5 min. Potom se přidá 3,5 ml *tlumivého roztoku o pH 10,9*, promíchá se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml. Absorbance roztoku (2.2.25) měřená při 485 nm do 20 min po přípravě proti kontrolní tekutině připravené současně za stejných podmínek bez zkoušené látky je nejvýše 0,30.**Volný jod a jodidy.** Nejvýše 50 µg/g. 1,0 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 10 ml. Po kapkách se přidává *kyselina dusičná zředěná RS*, dokud vzniká sraženina a navíc se přidají 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*. Směs se zfiltruje a sraženina se promyje 5 ml *vody R*. Ke spojenému filtrátu s promývací tekutinou se přidá 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*, 1 ml *dichlormethanu R* a protřepe se. Spodní vrstva není intenzivněji zbarvena než porovnávací roztok připravený současně stejným způsobem za použití směsi 5 ml *základního roztoku jodidu (10 µg I/ml)*, 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 15 ml *vody R*.**Těžké kovy (2.4.8).** 4 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije *základní roztok olova (2 µg Pb/ml)*.**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 11,0 %; stanoví se s 0,400 g zkoušené látky.**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

K 0,150 g ve varné baňce na 250 ml se přidá 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a několik varných kuliček. Směs se vaří 30 min pod zpětným chladičem, pak se ochladí a chladič se promyje 20 ml *vody R*, které se přidají do baňky. Obsah baňky se

zfiltruje přes filtr ze slinutého skla a filtr se promyje několikrát vodou R. Ke spojenému filtrátu s promývací tekutinou se přidá 40 ml kyseliny sírové zředěné RS a ihned se titruje dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) a použití vhodného systému elektrod, např. stříbrná-merkurosulfátová elektroda.

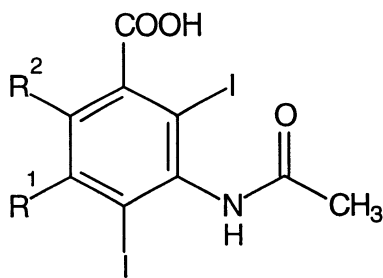
1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 21,20 mg $C_{11}H_8I_3N_2NaO_4$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Separandum.

Nečistoty



A. $R^1 = NH_2$; $R^2 = I$: kyselina 3-acetamido-5-amino-2,4,6-trijodbenzoová,

B. $R^1 = NHCOCH_3$; $R^2 = H$: kyselina 3,5-bis(acetamido)-2,4-dijodbenzoová.

Natrii cetylo- et stearylosulfas

Cetylstearylsíran sodný



1999

CAS 59186-41-3

Je to směs cetylsíranu sodného ($C_{16}H_{33}NaO_4S$, M_r 344,48) a stearylsíranu sodného ($C_{18}H_{37}NaO_4S$, M_r 372,54). Počítáno na bezvodou látku, obsahuje nejméně 90,0 % cetylstearylsíranu sodného a nejméně 40,0 % cetylsíranu sodného. Může být přidána vhodná tlumivá látka.

Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý amorfni nebo krystalický prášek, rozpuštěním v horké vodě vzniká opalizující roztok. Je prakticky nerozpustný ve studené vodě, částečně rozpustný v lihu 96%.

4470 *Natrii cetylo- et stearylosulfas***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: B, D a F.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D, E a F, viz Obecné zásady (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvná chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 10 ml lihu 70% (V/V) R.

Porovnávací roztok. 50 mg cetylstearylsíranu sodného CRL se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 10 ml lihu 70% (V/V) R.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, acetonu R a methanolu R (20 + 40 + 40) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem kyseliny fosfomolybdenové R (50 g/l) v lihu 96% R a zahřívá se při 120 °C do objevení skvrn (asi 3 h). Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční časy dvou hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (c) jsou shodné s retenčními časy dvou hlavních píků na chromatogramech porovnávacího roztoku.

C. 0,1 g se rozpustí v 10 ml vody R a protřepe se; vytvoří se pěna.

D. Zkoušená látka barví nesvitivý plamen žlutě.

E. K 0,1 ml roztoku, připraveného ve zkoušce totožnosti C se přidá 0,1 ml roztoku modři methylenové R (1 g/l), 2 ml kyseliny sírové zředěné RS a 2 ml dichlormethanu R a protřepe se; dichlormethanová vrstva se zbarví intenzivně modře.

F. Asi 10 mg se smíchá s 10 ml ethanolu R, za častého protřepávání se zahřeje na vodní lázni k varu, ihned se zfiltruje a odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 7 ml vody R, přidají se 3 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a roztok se odpaří na poloviční objem. Po vychladnutí se zfiltruje. K filtrátu se přidá 1 ml chloridu barnatého RS1; vznikne bílá krystalická sraženina.

Zkoušky na čistotu

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 0,5 g se zahřátím rozpustí ve směsi 10 ml vody R a 15 ml lihu 90% (V/V) R. Přidá se 0,1 ml fenolftaleinu RS1; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS; roztok je červený.

Chlorid sodný a síran sodný. Nejvýše 8,0 %.

Chlorid sodný. 5,00 g se rozpustí v 50 ml vody R, po kapkách se přidává kyselina dusičná zředěná RS do neutrální reakce na papír lakmusový modrý R, přidají se 2 ml chromanu draselného RS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 5,844 mg NaCl.

Síran sodný. 0,500 g se rozpustí, je-li třeba, mírným zahřátím ve 20 ml vody R, přidá se 1 ml roztoku dithizonu R (0,5 g/l) v acetonu R. Pokud je roztok červený, přidává se po kapkách kyselina dusičná 1 mol/l RS, dokud se roztok nezbarví modrozeleně. Přidají se 2,0 ml kyseliny dichloroctové RS a 80 ml acetonu R. Titruje se dusičnanem olovnatým 0,01 mol/l VS do stálého oranžovočerveného zbarvení.

1 ml dusičnanu olovnatého 0,01 mol/l VS odpovídá 1,420 mg Na₂SO₄.

Volný cetylstearyl alkohol. Nejvýše 4,0 %; hodnotí se chromatogram zkoušeného roztoku (a), viz Stanovení obsahu.

Obsah volného cetylstearylalkoholu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$S \cdot \frac{100 \cdot m_H}{S_{Ha(\text{corr})} \cdot m},$$

v němž značí:

S - součet ploch píků cetylalkoholu a stearylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

m_H - navážku přidaného vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném roztoku (a),

$S_{Ha(\text{corr})}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

m - navážku cetylstearylsíranu sodného v miligramech použitého při přípravě zkoušeného roztoku (a).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

Roztok vnitřního standardu. 0,20 g heptadekanolu CRL se rozpustí v ethanolu R a zředí se jím na 50 ml. *Zkoušený roztok (a).* 0,300 g se rozpustí v 50 ml ethanolu R, přidají se 2 ml roztoku vnitřního standardu a 48 ml vody R. Čtyřikrát se protřepe vždy s 25 ml pentanu R a přidá se chlorid sodný R, pokud je to nezbytné k usnadnění oddělení vrstev. Organické vrstvy se spojí a vodně-lihová vrstva se uschová pro přípravu zkoušených roztoků (c) a (d). Organická vrstva se dvakrát promyje vždy se 30 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltruje se.

Zkoušený roztok (b). 0,300 g se rozpustí v 50 ml ethanolu R a přidá se 50 ml vody R. Čtyřikrát se protřepe vždy s 25 ml pentanu R a přidá se chlorid sodný R, pokud je to nezbytné k usnadnění oddělení vrstev. Spojené organické vrstvy se promyjí dvakrát vždy se 30 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltrují se.

Zkoušený roztok (c). 25 ml vodně-lihové vrstvy získané při přípravě zkoušeného roztoku (a) se převede do 200ml baňky, ke které lze připojit zpětný chladič. Přidá se 20 ml kyseliny chlorovodíkové R, 10 ml roztoku vnitřního standardu a vaří se 2 h pod zpětným chladičem. Po vychladnutí se protřepe čtyřikrát vždy s 20 ml pentanu R. Spojené organické vrstvy se promyjí dvakrát vždy s 20 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltrují se.

Zkoušený roztok (d). 25 ml vodně-lihové vrstvy získané při přípravě zkoušeného roztoku (a) se převede do 200ml baňky, ke které lze připojit zpětný chladič. Přidá se 20 ml kyseliny chlorovodíkové R, 10 ml ethanolu R a vaří se 2 h pod zpětným chladičem. Po vychladnutí se protřepe čtyřikrát vždy s 20 ml pentanu R. Spojené organické vrstvy se promyjí dvakrát vždy s 20 ml vody R, vysuší se síranem sodným bezvodým R a zfiltrují se.

Porovnávací roztok. 50 mg cetylalkoholu CRL a 50 mg stearylalkoholu CRL se rozpustí v ethanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Chromatografický postup se provádí za použití:

- kapilární kolony z křemenného skla délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou polydimethylsiloxanem R nebo jinou vhodnou polární fází,
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1 : 100.
s následujícím teplotním programem:

4472 *Natrii cetylo- et stearylosulfas*

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
Kolona Nástřikový prostor Detektor	0 - 20	150 → 250 250 250	5	lineární gradient

Látky se eluují v následujícím pořadí: cetylalkohol, heptadekanol (vnitřní standard) a stearylalkohol.

Korekce interference. Odděleně se nastříkne 1 µl zkoušeného roztoku (a) a 1 µl zkoušeného roztoku (b). Pokud na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) je pík při stejném retenčním čase jako pík vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), vypočítá se poměr podle vzorce:

$$r = \frac{S_{ci}}{S_i}$$

v němž značí:

S_{ci} - plochu píku cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b),

S_i - plochu píku se stejným retenčním časem jako pík vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Pokud je r menší než 300, počítá se korigovaná plocha $S_{Ha(corr)}$ píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vzorce:

$$S_{Ha(corr)} = S'_{Ha} - \frac{S_i \cdot S_c}{S_{ci}}$$

v němž značí:

S'_{Ha} - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),

S_c - plochu píku cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

Odděleně se nastříkne 1 µl zkoušeného roztoku (c) a 1 µl zkoušeného roztoku (d). Provede se korekce interference stejným způsobem jako pro zkoušený roztok (a) a počítá se korigovaná plocha $S_{Hc(Corr)}$ píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (c).

Odděleně se nastříknou stejné objemy porovnávacího roztoku, zkoušeného roztoku (c) a zkoušeného roztoku (d). Určí se píky na chromatogramech zkoušených roztoků porovnáním retenčních časů s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku a stanoví se plochy jednotlivých píků.

Vypočítá se obsah cetylsíranu sodného ve zkoušené látce v procentech podle vzorce:

$$\frac{(A \cdot 1,421) \cdot m'_H \cdot 100}{S'_{Hc(corr)} \cdot m'}$$

v němž značí:

A - plochu píku cetylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (c),

m'_H - navážku přidaného vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném roztoku (c),

$S_{Hc(Corr)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku (c),

m' - navážku zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku (c).

Obsah stearylsíranu sodného ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus 4473

$$\frac{(B \cdot 1,377) \cdot m'_H \cdot 100}{S_{\text{Hc(corr)}} \cdot m'}$$

v němž značí:

B - plochu píku stearylalkoholu na chromatogramu zkoušeného roztoku (c).

Obsah cetylstearylsíranu sodného v procentech odpovídá součtu obsahů cetylsíranu sodného a stearylsíranu sodného v procentech.

Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, název a množství přidané tlumivé látky.

Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus



Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného

1999

Synonyma. Dinatrii phosphas dodecahydricus, Natrium hydrogenphosphoricum

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$

M_r 358,14

CAS 10039-32-4

Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny Na_2HPO_4 .

Vlastnosti

Bezbarvé průsvitné snadno zvětrávající krystalky. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkouškám na fosforečnany (2.3.1).

B. Roztok S vyhovuje zkouškám na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Redukující látky. K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml kyseliny sírové zředěné RS a 0,25 ml manganistanu draselného 0,02 mol/l VS a zahřívá se 5 min na vodní lázni; zbarvení roztoku zůstane slabě červené.

Dihydrogenfosforečnan sodný. Ze spotřeby kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS (25 ml) a spotřeby hydroxidu sodného 1 mol/l VS (n_1 ml a n_2 ml) ze zkoušky Stanovení obsahu se vypočítá poměr:

$$\frac{n_2 - 25}{25 - n_1}$$

4474 *Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus*

který je nejvýše 0,025.

Chloridy (2.4.4). K 2,5 ml roztoku S se přidá 10 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

Sírany (2.4.13). K 3 ml roztoku S se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 µg/g).

Arsen (2.4.2). 5 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní *roztok olova* (1 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 µg/g).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 57,0 % až 61,0 %; stanoví se s 50,0 mg zkoušené látky. Jako rozpouštědlo se použije směs objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *formamidu R* (10 + 40) jako rozpouštědla.

Stanovení obsahu

4,00 g (*m* g) se rozpustí ve 25 ml *vody R*, přidá se 25,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) k prvnímu inflexnímu bodu titrační křivky (n_1 ml). Pokračuje se v titraci do druhého inflexního bodu křivky (celková spotřeba *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*, n_2 ml).

Obsah Na_2HPO_4 v procentech se vypočítá ze vzorce:

$$\frac{1420 (25 - n_1)}{m (100 - d)},$$

v němž značí:

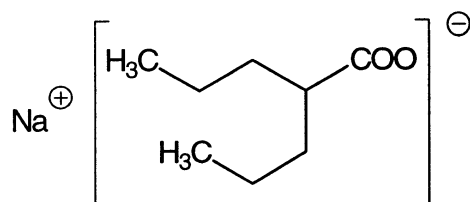
d - obsah vody v procentech.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

† *Natrii valproas* 4475† **Natrii valproas**¹⁾

Natriumvalproat

Synonymum. Sodná sůl kyseliny valproové $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NaO}_2$ M_r 166,20

CAS 1069-66-5

Je to natrium-2-propylpentanoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NaO}_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a těžce až snadno rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *natriumvalproatu CRL*. Pokud se spektrum zkoušené látky získané v pevném stavu liší od spektra referenční látky, zaznamenají se spektra tablet připravených nanesením 50 μl roztoku zkoušené látky v *methanolu R* (100 g/l) a 50 μl roztoku referenční látky v *methanolu R* (100 g/l) na tablety *bromidu draselného R*. Rozpouštědlo se odpaří ve vakuu a ihned se zaznamenají spektra.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).
- C.** 2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovují zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,25 g se rozpustí ve 20 ml *vody destilované R* v dělicí nálevce, přidá se 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a protřepe se. Směs se nechá 12 h stát; použije se spodní vrstva.

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml. Tento roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok \check{Z}_6 (2.2.2, *Metoda II*).

¹⁾ *Pharmeuropa* 10, 4, 583 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4476 † *Natrii valproas*

Kyselý nebo zásaditě reagující látky. 1,0 g se rozpustí v 10 ml *vody R* a přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,75 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* nebo 0,75 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *kyseliny máselné R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 10 mg *kyseliny máselné R* se rozpustí v *heptanu R* a zředí se jím na 200 ml. **Zkoušený roztok (a).** 0,500 g se rozpustí v 10 ml *vody R*, přidá se 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a vytřepe se třikrát s 20 ml *heptanu R*. Ke spojeným výtřepkům (horní vrstva) se přidá 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, protřepe se *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se. Filtrát se odpaří za použití rotační vakuové odparky při teplotě nepřevyšující 30 °C. Zbytek se zředí pomocí *heptanu R* na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 40 mg se rozpustí ve 100 ml *vody R*. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a vytřepe se třikrát 5 ml *heptanu R*. Protřepe se *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se. Filtrát se odpaří za použití rotační vakuové odparky při teplotě nepřevyšující 30 °C na objem asi 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *kyseliny (2RS)-2-isopropylpentanové CRL* se rozpustí v 5,0 ml zkoušeného roztoku (b) a zředí se *heptanem R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *natriumvalproatu CRL*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 2-nitrotetralatem R* (tloušťka filmu 0,5 μm),
 - *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 8 ml/min,
 - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
Kolona	0 - 10	130	-	izotermicky
	10 - 30	130 → 190	3	lineární gradient
Nástřikový prostor		220		
Detektor		220		

Nastříkne se po 1 μl každého roztoku. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku vnitřního standardu byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píkem *kyseliny (2RS)-2-isopropylpentanové* a *kyseliny valproové* nejméně 3,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) součet ploch píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy píku vnitřního standardu (0,3 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku vnitřního standardu (0,1 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší než 0,1 násobek plochy píku vnitřního standardu.

Chloridy (2.4.4). K 5 ml roztoku S se přidá 10 ml *vody R*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μg/g).

Sírany (2.4.13). Roztok S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200 μg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

0,1500 g se rozpustí ve 25 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

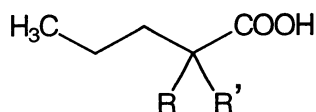
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,62 mg C₈H₁₅NaO₂.

Uchovávání

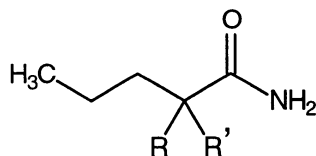
Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

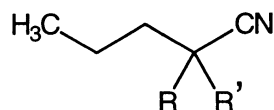
Nečistoty



- A. R = R' = H: kyselina pentanová (kyselina valerová),
- B. R = H, R' = CH₂-CH₃: kyselina (2*RS*)-2-ethylpentanová,
- C. R = H, R' = CH(CH₃)₂: kyselina (2*RS*)-2-isopropylpentanová,
- D. R = R' = CH₂-CH₂-CH₃: kyselina 2,2-dipropylpentanová,



- E. R = R' = H: pentanamid (valeramid),
- F. R = H, R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2-propylpentanamid,
- G. R = R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2,2-dipropylpentanamid,



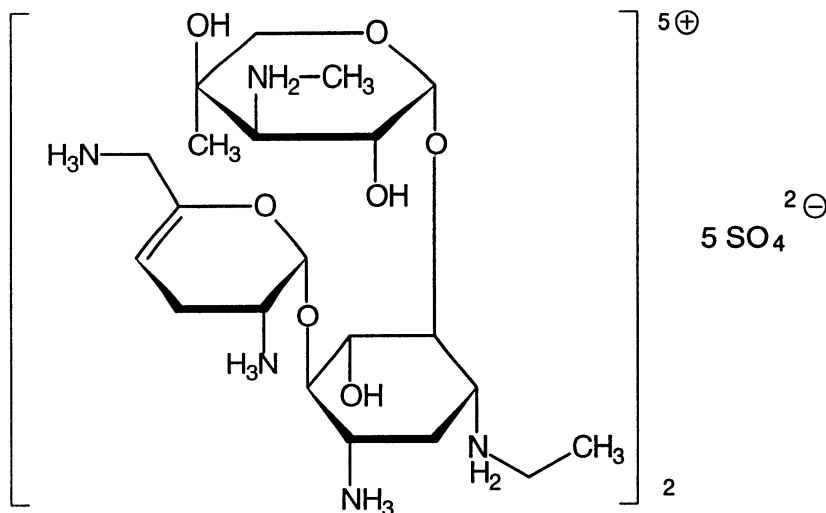
- H. R = R' = H: pentannitril (valeronitril),
- I. R = H, R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2-propylpentannitril,
- J. R = R' = CH₂-CH₂-CH₃: 2,2-dipropylpentannitril.

4478 † *Netilmicini sulfas*† **Netilmicini sulfas**

Netilmiciniumsulfat



1999

 $C_{42}H_{92}N_{10}O_{34}S_5$ M_r 1441,54

CAS 56391-57-2

Je to bis[4-O-(2,6-diamonio-2,3,4,6-tetradexy- α -D-glycero-4-hexenopyranosyl)-1-N-ethyl-6-O-(4-C-methyl-3-methylammonio-3-deoxy- β -L-arabino-pyranosyl)-2-deoxy-D-streptaminium]pentasulfat. Získává se syntézou ze sisomicinu. Počítáno na vysušenou látku, účinnost je nejméně 650 m.j. v miligramu.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý, velmi hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,80 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 400 nm není větší než 0,08.

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 5,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +88,0° až +96,0°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,30 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 2,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg *netilmiciniumsulfatu* CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 36 mg *sisomiciniumsulfatu* CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml.

Porovnávací roztok (d). 31 mg *1-N-ethylgaraminiumsulfatu* CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25 ml.

Porovnávací roztok (e) 20 mg *netilmiciniumsulfatu* CRL, 20 mg *sisomiciniumsulfatu* CRL a 20 mg *1-N-ethylgaraminiumsulfatu* CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku* 26% R, *methanolu* R a *dichlormethanu* R (20 + 40 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu, postříká se *zkoumadlem ninhydrinovým s chloridem cínatým* R, zahřívá se 20 min při 110 °C. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna odpovídající *sisomicinu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %); žádná skvrna odpovídající *1-N-ethylgaraminu* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1 %); žádná skvrna s hodnotou R_F vyšší než hlavní skvrna není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2 %); žádná jiná vedlejší skvrna není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou tři zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Sírany. 31,5 % až 35,0 % (SO_4), počítáno na vysušenou látku. 0,12 g se rozpustí ve 100 ml vody R a pH roztoku se upraví *amoniakem* 26% R na hodnotu 11. Přidá se 10,0 ml *chloridu barnatého* 0,1 mol/l VS a asi 0,5 mg *ftaleinpurpuru* R. Titruje se *edetanem disodným* 0,1 mol/l VS do začínající změny zbarvení roztoku, pak se přidá 50 ml *lihu* 96% R a pokračuje se v titraci, dokud nezmizí fialově modré zbarvení.

1 ml *chloridu barnatého* 0,1 mol/l VS odpovídá 9,606 mg síranů (SO_4).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 0,500 g se suší 3 h při 110 °C pod vysokým vakuem.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 1,0 %, stanoví se s 0,5 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 1,25 m.j. endotoxinu v miligramu.

Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2) za použití difuzní metody.

4480 † *Netilmicini sulfas***Uchovávání**

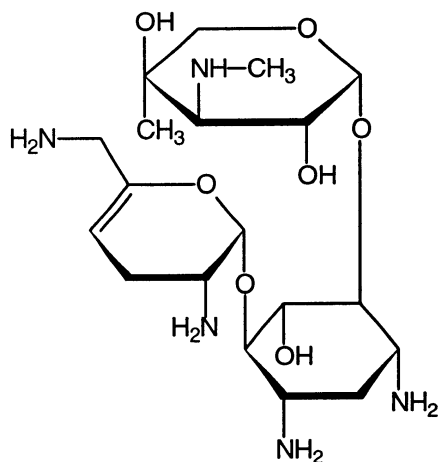
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

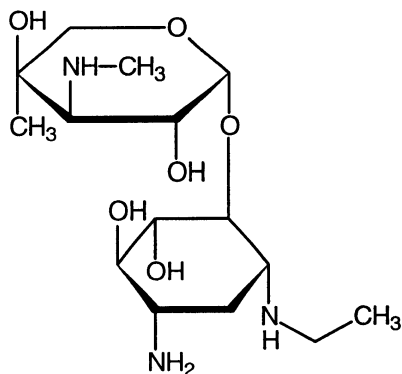
Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

A. 4-O-(2,6-diamino-2,3,4,6-tetra-deoxy- α -D-glycero-4-hexenopyranosyl)-6-O-(4-C-methyl-3-methylamino-3-deoxy- β -L-arabino-pyranosyl)-2-deoxy-D-streptamin (sisomicin),



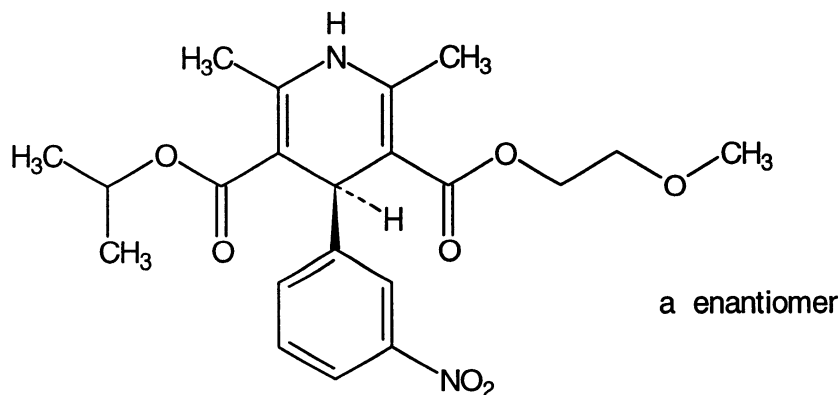
B. 1-N-ethyl-6-O-(4-C-methyl-3-methylamino-3-deoxy- β -L-arabino-pyranosyl)-2-deoxy-D-streptamin (1-N-ethylgaramin).

† Nimodipinum 4481

† Nimodipinum

Nimodipin

1999

 $C_{21}H_{26}N_2O_7$ M_r 418,45

CAS 66085-59-4

Je to isopropyl-(2-methoxyethyl)-(4*RS*)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{21}H_{26}N_2O_7$.

Vlastnosti

Světle žlutý nebo žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethylacetatu, mírně rozpustný v ethanolu.

Vykazuje polymorfismus.

Působením ultrafialového záření vzniká derivát nitrofenylpyridinu.

Všechny roztoky se připravují těsně před použitím, chráněny před světlem nebo při zdroji světla s vlnovou délkou větší než 420 nm.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *nimodipinu* CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, zaznamenají se nová spektra roztoků zkoušené látky a referenční látky v *dichlormethanu* R (20 g/l) za použití 0,2mm kyvety.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *acetonu* R a zředí se jím na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1).

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

4482 † *Nimodipinum*

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí ve 2,5 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se mobilní fází na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *nimodipinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve 2,5 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se mobilní fází na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchá a zředí se mobilní fází na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R*, *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (20 + 20 + 60), průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 235 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (d). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku *nimodipinu* na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy *nimodipinu nečistoty A* asi 7 min a *nimodipinu* asi 8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *nimodipinu nečistoty A* a píkem *nimodipinu* je nejméně 1,5.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času *nimodipinu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku *nimodipinu nečistoty A* není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku *nimodipinu nečistoty A*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům s plochou menší než je 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí mírným zahřátím ve směsi 25 ml *terc.butanolu R* a 25 ml *kyseliny chloristé RS*, přidá se 0,1 ml *feroinu R* a titruje se *síranem ceričitým 0,1 mol/VS*. Před bodem ekvivalence se titruje pomalu. Provede se slepá zkouška.

1 ml *síranu ceričitého 0,1 mol/VS* odpovídá 20,92 mg $C_{21}H_{26}N_2O_7$.

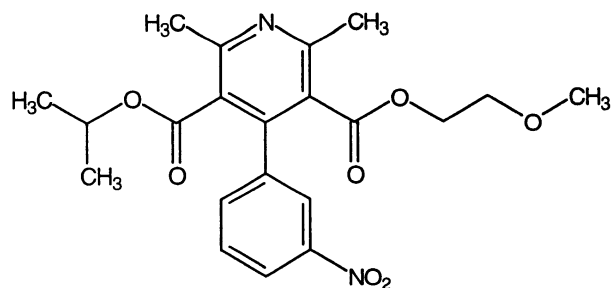
Uchovávání

Chráněn před světlem.

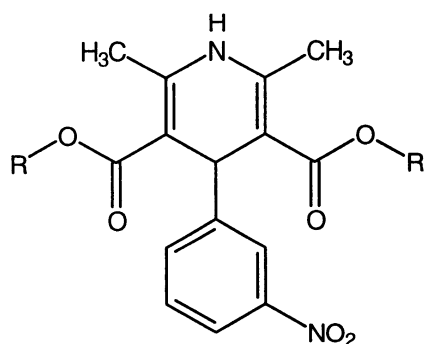
Separandum.

† Nitrendipinum 4483

Nečistoty



A. isopropyl-(2-methoxyethyl)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)pyridin-3,5-dikarboxylat,

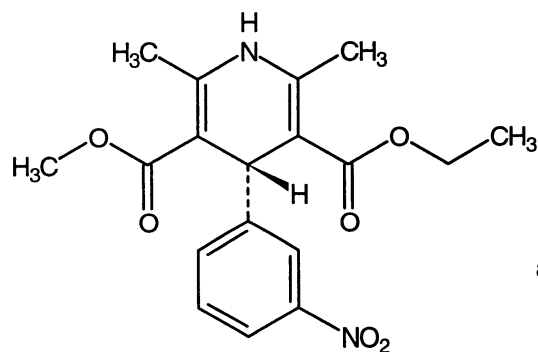
B. R = CH(CH₃)₂: diisopropyl-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat,C. R = CH₂-CH₂-OCH₃: bis(2-methoxyethyl)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat.

† Nitrendipinum

Nitrendipin



1998



a enantiomer

C₁₈H₂₀N₂O₆M_r 360,37

CAS 39562-70-4

4484 † *Nitrendipinum*

Je to ethyl-methyl-(4*RS*)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{18}H_{20}N_2O_6$.

Vlastnosti

Žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethylacetatu, mírně rozpustný v ethanolu a v methanolu.

Je polymorfní.

Působením ultrafialového záření vzniká derivát nitrofenylpyridinu.

Všechny roztoky se připravují těsně před použitím, chráněny před světlem nebo při zdroji světla s vlnovou délkou větší než 420 nm.

Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *nitrendipinu* CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, zaznamenají se nová spektra roztoků zkoušené látky a referenční látky v *dichlormethanu R* (20 g/l) za použití 0,2mm kyvety.

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,2 g v *acetonu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 40,0 mg se rozpustí ve 2,5 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se mobilní fází na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *nitrendipinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve 2,5 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se mobilní fází na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchá a zředí se mobilní fází na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (14 + 22 + 64), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 235 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku *nitrendipinu* na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy *nitrendipinu nečistoty A* asi 6 min a *nitrendipinu* asi 8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *nitrendipinu nečistoty A* a *nitrendipinu* je nejméně 2,0.

Nastříkne se odděleně 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Zaznamená se chromatogram zkoušeného roztoku po dobu odpovídající pětinašobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího *nitrendipinu nečistotě A*

není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího nitrendipinu nečistotě A, není větší než plocha píku nitrendipinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,8 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,2 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší než 0,5násobek plochy píku nitrendipinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

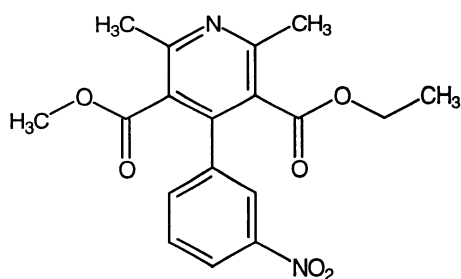
0,160 g se rozpustí, v případě potřeby mírným zahřátím, ve směsi 25 ml *terc.butanolu R* a 25 ml *kyseliny chloristé RS*. Titruje se *síranem ceričitým 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *feroinu R* jako indikátoru. Před bodem ekvivalence se titruje pomalu. Provede se slepá zkouška.

1 ml *síranu ceričitého 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,02 mg $C_{18}H_{20}N_2O_6$.

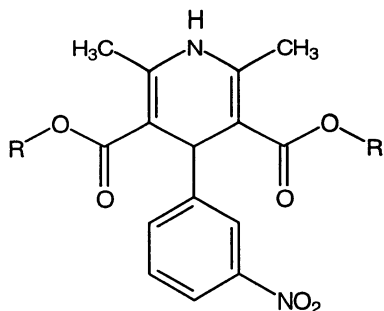
Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty



A. ethyl-methyl-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)pyridin-3,5-dikarboxylat,



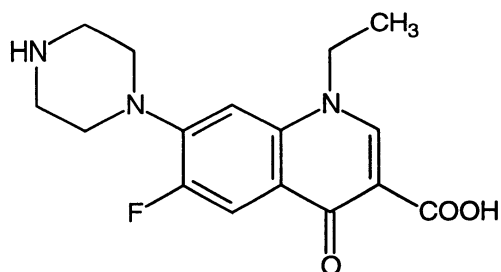
B. R = CH₃ : ethyl-methyl-(4*RS*)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat,

C. R = CH₂-CH₃ : diethyl-2,6-dimethyl-4-(3-nitrofenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dikarboxylat.

4486 † *Norfloxacinum*† **Norfloxacinum**

Norfloxacin

1999

 $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ M_r 319,34

CAS 70458-96-7

Je to kyselina 1-ethyl-6-fluor-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo bledě žlutý krystalický prášek, hygroskopický a citlivý na světlo. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v acetonu a lihu 96%.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *norfloxacinu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v předem zfiltrovaném roztoku *hydroxidu sodného R* (4 g/l) v *methanolu R* a zředí se stejným roztokem na 50 ml. Tento roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC R*, předem promyté *methanolem R* a vysušené na vzduchu.

Zkoušený roztok (a). 40 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 4,0 mg *norfloxacinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (b) na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 5 μ l zkoušeného roztoku (a) a po 5 μ l obou porovnávacích roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *diethylaminu R*, *toluenu R*, *chloroformu R* a *methanolu R* (8 + 14 + 20 + 40 + 40) po dráze 18 cm. Vrstva se vysuší v proudě vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm a pak při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a jsou zde nejvýše tři takové skvrny. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je poměr hodnoty R_F nečistoty A k hodnotě R_F norfloxacinu nejméně 1,2.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (15 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 3 ml základního roztoku olova (10 μ g/ml Pb).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C za vysokého vakua.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

Stanovení obsahu

0,240 g se rozpustí v 80 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

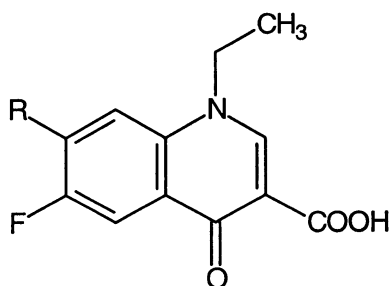
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 31,93 mg $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty



A. R = Cl: kyselina 7-chlor-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová,

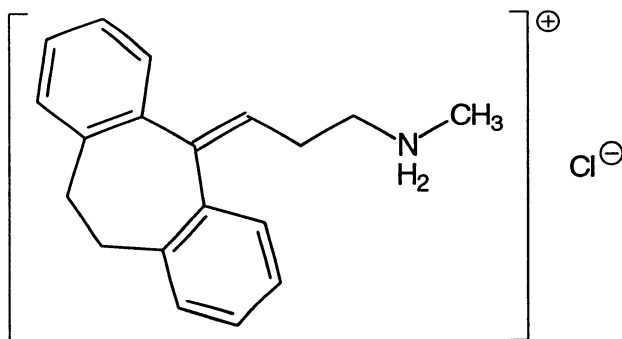
B. R = NH-CH₂-CH₂-NH₂: kyselina 7-[(2-aminoethyl)amino]-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová.

4488 † *Nortriptylini hydrochloridum*† **Nortriptylini hydrochloridum**

Nortriptyliniumchlorid

Synonymum. Nortriptylinium chloratum

1999

 $C_{19}H_{22}ClN$ M_r 299,84

CAS 894-71-3

Je to N-methyl-[3-(10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyklohepten-5-yliden)propyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{19}H_{22}ClN$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). 216 °C až 220 °C.
- B. 20,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 239 nm. Specifická absorbance v maximu je 465 až 495.
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s *referenčním spektrem Ph. Eur. nortriptyliniumchloridu*.
- D. 50 mg se rozpustí ve 3 ml teplé *vody R* a po ochlazení se přidá 0,05 ml roztoku *chinhydronu R* (25 g/l) v *methanolu R*; pomalu vzniká červené zbarvení.
- E. 50 mg vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí mírným zahřátím ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 0,2 g se rozpustí mírným zahřátím ve vodě prosté oxidu uhličitého R, zředí se jí na 10 ml, přidá se 0,1 ml červeně methylové RS a 0,2 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví žlutě. Přidá se 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok se zbarví červeně.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R. Roztoky se připraví za tlumeného osvětlení a vyvíjející se chromatogramy se chrání před světlem.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí lihem 96% R na 2 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg dibenzosuberonu CRL se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg norcyclobenzaprinu CRL se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). K 0,1 ml zkoušeného roztoku (b) se přidá 10 ml porovnávacího roztoku (b).

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsí objemových dílů diethylaminu R, ethylacetatu R a cyklohexanu R (3 + 15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se čerstvě připravenou směsí objemových dílů formaldehydu R a kyseliny sírové R (4 + 96) a ihned se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm a poté při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna odpovídající dibenzosuberonu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %); žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b), kromě hlavní skvrny a skvrny dibenzosuberonu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se 2 h suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve 30 ml lihu 96% R, přidá se 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 29,98 mg C₁₉H₂₂ClN.

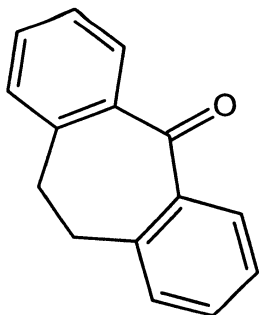
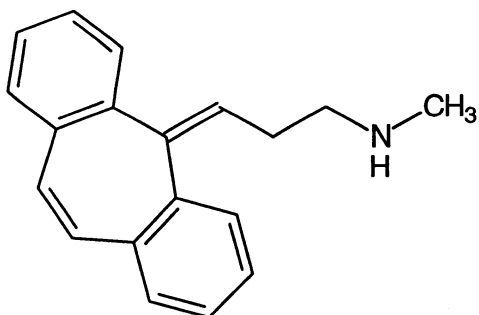
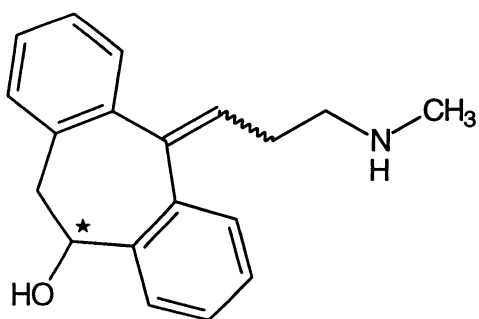
Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

4490 † *Nortriptylini hydrochloridum*

Nečistoty

A. 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-on (dibenzosuberon),B. N-methyl-3-(5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-5-yliden)propylamin (norcyklobenzaprin),C. 10,11-dihydro-5-[3-(methylamino)propyliden]-5*H*-dibenzo[*a,d*]cyklohepten-10-ol.

Omega-3 acidorum esteri ethylici

Ethylestery omega-3-kyselin

1998



Jsou to estery, které se získávají esterifikací tělního oleje tučných druhů ryb patřících k čeledím jako *Engaulidae*, *Carangidae*, *Clupeidae*, *Osmeridae*, *Salmonidae* a *Scrombroidae* a následným fyzikálně-chemickým čistícím postupem, včetně močovinné frakcionace s následující molekulární destilací. Ethylestery omega-3-kyselin jsou definovány jako ethylestery kyseliny alfa-linolenové (C18:3 n-3), kyseliny moroktové (C18:4 n-3), C20:4 n-3, kyseliny timnodonové (ikosapentaenové) (C20:5 n-3; EPA), C21:5 n-3, kyseliny klupanodonové (C22:5 n-3) a kyseliny cervonové (dokosa-hexaenové) (C22:6 n-3; DHA). Celkový obsah ethylesterů omega-3-kyselin je nejméně 90 %. Obsah ethylesterů omega-3-kyselin EPA a DHA je nejméně 80 %, s nejméně 40 % ethylesterů EPA a nejméně 34 % ethylesterů DHA.

Jako antioxidační přísada se může přidat tokoferol.

Vlastnosti

Světle žlutá kapalina se slabým rybím pachem. Je prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v acetonu, ethanolu, heptanu a methanolu.

Relativní hustota je asi 0,905.

Zkoušky totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané při stanovení obsahu ethylesterů EPA a DHA. Retenční časy a velikost píků odpovídajících ethylesteru kyseliny ikosapentaenové a ethylesteru kyseliny dokosa-hexaenové na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou přibližně shodné s retenčním časem odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; titruje se roztok připravený rozpuštěním 10 g v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Číslo anisidinové. Nejvýše 20,0.

Číslo anisidinové je definováno jako stonásobek absorbance roztoku obsahujícího 1 g zkoušené látky ve 100 ml směsi rozpouštědel a zkoumadel, měřené v 1 cm kyvetě podle dále popsané metody.

Zkouška se provádí co nejrychleji za ochrany před aktinickým světlem.

Zkoušený roztok (a). 0,500 g zkoušené látky se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Zkoušený roztok (b). K 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání se před světlem.

Porovnávací roztok. K 5,0 ml *trimethylpentanu R* se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání se před světlem.

4492 *Omega-3 acidorum esteri ethylici*

Měří se absorbance zkoušeného roztoku (a) při 350 nm za použití *trimethylpentanu R1* jako kontrolní kapaliny. Měří se absorbance zkoušeného roztoku (b) při 350 nm přesně 10 min po jeho přípravě za použití porovnávacího roztoku jako kontrolní kapaliny.

Číslo anisidinové se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{25 \cdot (1,2A_s - A_b)}{m},$$

v němž značí:

A_s - absorbance zkoušeného roztoku (b) při 350 nm,

A_b - absorbance zkoušeného roztoku (a) při 350 nm,

m - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v gramech.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Oligomery. Nejvýše 1,0 %. Zkouší se vylučovací chromatografií (2.2.30).

Zkoušený roztok. 10,0 mg zkoušené látky se naváží do 10ml odměrné baňky, rozpustí se v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 15,0 mg *ethylesteru kyseliny dokosahexaenové CRL* a 15,0 mg *polystyrenu 900-1000 R* se rozpustí v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- gelové prostupné kolony 0,3 m dlouhé a vnitřním průměru 7,8 mm naplněné *styren-divinylbenzenovým kopolymerem R* (velikost pórů 10 nm, velikost částic 7 μm) a dvou gelových prostupných kolon 0,3 m dlouhých o vnitřním průměru 7,8 mm naplněných *styrendivinylbenzenokopolymerem R* (velikost pórů 50 nm, velikost částic 7 μm) (tyto kolony se umístí nejbližší k dávkovači),
- *tetrahydrofuranu R* jako mobilní fáze o průtokové rychlosti 0,8 ml/min,
- diferenciálního refraktometru jako detektoru,
- integrátoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku. Obsah oligomerů v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{B}{A} \cdot 100,$$

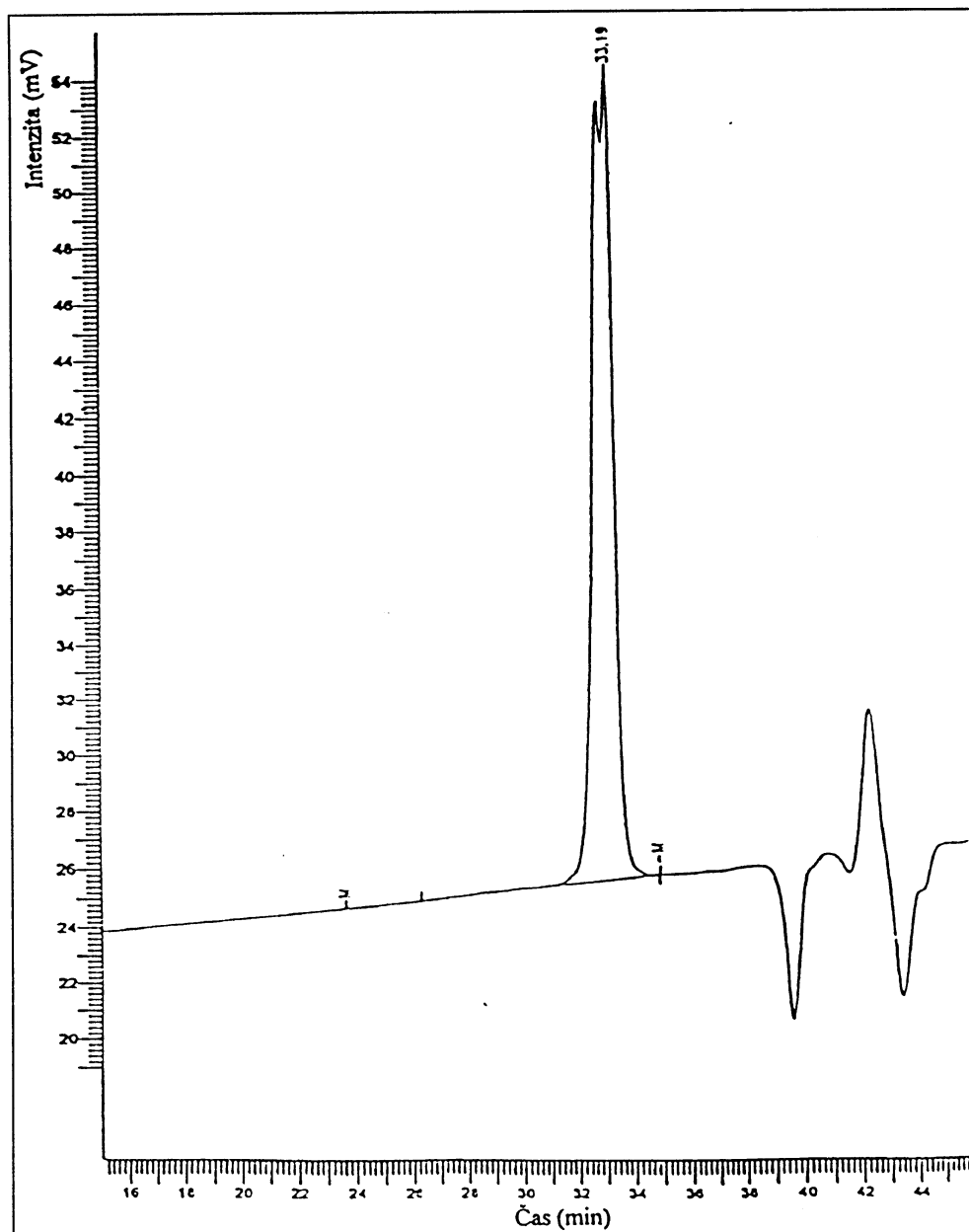
v němž značí:

A - součet ploch všech píků na chromatogramu,

B - součet ploch píků s retenčním časem menším než retenční čas ethylesterového píku (píků).

Ethylesterový pík(píky), který může být přítomen ve formě jednoduchého píku nebo nerozděleného dvojitého píku, jsou identifikovány jako hlavní pík(y) na chromatogramu viz obrázek 1.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dva píky odpovídající polystyrenu a ethylesteru DHA, jejichž plocha představuje nejméně 90 % součtu ploch všech píků na chromatogramu. Jestliže byla použita metoda standardního přídatku ke zkoušenému roztoku, je výtěžnost nejméně 95 % pro přidání *ethylester kyseliny ikosapentaenové CRL* nebo *ethylester kyseliny dokosahexaenové CRL*. Nepřihlíží se k píku rozpouštědla.



Obr. 1. Chromatogram ke zkoušce Oligomery

Konjugované dieny. Nejvýše 1,5 %; provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25).

Zkouška se provádí co možná nejrychleji za ochrany před aktinickým světlem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (například měď a železo) a vzduchem.

Zkoušený roztok. 0,200 g až 0,800 g zkoušené látky se rozpustí v trimethylpentanu R1 a zředí se jím na 50,0 ml.

Měří se absorbance při 233 nm za použití spektrofotometru. Koncentrace roztoku se v případě potřeby upraví tak, aby hodnota absorbance byla 0,2 až 0,8. Obsah konjugovaných dienu v procentech se vypočítá podle vzorce:

4494 *Omega-3 acidorum esteri ethylici*

$$0,91 \cdot \left(\frac{A}{C} - 0,07 \right),$$

v němž značí:

A - absorbance při 233 nm,

C - koncentrace zkoušeného roztoku v gramech na litr,

0,91 - konverzní faktor,

0,07 - korekční faktor pro absorbanci esterové skupiny při 233 nm.

Stanovení obsahu

Ethylestery EPA a DHA. *Zkouška se provádí co nejrychleji za ochrany před aktinickým světlem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (například měď a železo) a vzduchem.*

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Ve zkoušené látce se stanoví ethylestery kyseliny all-*cis*-5,8,11,14,17-ikosapentaenové (EPA; 20:5 n-3) a kyseliny all-*cis*-4,7,10,13,16,19-dokosahexaenové (DHA; 22:6 n-3).

Vnitřní standard. Methyltrikosanoat R.

Zkoušený roztok. 0,17 g zkoušené látky a asi 70,0 mg vnitřního standardu se v 10ml odměrné baňce rozpustí v trimethylpentanu *R* obsahujícím 50 mg/l butylhydroxytoluenu *R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 55,0 mg ethyldokosahexaenoatu *CRL*, asi 70,0 mg vnitřního standardu a 88,0 mg ethylikosapentaenoatu *CRL* se rozpustí v 10ml odměrné baňce v trimethylpentanu *R* obsahujícím 50 mg/l butylhydroxytoluenu *R* v litru a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky nejméně 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm se stěnou pokrytou makrogolem 20 000 *R* (tloušťka filmu 0,25 μm),
- vodíku pro chromatografii *R* nebo helia pro chromatografii *R* jako nosného plynu s použitím promývacího zařízení na odstranění kyslíku,
- plamenoionizačního detektoru,
- vhodného integrátoru,
- injektoru s děličem 1 : 200,

Teplota kolony se 0,5 min udržuje na 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 240 °C a 22 min se udržuje na 240 °C; teplota vstřikovacího prostoru je 250 °C a teplota detektoru je 280 °C.

Nastříkne se dvakrát po 1 μl každého roztoku.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou tři píky odpovídající ethylesteru EPA, methyltrikosanoatu a ethylesteru DHA, viz obrázek 2 a obrázek 3. Jestliže byla použita metoda standardního přídatku ke zkoušenému roztoku, je výtěžnost nejméně 95 % pro přidaný ethylikosapentaenoat *CRL* nebo ethyldokosahexaenoat *CRL*, když byla patřičně vzata v úvahu korekce u vnitřního standardu.

Vypočítá se obsah ethylesterů EPA a DHA v procentech a k výpočtu se použijí stanovené hodnoty ethylikosapentaenoatu *CRL* a ethyldokosahexaenoatu *CRL* podle vzorce:

$$A_x \cdot \frac{A_2}{m_3} \cdot \frac{m_1}{A_1} \cdot \frac{m_{x,r}}{A_{x,r}} \cdot \frac{1}{m_2} \cdot 100 = A_x \cdot \frac{m_1}{A_1} \cdot \frac{1}{R_{f,x}} \cdot \frac{1}{m_2} \cdot 100,$$

kde $R_{f,x}$ je odezvvový faktor:

$$R_{f,x} = \frac{A_{x,r} \cdot m_3}{m_{x,r} \cdot A_2},$$

v němž značí:

m_1 - hmotnost vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku v miligramech,

m_2 - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v miligramech,

m_3 - hmotnost vnitřního standardu v porovnávacím roztoku v miligramech,

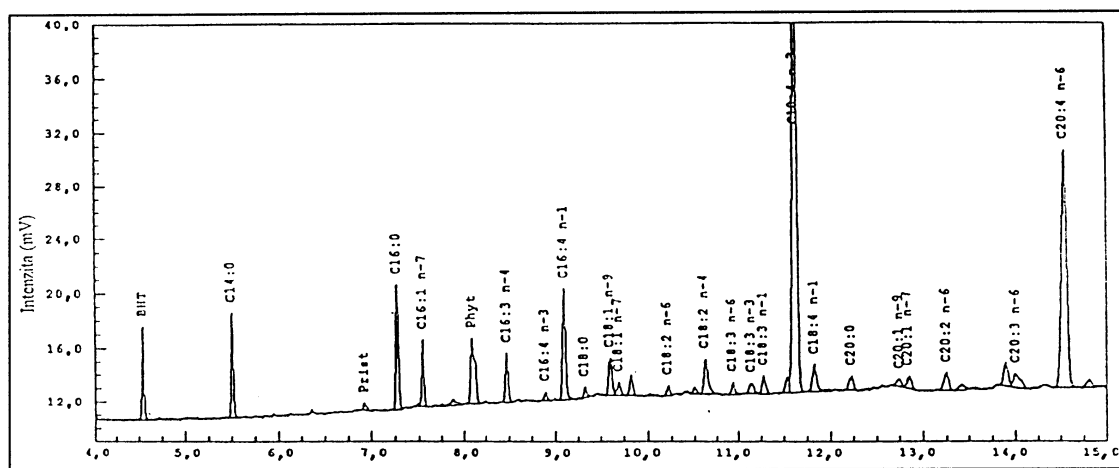
m_x - hmotnost ethylikosapentaenoatu CRL nebo ethyldokosahexaenoatu CRL v porovnávacím roztoku v miligramech,

A_x - plochu píku odpovídající ethylikosapentaenoatu nebo ethyldokosahexaenoatu ve zkoušeném roztoku,

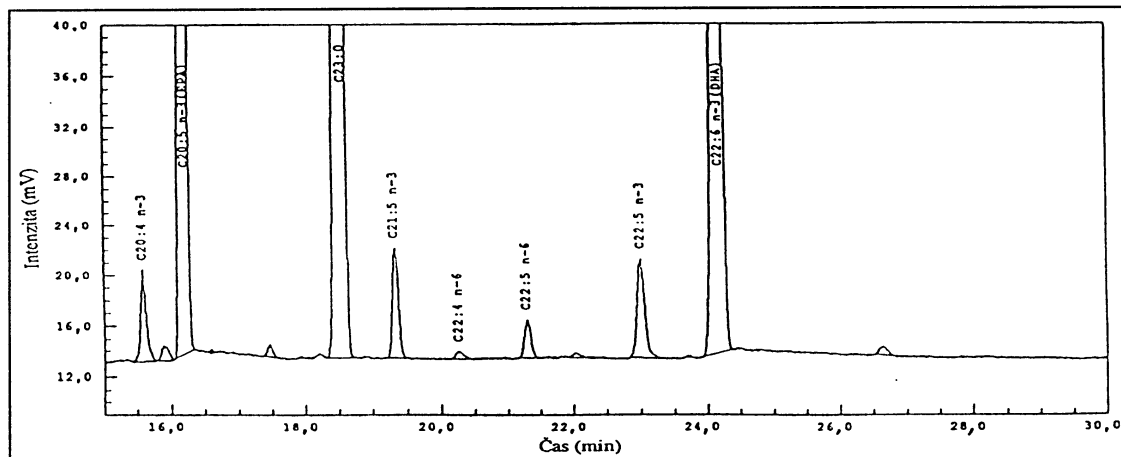
$A_{x,r}$ - plochu píku odpovídající ethylikosapentaenoatu nebo ethyldokosahexaenoatu v porovnávacím roztoku,

A_1 - plochu píku odpovídající methyltrikosanoatu ve zkoušeném roztoku,

A_2 - plochu píku odpovídající methyltrikosanoatu v porovnávacím roztoku.



Obr. 2. Chromatogram ke zkoušce Ethylestery EPA a DHA



Obr. 3. Chromatogram ke zkoušce Ethylestery EPA a DHA

4496 *Omega-3-acidorum triglycerida*

Celkové ethylestery omega-3-kyselin. Ze stanovení obsahu ethylesterů EPA a DHA se vypočítá obsah celkových ethylesterů omega-3-kyselin v procentech podle vzorce:

$$EPA + DHA + \frac{A_{n-3}(EPA + DHA)}{A_{EPA} + A_{DHA}},$$

v němž značí:

EPA - obsah ethylesteru EPA v procentech,

DHA - obsah ethylesteru DHA v procentech,

A_{n-3} - součet ploch pík ethylesterů C18:3 n-3, C18:4 n-3, C20:4 n-3, C21:5 n-3 a C22:5 n-3 na chromatogramu zkoušeného roztoku,

A_{EPA} - plochu píku ethylesteru EPA na chromatogramu zkoušeného roztoku,

A_{DHA} - plochu píku ethylesteru DHA na chromatogramu zkoušeného roztoku.

Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech pod inertním plynem, za ochrany před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda látka obsahuje tokoferol jako antioxidační přísadu.

Omega-3-acidorum triglycerida

Triacylglyceroly omega-3-kyselin

1999

Je to směs mono-, di- a triesterů omega-3-kyselin s glycerolem obsahující převážně triestery. Získávají se esterifikací koncentrovaných a čištěných omega-3-kyselin s glycerolem. Zdrojem omega-3-kyselin je tělní olej tučných ryb, druhů patřících k čeledím jako jsou *Engraulidae*, *Carangidae*, *Clupeidae*, *Osmeridae*, *Salmonidae* a *Scrombroidae*. Jako omega-3-kyseliny se označují následující kyseliny: kyselina alfa-linolenová (C18:3 n-3), kyselina moroktová (C18:4 n-3), kyselina ikosatetraenová (C20:4 n-3), kyselina timnodonová (ikosapentaenová) (C20:5 n-3; EPA), kyselina henikosapentaenová (C21:5 n-3), kyselina klupanodonová (C22:5 n-3) a kyselina cervonová (dokosaheptaenová) (C22:6 n-3; DHA). Koncentrace celkového množství omega-3-kyselin, vyjádřených jako triacylglyceroly, je nejméně 60,0 %. Součet koncentrací omega-3-kyselin EPA a DHA, vyjádřených jako triacylglyceroly, je nejméně 45,0 %.

Jako antioxidační přísada se může přidat tokoferol.

Vlastnosti

Světle žlutá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v acetonu a v heptanu, těžce rozpustná v ethanolu.

Zkouška totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané při stanovení obsahu EPA a DHA. Retenční časy a velikost píků odpovídajících methylesteru kyseliny ikosapentaenové a methylesteru kyseliny dokosahexaenové na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) jsou přibližně shodné s retenčním časem a velikostí odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 3,0; titruje se roztok připravený rozpuštěním 10,0 g v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Číslo anisidinové. Nejvýše 30,0.

Číslo anisidinové je definováno jako stonásobek absorbance z roztoku obsahujícího 1 g zkoušené látky ve 100 ml směsi rozpouštědel a zkoumadel měřené v 1 cm kyvetě podle dále popsané metody.

Zkouška se provádí co nejrychleji za ochrany před aktinickým světlem.

Zkoušený roztok (a). 1,0 g se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Zkoušený roztok (b). K 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* v (2,5 g/l) *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání před světlem.

Porovnávací roztok. K 5,0 ml *trimethylpentanu R* se přidá 1,0 ml roztoku *p-anisidinu R* (2,5 g/l) v *kyselině octové ledové R*, protřepe se a chrání před světlem.

Měří se absorbance zkoušeného roztoku (a) při 350 nm za použití *trimethylpentanu R* jako kontrolní kapaliny. Měří se absorbance zkoušeného roztoku (b) při 350 nm přesně 10 min po jeho přípravě s použitím porovnávacího roztoku jako kontrolní kapaliny.

Číslo anisidinové se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{25 \cdot (1,2A_s - A_b)}{m},$$

v němž značí:

A_s - absorbance zkoušeného roztoku (b),

A_b - absorbance zkoušeného roztoku (a),

M - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku (a) v gramech.

Číslo peroxidové (2.5.5, Metoda A). Nejvýše 10,0.

Oligomery a parciální glyceridy. Nejvýše 3,0 % oligomerů a nejvýše 50,0 % parciálních glyceridů. Proveďte se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v *tetrahydrofuranu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (velikost pórů 10 nm, velikost částic 7 μm) a dvou kolon délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněných *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (velikost pórů 50 nm, velikost částic 7 μm) (tyto kolony se umístí co nejbližší k dávkovači),
- *tetrahydrofuranu R* jako mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,8 ml/min,
- diferenciálního refraktometru jako detektoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku. Jednotlivé píky se určí podle vzorového chromatogramu (obr. 1).

4498 *Omega-3-acidorum triglycerida*

Obsah oligomerů v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{B}{A} \cdot 100,$$

v němž značí:

A - součet ploch všech píků na chromatogramu,

B - plochu píku s retenčním časem menším, než je retenční čas píku triglyceridu.

Obsah parciálních glyceridů v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C}{A} \cdot 100,$$

v němž značí:

C - plochu (součet ploch) píku (ů) mono-a diglyceridů.

Konjugované dieny. Nejvýše 2,7 %; provede se absorpční spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25). *Celý postup se provádí co možná nejrychleji.*

Zkoušený roztok: 0,200 g až 0,800 g se rozpustí v *trimethylpentanu R1* a zředí se jím na 50,0 ml.

Měří se absorbance při 233 nm. V případě potřeby se koncentrace roztoku upraví tak, aby hodnota absorbance byla 0,2 až 0,8. Obsah konjugovaných dienů v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$0,91 \cdot \left(\frac{A}{c} - 0,07 \right),$$

v němž značí:

A - absorbance zkoušeného roztoku,

C - koncentrace zkoušeného roztoku v g/l,

0,91 - konverzní faktor,

0,07 - korekční faktor pro absorbanci esterové skupiny při 233 nm.

Stanovení obsahu

EPA a DHA. *Celý postup se provádí co možná nejrychleji, za ochrany před aktinickým světlem, oxidačními činidly, oxidačními katalyzátory (např. měď a železo) a vzduchem.*

Provede se plynová chromatografie (2.2.28). Ve zkoušené látce se stanoví methylestery kyselin all-*cis*-ikosa-5,8,11,14,17-pentaenové (EPA; 20:5 n-3) a all-*cis*-dokosa-4,7,10,13,16,19-hexaenové (DHA; 22:6 n-3).

Vnitřní standard. Methyltrikosanoat R.

Zkoušený roztok (a). 0,300 g zkoušené látky a asi 70,0 mg vnitřního standardu se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml. 2,0 ml získaného roztoku se dá do křemenné zkumavky a rozpouštědlo se odpaří mírným proudem *dusíku R*. Přidá se 1,5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* v *methanolu R* (20 g/l), převrství se *dusíkem R*, dobře se uzavře uzávěrem potaženým polytetrafluorethylenem, zamíchá se a zahřívá se 7 min na vodní lázni. Po vychladnutí se přidají 2 ml *chloridu boritého* v *methanolu RS*, převrství se *dusíkem R*, dobře se uzavře, promíchá se a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Po ochlazení na 40 °C až 50 °C se přidá 1 ml *trimethylpentanu R*, uzavře se a důkladně nejméně 30 s se třepe. Bezprostředně poté se přidá 5 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*, převrství se *dusíkem R*, uzavře se a důkladně se 15 s třepe. Horní vrstva se přemístí do samostatné zkumavky. Methano-

lová vrstva se třepe ještě jednou s 1 ml *trimethylpentanu R*. Spojené trimethylpentanové extrakty se ještě dvakrát promyjí 1 ml *vody R* a suší se nad *síranem sodným bezvodým R*. Připraví se dva roztoky pro každý vzorek.

Zkoušený roztok (b). 0,300 g zkoušené látky se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se stejným roztokem na 10,0 ml. Dále se pokračuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (a). 60,0 mg *ethyl dokosaheptaenoatu CRL*, asi 70,0 mg vnitřního standardu a 90,0 mg *ethylkosaheptaenoatu CRL* se rozpustí v roztoku *butylhydroxytoluenu R* (0,05 g/l) v *trimethylpentanu R* a zředí se tímto roztokem na 10,0 ml. Dále se pokračuje, jak je předepsáno pro zkoušený roztok (a).

Porovnávací roztok (b). 0,3 g *methylpalmitatu R*, 0,3 g *methylstearatu R*, 0,3 g *methylarachidatu R* a 0,3 g *methylbehenatu R* se dá do 10ml odměrné baňky, rozpustí se v roztoku *butylhydroxytoluenu R* v *trimethylpentanu R* (0,05 g/l) a zředí se tímto roztokem na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 R* (tloušťka vrstvy je 0,25 μm),
- *vodíku pro chromatografii R* nebo *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s použitím deoxo filtru,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s děličem 1 : 200.

Teplota kolony se 0,5 min udržuje na 170 °C, pak se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 240 °C a udržuje se 22 min na 240 °C; teplota vstřikovacího prostoru je 250 °C a teplota detektoru je 280 °C.

Nastříkne se dvakrát po 1 μl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou tři píky odpovídající methylkosaheptaenoatu, methyltrikosaenoatu a methyl dokosaheptaenoatu, na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) stoupá procentuální plošné zastoupení v následujícím pořadí: methylpalmitat, methylstearat, methylarachidat, methylbehenat; rozdíl mezi procentuálním plošným zastoupením methylpalmitatu a methylbehenatu je menší než dvě plošná procenta.

Při korekci na vnitřní standard je výtěžnost stanovení provedených metodou standardního přídávku ke zkoušenému roztoku (a) větší než 95 % přidaného množství *ethyl dokosaheptaenoatu CRL* a *ethylkosaheptaenové CRL*.

Obsah EPA a DHA, vyjádřených jako triacylglyceroly, se vypočítá v procentech podle následujícího vzorce (do výpočtu se zahrnuje vyznačená hodnota pro porovnávací látky):

$$A_x \cdot \frac{A_3}{m_3} \cdot \frac{m_1}{A_1 - (A_2 \cdot C)} \cdot \frac{m_{x,r}}{A_{x,r}} \cdot \frac{1}{m_2} \cdot 0,995 \cdot 100,$$

v němž značí:

($A_2 \cdot C$) je korekční faktor pro pik eluovaný společně s vnitřním standardem:

$$C = \frac{A_4}{A_5},$$

m_1 - hmotnost vnitřního standardu ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

m_2 - hmotnost vzorku ve zkoušeném roztoku (a) v miligramech,

m_3 - hmotnost vnitřního standardu v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,

4500 *Omega-3-acidorum triglycerida*

- $m_{x,r}$ - hmotnost *ethyl*dokosahexaenoátu CRL a *ethyl*ikosapentaenoátu CRL v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,
 A_x - plochu píku methylikosapentaenoátu nebo methyldokosahexaenoátu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),
 $A_{x,r}$ - plochu píku methylikosapentaenoátu nebo methyldokosahexaenoátu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
 A_1 - plochu píku methyltrikosanoátu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),
 A_2 - plochu píku methylikosapentaenoátu na chromatogramu zkoušeného roztoku (a),
 A_3 - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
 A_4 - plochu píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (b), který má retenční čas odpovídající retenčnímu času vnitřního standardu na chromatogramech zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a),
 A_5 - plochu píku methylikosapentaenoátu na chromatogramu zkoušeného roztoku (b).

Celkový obsah omega-3-kyselin. Celkový obsah omega-3-kyselin, vyjádřený jako triacylglyceroly, se v procentech vypočítá podle vzorce, v němž se použijí hodnoty získané při stanovení EPA a DHA a jednotlivé píky se určí ze vzorových chromatogramů (obr. 2 a obr. 3):

$$EPA + DHA + \frac{A_{n-3}(EPA + DHA)}{A_{EPA} + A_{DHA}},$$

v němž značí:

- EPA* - obsah EPA získaný při stanovení EPA a DHA v procentech,
DHA - obsah DHA získaný při stanovení EPA a DHA v procentech,
 A_{n-3} - součet ploch píků methylesterů kyselin C18:3 n-3, C18:4 n-3, C20:4 n-3, C21:5 n-3 a C22:5 n-3 na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).
 A_{EPA} - plochu píku methylesteru EPA na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).
 A_{DHA} - plochu píku methylesteru DHA na chromatogramu zkoušeného roztoku (a).

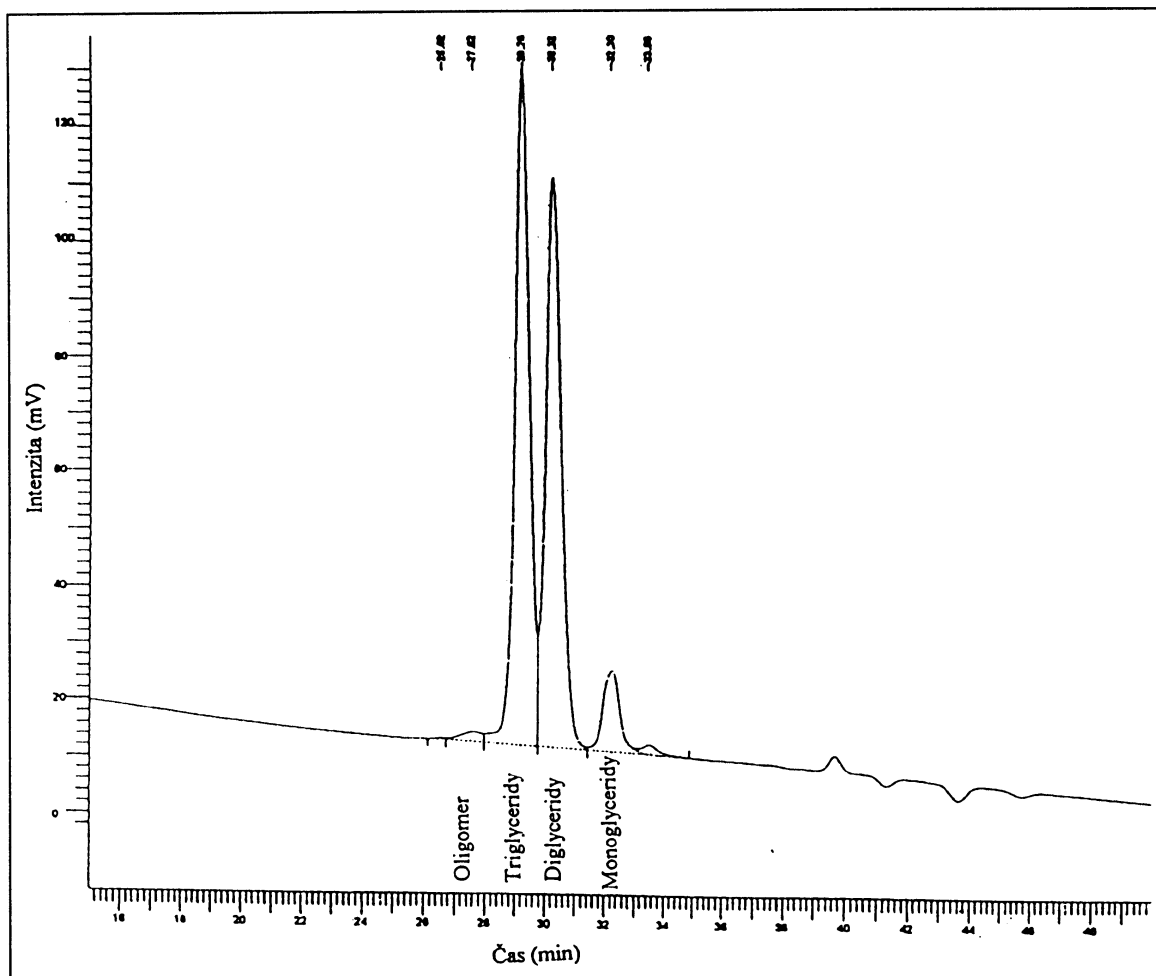
Uchovávání

Ve vzduchotěsných zcela naplněných obalech, chráněny před světlem, v inertní atmosféře.

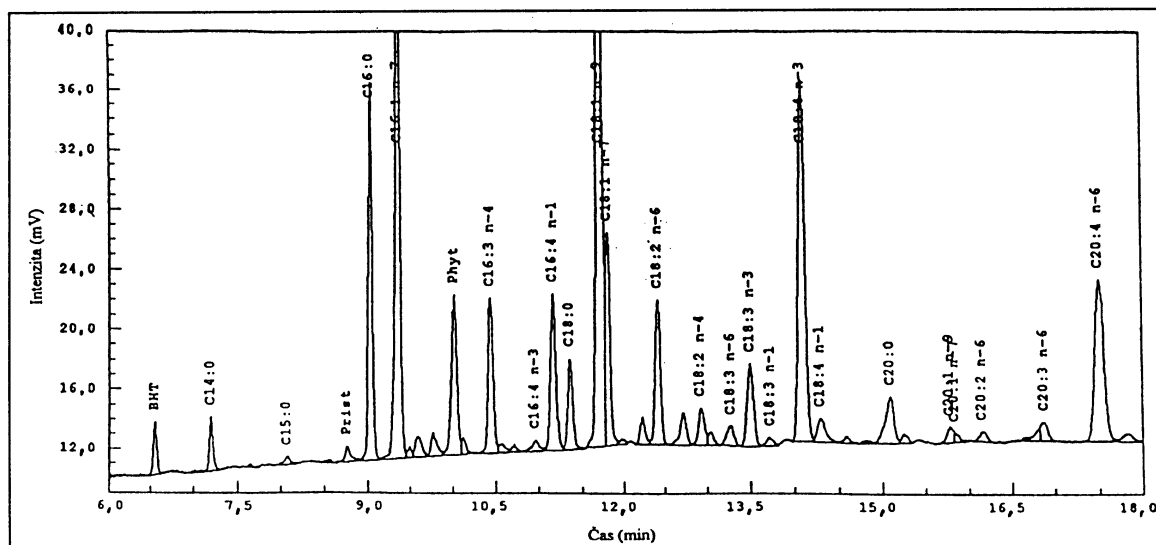
Označování

V označení na obalu se uvede koncentrace přidaného tokoferolu.

Následující vzorové chromatogramy jsou uvedeny jen pro informaci a jako vodítko, netvoří závaznou část článku.

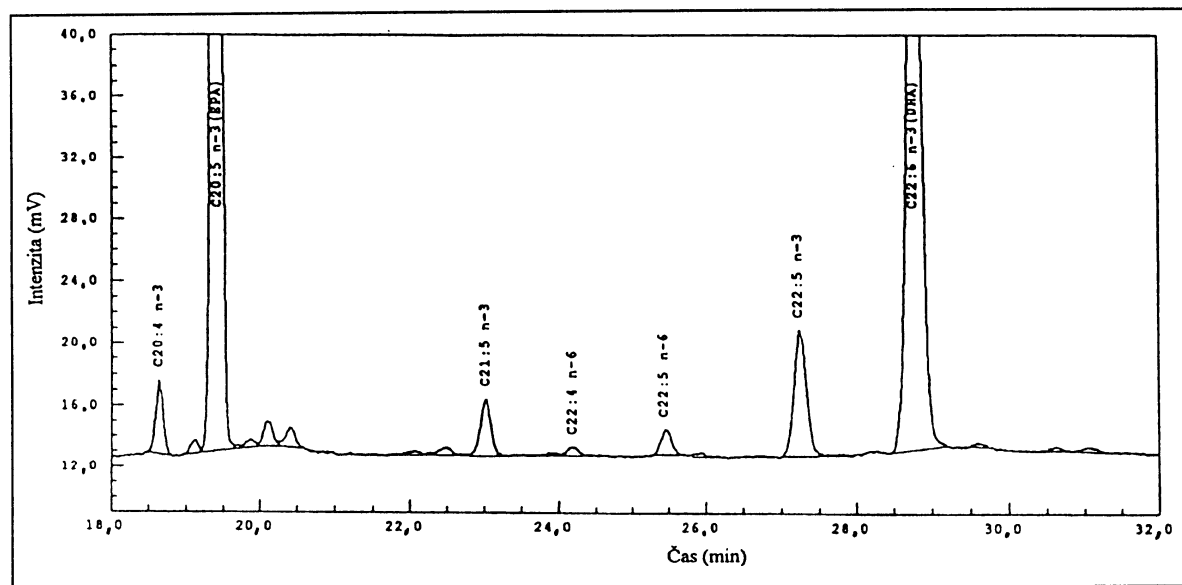


Obr. 1. Vzorový chromatogram pro oligomery a parciální glyceridy



Obr. 2. Vzorový chromatogram pro stanovení celkového obsahu omega-3-kyselin

4502 † Omeprazolum



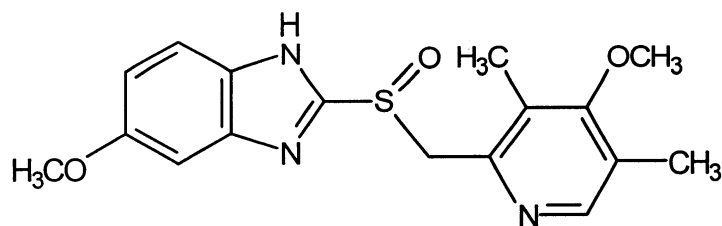
Obr. 3. Vzorový chromatogram pro stanovení celkového obsahu omega-3-kyselin

† Omeprazolum

Omeprazol



1999

 $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ M_r 345,42

CAS 73590-58-6

Je to (*RS*)-5-methoxy-2-[[[4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulphonyl]-1*H*-benzimidazol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{17}H_{19}N_3O_3S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, v methanolu a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** 2,0 mg se rozpustí v *hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS* a zředí se jím na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima při 276 nm a 305 nm. Poměr absorbance zjištěné v maximu při 305 nm k absorbanci zjištěné v maximu při 276 nm je 1,6 až 1,8.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *omeprazolu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Omeprazol nečistota C, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Deska s vrstvou se vloží do komory nasycené parami *kyseliny octové R*; skvrny rychle zhnědnou.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,50 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 25 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1).

Absorbance (2.2.25). Absorbance roztoku S měřená při 440 nm je nejvýše 0,10. (Tento limit odpovídá 0,035 % omeprazol nečistotě F nebo omeprazol nečistotě G).

Omeprazol nečistota C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve 2,0 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R*.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *omeprazolu CRL* se rozpustí ve 2,0 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *2-propanolu R*, *dichlormethanu R* předem protřepaného s *amoniakem 26% R* (100 ml *dichlormethanu R* se protřepe v dělicí nálevce s 30 ml *amoniaku 26% R*, po oddělení vrstev se použije spodní vrstva) a *dichlormethanu R* (20 + 40 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna o R_F vyšším, než má skvrna odpovídající omeprazolu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 3,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 mg *omeprazolu CRL* a 1,0 mg *omeprazol nečistoty D CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),

4504 † *Omeprazol*

- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (1,4 g/l) jehož pH bylo předem upraveno na hodnotu 7,6 *kyselinou fosforečnou R* (27 + 73), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Jestliže se chromatogramy zaznamenávají za předepsaných podmínek, retenční čas omeprazolu je asi 9 min a relativní retenční čas omeprazolu nečistoty D je asi 0,8. Nastříkuje se odděleně 40 µl každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času omeprazolu. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebyla menší než 15 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky omeprazol nečistoty D a omeprazolu není menší než 3.

Pokud je třeba, upraví se pH mobilní fáze nebo koncentrace *acetonitrilu R*. Zvýšení pH zlepšuje rozlišení mezi píky.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

Zbytková rozpouštědla. Provede se (head-space) plynová chromatografie (2.2.28) metodou standardního přídávku. Obsah chloroformu je nejvýše 50 µg/g, obsah dichlormethanu je nejvýše 100 µg/g a obsah trichlorethylenu je nejvýše 100 µg/g.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou 1,8µm filmem *poly[(kyanopropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxanu R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru,
- vhodného head-space dávkovače.

0,50 g se odváží do 10ml lahvičky s vhodným uzávěrem, přidají se 4,0 ml *dimethylacetamidu R* a lahvička se uzavře. Ustaluje se 1 h při 80 °C.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,2 %. 1,000 g se suší 4 h ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

1,100 g se rozpustí ve směsi 10 ml *vody R* a 40 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

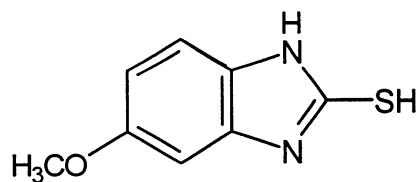
1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS* odpovídá 0,1727 g $C_{17}H_{19}N_3O_3S$.

Uchovávání

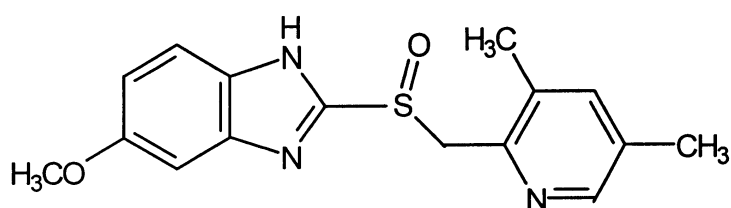
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Separandum.

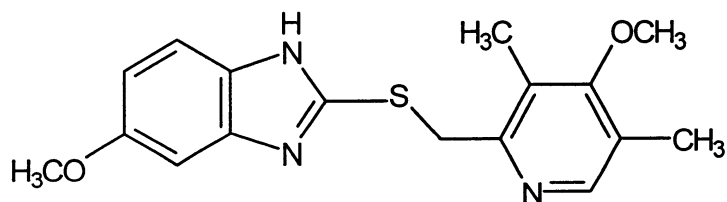
Nečistoty



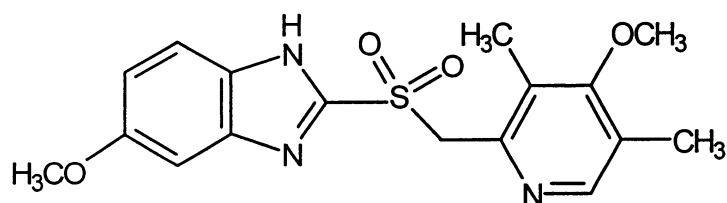
A. 5-methoxy-1H-benzimidazol-2-thiol,



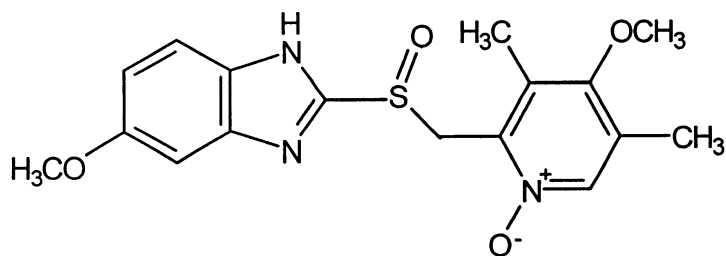
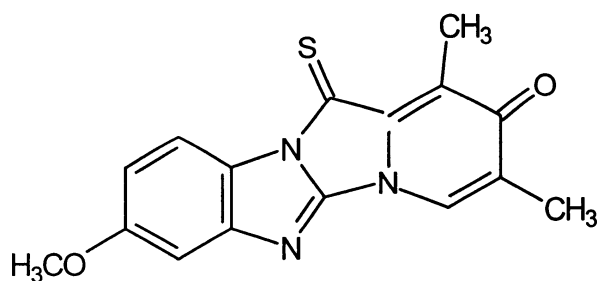
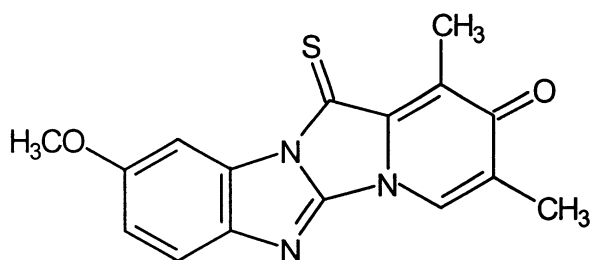
B. 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfinyl-1H-benzimidazol,



C. 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]thio-1H-benzimidazol (ufiprazol),



D. 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfonyl-1H-benzimidazol (omeprazolsulfon),

4506 *Orthosiphonis folium*E. 5-methoxy-2-(((4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl)sulfinyl)-1*H*-benzimidazol-1'-oxid,F. 2,12-dihydro-1,3-dimethyl-8-methoxy-12-thioxobenzo[4,5]pyrido[1,2-*c*]imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-on,G. 2,12-dihydro-1,3-dimethyl-9-methoxy-12-thioxobenzo[4,5]pyrido[1,2-*c*]imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-on.**Orthosiphonis folium***Synonymum:* Folium orthosiphonis

1998

Jsou to úlomky usušených listů a vrcholků stonků druhu *Orthosiphon stamineus* BENTH. (*Orthosiphon aristatus* MIQ., *Orthosiphon spicatus* BAK.).

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Listy jsou křehké, až 7,5 cm dlouhé a až 2,5 cm široké. Řapík je krátký, čepel oválná až kopinatá, na konci zašpičatělá, na bázi klínovitá. List na spodní straně světle šedozelený, na svrchní straně tmavozelený až nahnědle zelený. Žilnatina zpeřená, s malým množstvím postranních žilek. Pozoruje se lupou (10x zvětšující), postranní žilky probíhají rovnoběžně s hlavní žilkou a pak se odklánějí v ostrém úhlu. Okraj listu je nepravidelně hrubě zubatý, někdy vroubkovaný, čepel mírně podvinutá. Řapík tenký, čtyřhranný, 4 mm až 8 mm dlouhý a stejně jako primární žilnatina fialově naběhlý. Občas jsou patrné shluky namodralé bílých až fialových, dosud nerozvinutých květů.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je tmavozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky s buňkami se stěnami vlnitě zprohýbanými, jednobuněčné nebo dvoubuněčné kuželovité krycí chlupy, jednořadé, třibuněčné až osmbuněčné chlupy až 450 μm dlouhé se silně tečkovanými stěnami, chlupy s jednobuněčnou nebo dvoubuněčnou hlavičkou, žláznaté chlupy s jednobuněčnou nohou a obvykle čtyřbuněčnou hlavičkou, diacytické průduchy (2.8.3) jsou četnější na spodní straně listu.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1 g práškované drogy (710) se smíchá s 10 ml *methanolu R*, protřepává se 5 min ve vodní lázni při 60 °C a po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 1 mg *sinensetinu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese do pruhů 10 μl zkoušeného roztoku a 5 μl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směs objemových dílů *methanolu R*, *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 40 + 55) po dráze 10 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části skvrna *sinensetinu* s intenzivní světle modrou fluorescencí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je ve střední části větší skvrna s modrou fluorescencí, která odpovídá skvrně *sinensetinu* na chromatogramu porovnávacího roztoku; nad touto skvrnou jsou dvě skvrny (modrá a fialová) a pod touto skvrnou jsou dvě skvrny s namodralou fluorescencí; ve spodní třetině chromatogramu a v blízkosti čela jsou skvrny s červenou fluorescencí.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 5 % stonků o průměru více než 1 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 11,0 %. 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 12,5 %.

Uchovávání

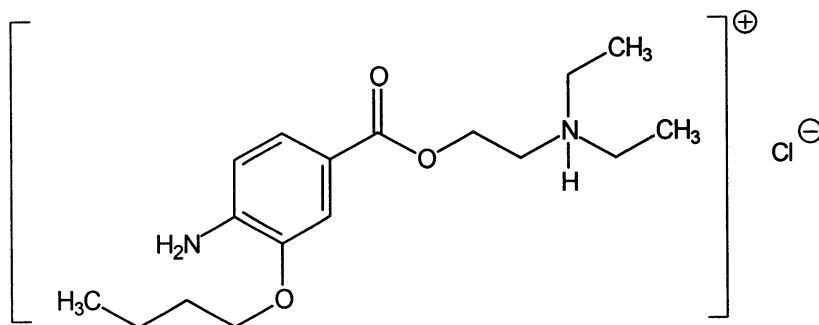
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4508 † *Oxybuprocaini hydrochloridum*† **Oxybuprocaini hydrochloridum**

Oxybuprokainiumchlorid



1998

 $C_{17}H_{29}ClN_2O_3$ M_r 344,88

CAS 5987-82-6

Je to [2-(4-amino-3-butoxybenzoyloxy)ethyl]diethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{17}H_{29}ClN_2O_3$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

Je polymorfní.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 158 °C až 162 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *oxybuprokainiumchloridu* CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v *methanolu* R, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *oxybuprokainiumchloridu* CRL se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *prokainiumchloridu* R se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé* R, *methanolu* R, *vody* R a *ethylacetatu* R (10 + 15 + 15 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se 10 min suší v proudu horkého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém

světle při 254 nm. Postříká se *dimethylaminobenzaldehydem RS7*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se shoduje polohou, barvou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí *vodou R* na 2 ml. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,0; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Tlumivý roztok o pH 2,5. 6 ml *kyseliny chloristé RS* a 12 ml *kyseliny fosforečné zředěné RS* se přidá k 950 ml *vody R*. Hodnota pH se upraví na 2,5 roztokem *hydroxidu sodného R* (40 g/l) a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 1 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (40 g/l) a nechá se 20 min stát. Přidá se 1 ml *kyseliny fosforečné zředěné RS* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml. 25 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *tlumivého roztoku o pH 2,5* (25 + 75), s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 309 nm.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas oxybuprokcainiumchloridu asi 9 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi hlavními píky odpovídajícími oxybuprokcainu a oxybuprokcainu nečistotě B (hydrolytický produkt) nejméně 12.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy píku oxybuprokcainiumchloridu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (1 μg Pb/ml).

4510 † *Oxybutynini hydrochloridum*

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

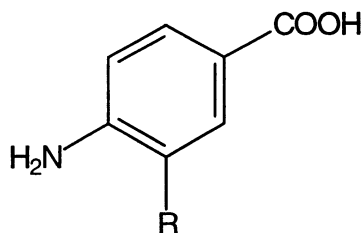
0,300 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 20 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 34,49 mg $C_{17}H_{29}ClN_2O_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. R = H: kyselina 4-aminobenzoová,

B. R = O-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃: kyselina 4-amino-3-butoxybenzoová,

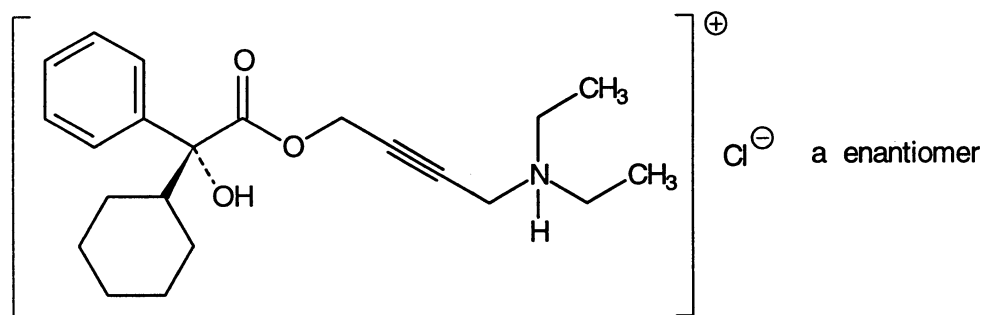
C. R = OH: kyselina 4-amino-3-hydroxybenzoová.

† **Oxybutynini hydrochloridum**

Oxybutyniniumchlorid



1999



$C_{22}H_{32}ClNO_3$

M_r 393,95

CAS 1508-65-2

Je to N,N-diethyl-4-[(RS)- α -cyklohexyl- α -fenylglykoloyl]oxy]but-2-ynylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{22}H_{32}ClNO_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v cyklohexanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14): 124 °C až 129 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *oxybutyniniumchloridu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí v lihu 96% R se zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *oxybutyniniumchloridu CRL* a rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se *methanolem R* po dráze 15 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva vystaví působení par jodu po dobu 30 min. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,00 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg *oxybutyniniumchloridu CRL* a 50,0 mg *oxybutyninu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R2* (5 μ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (3,4 g/l) a *hydrogenfosforečnanu draselného R* (4,36 g/l) s *acetonitrilem R* (49 + 51), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

4512 † *Oxybutynini hydrochloridum*

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy oxybutyniniumchloridu asi 15 min a nečistoty A asi 24 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku na chromatogramu byla asi 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky oxybutyniniumchloridu a nečistoty A je nejméně 11,0.

Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku, 10 µl porovnávacího roztoku (a) a 10 µl porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenají po dobu odpovídající asi dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího nečistotě A větší než 1,5násobek plochy píku nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 3,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

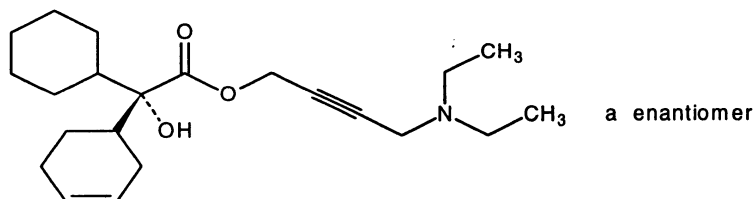
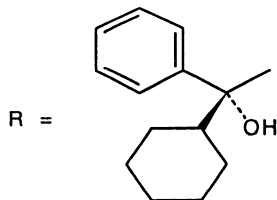
0,300 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 39,4 mg C₂₂H₃₂ClNO₃.

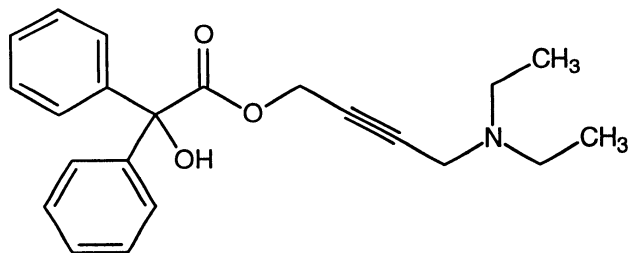
Uchovávání

Chráněn před světlem.

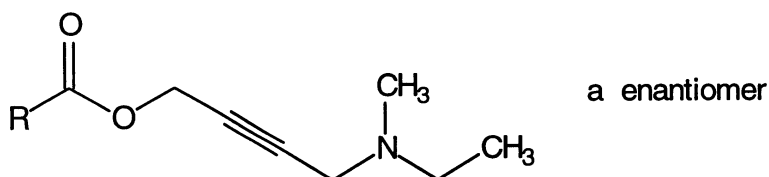
Separandum.

Nečistoty

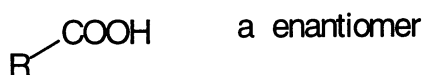
A. 4-(diethylamino)but-2-ynyl-(RS)-2-(3-cyklohexenyl)-2-cyklohexyl-2-hydroxyacetat,



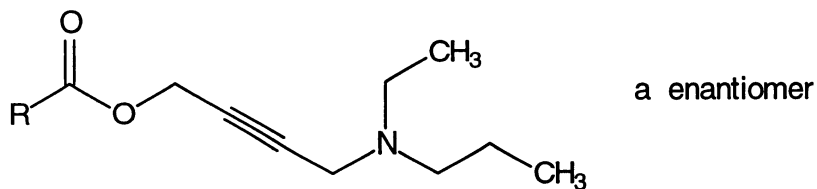
B. 4-(diethylamino)but-2-ynyl-(*RS*)-2,2-difenyl-2-hydroxyacetat (difenylový analogon oxybutyninu),



C. 4-(ethylmethylamino)but-2-ynyl-(*RS*)-2-cyklohexyl-2-fenyl-2-hydroxyacetat (ethylmethylový analogon oxybutyninu),



D. kyselina (*RS*)-2-cyklohexyl-2-fenyl-2-hydroxyoctová (kyselina cyklohexylfenylglykolová),



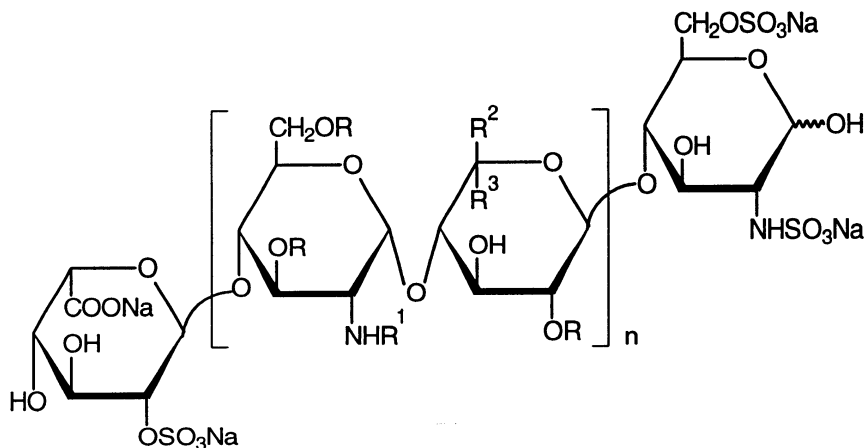
E. 4-(ethylpropylamino)but-2-ynyl-(*RS*)-2-cyklohexyl-2-fenyl-2-hydroxyacetat (ethylpropylový analogon oxybutyninu).

4514 † *Parnaparinum natricum*† **Parnaparinum natricum**

Sodná sůl parnaparinu



1999



$n = 1$ až 21 , $R = H$ nebo SO_3Na , $R^1 = SO_3Na$ nebo $COCH_3$,
 $R^2 = H$ a $R^3 = COONa$ nebo $R^2 = COONa$ a $R^3 = H$

Je to sodná sůl nízkomolekulárního heparinu získaného radikálově katalyzovanou depolymerizací heparinu z hovězí nebo prasečí střevní sliznice peroxidem vodíku a měďnatou solí. Většina složek má strukturu kyseliny 2-O-sulfo- α -L-idopyranosuronové na neredukujícím konci a strukturu 2-N,6-O-disulfo-D-glukosaminu na redukujícím konci jejich řetězce.

Vyhovuje požadavkům článku *Heparina massae molecularis minoris s modifikacemi a dodatečnými následujícími požadavky*.

Průměrná molekulová hmotnost je 4000 až 6000 s charakteristickou hodnotou asi 5000.

Stupeň sulfatace je 2,0 až 2,6 na disacharidovou jednotku.

Počítáno na vysušenou látku, v miligramu je 75 m.j. až 110 m.j. účinnosti protifaktoru Xa. Poměr účinnosti protifaktoru Xa k účinnosti protifaktoru IIa je 1,5 až 3,0.

Výroba

Získává se depolymerizací heparinu extrahovaného z prasečích nebo hovězích tkání a vhodným způsobem čištění.

Je-li sodná sůl parnaparinu získávána z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Zkoušky totožnosti

Vyhovuje zkoušce C popsané v článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími požadavky:

†† *Pentaerithryli tetranitras dilutus* 4515

Průměrná molekulová hmotnost je 4000 až 6000. Hmotnostní procento řetězců s molekulovou hmotností nižší než 3000 je nejvýše 30 %. Hmotnostní procento řetězců s molekulovou hmotností 3000 až 8000 je 50 % až 60 %.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,5 g se rozpustí ve vodě R. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₅ (2.2.2, Metoda II).

Měď. Nejvýše 10 μg/g, počítáno na vysušenou látku; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Uchovávání

Separandum.

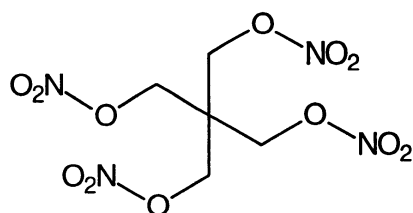
†† *Pentaerithryli tetranitras dilutus*

Triturace pentaerythrylyltetranitratu

Synonymum. Pentaerythryli tetranitras dilutus



1999



$C_5H_8N_4O_{12}$

M_r 316,14

CAS 78-11-5

Je to suchá směs pentaerythrylyltetranitratu a monohydrátu laktosy nebo mannitolu. Obsahuje 95,0 % až 105,0 % deklarovaného obsahu 2,2-bis[(nitrooxy)methyl]propan-1,3-diyldinitratu.

Vlastnosti

Neředěný pentaerythrylyltetranitrat je bílý nebo slabě nažloutlý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Rozpustnost trituratione pentaerythrylyltetranitratu závisí na druhu triturační přísady a koncentraci.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B, D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14) zbytku zkoušené látky ze Zkoušky totožnosti B je 138 °C až 142 °C.

4516 †† *Pentaerythryli tetranitras dilutus*

B. Množství zkoušené látky a množství *trituratione pentaerythryllytetranitratu CRL*, každé odpovídající 25 mg pentaerythryllytetranitratu, se třepou 5 min s 10 ml *acetonu R*. Zfiltruje se, odpaří se do sucha při teplotě nepřevyšující 40 °C a zbytky se suší 16 h nad *oxidem fosforečným R* pod tlakem 0,7 kPa. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety připravené ze zbytku zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety připravené ze zbytku *trituratione pentaerythryllytetranitratu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

Zkoušený roztok. Množství zkoušené látky odpovídající 10 mg pentaerythryllytetranitratu se třepe 5 min s 10 ml *lihu 96% R* a zfiltruje se.

Porovnávací roztok. Množství *trituratione pentaerythryllytetranitratu CRL* odpovídající 10 mg pentaerythryllytetranitratu se třepe 5 min s 10 ml *lihu 96% R* a zfiltruje se.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu vzduchu a postříká se čerstvě připraveným *škrobem s jodidem draselným RS*. Vrstva se vystaví na 15 min působení ultrafialového světla při 254 nm a pozoruje se na denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

Zkoušený roztok. Množství zkoušené látky odpovídající 0,10 g laktosy nebo mannitolu se třepe s 10 ml *vody R*. V případě potřeby se zfiltruje.

Porovnávací roztok (a). 0,10 g *laktosy R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,10 g *mannitolu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). Smíchají se stejná objemová množství porovnávacích roztoků (a) a (b).

Na vrstvu se odděleně nanese po 1 µl každého roztoku a body po nanášení se pečlivě vysuší. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R*, *kyseliny octové bezvodé R* a *ethylenchloridu R* (10 + 15 + 25 + 50) po dráze 15 cm. Poměry jednotlivých složek je třeba dodržet, i malý nadbytek vody způsobí zákal. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu a vyvíjení se ihned opakuje za použití nově připravené směsi. Pak se vrstva usuší v proudu teplého vzduchu a postříká se *kyselinou-4-aminobenzoovou RS*. Vrstva se suší v proudu studeného vzduchu do odstranění pachu acetonu a pak se zahřívá 15 min při 100 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *jodistanu sodného R* (2 g/l), usuší se v proudu studeného vzduchu a zahřívá se 15 min při 100 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a), jedná-li se o trituraci s laktosou, nebo hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b), jedná-li se o trituraci s mannitolem. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Anorganické dusičnany. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. Množství zkoušené látky odpovídající 0,10 g pentaerythryltetranitratu se třepe s 5 ml lihu 96% R a zfiltruje se.

Porovnávací roztok. 10 mg *dusičnanu draselného R* se rozpustí v 1 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% R* na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R* a *toluenu R* (15 + 30 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se důkladně suší v proudu vzduchu do odstranění pachu kyseliny octové. Pak se silně postříká čerstvě připraveným *škrobem s jodidem draselným RS* a vystaví se na 15 min působení ultrafialového světla při 254 nm. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající dusičnanovému iontu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %, počítáno jako dusičnan draselný).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) je rozlišení mezi píky glyceryltrinitratu a pentaerythryltetranitratu nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (a) a 20 µl porovnávacího roztoku (c) a chromatogram zkoušeného roztoku (a) se zaznamenává po dobu odpovídající nejméně pětinasobku retenčního času pentaerythryltetranitratu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,6 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). Množství zkoušené látky odpovídající 25,0 mg pentaerythryltetranitratu se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*, nechá se v ultrazvukové lázni po dobu 15 min a zředí se mobilní fází na 25,0 ml. Zfiltruje se přes vhodný membránový filtr.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Množství *triturace pentaerythryltetranitratu CRL* odpovídající 25,0 mg pentaerythryltetranitratu se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*, nechá se v ultrazvukové lázni po dobu 15 min a zředí se mobilní fází na 25,0 ml. Zfiltruje se přes vhodný membránový filtr.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,3 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (d). Množství *roztoku glyceryltrinitratu CRL* odpovídající 20,0 mg glyceryltrinitratu se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*, nechá se v ultrazvukové lázni po dobu 15 min a zředí se mobilní fází na 25,0 ml. Zfiltruje se přes vhodný membránový filtr. 1,0 ml filtrátu se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (e). K 1 ml porovnávacího roztoku (b) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (d) a zředí se mobilní fází na 10 ml.

4518 †† *Pentaerythryli tetranitras dilutus*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (40 + 60); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Na chromatogramech zaznamenaných za předepsaných podmínek je retenční čas pentaerythryltetranitratu asi 8 min. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se upraví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy hlavního píku je nejvýše 2,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (b).

Uchovávání

Chráněna před světlem a teplem.
Venenum.

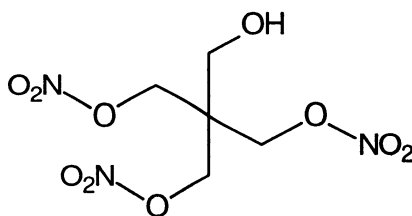
Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah pentaerythryltetranitratu v procentech,
- název a množství použité triturační přísady.

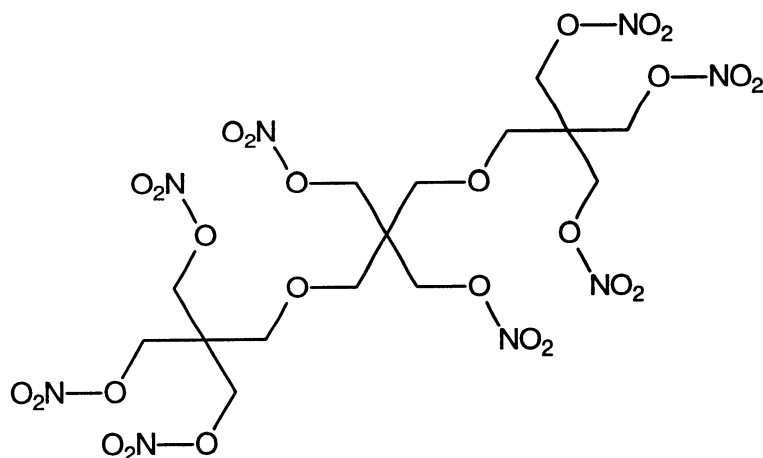
Nečistoty

A. anorganické dusičnany,

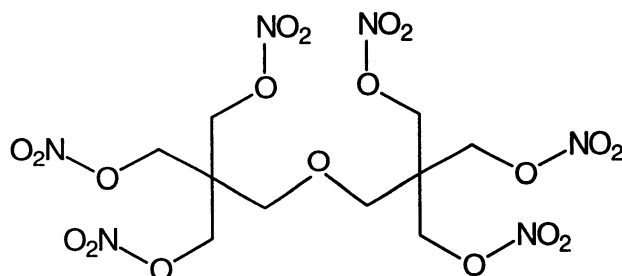


B. pentaerythryltrinitrat,

† Pentamidini diisetionas 4519



C. tripentaerythryloktanitrat,



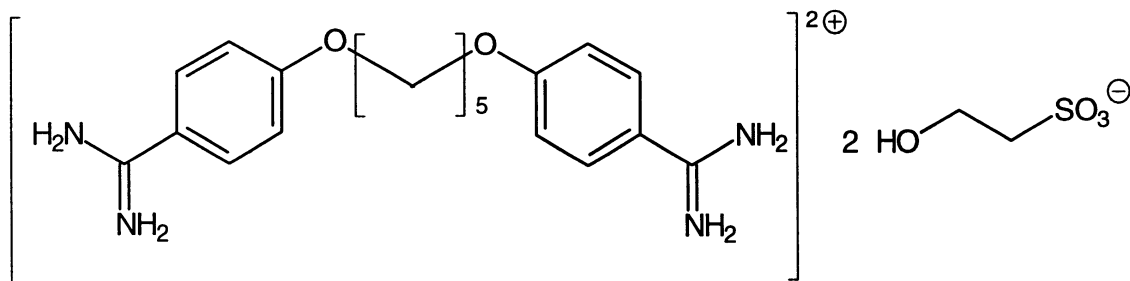
D. dipentaerythrylhexanitrat.

† Pentamidini diisetionas

Pentamidiniumdiisetionat



1999

 $C_{23}H_{36}N_4O_{10}S_2$

M, 592,68

CAS 140-64-7

4520 † *Pentamidini diisetionas*

Je to 4,4'-(pentamethylendioxy)dibenzamidinium-bis(2-hydroxyethansulfonat). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny $C_{23}H_{36}N_4O_{10}S_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, C, F.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D, E a F, viz Obecné zásady (1.2).

- A. 20,0 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku v rozmezí 230 nm až 340 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 265 nm. Specifická absorbance v maximu, počítáno na vysušenou látku, je 520 až 560.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *pentamidiniumdiisetionatu CRL*.
- C. 40 mg se rozpustí v 5 ml vody R a po kapkách za třepání se přidá 1 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a nechá se stát 5 min; směs zůstane čirá.
- D. 0,5 g se rozpustí zahřátím asi na 80 °C v 5 ml vody R, přidá se 10 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, ochladí se ve vodě s ledem a zfiltruje se. K 2 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *kyseliny dusičné R* a potom 0,2 ml roztoku *hexanitratoceričitanu amonného R* (400 g/l) v *kyselině dusičné zředěné RS*; vzniká oranžovočervené zbarvení. Kontrolní roztok připravený současně stejným způsobem se zbarví žlutě.
- E. Asi 30 mg zkoušené látky a 30 mg *ninhydrinu R* se rozpustí v 5 ml vody R a přidá se 1 ml roztoku *tetraboritanu sodného R* (20 g/l); pomalu vzniká objemná bílá sraženina.
- F. 0,150 g se zpracuje metodou spalování organických látek (2.5.10). K absorpci produktů spalování se použije 10 ml *peroxidu vodíku zředěného RS*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější porovnávací barevný roztok intenzity 6 (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g zkoušené látky ve vodě *prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). K 0,1 g v kuželové baňce se přidá 40 ml vody R a skleněné kuličky. Hodnota pH se upraví na 10,5 *hydroxidem sodným zředěným RS* a vaří se pod zpětným chladičem

20 min. Ochladí se a zředí se *vodou R* na 50 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R* a roztoku *octanu amonného R* (30 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 7,5 přidávkem *triethylaminu R* (65 + 35); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu jsou dva hlavní píky a rozlišení mezi těmito píky je nejméně 2,0. Nastříkne se odděleně 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,4 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 4,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *dimethylformamidu R*, přidá se 0,25 ml *modři thymolové RS* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* v proudu *dusíku R* do změny zbarvení indikátoru na modré. Provede se slepá zkouška.

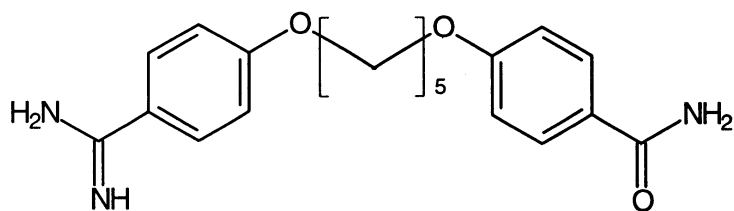
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,63 mg C₂₃H₃₆N₄O₁₀S₂.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

Nečistoty



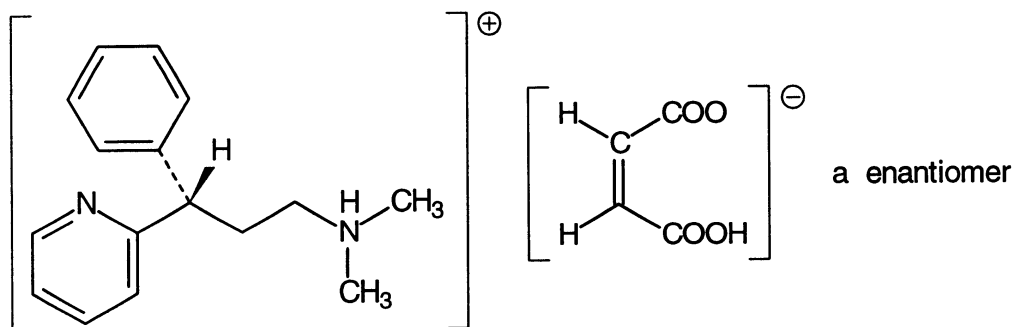
A. 4-[[5-(4-amidinofenoxy)pentyl]oxy]benzenkarboxamid.

4522 † *Pheniraminum hydrogenomaleas*† **Pheniraminum hydrogenomaleas**

Feniraminiumhydrogenmaleinat

Synonymum. Pheniraminum maleas

1999

 $C_{20}H_{24}N_2O_4$ M_r 356,42

CAS 132-20-7

Je to N,N-dimethyl-[(3*RS*)-3-fenyl-(2-pyridyl)propyl]amonium-(*Z*)-hydrogenbutendioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{20}H_{24}N_2O_4$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, v methanolu a v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 106 °C až 109 °C.

B. 40,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové* 0,1 mol/l *RS* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou* 0,1 mol/l *RS* na 50,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 220 nm až 320 nm; roztok vykazuje prodlevu při 261 nm a absorpční maximum při 265 nm. Specifická absorbance v maximu při 265 nm je 200 až 220.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *feniraminiumhydrogenmaleinatu CRL*.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenční přísadou pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 65 mg *kyseliny maleinové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,10 g *feniraminiumhydrogenmaleinatu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, kyseliny mravenčí bezvodé R, methanolu R a diisopropyletheru R (3 + 7 + 20 + 70) po dráze 12 cm. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou viditelné dvě zřetelně oddělené skvrny. Horní skvrna odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a spodní skvrna odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 5,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,20 g ve 20,0 ml vody prosté oxidu uhličitého R.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí ve směsí objemových dílů acetonitrilu R a mobilní fáze A (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg 2-benzylpyridinu R se rozpustí v 10,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se směsí objemových dílů acetonitrilu R a mobilní fáze A (1 + 9) na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a mobilní fáze A (1 + 9) na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné silikagelem dimethylotadecylsilanizovaným pro chromatografii R (10 μ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok heptansulfonanu sodného R (5,056 g/l), pH se upraví kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,5,
 - mobilní fáze B - acetonitril R,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0	90	10	ustalování
0 - 35	90 → 62	10 → 38	lineární gradient
35 - 37	62 → 90	38 → 10	lineární gradient

- spektrofotometrického detektoru, 264 nm.

Nastříkne se odděleně po 20 μ l každého roztoku a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) jsou tři hlavní píky (kyselina maleinová, 2-benzylpyridin a feniramin) a rozlišení mezi píky 2-benzylpyridinu a feniraminu je nejméně 8. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku kyseliny maleinové, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu

4524 † *Pheniramin hydrogenomaleas*

porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku kyseliny maleinové, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

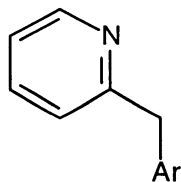
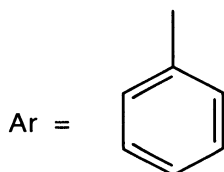
0,260 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 17,82 mg C₂₀H₂₄N₂O₄.

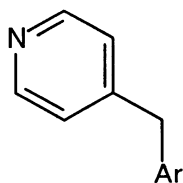
Uchovávání

Chráněn před světlem.

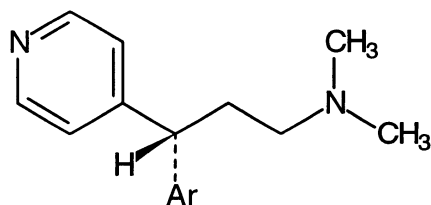
Separandum.

Nečistoty

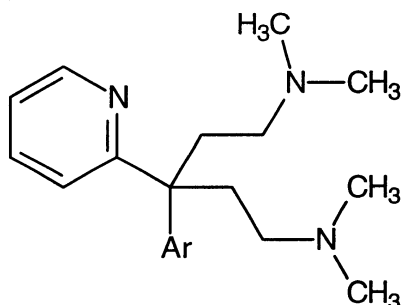
A. 2-benzylpyridin,



B. 4-benzylpyridin,

† *Phenoxymethylpenicillinum* 4525

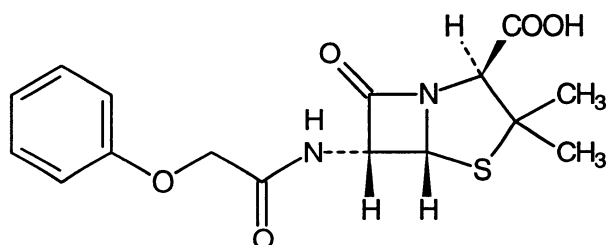
a enantiomer

C. (3*RS*)-*N,N*-dimethyl-3-fenyl-3-(4-pyridyl)propylamin,D. *N,N,N',N'*-tetramethyl-3-fenyl-3-(2-pyridyl)pentan-1,5-diamin.† **Phenoxymethylpenicillinum**

Fenoxymethylpenicilin



1999

 $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ M_r 350,39

CAS 87-08-1

Je to kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-fenoxyacetaido-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová produkovaná při růstu určitými kmeny *Penicillium notatum* nebo příbuznými organismy na živné půdě s obsahem vhodného prekurzoru nebo získaná jiným způsobem. Počítáno na bezvodou látku, součet procentuálních obsahů fenoxymethylpenicilinu a 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu je 95,0 % až 100,5 %.

4526 † *Phenoxymethylpenicillinum*

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek, slabě hygroskopický. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *fenoxymethylpenicilinu CRL*.
- C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu H silanizovaného R*.
Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v 5 ml *acetonu R*.
Porovnávací roztok (a). 25 mg *fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *acetonu R*.
Porovnávací roztok (b). 25 mg *draselné soli benzylpenicilinu CRL* a 25 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amonného R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 5,0 *kyselinou octovou ledovou R*, (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a hodnotí se na denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- D. Asi 2 mg se převedou do zkumavky délky asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá kroužením; roztok je červenohnědý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká tmavě červenohnědé zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 2,4 až 4,0; měří se suspenze s 50 mg v 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +186° až +200°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *1-butanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d) a izokraticky se eluuje zvolenou mobilní fází, dokud se nezaznamená pík fenoxymethylpenicilinu. Citlivost systému se nastaví tak, aby byl poměr signálu píku k šumu nejméně 3. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (e). Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (b) a izokraticky se eluuje. Bezprostředně po zaznamenání píku fenoxymethylpenicilinu se spustí lineární gradient.

† *Phenoxymethylpenicillinum* 4527

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	60 → 0	40 → 100	lineární gradient
20 - 35	0	100	izokracicky
35 - 50	0 → 60	100 → 40	ustalování

Nastříkne se rozpouštěcí směs a stejným postupem se provede slepá zkouška. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (1 %).

4-Hydroxyfenoxymethylpenicilin. Nejvýše 4,0 %, počítáno na bezvodou látku, stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. K 250 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* se přidá 500 ml *vody R* a pH se upraví roztokem *hydroxidu sodného R* (8,4 g/l) na hodnotu 6,5 a potom se zředí *vodou R* na 1000 ml.

Zkoušený roztok (a). 50,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (b). Připraví se *bezprostředně před použitím*. 80,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 55,0 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* a 10 mg *sodné soli benzylpenicilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 20 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 50 ml.

Porovnávací roztok (e). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - smíchají se objemové díly *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,5, methanolu R* a *vody R* (10 + 30 + 60),
 - *mobilní fáze B* - smíchají se objemové díly *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,5, vody R* a *methanolu R* (10 + 35 + 55),
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se ustálí promýváním mobilní fází o poměru A : B je 60 : 40. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 6,0 (v případě potřeby se upraví poměr mobilních fází A : B) a kapacitní poměr pro druhý pík (fenoxymethylpenicilin) je 5,0 až 7,0. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a).

4528 † *Phenoxymethylpenicillinum*

Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch hlavního píku nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztoky (a) a (b).

Obsah fenoxymethylpenicilinu v procentech se vypočítá vynásobením obsahu draselné soli fenoxymethylpenicilinu faktorem 0,902. Vypočítá se obsah 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu v procentech.

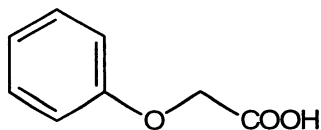
Uchovávání

Uchovává se chráněn před vlhkostí.

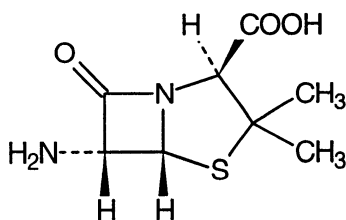
Separandum.

Nečistoty

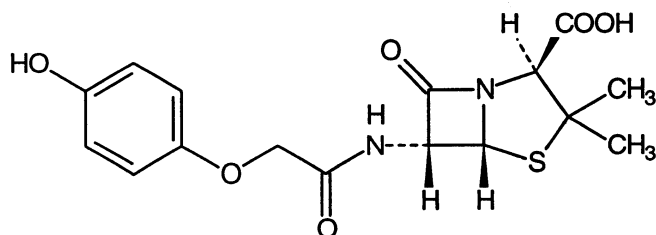
A. benzylpenicilin,



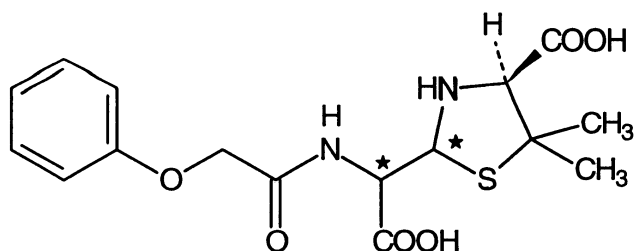
B. kyselina fenoxyoctová,



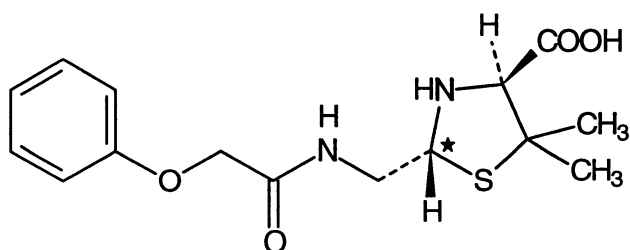
C. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (kyselina 6-aminopenicilanová),



D. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[2-(4-hydroxyfenoxy)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (4-hydroxyfenoxymethylpenicilin),

† *Phenoxymethylpenicillinum kalicum* 4529

E. kyselina (4*S*)-2-[(fenoxyacetamido)(karboxy)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny fenoxymethylpenicilinu),



a epimer na C*

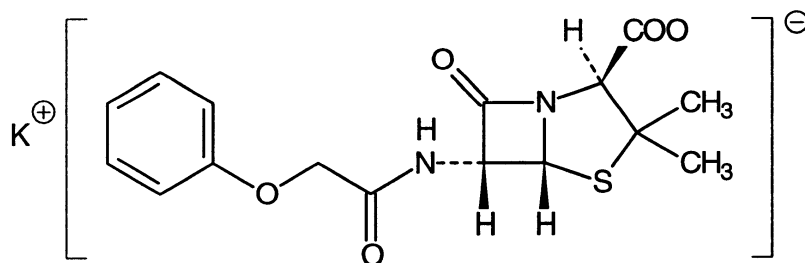
F. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenoxyacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penilové kyseliny fenoxymethylpenicilinu).

† *Phenoxymethylpenicillinum kalicum*

Draselná sůl fenoxymethylpenicilinu



1999



$C_{16}H_{17}KN_2O_5S$

M_r 388,48

CAS 132-98-9

Je to draselná sůl kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-fenoxycetamido-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylové produkovaná při růstu určitými kmeny *Penicillium notatum* nebo

4530 † *Phenoxymethylpenicillinum kalicum*

příbuznými organismy na živné půdě s obsahem vhodného prekurzoru nebo získaná jiným způsobem. Počítáno na bezvodou látku, součet procentuálních obsahů draselné soli fenoxymethylpenicilinu a draselné soli 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu je 95,0 % až 100,5 %.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v lihu 96 %.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu H silanizovaného R*.

Zkoušený roztok. 25 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R*.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *draselné soli benzylpenicilinu CRL* a 25 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a roztoku *octanu amonného R* (154 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 5,0 *kyselinou octovou ledovou R*, (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a hodnotí se na denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Asi 2 mg se převedou do zkumavky délky asi 150 mm a o průměru 15 mm, zvlhčí se 0,05 ml *vody R* a přidají se 2 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*. Obsah zkumavky se promíchá kroužením; roztok je červenohnědý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká tmavě červenohnědé zbarvení.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na draslík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 5,5 až 7,5. 50 mg se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +215° až +230°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (d) a izokraticky se eluuje zvolenou mobilní fází, dokud se nezaznamená pík fenoxymethylpenicilinu. Citlivost systému se nastaví tak, aby byl poměr signálu píku k šumu nejméně 3. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (e). Nastříkne se

† *Phenoxymethylpenicillinum kalicum* 4531

20 µl zkoušeného roztoku (b) a izokraticky se eluuje. Bezprostředně po zaznamenání píku fenoxymethylpenicilinu se spustí lineární gradient.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	60 → 0	40 → 100	lineární gradient
20 - 35	0	100	izokraticky
35 - 50	0 → 60	100 → 40	ustalování

Nastříkne se rozpouštěcí směs a stejným postupem se provede slepá zkouška. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (1 %).

Draselná sůl 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu. Nejvýše 4,0 %, počítáno na bezvodou látku, stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. K 250 ml *dihydrogenfosforečnanu draselného* 0,2 mol/l RS se přidá 500 ml vody R a pH se upraví roztokem *hydroxidu sodného* R (8,4 g/l) na hodnotu 6,5 a potom se zředí vodou R na 1000 ml.

Zkoušený roztok (a). 50,0 mg zkoušené látky se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (b). Připraví se bezprostředně před použitím. 80,0 mg zkoušené látky se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 50,0 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu* CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu* CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *draselné soli fenoxymethylpenicilinu* CRL a 10 mg *sodné soli benzylpenicilinu* CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 20 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 50 ml.

Porovnávací roztok (e). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii* R (5 µm),
- mobilní fází s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - smíchají se objemové díly *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,5, methanolu R a vody R* (10 + 30 + 60),
 - *mobilní fáze B* - smíchají se objemové díly *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,5, vody R a methanolu R* (10 + 35 + 55),
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

4532 † *Phenoxymethylpenicillinum kalicum*

Kolona se ustálí promýváním mobilní fází o poměru A : B je 60 : 40. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 6,0 (v případě potřeby se upraví poměr mobilních fází A : B) a kapacitní poměr pro druhý pík (fenoxymethylpenicilin) je 5,0 až 7,0. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch hlavního píku nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztoky (a) a (b).

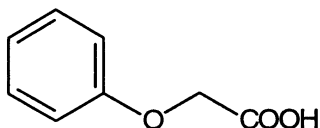
Vypočítá se obsah draselné soli fenoxymethylpenicilinu v procentech. Obsah draselné soli 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu v procentech se vypočítá vynásobením obsahu 4-hydroxyfenoxymethylpenicilinu faktorem 1,104.

Uchovávání

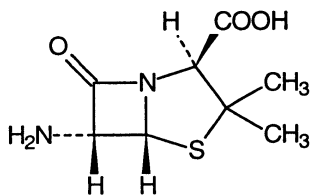
V dobře uzavřených obalech.
Separandum.

Nečistoty

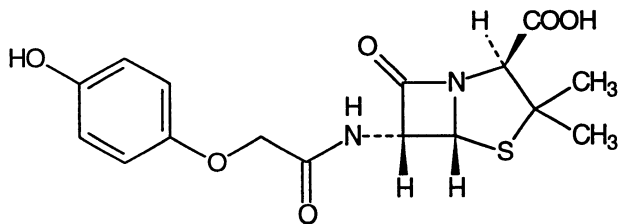
A. benzylpenicilin,



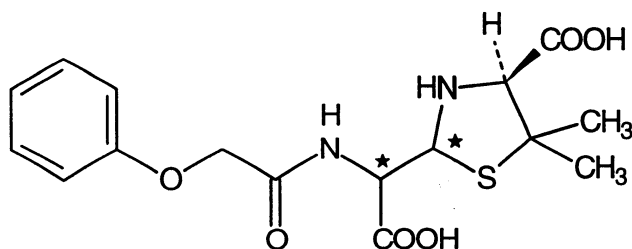
B. kyselina fenoxyoctová,



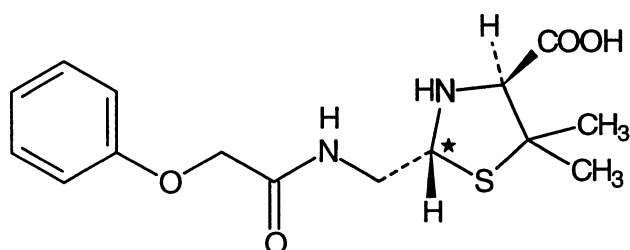
C. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (kyselina 6-aminopenicilanová),



D. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[2-(4-hydroxyfenoxi)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (4-hydroxyfenoxymethylpenicilin),



E. kyselina (4*S*)-2-[(fenoxyacetamido)(karboxy)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny fenoxyethylpenicilinu),



a epimer na C*

F. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[(fenoxyacetamido)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penilové kyseliny fenoxyethylpenicilinu).

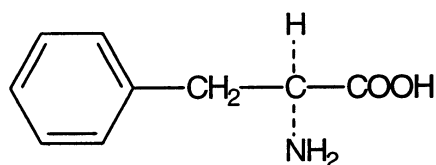
Phenylalaninum¹⁾

Fenylalanin

Synonyma. L-Phenylalaninum, L-fenylalanin



RR99



$C_9H_{11}NO_2$

M_r 165,19

CAS 63-91-2

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 572 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4534 *Phenylalaninum*

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-fenylpropanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_9H_{11}NO_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Lesklé bílé vločky nebo bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *fenylalaninu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. K asi 10 mg se přidá 0,5 g *dusičnanu draselného R* a 2 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se 20 min ve vodní lázni. Po ochlazení se přidá 5 ml roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (50 g/l) a nechá se 10 min stát ve vodě s ledem. Pak se přidá 9,0 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*; vzniká fialově červené až fialově hnědé zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-33,0^\circ$ až $-0,35,5^\circ$, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *fenylalaninu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *fenylalaninu CRL* a 10 mg *tyrosinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy bez dalšího přidání *kyseliny dusičné* (200 µg/g).

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a *vody destilované R* (5 + 25) a zředí se stejnou směsí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se ihned překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia* (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru do změny žlutého zbarvení na zelené.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,52 mg C₉H₁₁NO₂.

Uchovávání

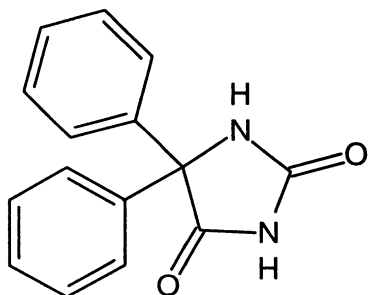
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4536 † Phenytoinum

† Phenytoinum

Fenytoin

1998

 $C_{15}H_{12}N_2O_2$ M_r 252,27

CAS 57-41-0

Je to 5,5-difenyl-2,4-imidazolidindion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{15}H_{12}N_2O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96% a velmi těžce rozpustný v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *fenytoinu CRL*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce *Příbuzné látky*, viz *Zkoušky na čistotu*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. K asi 10 mg se přidá 1 ml *vody R* a 0,05 ml *amoniaku 17,5% RS* a zahřeje se k varu. Přidá se 0,05 ml roztoku *síranu měďnatého R* (50 g/l) v *amoniaku zředěném RS2* a protřepe se; vznikne růžová krystalická sraženina.
- D. Zkouška *Síranový popel*, viz *Zkoušky na čistotu*, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí ve směsi obsahující 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 20 ml *vody R*. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 1,0 g se přidá 45 ml vody R a vaří se 2 min. Po ochlazení se roztok zfiltruje, filtr se promyje vodou prostou oxidu uhličitého R a spojené filtráty se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 50 ml. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 0,15 ml červeně methylové RS. Ke změně zbarvení indikátoru na červené se spotřebuje nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS. K 10 ml roztoku se přidá 0,15 ml modři bromthymolové RS1. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm. Před použitím se vrstva promyje směsí objemových dílů dioxanu R a hexanu R (30 + 75) a nechá se uschnout na vzduchu.

Zkoušený roztok (a). 0,40 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg fenytoinu CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 8 mg benzofenonu R se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 8 mg benzilu R se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R a zředí se stejnou směsí na 100 ml.

Porovnávací roztok (d). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů acetonu R a methanolu R na 100 ml.

Porovnávací roztok (e). Smíchá se 1 ml porovnávacího roztoku (b) a 1 ml porovnávacího roztoku (c).

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vrstva se suší 2 min v proudě studeného vzduchu. Poté se vyvíjí směsí objemových dílů dioxanu R a hexanu R (30 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): žádná skvrna odpovídající benzofenonu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); žádná skvrna odpovídající benzilu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrn odpovídajících benzofenonu a benzilu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

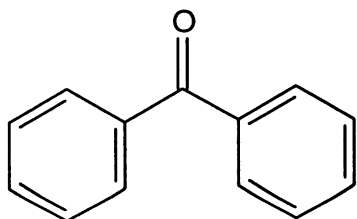
Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 50 ml dimethylformamidu R a titruje se methoxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

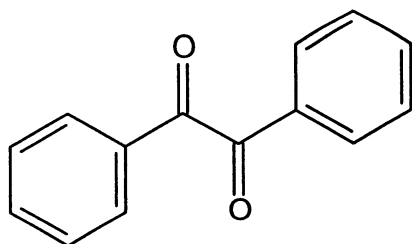
1 ml methoxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 25,23 mg C₁₅H₁₂N₂O₂.

4538 † *Phytomenadionum***Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech.
Separandum.

Nečistoty

A. difenylketon (benzofenon),



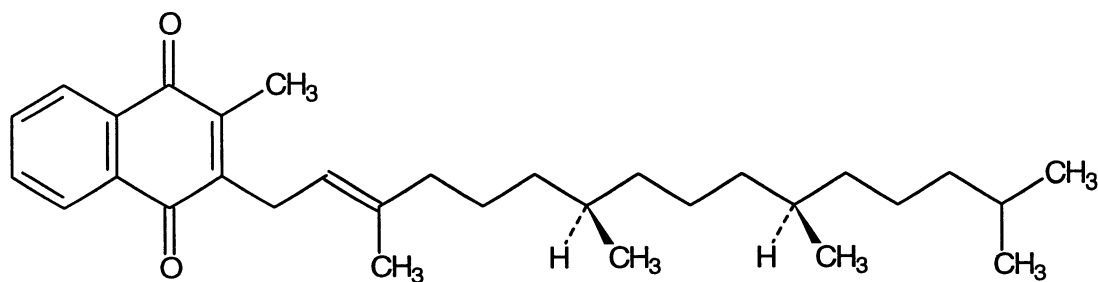
B. difenylethandion (benzil).

† Phytomenadionum

Fytomenadion

Synonymum. Vitamin K₁

1999

C₃₁H₄₆O₂M_r 450,70

CAS 84-80-0

Je to směs 2-methyl-3-[(2*E*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenyl]-1,4-naftochinonu (*trans*-fytomenadion), 2-methyl-3-[(2*Z*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenyl]-1,4-naftochinonu (*cis*-fytomenadion) a 2,3-epoxy-2-methyl-3-[(2*E*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecenyl]-2,3-dihydro-1,4-naftochinonu (*trans*-epoxyfytomenadion).

Obsahuje nejvýše 4,0 % *trans*-epoxyfytomenadionu a nejméně 75,0 % *trans*-fytomenadionu. Celkový obsah tří složek je 97,0 % až 103,0 %.

Vlastnosti

Čirá jasně žlutá viskózní olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem a mastnými oleji.

Působením světla se rozkládá.

Index lomu je asi 1,526.

Zkoušky totožnosti

Zkoušky se provádí rychle a za chránění před aktinickým světlem.

- A.** 10,0 mg se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku (2.2.25) při 275 nm až 340 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 327 nm a absorpční minimum při 285 nm. Specifická absorbance v maximu je 67 až 73. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *trimethylpentanem R* na 50,0 ml a měří se absorbance při 230 nm až 280 nm; roztok vykazuje čtyři absorpční maxima: při 243 nm, 249 nm, 261 nm a 270 nm.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Menadion a další příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** 50 mg se rozpustí v 10 ml *methanolu R* a přidá se 1 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (200 g/l) v *methanolu R*; vzniká zelené zbarvení, které zahříváním ve vodní lázni při 40 °C přechází na fialovočervené a pak stáním na červenohnědé.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,5 g se rozpustí v *trimethylpentanu R* a zředí se jím na 25 ml; roztok je čirý (2.2.1).

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Menadion a další příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,40 g se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *cyklohexanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *fytomenadionu CRL* se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *cyklohexanem R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 4,0 mg *menadionu R* se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *cyklohexanu R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se 5 min suší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Pak se postříká roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (100 g/l)

4540 † *Phytomenadionum*

v *ethanolu R*, 5 min se zahřívá při 120 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): skvrna odpovídající menadionu není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající menadionu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se ke skvrnám pod hlavní skvrnou, které od ní nemusí být zcela odděleny.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 15,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 15,0 mg *fytomenadionu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 15,0 mg *fytomenadionu CRL* a 4,0 mg *trans-epoxyfytomenadionu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm) o porozitě 8 nm,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *oktanolu R*, *diisopropyletheru R* a *heptanu R* (0,67 + 3,3 + 1000); průtoková rychlost je 0,4 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky, 20 μl.

Nastříkne se porovnávací roztok (b), a pokud je použit zapisovač, nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku nebyla menší než 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže pořadí eluovaných píků je: *trans-epoxyfytomenadion*, *cis-fytomenadion* a *trans-fytomenadion*. Postupně se šestkrát nastříkne po 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku *trans-izomeru* je menší než 1,0 % a rozlišení mezi píky *trans-fytomenadionu* a *cis-fytomenadionu* je nejméně 2,5. Pak se nastříkne 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a) a vypočítá se obsah *trans-fytomenadionu*, *cis-fytomenadionu* a *trans-epoxyfytomenadionu* v procentech z následujících vzorců:

$$\text{trans-fytomenadion} = \frac{m' \cdot A'_{\text{trans}} \cdot S_{\text{trans}}}{m \cdot S'_{\text{trans}}},$$

$$\text{cis-fytomenadion} = \frac{m' \cdot A'_{\text{cis}} \cdot S_{\text{cis}}}{m \cdot S'_{\text{cis}}},$$

$$\text{trans-epoxyfytomenadion} = \frac{m' \cdot A'_{\text{epoxy}} \cdot S_{\text{epoxy}}}{m \cdot S'_{\text{epoxy}}},$$

v nichž značí:

- m' - navážku referenční látky v porovnávacím roztoku (a) v miligramech,
- m - navážku zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v miligramech,
- A'_{trans} - obsah *trans-fytomenadionu* ve *fytomenadionu CRL* v procentech,
- A'_{cis} - obsah *cis-fytomenadionu* ve *fytomenadionu CRL* v procentech,
- A'_{epoxy} - obsah *trans-epoxyfytomenadionu* ve *fytomenadionu CRL* v procentech,
- S_{trans} - plochu píku *trans-izomeru* na chromatogramu zkoušeného roztoku,

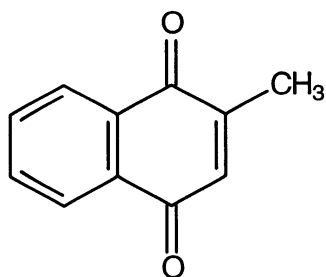
† *Picotamidum monohydricum* 4541

- S_{cis} - plochu píku *cis*-izomeru na chromatogramu zkoušeného roztoku,
 S_{epoxy} - plochu píku *trans*-epoxyfytomenadionu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
 S'_{trans} - plochu píku *trans*-izomeru na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
 S'_{cis} - plochu píku *cis*-izomeru na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
 S'_{epoxy} - plochu píku *trans*-epoxyfytomenadionu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty



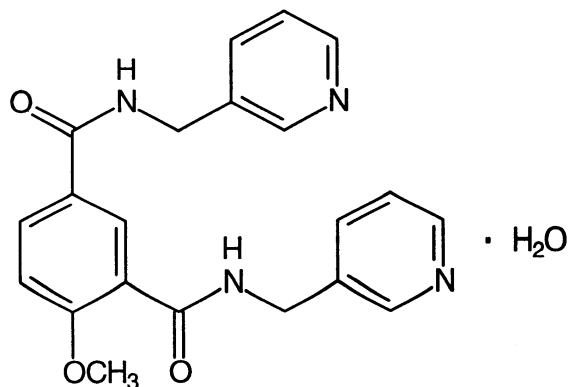
A. 2-methyl-1,4-naftochinon (menadion).

† *Picotamidum monohydricum*

Monohdrát pikotamidu



1999



$C_{21}H_{20}N_4O_3 \cdot H_2O$

M_r 394,43

CAS 80530-63-8

4542 † *Picotamidum monohydricum*

Je to monohydrát 4-methoxy-N,N'-bis(pyridin-3-ylmethyl)benzen-1,3-dikarboxamidu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{21}H_{20}N_4O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách.

Vyazuje polymorfismus.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *monohydrátu pikotamidu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v *acetonu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,5 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_6 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 0,5 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,5 g zkoušené látky a 5 mg *pikotamidu nečistoty A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R*, *methanolu R* a *1-butanolu R* (0,8 + 1 + 2,5 + 8) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %) a nejvýše jedna z těchto skvrn je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve směsi 2,5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 12,5 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se opatrným zahřátím rozpustí ve směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (15 + 85) a zředí se touto směsí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije porovnávací roztok olova (1 μ g Pb/ml) získaný ředěním základního roztoku olova (100 μ g Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (15 + 85).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 4,5 % až 5,0 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

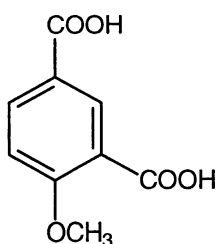
0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové ledové R* a 20 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,82 mg $C_{21}H_{20}N_4O_3$.

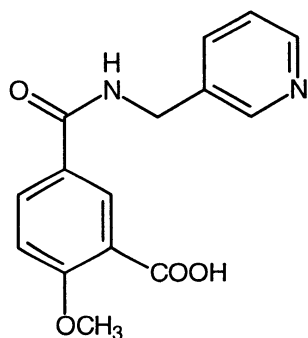
Uchovávání

Separandum.

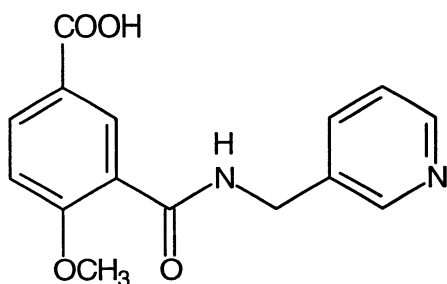
Nečistoty



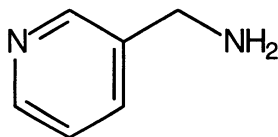
A. kyselina 4-methoxybenzen-1,3-dikarboxylová,



B. kyselina 2-methoxy-5-[[pyridin-3-ylmethyl]amino]karbonyl]benzoová,



C. kyselina 4-methoxy-3-[[pyridin-3-ylmethyl]amino]karbonyl]benzoová,

4544 † *Pilocarpini hydrochloridum*

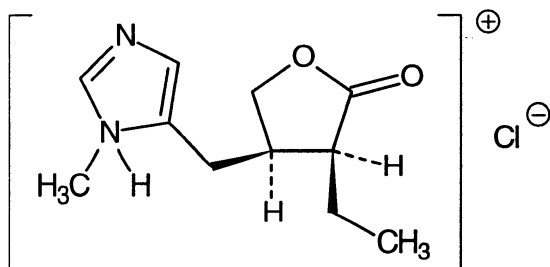
D. (3-pyridyl)methylamin.

† **Pilocarpini hydrochloridum**

Pilokarpiniumchlorid



1999

Synonymum. Pilocarpinium chloratum $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$ M_r 244,72

CAS 54-71-7

Je to 5-[(3*S*,4*R*)-[3-ethyl-2-oxo-tetrahydrofuran-4-yl]methyl]-1-methylimidazoliumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101 % sloučeniny $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Taje při asi 203 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem pilokarpiniumchloridu CRL. Jsou-li látky zkoušeny ve formě tablet, připraví se za použití chloridu draselného R.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 2 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg pilokarpiniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, methanolu R a dichlormethanu R (1 + 14 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C, po ochlazení se postříká jodobismutitanem draselným zředěným RS. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí vodou R na 2 ml, přidá se 0,05 ml roztoku dichromanu draselného R (50 g/l), 1 ml peroxidu vodíku zředěného RS a 2 ml dichlormethanu R a protřepe se; organická vrstva se zbarví fialově.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž₇ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +89° až +93°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg isopilokarpiniumnitrátu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 mg isopilokarpiniumnitrátu CRL se rozpustí v 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se vodou R na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 5 ml zkoušeného roztoku se přidá 0,1 ml amoniaku 17,5% RS, roztok se zahřívá 30 min v sušárně při 90 °C, po ochlazení se zředí vodou R na 25,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 25,0 ml. Vytvoří se převážně kyselina pilokarpová.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R1 (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů methanolu R, acetonitrilu R a roztoku tetrabutylamoniumdihydrogenfosfátu R (0,679 g/l), jehož pH bylo předem upraveno amoniakem zředěným RS2 na hodnotu 7,7; (55 + 60 + 885); průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 20 µl každého roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku (asi 40 min). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi

4546 † *Pilocarpini hydrochloridum*

píky isopilokarpinu a pilokarpinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nejméně 1,6. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku odpovídajícího isopilokarpinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); součet ploch píků isopilokarpinu a kyseliny pilokarpové je menší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků isopilokarpinu a kyseliny pilokarpové, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Železo (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 5 ml základního roztoku železa (1 µg Fe/ml) a 5 ml vody R.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 1,000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

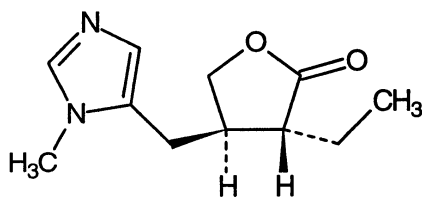
0,200 g se rozpustí v 50 ml lihu 96% R a přidá se 5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 24,47 mg C₁₁H₁₇ClN₂O₂.

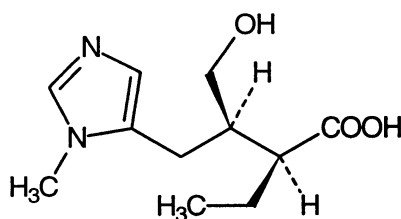
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

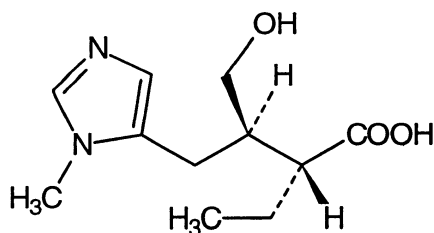
Separandum.

Nečistoty

A. (3R,4R)-3-ethyl-4-[(1-methyl-5-imidazolyl)methyl]tetrahydro-2-furanon (isopilokarpin),



B. kyselina (2S,3R)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-5-imidazolyl)butanová (kyselina pilokarpová),

† *Pilocarpini nitras* 4547

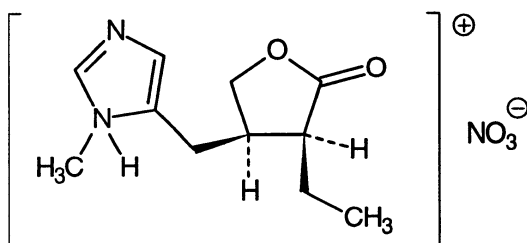
C. kyselina (2*S*,3*R*)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-5-imidazolyl)butanová (kyselina isopilokarpová).

† *Pilocarpini nitras*

Pilokarpiniumnitrat



1999



$C_{11}H_{17}N_3O_5$

M_r 271,27

CAS 148-72-1

Je to 5-[(3*S*,4*R*)-[3-ethyl-2-oxotetrahydrofuran-4-yl]methyl]-1-methyl-imidazoliumnitrat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_{17}N_3O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystalky. Je citlivý na světlo, snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Taje při asi 174 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz *Zkoušky na čistotu*, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *pilokarpinium-nitratu CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

4548 † *Pilocarpini nitras*

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *pilocarpiniumnitratu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu* a *dichlormethanu* (1 + 14 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C, po ochlazení se postříká *jodobismutitanem draselným zředěným RS*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí *vodou R* na 2 ml, přidá se 0,05 ml roztoku *dichromanu draselného R* (50 g/l), 1 ml *peroxidu vodíku zředěného RS* a 2 ml *dichlormethanu R* a protřepe se; organická vrstva se zbarví fialově.

E. Vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50,0 ml. Připraví se těsně před použitím.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než barevný porovnávací roztok \check{Z}_6 (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +80° až +83°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg *isopilocarpiniumnitratu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 mg *isopilocarpiniumnitratu CRL* se rozpustí v 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se *vodou R* na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (d). K 5 ml zkoušeného roztoku se přidá 0,1 ml *amoniaku 17,5% RS* a roztok se zahřívá 30 min v sušárně při 90 °C, po ochlazení se zředí *vodou R* na 25 ml. 3 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 25,0 ml. Vytvoří se převážně kyselina pilokarpová.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *methanolu R*, *acetonitrilu R* a roztoku *tetrabutylamoniumpdihydrogenfosfatu R* (0,679 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *amoniakem zředěným RS2* na hodnotu 7,7; (55 + 60 + 885); průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 20 μ l každého roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku (asi 40 min). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky isopilocarpinu a pilokarpinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nejméně 1,6. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku odpovídajícího isopilocarpinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); součet ploch píků isopilocarpinu a kyseliny pilokarpové je menší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnáva-

cího roztoku (a) (1,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píků isopilocarpinu a kyseliny pilokarpové, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřehlídí se k žádnému píku s plochou menší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a k píku dusičnanového iontu s relativním retenčním časem vztaheným k píku pilokarpinu asi 0,3.

Chloridy (2.4.4). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (70 µg/g).

Železo (2.4.9). 10 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku železa (1 µg Fe/ml) a 5 ml vody R.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 0,1000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 30 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

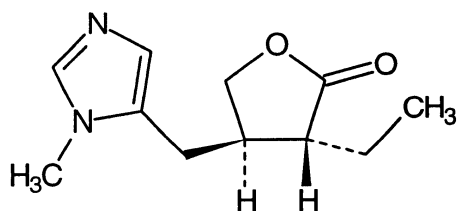
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 27,13 mg C₁₁H₁₇N₃O₅.

Uchovávání

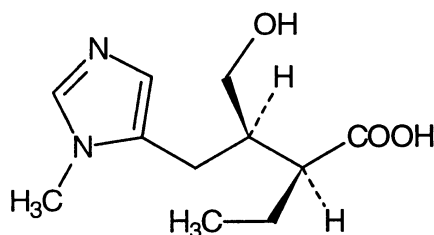
Chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

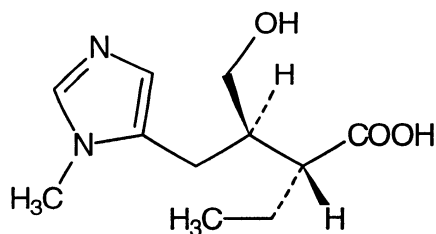


A. (3*S*,4*R*)-3-ethyl-4-[(1-methyl-5-imidazolyl)methyl]tetrahydro-2-furanon (isopilocarpin),



B. kyselina (2*S*,3*R*)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-5-imidazolyl)butanová (kyselina pilokarpová),

4550 † Pimozidum



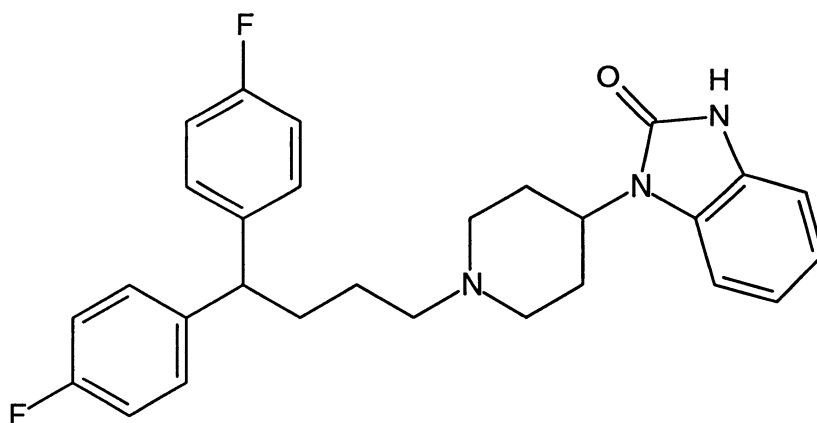
C. kyselina (2*R*,3*R*)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-5-imidazolyl)butanová
(kyselina isopilokarpová).

† Pimozidum

Pimozid



1998

C₂₈H₂₉F₂N₃OM_r 461,56

CAS 2062-78-4

Je to 1-[1-[4,4-bis(4-fluorfenyl)butyl]-4-piperidyl]-2-benzimidazolinon. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₂₈H₂₉F₂N₃O.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v methanolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 216 °C až 220 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety pimozidu CRL.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 30 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg pimozidu CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 30 mg pimozidu CRL a 30 mg *benperidolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R* a *methanolu R* (1 + 9) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu teplého vzduchu a pak se vystaví působení par jodu do objevení skvrn. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do téměř bílého zbarvení (obvykle méně než 5 min). Po ochlazení se přidá 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolftaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, aby se roztok stal bezbarvým, a zfiltruje se. K čerstvě připravené směsi obsahující 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS* se přidá 1,0 ml filtrátu, zamíchá se, nechá se 5 min stát a zbarvení roztoku se porovná se zbarvením kontrolního roztoku připraveného stejným způsobem. Zkoušený roztok je žlutý a kontrolní roztok je červený.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,2 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok \check{Z}_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5,0 mg pimozidu CRL a 2,0 mg *mebendazolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2,0 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok obsahující *octan amonný R* (2,5 g/l) a *tetrabutylamoniumhydrogensulfat R* (8,5 g/l),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

4552 † *Pimozidum*

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 10	80 → 70	20 → 30	lineární gradient
10 - 15	70	30	izokraticky
15 - 20	80	20	přepnutí na původní podmínky
20 = 0	80	20	začátek dalšího chromatogramu

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Kolona se promývá nejméně 10 min mobilní fází o počátečním složení.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: mebendazolu asi 7 min; pimozidu asi 8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky mebendazolu a pimozidu je nejméně 5,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 µl *methanolu R* jako slepá zkouška, 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,75 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému ve slepé zkoušce a k žádnému píku s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

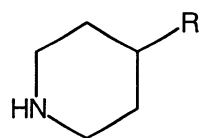
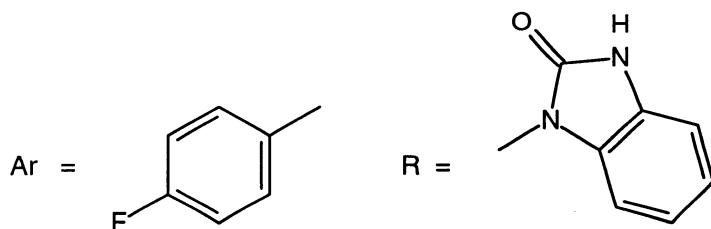
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 46,16 mg $C_{28}H_{29}F_2N_3O$.

Uchovávání

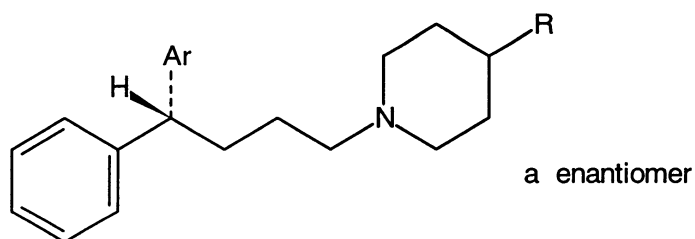
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

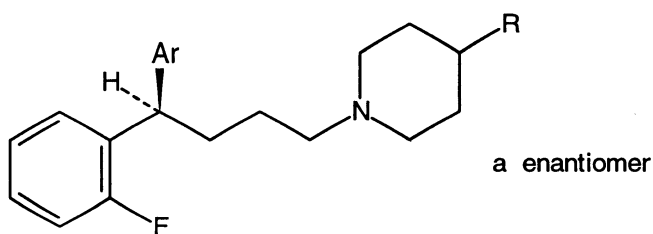
Nečistoty



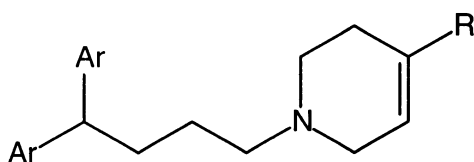
A. 1-(4-piperidyl)benzimidazolinon,



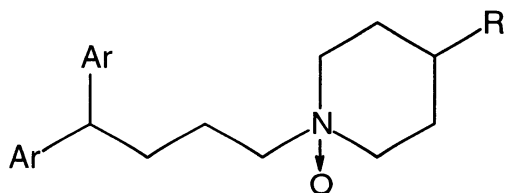
B. 1-{1-[(4*RS*)-4-(4-fluorfenyl)-4-fenylbutyl]-4-piperidyl}-2-benzimidazolinon,



C. 1-{1-[(4*RS*)-4-(2-fluorfenyl)-4-(4-fluorfenyl)butyl]-4-piperidyl}-2-benzimidazolinon,



D. 1-{1-[4,4-bis(4-fluorfenyl)butyl]-1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl}-2-benzimidazolinon,

4554 † *Piperacillinum monohydricum*

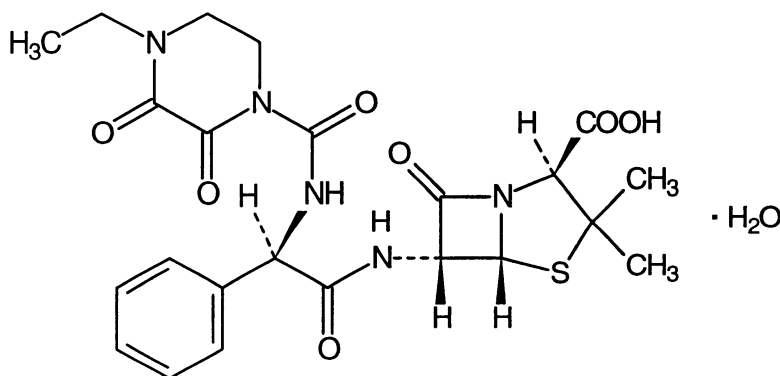
E. 1-[4,4-bis(4-fluorfenyl)butyl]-4-(2-oxobenzimidazolin-1-yl)piperidin-1-oxid.

† **Piperacillinum monohydricum**

Monohydrát piperacilinu

Synonymum. Piperacillinum

1999

 $C_{23}H_{27}N_5O_7S \cdot H_2O$ M_r 535,58

CAS 66258-76-2

Je to monohydrát kyseliny (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]-amino]-2-fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylové. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 96,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{23}H_{27}N_5O_7S$.

Výroba

Jestliže je látka vyráběna postupem, který zanechává zbytky *N,N*-dimethylanilinu v produktu, a/nebo postupem používajícím výchozí suroviny nebo meziprodukty, které obsahují zbytky *N,N*-dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce:

***N,N*-Dimethylanilin.** Nejvýše 20 µg/g; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu a těžce rozpustný v ethylacetatu.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *piperacilinu CRL*.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí v *uhličitanu sodném RS* a zředí se jím na 25 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 430 nm není větší než 0,10.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +160° až +170°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a izokraticky se eluuje zvolenou mobilní fází. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b) a izokraticky se eluuje. Bezprostředně po zaznamenání píku *piperacilinu* se spustí následující lineární gradient.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	88 → 0	12 → 100	lineární gradient
30 - 45	0 → 88	100 → 12	ustalování

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 2,0 % až 4,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. Smíchají se objemové díly *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) (25 + 75).

Zkoušený roztok (a). 25,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (b). Připraví se bezprostředně před použitím. 40,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *piperacilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 25,0 ml.

4556 † *Piperacillinum monohydricum*

Porovnávací roztok (c). 10,0 mg piperacilinu CRL a 10,0 mg ampicilinu bezvodého CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (88 + 12); průtoková rychlost je 1,0 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - směs 576 ml vody R, 200 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) a 24 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (80 g/l); je-li nutné, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 5,5; pak se přidá 200 ml *acetonitrilu R*,
 - *mobilní fáze B* - směs 126 ml vody R, 200 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) a 24 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (80 g/l); je-li nutné, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 5,5; pak se přidá 650 ml *acetonitrilu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky ampicilinu a piperacilinu nejméně 10 (v případě potřeby se upraví poměr mobilních fází A : B) a kapacitní poměr pro druhý pík (piperacilin) je 2,0 až 3,0. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (d).

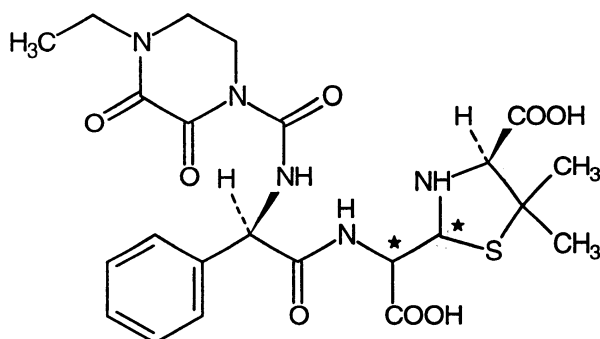
Citlivost systému se nastaví tak, aby poměr signálu píku k šumu byl nejméně 3. Nastříkne se porovnávací roztok (a) šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka pro plochu píku piperacilinu není větší než 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Uchovávání

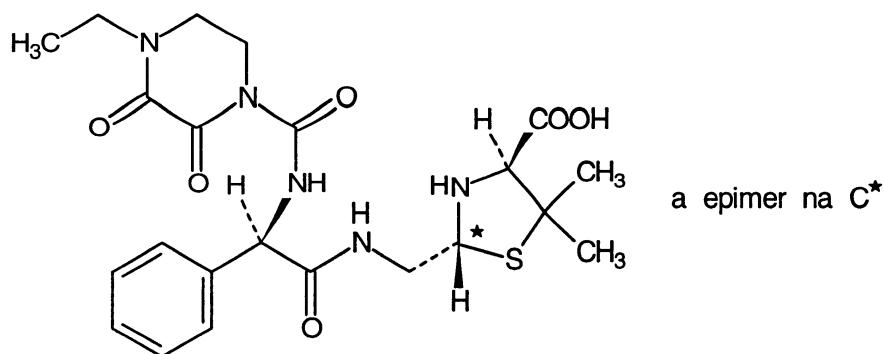
Separandum.

Nečistoty

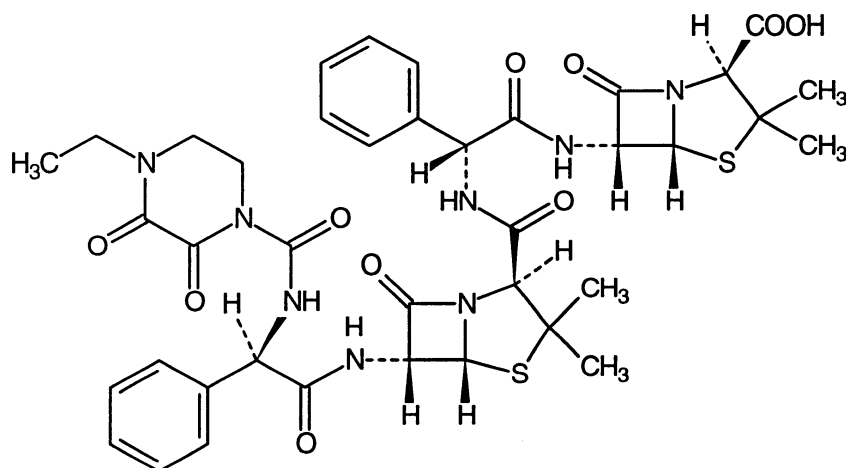
A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (ampicilin),



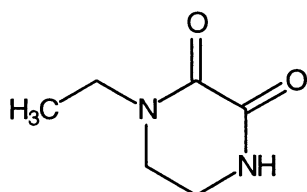
B. kyselina (4*S*)-2-{[(2*R*)-2-[(4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)karbonyl]amino]-2-fenylacetamido}(karboxy)methyl}-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny piperacilinu),

† *Piperacillinum monohydricum* 4557

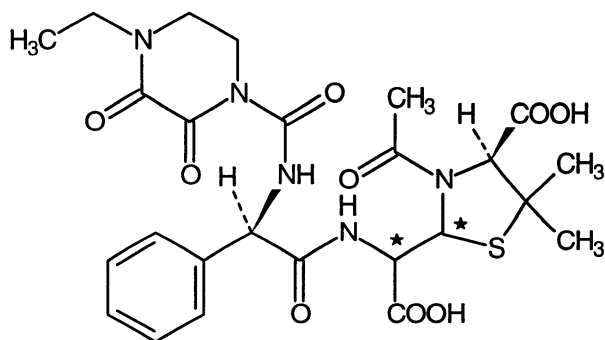
C. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[[*(2R)*-2-[[*(4R)*-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido]methyl}-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniloové kyseliny piperacilinu),



D. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(*2R*)-2-[[[(*2S*,5*R*,6*R*)-6-[(*2R*)-2-[[*(4R)*-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (piperacilinylampicilin),



E. 1-ethyl-2,3-piperazindion,

4558 † *Piperacillinum natricum*

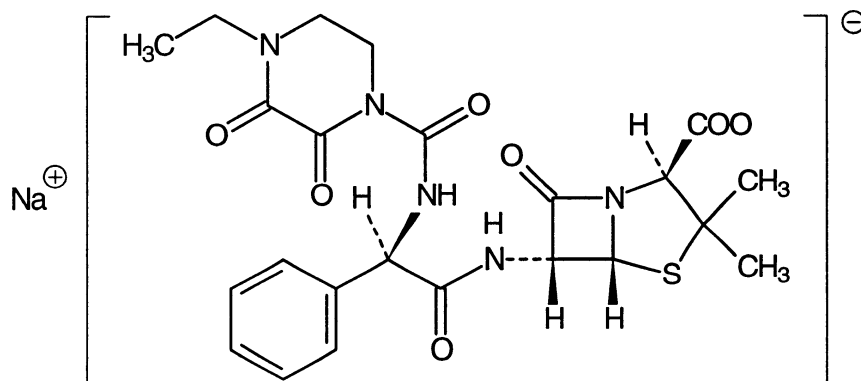
F. kyselina (4*S*)-3-acetyl-2-[[[(2*R*)-2-[[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido](karboxy)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (acetylované penicilínové kyseliny piperacilinu).

† *Piperacillinum natricum*

Sodná sůl piperacilinu



1999



$C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$

M_r 539,54

CAS 59703-84-3

Je to natrium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-[[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylát. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$.

Výroba

Jestliže je látka vyráběna postupem, který zanechává zbytky *N,N*-dimethylanilinu v produktu, a/nebo postupem používajícím výchozí suroviny nebo meziproducty, které obsahují zbytky *N,N*-dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce:

† *Piperacillinum natricum* 4559

N,N-Dimethylanilin. Nejvýše 20 µg/g; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě a v methanolu, prakticky nerozpustná v ethylacetatu.

Zkoušky totožnosti

A. 0,250 g se rozpustí ve vodě R, přidá se 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 5 ml ethylacetatu R, promíchá se a nechá se stát 10 min ve vodě s ledem. Krystaly se odfiltrují malým filtrem ze slinutého skla (40) za použití sání, promyjí se 5 ml vody R a 5 ml ethylacetatu R a suší se 60 min v sušárně při 60 °C. Infračervené absorpční spektrum získaných krystalů (2.2.24) se shoduje se spektrem piperacilinu CRL.

B. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 430 nm není větší než 0,10.

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 7,0; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +175° až +190°, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a izokraticky se eluuje zvolenou mobilní fází. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b) a izokraticky se eluuje. Bezprostředně po zaznamenání píku piperacilinu se spustí následující lineární gradient.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	88 → 0	12 → 100	lineární gradient
30 - 45	0 → 88	100 → 12	ustalování

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 2,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

4560 † *Piperacillinum natricum*

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, aniž by byl při ní zařazen příslušný výrobní postup odstraňující bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li v miligramu nejvýše 0,07 m.j. endotoxinu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Rozpouštěcí směs. Smíchají se objemové díly *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) (25 + 75).

Zkoušený roztok (a). 25,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (b). Připraví se *bezprostředně před použitím*. 40,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 25,0 mg *piperacilinu CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 mg porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 mg *piperacilinu CRL* a 10 mg *ampicilinu bezvodého CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (88 + 12); průtoková rychlost je 1,0 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - směs 576 ml *vody R*, 200 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) a 24 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (80 g/l); je-li nutné, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 5,5; pak se přidá 200 ml *acetonitrilu R*,
 - *mobilní fáze B* - směs 126 ml *vody R*, 200 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (31,2 g/l) a 24 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu R* (80 g/l); je-li nutné, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 5,5; pak se přidá 650 ml *acetonitrilu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky *ampicilinu* a *piperacilinu* nejméně 10 (v případě potřeby se upraví poměr mobilních fází A : B) a kapacitní poměr pro druhý pík (*piperacilin*) je 2,0 až 3,0. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (d).

Citlivost systému se nastaví tak, aby poměr signálu píku k šumu byl nejméně 3. Nastříkne se porovnávací roztok (a) šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka pro plochu píku *piperacilinu* není větší než 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Obsah sodné soli *piperacilinu* v procentech se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 1,042.

† *Piperacillinum natricum* 4561**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

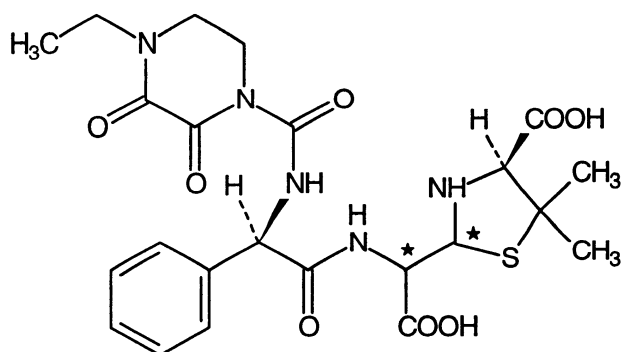
Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

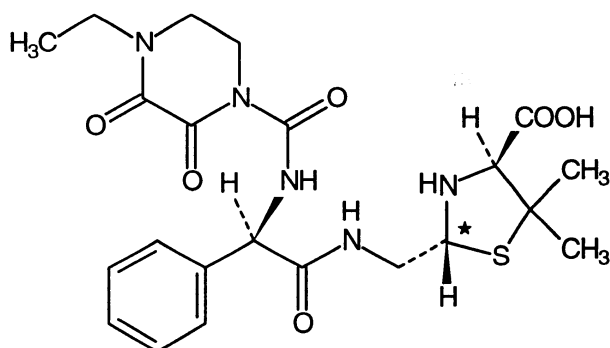
- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

Nečistoty

A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-amino-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (ampicilin),

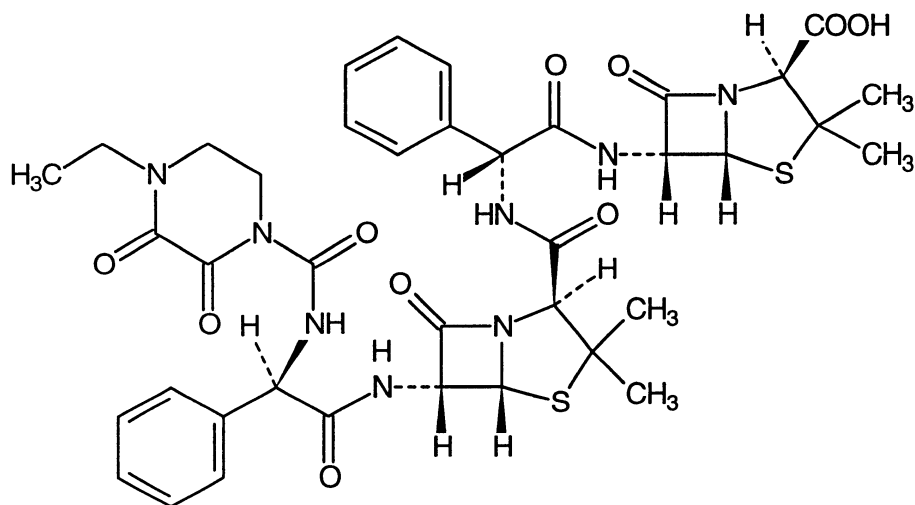


B. kyselina (4*S*)-2-{[(2*R*)-2-[(4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)karbonyl]amino]-2-fenylacetamido} (karboxy)methyl}-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny piperacilinu),

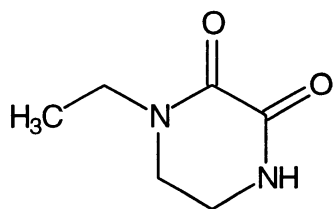


a epimer na C*

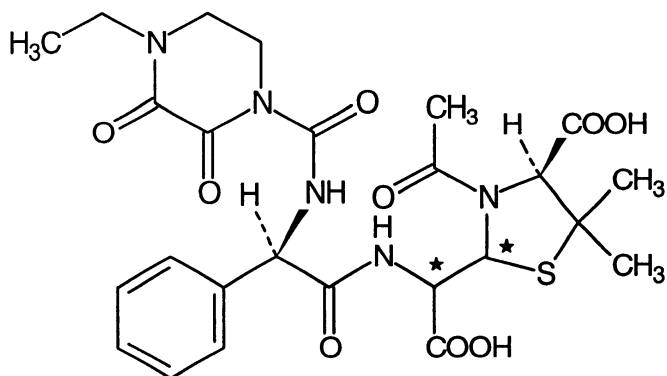
C. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-{[(2*R*)-2-[(4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)karbonyl]amino]-2-fenylacetamido}methyl}-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (penicilové kyseliny piperacilinu),

4562 † *Piperacillinum natricum*

D. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]hept-2-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (piperacilinyllampicilin),



E. 1-ethyl-2,3-piperazindion,

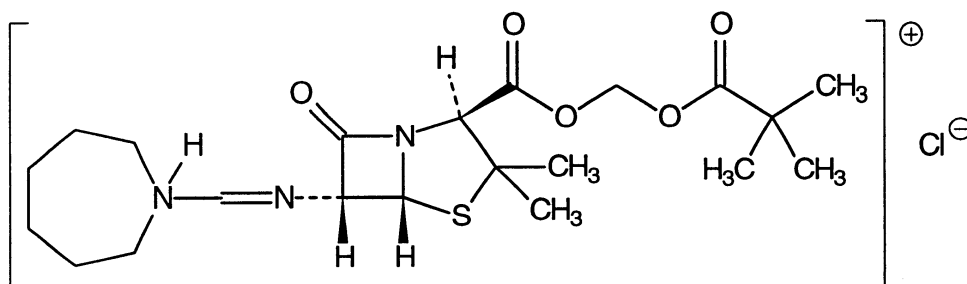


F. kyselina (4*S*)-3-acetyl-2-[[[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-fenylacetamido](karboxy)methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (acetylované penicilové kyseliny piperacilinu).

† *Pivmecillinami hydrochloridum* 4563† **Pivmecillinami hydrochloridum**

Pivmecillinamiumchlorid

1999

 $C_{21}H_{34}ClN_3O_5S$ M_r 476,03

CAS 32887-03-9

Je to 1-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-2-[(pivaloyloxy)methyloxykarbonyl]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-6-yl]iminomethyl}hexahydro-1*H*-azepiniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 101,5 % sloučeniny $C_{21}H_{34}ClN_3O_5S$.

Výroba

Jestliže je látka vyráběna postupem, který zanechává zbytky *N,N*-dimethylanilinu v produktu, a/nebo postupem používajícím výchozí suroviny nebo meziprodukty, které obsahují zbytky *N,N*-dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce:

***N,N*-Dimethylanilin.** Nejvýše 20 µg/g; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití vhodné validované metody.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, v ethanolu a v methanolu, těžce rozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *pivmecillinamiumchloridu CRL*.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 10 ml. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_8 (2.2.2, *Metoda I*).

4564 † *Pivmecillinami hydrochloridum*

Hodnota pH (2.2.3). 2,8 až 3,8; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g zkoušené látky ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku na chromatogramu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b): plocha žádného píku, kromě plochy hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Zkoušené a porovnávací roztoky se připraví těsně před použitím.*

Rozpouštěcí směs. Smíchají se objemové díly acetonitrilu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (13,5 g/l), jehož pH bylo předem upraveno kyselinou fosforečnou zředěnou RS na hodnotu 3,0 (45 + 55).

Zkoušený roztok (a). 20,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 200,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 25,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg pivmecillinamiumchloridu CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 mg porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5 mg pivmecillinamiumchloridu CRL a 5 mg pivmecillinamu nečistoty C CRL se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 50 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, která se připraví následujícím způsobem: 0,55 g tetraethylamoniumhydrogensulfatu R a 1,0 g tetramethylamoniumhydrogensulfatu R se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c).

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška dvou hlavních píků na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (pivmecillinam) a druhým píkem (pivmecillinam nečistota C) je nejméně 3,5. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná

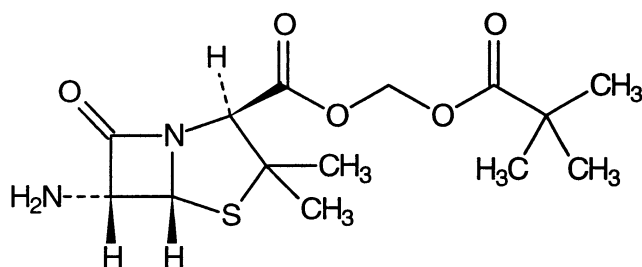
odchylka ploch píku pivmecillinamu nejvýše 1,0 %. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Uchovávání

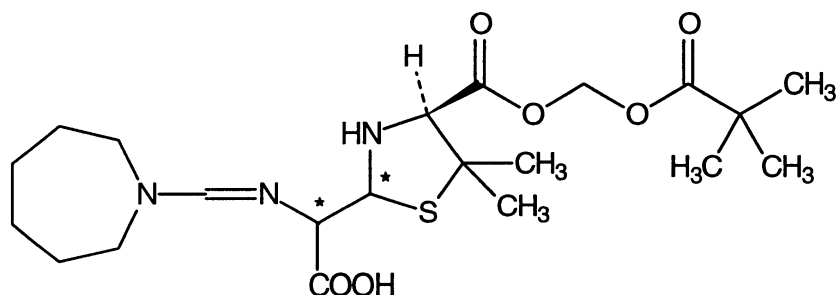
Chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Separandum.

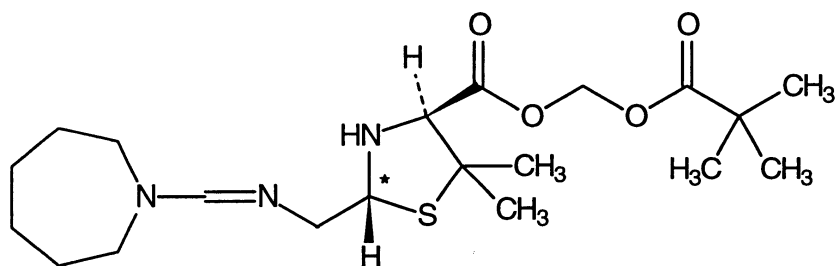
Nečistoty



A. pivaloyloxymethyl-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3,2,0]heptan-2-karboxylat (pivaloyloxymethyl-6-aminopenicilanat),

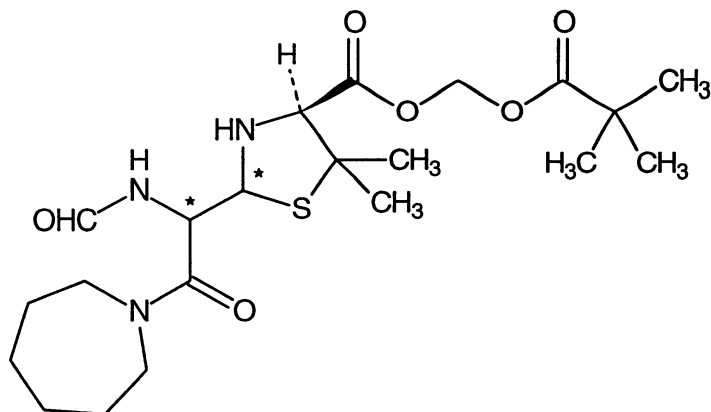


B. kyselina 2-[[[(hexahydro-1*H*-azepin-1-yl)methylen]amino]-2-[(4*S*)-4-[[pivaloyloxy)methoxy]karbonyl]-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl]octová, (penicilové kyseliny pivmecillinamu),



a epimer na C*

C. pivaloyloxymethyl-(2*RS*,4*S*)-2-[[[(hexahydro-1*H*-azepin-1-yl)methylen]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylat,

4566 *Plantaginis ovatae semen*

D. pivaloyloxymethyl-(4*S*)-2-[1-formylamino-2-(hexahydro-1*H*-azepin-1-yl)-2-oxoethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylat.

Plantaginis ovatae semen

Semeno jitrocele vejčitého

Synonymum. Semen plantaginis ovatae



1999

Je to usušené zralé semeno druhu *Plantago ovata* FORSSK. (*P. ispaghula* ROXB.).

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Semeno člunkovitého tvaru je nařůžověle béžové a hladké. Je 1,5 mm až 3,5 mm dlouhé, 1,5 mm až 2 mm široké a 1 mm až 1,5 mm tlusté. Uprostřed vyduté, kde je patrná světle zbarvená skvrna odpovídající semenné jizvě (hilum). Světle hnědá skvrna na vypouklé straně odpovídá umístění zárodku a zaujímá asi jednu čtvrtinu délky semene.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je světle hnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: zejména úlomky pokožky osemení s mnohohrannými slizovými buňkami; úlomky vnitřních vrstev osemení s nahnědlými tenkostěnnými buňkami často spojenými s vnějšími vrstvami endospermu; úlomky endospermu z buněk se ztlustlými celulosními stěnami, obsahující aleuronová zrna a kapénky oleje; zřídka úlomky zárodku z tenkostěnných buněk. Pozoruje se pod mikroskopem v roztoku *glycerolu R 50% (V/V)*. Jsou patrná škrobová zrna, jednoduchá nebo dvoučetná nebo čtyřčetná o průměru 3 μm až 25 μm.
- C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. K 50 mg práškové drogy (355) v silnostěnné centrifugační zkumavce se přidají 2 ml roztoku *kyseliny trifluoroctové R* (230 g/l) a silně se protřepe. Uzavřená zkumavka se směsí se udržuje 1 h při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí a čirý supernatant se převede do 50ml baňky, přidá se 10 ml *vody R* a roztok se odpaří do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se smíchá s 10 ml *vody R* a opět se odpaří do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *arabiny R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *xylosy R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *galaktosy R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se postříká *zkoumadlem aminohippurovým R* a zahřívá se 5 min při 120 °C; pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě oranžovorůžové skvrny (*arabiny* a *xylosa*) a jedna žlutá skvrna (*galaktosa*) odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramech porovnávacích roztoků.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměši (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměši; stanoví se s 10,0 g drogy.

Číslo bobtnavosti (2.8.4). Nejméně 9; stanoví se s práškovou drogou (355).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškové drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 4,0 %.

Uchovávání

Chráněno před světlem a vlhkostí.

Plantaginis ovatae testa

Osemení jitrocele vejčitého

1999

Synonyma. Tegumentum plantaginis ovatae, Plantaginis ovatae seminis tegumentum

Je to osemení druhu *Plantago ovata* FORSSK. (*P. ispaghula* ROXB.).

Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

4568 *Plantaginis ovatae testa*

Zkoušky totožnosti

- A.** Osemení je narůžověle béžové, hladké, člunkovitého tvaru. Je 1,5 mm až 3,5 mm dlouhé a 1,5 až 2 mm široké. Světle hnědá skvrna na vypouklé straně odpovídá umístění zárodku v semeni před jeho odstraněním.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: zejména úlomky vnější vrstvy osemení s mnohohrannými slizovými buňkami; úlomky vnitřních vrstev osemení s nahnědlými tenkostěnnými buňkami často spojenými s vnějšími vrstvami endospermu. Pozoruje se pod mikroskopem v roztoku *glycerolu R 50% (V/V)*. Občas jsou patrná škrobová zrna, jednoduchá nebo dvoučetná nebo čtyřčetná, o průměru 3 µm až 25 µm.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. K 10 mg práškované drogy (355) v silnostěnné centrifugační zkumavce se přidají 2 ml roztoku *kyseliny trifluoroctové R (230 g/l)* a silně se protřepe. Uzavřená zkumavka se směsí se udržuje 1 h při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí a čirý supernatant se přenesse do 50ml baňky, přidá se 10 ml *vody R* a roztok se odpaří do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se smíchá s 10 ml *vody R* a opět se odpaří do sucha za sníženého tlaku. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *arabinosy R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *xylosy R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *galaktosy R* se rozpustí v malém množství *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R (15 + 85)* po dráze 15 cm. Vrstva se postříká *zkoumadlem aminohippurovým R*, zahřívá se 5 min při 120 °C a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě oranžovorůžové skvrny (*arabinsa* a *xylosa*) a jedna žlutá skvrna (*galaktosa*) odpovídající polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramech porovnávacích roztoků.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi; stanoví se s 5,0 g drogy.

Číslo bobtnavosti (2.8.4). Nejméně 40; stanoví se s 0,1 g práškované drogy (355).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 4,0 %.

Uchovávání

Chráněno před světlem a vlhkostí.

Plasma humanum ad separationem¹⁾



Lidská plazma pro frakcionaci

RR99

Je to tekutá část lidské krve zbývající po oddělení buněčných elementů z krve odebrané do obalu s antikoagulačním roztokem nebo oddělená průběžnou filtrací nebo odstřediváním nesrážlivé krve během plazmaferézy. Je určena k výrobě přípravků z plazmy.

Výroba

DÁRCI

Může se odebrat pouze pečlivě vybraným zdravým dárčům, u nichž je co možná nejvíce zjištěno lékařskou prohlídkou, laboratorními zkouškami krve a z anamnézy, že jsou prosti zjištěných původců těch nákaz, které se mohou přenést přípravky z plazmy. Doporučení v této oblasti jsou vypracována Radou Evropy v dokumentu o přípravě, použití a jištění jakosti krevních složek (*Recommendation No R (95) 15 on the preparation, use and quality assurance of blood components* nebo následující revize) a Evropskou unií v dokumentu rady z 29. června 1998 o vhodnosti dárčů krve a plazmy a vyšetření darované krve v Evropském společenství (*Council Recommendation of 29 June 1998 on the suitability of blood and plasma donors and the screening of donated blood in European Community (98/463/EC)*).

Jako dárci krve nejsou přijatelné osoby, které byly léčeny látkami pocházejícími z lidské hypofýzy, jako jsou např. růstový hormon, gonadotropin, hormon stimulující štítnou žlázu (thyreotropin).

Imunizace dárců. Záměrná imunizace dárců pro získání imunoglobulinů se specifickými aktivitami se může provést v případě, kdy nelze od přirozeně imunizovaných dárců zajistit dostatečné množství látky odpovídající kvality. Doporučení pro takovou imunizaci jsou formulována Světovou zdravotnickou organizací v požadavcích na odběry, zpracování a kontrolu jakosti krve, krevních složek a derivátů plazmy (*Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives*, WHO Technical Report Series No. 840, 1994 nebo následující revize).

Záznamy. Záznamy o dárčích a provedených odběrech se uchovávají tak, aby při dodržení příslušného stupně důvěrnosti dat týkajících se osoby dárce bylo možno zpětně vyhledat původ každého odběru ve směsi plazmy a výsledky příslušného posouzení způsobilosti a laboratorních zkoušek.

Laboratorní zkoušky. Při každém odběru se provádějí laboratorní zkoušky na zjištění následujících virových markerů:

1. protilátky proti viru lidské imunodeficiency typ 1 (anti HIV-1),
2. protilátky proti viru lidské imunodeficiency typ 2 (anti HIV-2),
3. povrchového antigenu viru hepatitidy B (HbsAg),
4. protilátky proti viru hepatitidy C (anti-HCV).

K dosažení úplné shody ve výsledcích laboratorních zkoušek může příslušná oprávněná autorita požadovat také vyšetření hladiny alanin-aminotransferázy (ALT).

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 549 (1998). Závazné od 1. 7. 1999.

4570 *Plasma humanum ad separationem*

Užívané zkušební metody mají přiměřenou citlivost a specifitu a jsou schváleny oprávněnou autoritou. Pokud se při jakémkoliv z těchto zkoušek opakovaně zjistí pozitivní nález, odběr se vyřadí.

JEDNOTLIVÉ ODBĚRY PLAZMY

Plazma se připravuje metodou, která co možná nejdokonaleji odstraňuje krevní buňky a buněčnou drť. Ať se připravuje z lidské krve nebo plazmaferézou, odděluje se plazma od buněk metodou, která umožní vyloučit kontaminaci mikroorganismy. Do plazmy se nepřidává žádný protibakteriální ani protiplísňový prostředek. Obaly vyhovují požadavkům na skleněné obaly (3.2.1) nebo na krevní vaky z plastů (3.2.3). Obaly jsou uzavřeny tak, aby se předešlo kontaminaci.

Pokud se spojují dvě nebo více jednotek (tj. množství připravené z jednoho odběru) plazmy před zmrazením, používá se ke spojení vaků speciální přístroj ke sterilnímu sváření hadiček nebo se spojení provede za aseptických podmínek, za použití obalů, které nebyly předtím použity.

Plazma pro výrobu koagulačních faktorů a jiných labilních složek se buď zpracuje krátce po oddělení nebo odběru, nebo se šokově zmrazí na teplotu $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší. Plazma získaná z plné krve a určená pro výrobu koagulačních faktorů nebo jiných labilních složek se oddělí od buněčných součástí a zmrazí se co nejdříve, nejpozději však do 24 h od odběru. Plazma určená pro výrobu těch složek, které nejsou labilní, se oddělí do 5 dnů od ukončení doby použitelnosti plné krve.

Stanovení celkových bílkovin a faktoru VIII se neprovádějí u každé jednotky plazmy. To je spíše dáno zásadami správné výrobní praxe; stanovení účinnosti faktoru VIII je důležité pro plazmu určenou pro přípravu koncentrátů labilních složek.

Celkový obsah bílkovin v jednotce plazmy závisí na obsahu sérových bílkovin dárce a na stupni naředění během odběru. Když se plazma získá od vhodného dárce a odebere se do zamýšleného množství antikoagulačního roztoku, získá se celkový obsah bílkovin, který vyhovuje hranici 50 g v litru. Jestliže se do antikoagulačního roztoku odebere objem krve nebo plazmy menší než původně zamýšlený, nemusí výsledná plazma být nezbytně nevhodná pro smíchání k frakcionaci. Cílem správné výrobní praxe je dosažení předepsaného limitu pro všechny normální odběry.

Uchování faktoru VIII v odebrané surovině závisí na postupu při odběru a na dalším zacházení s krví a plazmou. Při správné praxi se obvykle dosahuje koncentrace 0,7 m.j. v mililitru, ale i plazma s nižším obsahem se může použít k výrobě koncentrátů koagulačních faktorů. Cílem správné výrobní praxe je zachovat taková množství labilních složek, kolik je možno.

Celkové bílkoviny. Nejméně 50 g/l. Stanoví se ve směsi nejméně deseti odběrů, která se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující ve 2 ml asi 15 mg bílkovin. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku *molybdenanu sodného R* (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové prosté dusíku R* a *vody R* (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

Faktor VIII. Nejméně 0,7 m.j./ml. Stanovuje se ve směsi nejméně deseti odběrů, které se, je-li třeba, nechají roztát při teplotě nepřesahující $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Provede se zkouška Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VIII (2.7.4) za použití porovnávací plazmy kalibrované na mezinárodní referenční přípravek pro stanovení účinnosti krevního koagulačního faktoru VIII v plazmě.

† Prednisolonum 4571

SMĚSNÁ PLAZMA

Při výrobě přípravků z plazmy se první homogenní směs plazmy (např. po odstranění kryoprecipitátu) zkouší na povrchový antigen viru hepatitidy B, na protilátky proti hepatitidě C a na protilátky proti HIV metodami s vhodnou citlivostí a specificitou; směs dává negativní výsledky v těchto zkouškách.

Směs se také zkouší na RNK viru hepatitidy C validovanou zkouškou Techniky amplifikace nukleových kyselin (2.6.21). Do zkoušky se zařadí pozitivní kontrola obsahující 100 m.j./ml RNK viru hepatitidy C a pro zkoušení na inhibitory se připraví vnitřní kontrola přidáním vhodného markeru ke vzorku směsi plazmy. Zkoušku lze hodnotit, jestliže reaguje pozitivní kontrola a výsledky vnitřní kontroly neprokazují přítomnost inhibitorů. Směs plazmy vyhovuje zkoušce, jestliže nereaguje na RNK viru hepatitidy C.

Vlastnosti

Před zmrazením čirá nebo slabě zakalená tekutina bez viditelných známek hemolýzy; její barva je světle žlutá až zelená.

Uchovávání

Zmrazená plazma se uchovává při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší; pro frakcionaci se může použít ještě plazma, u které nejvýše jedenkrát teplota vystoupila nad $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a to nejvýše na 72 h, přičemž teplota nikdy nebyla vyšší než $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Označování

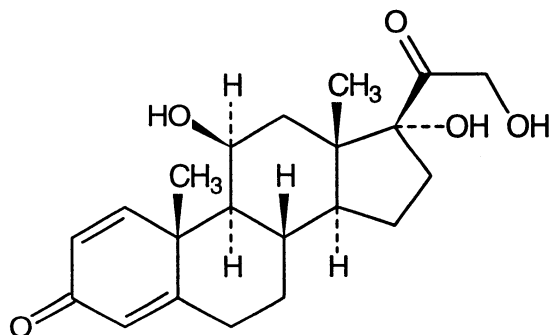
Označení umožňuje identifikaci každého jednotlivého odběru a určení příslušného dárce.

† Prednisolonum

Prednisolon



1999

 $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{O}_5$ M_r 360,45

CAS 50-24-8

4572 † Prednisolonum

Je to 11 β ,17,21-trihydroxy-1,4-pregnen-3,20-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny C₂₁H₂₈O₅.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v methanolu, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v dichlormethanu.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem prednisolonu CRL. Pokud se získaná spektra v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství acetonu R, odpaří se na vodní lázni do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg prednisolonu CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg hydrokortisonu CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů vody R a methanolu R (1,2 + 8) smíchaná se směsí objemových dílů etheru R a dichlormethanu R (15 + 77) po dráze 15 cm. Provede se druhé vyvíjení ve směsi objemových dílů 1-butanolu R nasyceného vodou R, toluenu R a etheru R (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm.

Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Pak se vrstva postříká kyselinou sírovou v lihu RS a 10 min se zahřívá při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou, zbarvením při denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 25 mg se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě zkoušeného roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě zkoušeného roztoku (a) se převede do skleněné zábrusové zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou nebo

polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se pod proudem *dusíku R* odpaří za mírného zahřátí. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a suspenze se mechanicky třepe 1 h za ochrany před světlem. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se třepe s 10 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se nad *síranem sodným bezvodým R*.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *prednisolonu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml. Tento roztok se rovněž použije k přípravě porovnávacího roztoku (b). 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,4 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku (a) se převede do skleněné zábrusové zkumavky 100 ml dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou nebo polytetrafluorethylenovou zátkou. Rozpouštědlo se pod proudem *dusíku R* odpaří za mírného zahřátí. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)* a 50 mg *bismutičnanu sodného R*. Zkumavka se uzavře a suspenze se mechanicky třepe 1 h za ochrany před světlem. Přidají se 2 ml *kyseliny octové ledové R 15% (V/V)*, směs se zfiltruje do 50ml dělicí nálevky a filtr se promyje dvakrát 5 ml *vody R*. Čirý filtrát se třepe s 10 ml *dichlormethanu R*. Organická vrstva se promyje 5 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, dvakrát 5 ml *vody R* a vysuší se nad *síranem sodným bezvodým R*.

Na vrstvu se odděleně nanese 5 μ l zkoušeného roztoku (a), 5 μ l porovnávacího roztoku (a), 10 μ l zkoušeného roztoku (b) a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Nanáší se po malých dávkách, aby se získaly malé skvrny. Vyvíjí se mobilní fázi, kterou je směs objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1,2 + 8) smíchaná se směsí objemových dílů *etheru R* a *dichlormethanu R* (15 + 77) po dráze 15 cm. Provede se druhé vyvíjení ve směsí objemových dílů *1-butanolu R* nasyceného *vodou R*, *toluenu R* a *etheru R* (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu příslušných porovnávacích roztoků. Pak se vrstva postříká *kyselinou sírovou v líhu RS* a 10 min se zahřívá při 120 °C nebo tak dlouho, až se objeví skvrny. Po vychladnutí se vrstva pozoruje v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušeného roztoku polohou, zbarvením v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) má hodnotu R_F zřetelně vyšší než hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) a porovnávacího roztoku (a).

- D. Asi 2 mg se přidají ke 2 ml *kyseliny sírové R* a třepe se do rozpuštění; během 5 min vznikne intenzivní červené zbarvení. Při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm roztok červenohnědě fluoreskuje. Po 5 min se roztok přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se; zbarvení zmizí, vzniká žlutá fluorescence v ultrafialovém světle při 365 nm a šedá vločkovitá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +96° až +102°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *dioxanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

4574 † Prednisolonum

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí ve 2 ml *tetrahydrofuranu R* a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2 mg *prednisolonu CRL* a 2 mg *hydrokortisonu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek s odstíněnými silanolyvími skupinami R* (5 µm),
- mobilní fáze, která se připraví takto: v 1000ml odměrné baňce se smíchá 220 ml *tetrahydrofuranu R* se 700 ml *vody R* a nechá se ustálit; zředí se na 1000 ml *vodou R* a znovu se promíchá; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- teplota kolony se udržuje na 45 °C.

Kolona se ustálí promýváním mobilní fází asi 30 min, při průtokové rychlosti 1 ml/min.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku nebyla menší než 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a).

Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy látek: prednisolonu asi 14 min a hydrokortisonu asi 15,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími prednisolonu a hydrokortisonu není menší než 2,2. V případě potřeby se v mobilní fázi upraví koncentrace *tetrahydrofuranu R*.

Nastříkne se odděleně 20 µl směsi rozpouštědel použitých pro zkoušený roztok jako slepý pokus, 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 4,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %) a nejvýše jedna taková plocha píku je větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,0násobek hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 243,5 nm.

Vypočítá se obsah $C_{21}H_{28}O_5$ za použití specifické absorbance, která má hodnotu 415.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

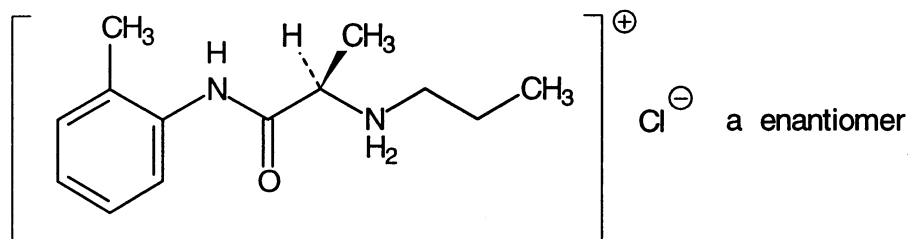
Nečistoty

A. hydrokortison.

† *Prilocaini hydrochloridum* 4575† **Prilocaini hydrochloridum**

Prilokainiumchlorid

1999

 $C_{13}H_{21}ClN_2O$ M_r 256,77

CAS 1786-81-8

Je to (*RS*)-*N*-propyl-*N*-1-[(2-tolyl)aminokarbonyl]ethylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{13}H_{21}ClN_2O$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: *B* a *D*.

Alternativní sestava zkoušek: *A*, *C* a *D*, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 168 °C až 171 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *prilokainiumchloridu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *prilokainiumchloridu CRL* se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *prilokainiumchloridu CRL* a 20,0 mg *lidokainiumchloridu CRL* se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *etheru R* (1 + 5 + 100) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

4576 † *Prilocaini hydrochloridum***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 4 ml roztoku S se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml, přidá se 0,1 ml zeleně bromkresolové RS a 0,40 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je modrý. Přidá se 0,80 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je žlutý.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 3,0 mg zkoušené látky a 3,0 mg *prilokainu nečistoty E CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného rozpuštěním 0,180 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* a 2,89 g *hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R* v 1000 ml vody R (pH 8,0) (40 + 60); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků na chromatogramu byly nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *prilokainu nečistoty E* a *prilokainu* je nejméně 3,0. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *prilokainu*, který je asi 7 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a plocha nejvýše jednoho takového píku je větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

***o*-Toluidin.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se připraví těsně před použitím.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 mg *o-toluidiniumchloridu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se provádí způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *prilokainu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího *o*-toluidinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (100 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

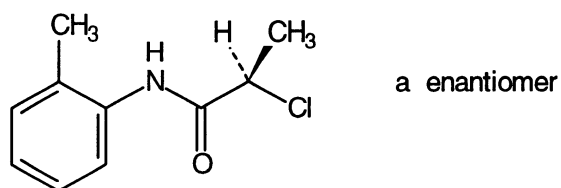
0,400 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a 50 ml lihu 96% R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 25,68 mg C₁₃H₂₁ClN₂O.

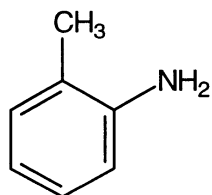
Uchovávání

Separandum.

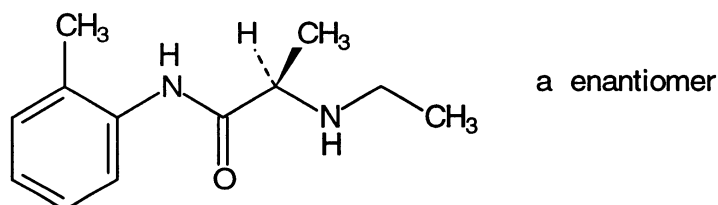
Nečistoty



A. (RS)-2-chlor-N-(2-tolyl)propanamid,

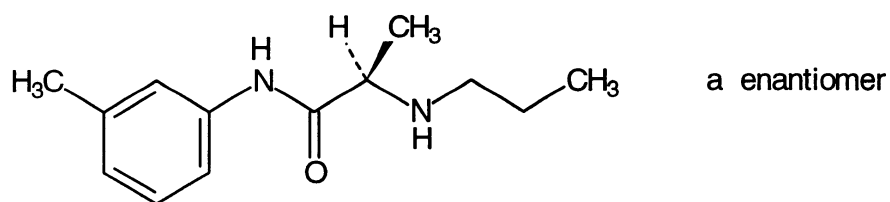


B. 2-methylanilin (*o*-toluidin),

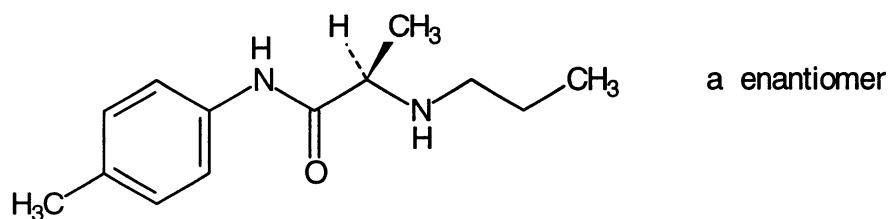


C. (RS)-2-ethylamino-N-(2-tolyl)propanamid,

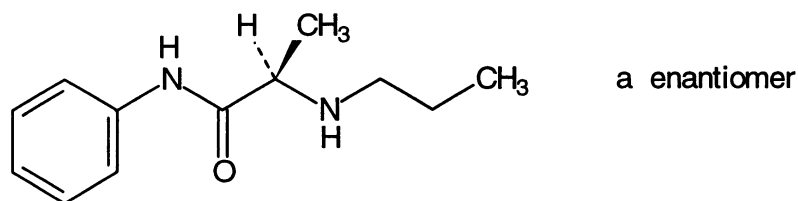
4578 † Prilocainum



D. (RS)-N-(3-tolyl)-2-(propylamino)propanamid,



E. (RS)-N-(4-tolyl)-2-(propylamino)propanamid,



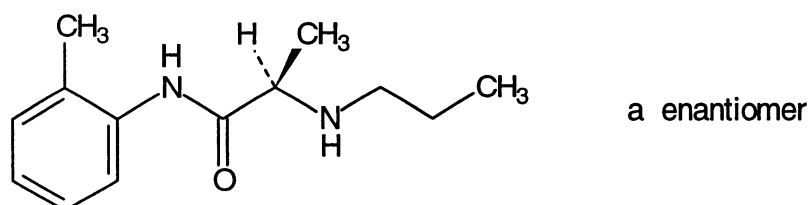
F. (RS)-N-fenyl-2-(propylamino)propanamid.

† Prilocainum

Prilokain



1999

 $C_{13}H_{20}N_2O$ M_r 220,31

CAS 721-50-6

Je to (*RS*)-*N*-(2-tolyl)-2-(propylamino)propanamid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{13}H_{20}N_2O$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96% a v acetonu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 36 °C až 39 °C; stanoví se z nevysušené látky.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem *tablety prilokainu CRL*. Měří se látky ve formě tablet s *bromidem draselným R* připravené nanesením po 50 µl roztoků látek v *etheru R* (30 g/l) na tablety a sušené do vytěkání rozpouštědla.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *prilokainu CRL* se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *prilokainu CRL* a 20,0 mg *lidokainu CRL* se rozpustí v lihu 96% *R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *methanolu R* a *etheru R* (1 + 5 + 100) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Optická otáčivost (2.2.7). -0,10° až +0,10°; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg zkoušené látky a 2,5 mg *prilokainu nečistoty E CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

4580 † *Prilocainum*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *acetonitrilu R* a roztoku připraveného rozpuštěním 0,180 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* a 2,89 g *hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R* v 1000 ml *vody R* (pH 8,0) (40 + 60); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a) a nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků na chromatogramu byly nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *prilocainu nečistoty E* a *prilocainu* je nejméně 3,0. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *prilocainu*, který je asi 7 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a plocha nejvýše jednoho takového píku je větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

***o*-Toluidin.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztoky se připraví těsně před použitím.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 mg *o-toluidiniumchloridu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

Chromatografický postup se provádí způsobem popsaným ve zkoušce Příbuzné látky.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *prilocainu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího *o*-toluidinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (100 μg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 μg Pb/ml).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

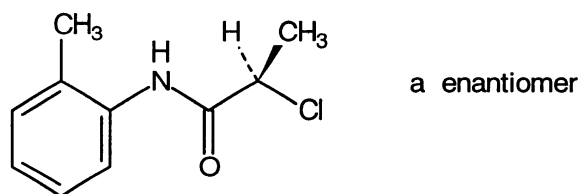
0,400 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou* 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé* 0,1 mol/l VS odpovídá 22,03 mg C₁₃H₂₀N₂O.

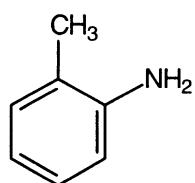
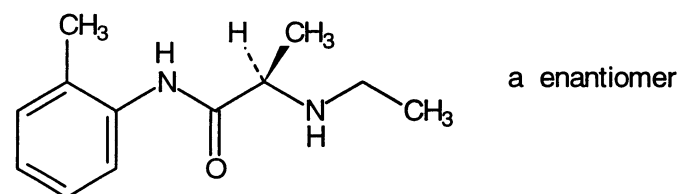
Uchovávání

Separandum.

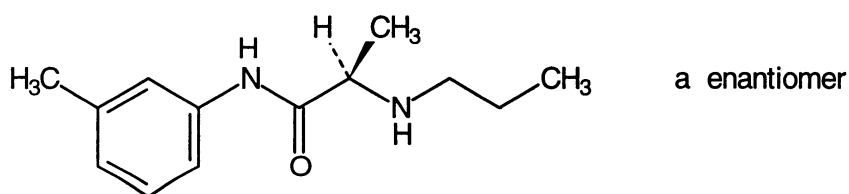
Nečistoty



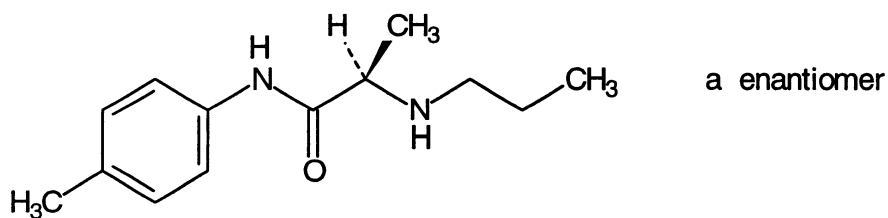
A. (RS)-2-chlor-N-(2-tolyl)propanamid,

B. 2-methylanilin (*o*-toluidin),

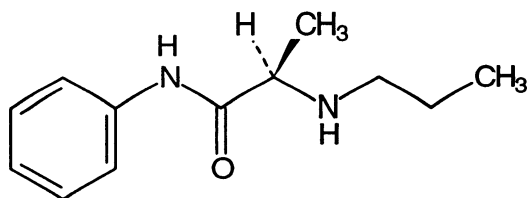
C. (RS)-2-ethylamino-N-(2-tolyl)propanamid,



D. (RS)-N-(3-tolyl)-2-(propylamino)propanamid,



E. (RS)-N-(4-tolyl)-2-(propylamino)propanamid,

4582 *Primulae radix*

a enantiomer

F. (*RS*)-*N*-fenyl-2-(propylamino)propanamid.

Primulae radix

Prvosenkový kořen

Synonymum. Radix primulae

1999

Je to celý nebo řezaný usušený oddenek a kořeny druhu *Primula veris* L. nebo *Primula elatior* (L.) HILL.

Vlastnosti

Droga hořké chuti.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A.** Hrubě bradavčitý šedohnědý oddenek, přímý nebo slabě zakřivený, asi 1 cm až 5 cm dlouhý a asi 2 mm až 4 mm silný. Hlava oddenku často pokryta zbytky stonků a listů. Oddenek porostlý četnými, křehkými kořeny, asi 1 mm silnými a obvykle 6 cm až 8 cm dlouhými. Kořeny druhu *Primula elatior* jsou světle hnědé až červenohnědé, kořeny druhu *Primula veris* jsou žluté až nažloutlé. Lom hladký.
- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je šedohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: úlomky parenchymu z kůry kořene; dřev a kůra oddenku z okrouhlých buněk, se ztlustlými, tečkovanými stěnami; nahnědlé úlomky pokožky oddenku s vlasovými kořínky; síťovitě ztlustlé cévy; skupiny žlutozelených výrazně tečkovaných kamenných buněk jsou charakteristické pro druh *Primula elatior*. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R 50% (V/V)*. Jsou patrná jednoduchá nebo složená škrobová zrna různé velikosti a tvaru.
- C.** Použije se chromatogram ze zkoušky Kořen druhu *Vincetoxicum hirundinaria*. Vrstva se postříká *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v blízkosti rozhraní dolní a střední třetiny modrofialová hlavní skvrna (escin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou jedna nebo dvě intenzivně tmavofialové skvrny s hodnotami R_F nižšími než hodnota R_F hlavní skvrny escinu na chromatogramu porovnávacího roztoku; na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další, slabě fialové, nažloutlé nebo hnědozelené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměši (2.8.2). Vyhovuje zkoušce na cizí příměši.

Kořen druhu *Vincetoxicum hirundinaria*. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F_{254} pro TLC R.

Zkoušený roztok. K 1,0 g práškované drogy (500) se přidá 10 ml lihu R 70% (V/V) a zahřívá se 15 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 10 mg escinu R se rozpustí v 1,0 ml lihu R 70% (V/V).

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové bezvodé R, vody R a 1-butanolu R (10 + 40 + 50) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší při 100 °C až 105 °C v sušárně a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramech porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku jsou na rozhraní dolní a střední třetiny skvrna zhášející fluorescenci (escin), tato skvrna se označí. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou světle modře nebo nazelenale fluoreskující skvrny s hodnotami R_F nižšími než hodnota R_F hlavní skvrny escinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 9,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 3,0 %.

Uchovávání

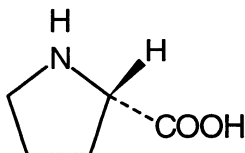
Chráněn před světlem.

Prolinum¹⁾

Prolin



RR99



$C_5H_9NO_2$

M_r 115,13

CAS 147-85-3

Je to kyselina (S)-2-pyrrolidinkarboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_5H_9NO_2$.

¹⁾Pharmeuropa 10, 4, 571 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4584 *Prolinum*

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *prolinu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-84,0^{\circ}$ až $-86,0^{\circ}$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpouštěním 1,00 g ve *vodě R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *prolinu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *prolinu CRL* a 10 mg *treoninu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku, usuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100°C až 105°C . Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 $\mu\text{g/g}$).

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 $\mu\text{g/g}$).

† *Promazini hydrochloridum* 4585

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a zvlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se zamíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se ihned překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku *amonia* (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml *vody R* a 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova* (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.2.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 11,51 mg C₅H₉NO₂.

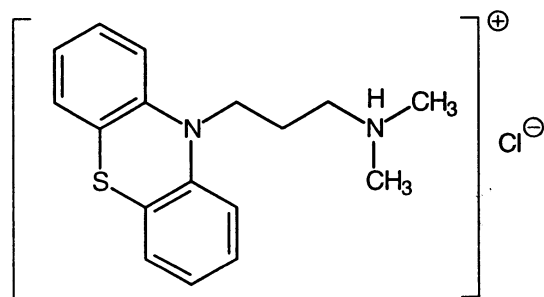
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† *Promazini hydrochloridum*

Promaziniumchlorid

1999



C₁₇H₂₁ClN₂S

M_r 320,88

CAS 53-60-1

4586 † *Promazini hydrochloridum*

Je to N,N-dimethyl-3-(10H-fenothiazin-10-yl)propylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₇H₂₁ClN₂S.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý mírně hygroskopický krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu.

Taje při asi 179 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: B, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *promaziniumchloridu CRL*.
- B.** Vyhovuje zkoušce Totožnost fenothiazinových derivátů tenkovrstvou chromatografií (2.3.3). K přípravě porovnávacího roztoku se použije *promaziniumchlorid CRL*.
- C.** Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové R* a nechá se 5 min stát; vznikne oranžové zbarvení.
- D.** Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 4,2 až 5,2; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml. Roztok se měří ihned po přípravě.

Příbuzné látky. Zkouška se provádí za ochrany před přímým světlem a roztoky se připravují těsně před použitím.

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *diethylaminu R* a *methanolu R* (5 + 95) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *diethylaminu R* a *methanolu R* (5 + 95) na 200 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *chlorprothixeniumchloridu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *diethylaminu R* a *methanolu R* (5 + 95), přidá se 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se směsí objemových dílů *diethylaminu R* a *methanolu R* (5 + 95) na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R*, *diethylaminu R* a *cyklohexanu R* (10 + 10 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny. Nepřihlíží se ke skvrnám, které zůstanou na startu.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Propacetamoli hydrochloridum 4587

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

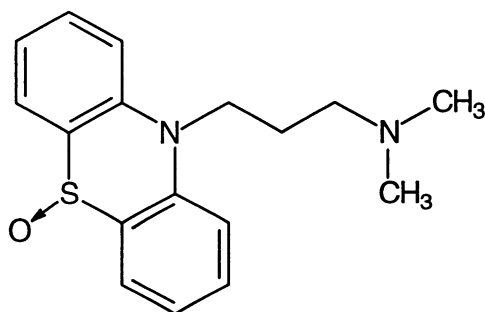
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 50 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 32,09 mg $C_{17}H_{21}ClN_2S$.

Uchovávání

Chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty

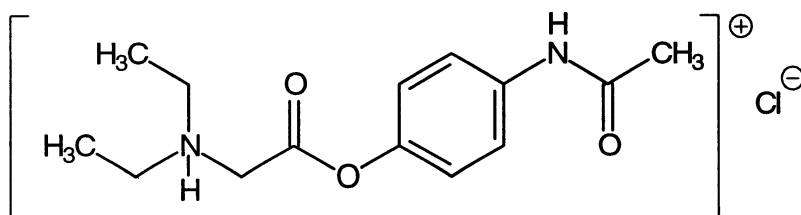
A. N,N-dimethyl-3-(10H-fenothiazin-10-yl)propylamin-S-oxid (promazinsulfoxid).

Propacetamoli hydrochloridum

Propacetamoliumchlorid



1999



$C_{14}H_{21}ClN_2O_3$

M_r 300,78

CAS 66532-86-3

4588 Propacetamoli hydrochloridum

Je to N,N-diethyl-N-[4-(acetamido)fenoxycarbonylmethyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C₁₄H₂₁ClN₂O₃.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. propacetamoliumchloridu.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. Připraví se bezprostředně před použitím. 1,75 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₆ nebo HŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Absorbance. Absorbance (2.2.25) roztoku S měřená při 390 nm je nejvýše 0,05.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Roztok A. 2,16 g oktansulfonanu sodného R se rozpustí v 900 ml vody R, zředí se jí na 1000 ml a pH se upraví kyselinou octovou R na hodnotu 3,0.

Zkoušený roztok. 1,00 g se suspenduje v 10,0 ml acetonitrilu R. Třepe se 10 min a nechá se usadit. 3,0 ml supernatantní tekutiny se zředí roztokem A na 10,0 ml. Tento roztok se nastříkuje bezprostředně po přípravě.

Porovnávací roztok (a). 50 mg paracetamolu R se rozpustí v acetonitrilu R a zředí se jím na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí acetonitrilem R na 50,0 ml. 3,0 ml takto získaného roztoku se dále zředí roztokem A na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg paracetamolu R a 0,100 g 4-aminofenolu R se rozpustí v acetonitrilu R a zředí se jím na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí acetonitrilem R na 50,0 ml. 3,0 ml takto získaného roztoku se dále zředí roztokem A na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů acetonitrilu R a roztoku A (30 + 70); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 246 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Na získaném chromatogramu je pík paracetamolu (první pík) a pík 4-aminofenolu (druhý pík) s relativním retenčním časem vzhledem k paracetamolu asi 1,6. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška obou hlavních píků byla nejméně 20 % rozsahu celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku paracetamolu není větší než plocha píku paracetamolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (200 μ g/g); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku paracetamolu, není větší než 3,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %, počítáno s odezvovým faktorem pro paracetamol 1,6); součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než 6,4násobek plochy píku paracetamolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %, počítáno s relativním odezvovým faktorem pro paracetamol 1,6). Nepřihlíží se k pikům s plochou menší než 0,01násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

4-Aminofenol. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 4,00 g se suspendují v 8 ml *acetonitrilu R*. Třepe se 30 min a zfiltruje se. Zředí se *acetonitrem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 25 mg *4-aminofenolu R* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50 ml. 10 ml tohoto roztoku se zředí *acetonitrem R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *acetonitrem R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,2 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí zkoušeným roztokem na 5 ml.

Na vrstvu se nanese 50 μ l zkoušeného roztoku a po 50 μ l porovnávacího roztoku (b) a (c) a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R*, *methanolu R* a *dichlor-methanu R* (3 + 4 + 30 + 64) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Postříká se roztokem *dimethylaminobenzaldehydu R* (10 g/l) v *lihu 96% R*. Porovnávací roztok (c) vykazuje dvě skvrny: jednu viditelnou v ultrafialovém světle (propacetamoliumchlorid) a druhou žlutou, viditelnou po postříkání, (4-aminofenol). Může se objevit další skvrna viditelná v ultrafialovém světle (paracetamol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku žlutá skvrna 4-aminofenolu, která není viditelná v ultrafialovém světle, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (25 μ g/ml). Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) dvě zřetelně oddělené skvrny.

Methanol. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) s použitím *1-propanolu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 2,0 ml *1-propanolu R* se zředí *vodou R* na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se dále zředí *vodou R* na 25,0 ml.

Zkoušený roztok. 2,00 g zkoušené látky se rozpustí ve *vodě R*, přidají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Porovnávací roztok. 0,8 ml *methanolu R* se zředí *vodou R* na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 25,0 ml. Ke 2,0 ml tohoto roztoku se přidají 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné uhlíkovým molekulárním sítím impregnovaným 0,2 % makrogolu 1500,
 - dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu,
 - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

4590 Propacetamoli hydrochloridum

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
Kolona	0 - 1,5	60	-	izotermicky
	1,5 - 5,5	60 → 80	5	lineární gradient
	5,5 - 15,5	80	-	izotermicky
Nástříkový prostor		170		

Nastříknou se 2 μ l zkoušeného roztoku a 2 μ l porovnávacího roztoku. Vypočítá se poměr plochy píku methanolu k ploše píku 1-propanolu na obou chromatogramech. Tento poměr není u zkoušeného roztoku větší než u porovnávacího roztoku (500 μ l/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví s použitím základního roztoku olova (1 μ g Pb/ml) R.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně 3 hod při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí ve směsi 25 ml kyseliny octové bezvodé R a 25 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

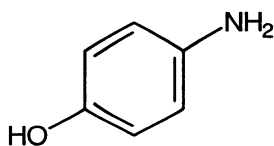
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 30,08 mg sloučeniny C₁₄H₂₁ClN₂O₃.

Uchovávání

Chráněn před vlhkostí.

Nečistoty

A. paracetamol,



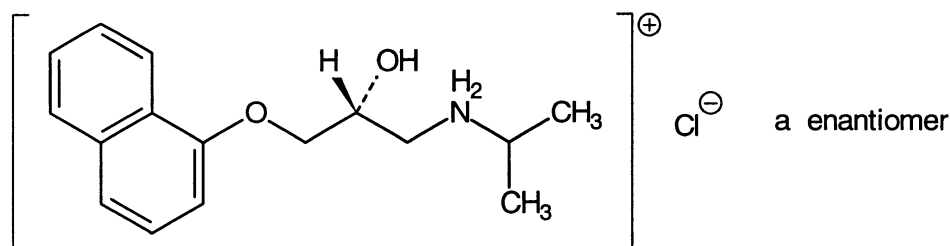
B. 4-aminofenol.

† *Propranololi hydrochloridum* 4591† **Propranololi hydrochloridum**

Propranololiumchlorid

Synonymum. Propranololium chloratum

1999

 $C_{16}H_{22}ClNO_2$ M_r 295,81

CAS 318-98-9

Je to N-isopropyl-(2*RS*)-[2-hydroxy-3-(1-naftyloxy)propyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{16}H_{22}ClNO_2$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 163 °C až 166 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *propranololiumchloridu CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok. 10 mg *propranololiumchloridu CRL* se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 32% R* a *methanolu R* (1 + 99) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší při 100 °C až 105 °C, postříká se *anisaldehydem RS* a zahřívá se při 100 °C až 105 °C, až zbarvení skvrn dosáhne maximální intenzity (10 min až 15 min). Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

4592 † *Propranololi hydrochloridum***Zkoušky na čistotu**

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější porovnávací barevný roztok intenzity 6 (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 0,20 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20 ml. Přidá se 0,2 ml *červeně methylové RS* a 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je červený. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg *propranololiumchloridu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je roztok připravený takto: 1,6 g *laurylsíranu sodného R* a 0,31 g *tetrabutylamoniumdihydrogenfosfatu R* se rozpustí ve směsi 1 ml *kyseliny sírové R*, 450 ml *vody R* a 550 ml *acetonitrilu R*, pH se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 3,3; průtoková rychlost je 1,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 292 nm.

Kolona se promývá mobilní fází do ustavení rovnováhy nejméně 30 min.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zaznamenaný za předepsaných podmínek odpovídá ve specifických kritériích hodnotám dodávaným s *propranololiumchloridem pro test způsobilosti CRL*.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne 20 μl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (15 + 85) a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20 μg/g). Připraví se porovnávací roztok olova (1 μg Pb/ml) zředěním základního roztoku olova (100 μg Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (15 + 85).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejdříve 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejdříve 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

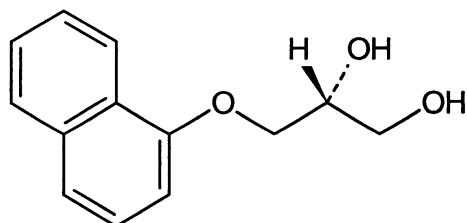
Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 25 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,58 mg C₁₆H₂₂ClNO₂.

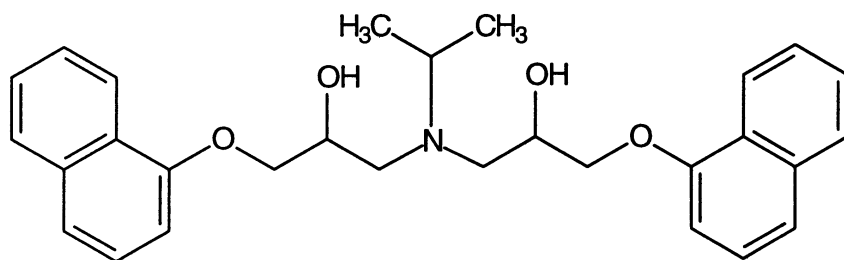
Uchovávání

Separandum.

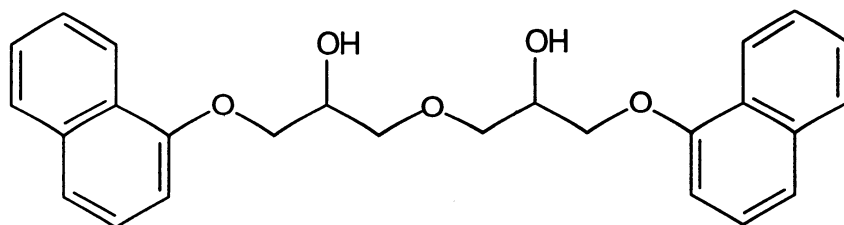
Nečistoty

a enantiomer

A. 3-(1-naftyloxy)-1,2-propaniol (diol),



B. 1,1'-(isopropylimino)bis[3-(1-naftyloxy)-2-propanol] (terciární amin),



C. 1,1'-oxybis[3-(1-naftyloxy)-2-propanol] (bis-ether).

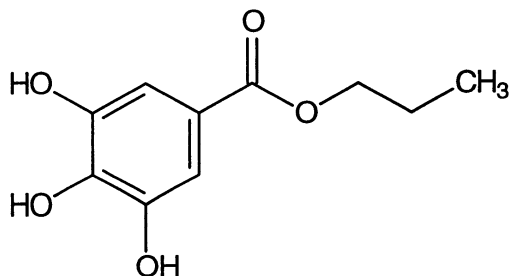
4594 *Propylis gallas*

Propylis gallas

Propylgallat

Synonymum. Propylum gallicum

1999

 $C_{10}H_{12}O_5$ M_r 212,20

CAS 121-79-9

Je to propyl-3,4,5-trihydroxybenzoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{10}H_{12}O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v etheru a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 148 °C až 151 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *propylgallatu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané při zkoušce *Kyselina gallová*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

D. Asi 10 mg se rozpustí v 10 ml *vody R* zahříváním asi na 70 °C. Roztok se ochladí a přidá se 1 ml *dusičnan-oxidu bismutitého RS*; vznikne světle žlutá sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_5$ (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselina gallová. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silika-gelu G R*.

Zkoušený roztok (a). 0,20 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *propylgallatu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *kyseliny gallové R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 0,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí porovnávacím roztokem (b) na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *ethylformiatu R* a *toluenu R* (10 + 40 + 50) po dráze 8 cm. Vrstva se 10 min suší na vzduchu a postříká se směsí objemových dílů *chloridu železitého RS1* a *lihu 96% R* (1 + 9). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) skvrna odpovídající *kyselině gallové* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Celkový chlor. 0,5 g se smíchá s 2 g *uhličitanu vápenatého R1*. Vysuší se a vyžihá se při 700 °C. Zbytek po žihání se smíchá s 20 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 30 ml. 15 ml tohoto roztoku, bez dalšího přidání *kyseliny dusičné zředěné RS*, vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (2.4.4) (200 μ g/g).

Chloridy (2.4.4). K 1,65 g se přidá 50 ml *vody R*, 5 min se třepe a zfiltruje se. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10 μ g Pb/ml).

Zinek. Nejvýše 25 μ g/g, stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. K 2,5 ml roztoku získaného při zkoušce na těžké kovy se přidá 2,5 ml *vody R*.

Porovnávací roztoky. Porovnávací roztoky se připraví za použití základního roztoku *zinku* (10 μ g Zn/ml) zředěného *vodou R* dle potřeby.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

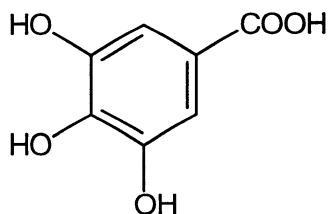
Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí ve 150 ml *vody R* zahřáté asi na 70 °C. Zahřeje se k varu a za stálého míchání se přidá 50,0 ml *dusičnan-oxidu bismutitého RS*. Ochladí se a směs se převede kvantitativně do odměrné baňky na 250,0 ml, doplní se po značku roztokem *kyseliny dusičné R* 0,5 % (V/V) a promíchá se. Potom se zfiltruje, prvních 20 ml filtrátu se odstraní a provede se chelatometrické stanovení bismutu (2.5.11) za použití 100,0 ml filtrátu (n_1 ml). Provede se slepá zkouška (n_2 ml). Rozdíl ($n_2 - n_1$) mezi spotřebovanými objemy *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá hmotnosti $C_{10}H_{12}O_5$ obsažené v použitém objemu.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 21,22 mg $C_{10}H_{12}O_5$.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

4596 *Propylparabenum***Nečistoty**

A. kyselina 3,4,5-trihydroxybenzoová (kyselina gallová).

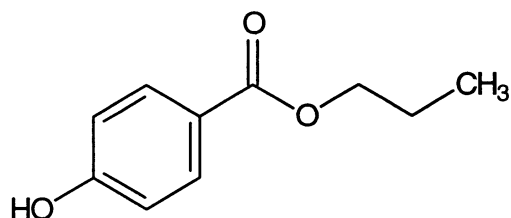
Propylparabenum

Propylparaben

Synonymum. Propylis parahydroxybenzoas



1999



$C_{10}H_{12}O_3$

M_r 180,20

CAS 94-13-3

Je to propyl-4-hydroxybenzoat. Obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny $C_{10}H_{12}O_3$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 96 °C až 99 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *propylparabenu CRL*.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

D. K asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*, zahřeje se k varu na 30 s a ochladí se (roztok a). K dalším asi 10 mg se ve zkumavce přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS*; látka se částečně rozpustí (roztok b). K roztokům (a) a (b) se současně přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS* a promíchá se; roztok (b) je žlutý až oranžově hnědý; roztok (a) je oranžový až červený a jeho zbarvení je zřetelně intenzivnější než zbarvení roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele reagující látky. Ke 2 ml roztoku S se přidají 3 ml *lihu 96% R*, 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,1 ml *zeleně bromkresolové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Příbuzné látky. Stanoví se tenkovrstvou chromatografií (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *propylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *ethylparabenu CRL* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

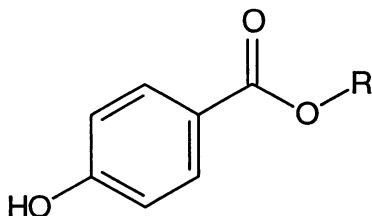
Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

2,000 g se odváží do baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 40,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zpětný chladič propláchně *vodou R*. Nadbytek hydroxidu sodného se titruje *kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS* do druhého bodu inflexe za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 180,2 mg C₁₀H₁₂O₃.

4598 *Propylparabenum natricum***Nečistoty**

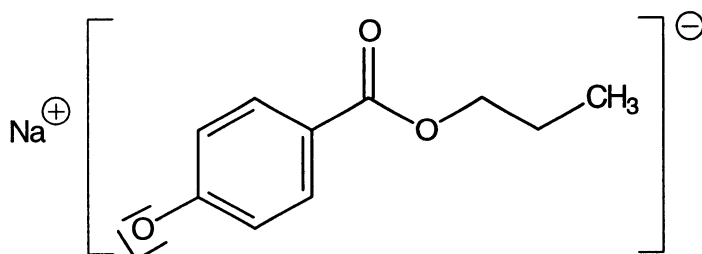
- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
 B. R = CH₃: methyl-4-hydroxybenzoát (methylparaben),
 C. R = CH₂-CH₃: ethyl-4-hydroxybenzoát (ethylparaben),
 D. R = CH₂-CH₂-CH₂-CH₃: butyl-4-hydroxybenzoát (butylparaben).

Propylparabenum natricum

Sodná sůl propylparabenu

Synonymum. Propylis parahydroxybenzoas natricus

1999

C₁₀H₁₁NaO₃M_r 202,18

CAS 35285-69-9

Je to 4-(propoxykarbonyl)fenolat sodný. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 104,0 % sloučeniny C₁₀H₁₁NaO₃.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v lihu 96%, prakticky nerozpustná v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 0,5 g se rozpustí v 50 ml *vody R* a ihned se přidá 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Zfiltruje se, sraženina se promyje *vodou R* a 2 h se suší ve vakuu při 80 °C. Získaná sraženina taje při 96 °C až 99 °C (2.2.14).
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) sraženiny získané ve zkoušce A se shoduje se spektrem *propylparabenu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).
- D. K asi 10 mg ve zkumavce se přidá 1 ml *uhličitanu sodného RS* a 30 s se vaří. Po ochlazení se přidá 5 ml *aminopyrazolonu RS* a 1 ml *hexakvanoželezitanu draselného RS* a promíchá se; vznikne oranžové až červené zbarvení.
- E. K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je bezprostředně po přípravě čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 9,5 až 10,5; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok (a). 0,100 g se rozpustí v 10 ml *vody R*, ihned se přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a třepe se 50 ml *etheru R*. Horní vrstva se odpaří do sucha a odparek se rozpustí v 10 ml *acetonu R*.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *kyseliny 4-hydroxybenzoové R* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *propylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (d). 10 mg *ethylparabenu CRL* se rozpustí v 1 ml zkoušeného roztoku (a) a zředí se *acetonem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): žádná skvrna odpovídající kyselině 4-hydroxybenzoové není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající kyselině 4-hydroxybenzoové, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

4600 *Propylparabenum natricum*

Chloridy (2.4.4). K 10 ml roztoku S se přidá 30 ml vody R a 1 ml kyseliny dusičné R a zředí se vodou R na 50 ml, protřepe se a zfiltruje. 10 ml filtrátu se zředí vodou R na 15 ml; roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (350 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 14 ml základního roztoku chloridů (5 $\mu\text{g Cl/ml}$), k němuž se přidá 1 ml vody R.

Sírany (2.4.13). K 25 ml roztoku S se přidá 5 ml vody destilované R a 10 ml kyseliny chlorovodíkové R a roztok se zředí vodou destilovanou R na 50 ml, protřepe se a zfiltruje. 10 ml filtrátu se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 $\mu\text{g/g}$).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 $\mu\text{g/g}$). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

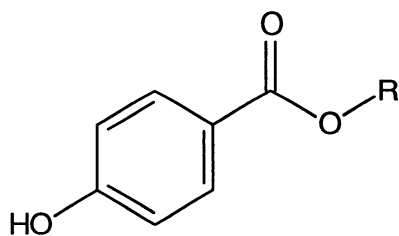
Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 20,22 mg $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{NaO}_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

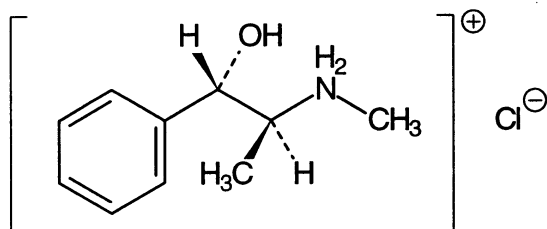
Nečistoty

- A. R = H: kyselina 4-hydroxybenzoová,
- B. R = CH_3 : methyl-4-hydroxybenzoat (methylparaben),
- C. R = $\text{CH}_2\text{-CH}_3$: ethyl-4-hydroxybenzoat (ethylparaben),
- D. R = $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_3$: butyl-4-hydroxybenzoat (butylparaben).

(§)† *Pseudoephedrini hydrochloridum* 4601**(§)† Pseudoephedrini hydrochloridum**

Pseudoefedriniumchlorid

1999

 $C_{10}H_{16}ClNO$ M_r 201,7

CAS 345-78-8

Je to (1*S*,2*S*)-(1-fenyl-1-hydroxy-2-propyl)methylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{10}H_{16}ClNO$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96% a mírně rozpustný v dichlormethanu.

Taje při asi 184 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *pseudoefedriniumchloridu CRL*.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *pseudoefedriniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *efedriniumchloridu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *dichlormethanu R*, *amoniaku 26% R* a *2-propanolu R* (5 + 15 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a 5 min se zahřívá při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

- D. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

4602 (§)† *Pseudoephedrini hydrochloridum***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 1,25 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselé nebo zásaditě reagující látky. 2 ml roztoku S se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 10 ml, přidá se 0,1 ml červeně methylové RS a 0,1 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je žlutý. Přidá se 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS; roztok je červený.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +61,0° až +62,5°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg efedriniumchloridu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg efedriniumchloridu CRL se rozpustí v 5 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fázi na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,25 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem fenylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů methanolu R a roztoku octanu amonného R (11,6 g/l), jehož pH bylo upraveno kyselinou octovou ledovou R na hodnotu 4,0 (6 + 94); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 257 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška dvou píků na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky efedrinu a pseudoefedrinu je nejméně 2,0. Podle potřeby se sníží množství methanolu v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku, 20 μl porovnávacího roztoku (a) a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času pseudoefedrinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku efedrinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku efedrinu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech takových píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,170 g se rozpustí ve 30 ml lihu 96% R, přidá se 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

† *Pyridostigmini bromidum* 4603

1 ml *hydroxidu sodného* 0,1 mol/l VS odpovídá 20,17 mg C₁₀H₁₆ClNO.

Uchovávání

Chráněn před světlem.
Prekursor. Separandum.

Nečistoty

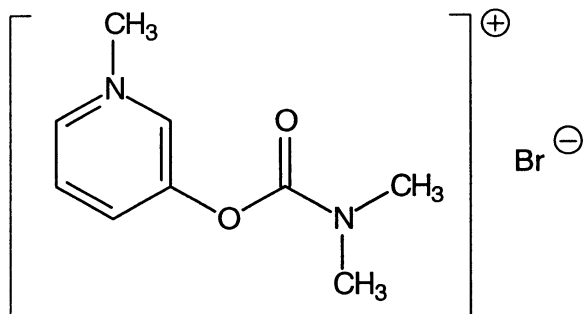
A. efedrin.

† *Pyridostigmini bromidum*

Pyridostigminiumbromid



1998



C₉H₁₃BrN₂O₂

M_r 261,12

CAS 101-26-8

Je to 3-(dimethylkarbamoyloxy)-1-methylpyridiniumbromid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₉H₁₃BrN₂O₂.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický rozplývající se prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *pyridostigminiumbromidu* CRL.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

4604 † *Pyridostigmini bromidum***Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. Ke 40 ml roztoku S se přidá několik kapek červeně methylové RS. Ke 20 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS; roztok je žlutý. K dalším 20 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS; roztok je červený.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí při asi 40 °C v mobilní fázi, ochladí se a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 4 mg pyridostigminu nečistoty A CRL a 4 mg pyridostigminiumbromidu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm, naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R (5 μm až 10 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a roztoku dodecylsírany sodného R (4,33 g/l) s předem upravenou hodnotou pH na 2,0 kyselinou fosforečnou R (30 + 70); průtoková rychlost je 1,1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu dosahovala nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem odpovídajícím pyridostigminu a píkem odpovídajícím pyridostigminu nečistotě A je nejméně 1,5. Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku, 20 μl porovnávacího roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (c). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času pyridostigminu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %); nejvýše jeden takový pík má plochu větší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); nejvýše jeden další pík má plochu větší, než je polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %), a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a píkům s plochou menší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

† *Pyridostigmini bromidum* 4605**Stanovení obsahu**

0,230 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové ledové R*, přidá se 40 ml *acethydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,11 mg $C_9H_{13}BrN_2O_2$.

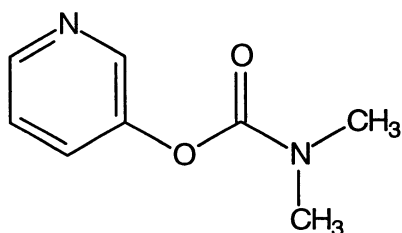
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech, chráněna před světlem.

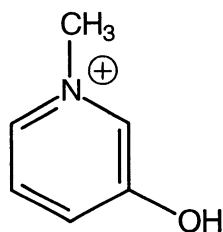
Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka sterilní.

Nečistoty

A. 3-pyridyl-dimethylkarbamat,

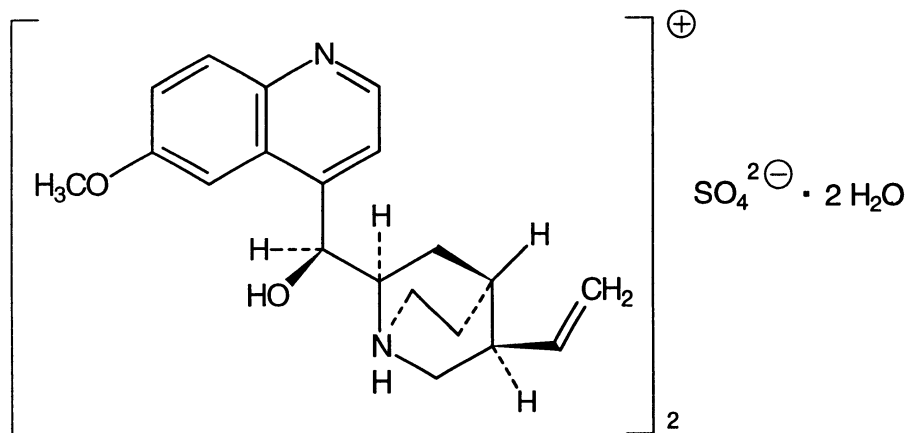


B. 3-hydroxy-1-methylpyridinium.

4606 † *Quinidini sulfas dihydricus*† **Quinidini sulfas dihydricus**

Dihydrát chinidiniumsulfatu

1999

Synonyma. Chinidini sulfas, Chinidinium sulfuricum, Quinidini sulfas $C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$ M_r 782,95

CAS 6591-63-5

 M_r bezvodého 746,92

Je to dihydrát bis{2-[(*S*)-(6-methoxychinolin-4-yl)hydroxymethyl]-(2*R*,4*S*,5*R*)-5-vinylchinuklidinium}sulfatu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{40}H_{50}N_4O_8S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo jemné bezbarvé jehličkovité krystalky. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě a v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 0,10 g *chinidiniumsulfatu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *etheru R* a *toluenu R* (10 + 24 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min v proudě vzduchu a vyvíjení se opakuje. Pak se vrstva 30 min suší při 105 °C v sušárně a po ochlazení se postříká *zkoumadlem jodoplatickým R*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Asi 5 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidá se 0,2 ml *bromové vody RS* a 1 ml *amoniaku zředěného RS2*; vzniká zelené zbarvení.

† *Quinidini sulfas dihydricus* 4607

- C. 0,1 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, zředí se *vodou R* na 100 ml a pozoruje se v ultrafialovém světle při 366 nm; vznikne intenzivně modrá fluorescence, která téměř zmizí po přidání 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.
- D. Asi 50 mg se rozpustí v 5 ml horké *vody R*, po ochlazení se přidá 1 ml *dusičnanu stříbrného RS1* a promíchá se skleněnou tyčinkou; po několika minutách vznikne bílá sraženina, která se rozpustí po přidání *kyseliny dusičné zředěné RS*.
- E. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).
- F. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,500 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než barevný porovnávací roztok ZŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,0 až 6,8; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,10 g zkoušené látky ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -237° až -245° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Jiné chinové alkaloidy. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *chininiumsulfatu CRL* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *chinidiniumsulfatu CRL* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). K 1 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 10 mg *thiomočoviny R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m až 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm nebo 10 μm),
- mobilní fáze, která je připravená následujícím způsobem: 6,8 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 3,0 g *hexylaminu R* se rozpustí v 700 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 2,8, přidá se 60 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru nastaveného na 250 nm pro záznam chromatogramu porovnávacího roztoku (e) a na 316 nm pro ostatní roztoky.

Odděleně se nastříkne 10 μl porovnávacího roztoku (b) a 10 μl porovnávacího roztoku (e). Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byl kapacitní poměr píku chinidinu 3,5 až 4,5, přičemž se t_R vypočítá z píku thiomočoviny na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

4608 † *Quinidini sulfas dihydricus*

Pak se odděleně nastříkne po 10 µl porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je hlavní pík odpovídající chininu a pík odpovídající dihydrochininu, jehož retenční čas vztažený k chininu je asi 1,4. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající chinidinu a pík odpovídající dihydrochinidinu, jehož retenční čas vztažený k chinidinu je asi 1,2. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou 4 píky odpovídající chinidinu, chininu, dihydrochinidinu a dihydrochininu, které se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy odpovídajících píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píky chininu a chinidinu nejméně 3,0 a rozlišení mezi píky dihydrochinidinu a chininu je nejméně 2,0; na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je poměr signálu hlavního píku k šumu nejméně 4.

Nastříkne se 10 µl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Pak se vypočte obsah příbuzných látek v procentech z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d). Obsah dihydrochinidinu není vyšší než 15 %; obsah žádné příbuzné látky eluované před chinidinem není vyšší než 5 %; obsah žádné další příbuzné látky není vyšší než 2,5 %.

Bor. Pokud je to možné, nepoužívají se skleněné nádoby.

Zkoušený roztok. 1,00 g se rozpustí ve směsi obsahující 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové R a 4,0 ml vody R.

Porovnávací roztok. 0,572 g kyseliny borité R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidají 3,0 ml vody R a 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové R.

Kontrolní roztok. 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové R se smíchá se 4,0 ml vody R.

Ke zkoušenému roztoku, porovnávacímu roztoku a kontrolnímu roztoku se přidají 3,0 ml roztoku 2-ethyl-1,3-hexandiolu R (100 g/l) v dichlormethanu R, 1 min se protřepává a nechá se 6 min stát. K 1,0 ml spodní vrstvy se přidají 2,0 ml roztoku kurkuminu R (3,75 g/l) v kyselině octové bezvodé R a 0,3 ml kyseliny sírové R a promíchá se. Po 20 min se přidá 25,0 ml lihu 96% R a opět se promíchá. Kontrolní roztok má žluté zbarvení; červené zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku (5 µg/g).

Ztráta sušením (2.2.32). 3,0 % až 5,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 130 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí ve směsi 20 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za použití 0,15 ml naftolbenzeinu RS jako indikátoru.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 24,90 mg C₄₀H₅₀N₄O₈S.

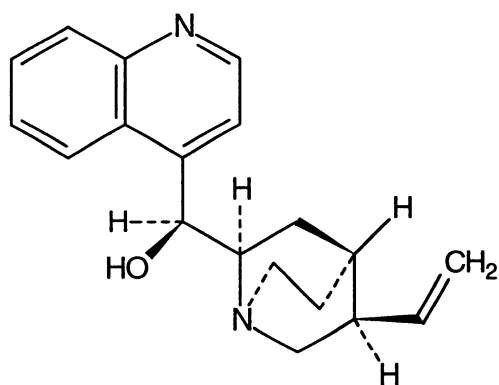
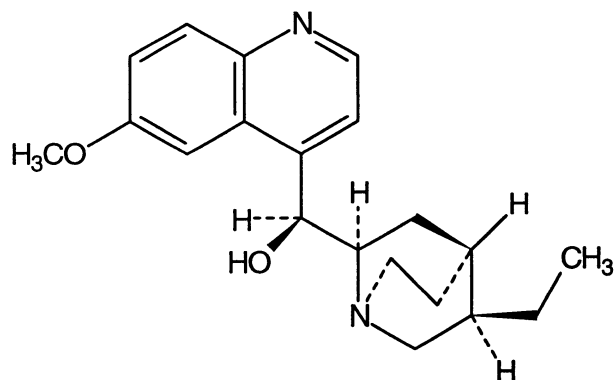
Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

† *Quinidini sulfas dihydricus* 4609**Nečistoty**

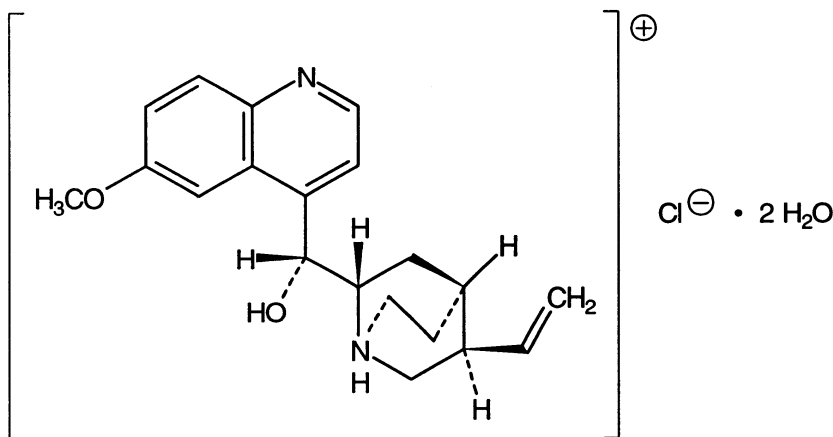
A. chinin,

B. (*S*)-(4-chinolyl)[(2*R*,4*S*,5*R*)-5-vinylchinuklidin-2-yl]methanol (cinchonin),C. (*S*)-(6-methoxychinolin-4-yl)[(2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethylchinuklidin-2-yl]methanol (dihydrochinidin).

4610 *Quinini hydrochloridum dihydricum***Quinini hydrochloridum dihydricum**

Dihydrát chininiumchloridu

1999

Synonyma. Chinini hydrochloridum, Chininium chloratum, Quinini hydrochloridum $C_{20}H_{25}ClN_2O_2 \cdot 2H_2O$ M_r 396,91

CAS 6119-47-7

 M_r bezvodého 360,88

Je to dihydrát 2-[(*R*)-(6-methoxychinolin-4-yl)hydroxymethyl]-(*2S,4S,5R*)-5-vinylchinuklidiniumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{20}H_{25}ClN_2O_2$.

Vlastnosti

Jemné bezbarvé lesklé jehličkovité krystalky, často ve shlucích. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *G* pro TLC *R*.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 0,10 g *chininiumsulfátu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *etheru R* a *toluenu R* (10 + 24 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu vzduchu a vyvíjení se opakuje. Pak se vrstva 30 min suší při 105 °C v sušárně a po ochlazení se postříká *zkoumadlem jodoplaticitým R*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Asi 10 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *bromové vody RS* a 1 ml *amoniaku zředěného RS2*; vzniká zelené zbarvení.

C. 0,1 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, zředí se *vodou R* na 100 ml a pozoruje se v ultrafialové světlo při 366 nm; vznikne intenzivně modrá fluorescence, která téměř zmizí po přidání 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

D. Vyhovuje zkoušce na chloridy (2.3.1).

E. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *vody destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,0 až 6,8; měří se roztok připravený zředěním 10 ml roztoku S *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 20 ml.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -245° až -258° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Jiné chinové alkaloidy. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *chininiumsulfatu CRL* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg *chinidiniumsulfatu CRL* se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). K 1 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 10 mg *thiomočoviny R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m až 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm nebo 10 μm),
- mobilní fáze, která je připravená následujícím způsobem: 6,8 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 3,0 g *hexylaminu R* se rozpustí v 700 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 2,8, přidá se 60 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru nastaveného na 250 nm pro záznam chromatogramu porovnávacího roztoku (e) a na 316 nm pro ostatní roztoky.

Odděleně se nastříkne 10 μl porovnávacího roztoku (b) a 10 μl porovnávacího roztoku (e). Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byl kapacitní poměr píku chinidinu 3,5 až 4,5, přičemž se t_R vypočítá z píku thiomočoviny na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Pak se odděleně nastříkne po 10 μl porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je hlavní pík odpovídající chininu a pík odpovídající dihydrochininu, jehož retenční čas vztahený k chininu je asi 1,4. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající chinidinu a pík odpovídající dihydrochinidinu, jehož retenční čas vztahený k chinidinu je asi 1,2. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou 4 píky odpovídající chinidinu, chininu,

4612 *Quinini hydrochloridum dihydricum*

dihydrochinidinu a dihydrochininu, které se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy odpovídajících píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) není rozlišení mezi píky chininu a chinidinu menší než 3,0 a rozlišení mezi píky dihydrochinidinu a chininu není menší než 2,0 a na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) není poměr signálu hlavního píku k šumu menší než 4.

Nastříkne se 10 μ l zkoušeného roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Pak se vypočte obsah příbuzných látek v procentech z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace), nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d). Obsah dihydrochininu není vyšší než 10 %; obsah žádné příbuzné látky eluované před chininem není vyšší než 5 % a obsah žádné další příbuzné látky není vyšší než 2,5 %.

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 μ g/g).

Baryum. K 15 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Nejméně po 15 min není opalescence roztoku intenzivnější než opalescence směsi 15 ml roztoku S a 1 ml *vody destilované R*.

Ztráta sušením (2.2.32). 6,0 % až 10,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R*, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

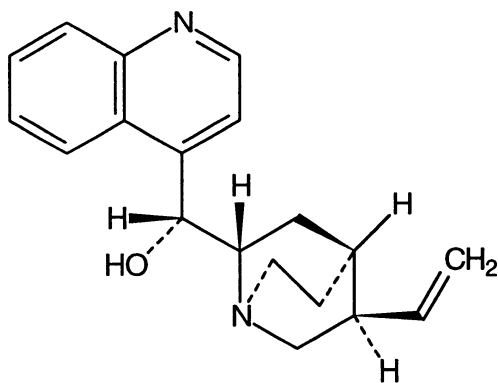
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,09 mg $C_{20}H_{25}ClN_2O_2$.

Uchovávání

Chráněn před světlem.

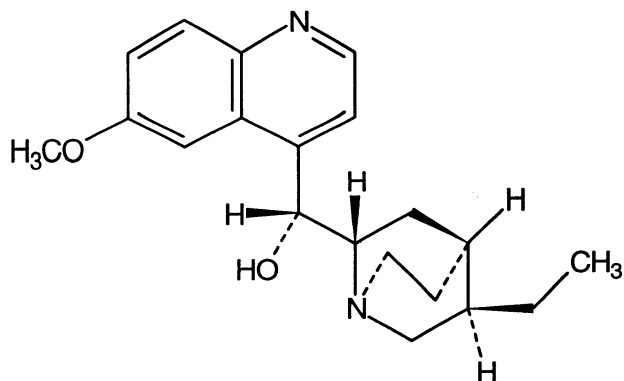
Nečistoty

A. chinidin,



B. (R)-(4-chinolyl)[(2S,4S,5R)-5-vinylchinuklidin-2-yl]methanol (cinchonidin),

Quinini sulfas dihydricus 4613



C. (*R*)-(6-methoxychinolin-4-yl)[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethylchinuklidin-2-yl]methanol (dihydrochinin).

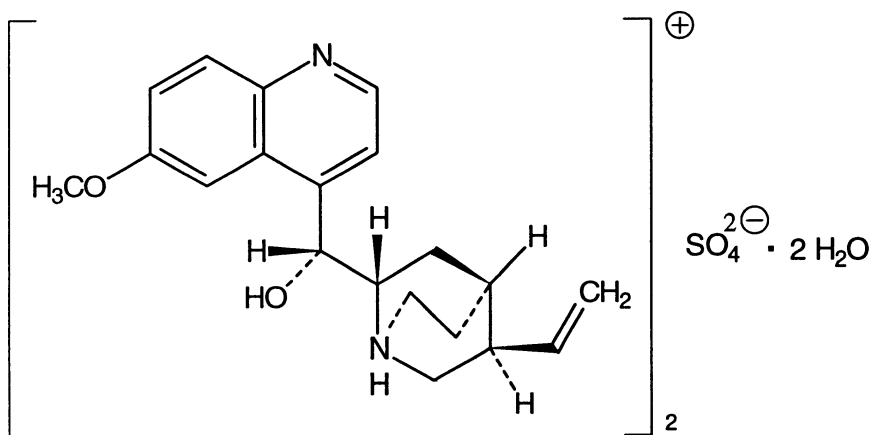
Quinini sulfas dihydricus

Dihydrát chininiumsulfatu

Synonyma. Chinini sulfas, Chininium sulfuricum, Quinini sulfas



1999


 $C_{40}H_{50}N_4O_8S \cdot 2H_2O$

M_r 782,95
 M_r bezvodého 746,92

CAS 6119-70-6

Je to dihydrát bis{2-[(*R*)-(6-methoxychinolin-4-yl)hydroxymethyl]-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinylchinuklidin-2-yl]methanol} sulfatu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{40}H_{50}N_4O_8S$.

4614 *Quinini sulfas dihydricus*

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo jemné bezbarvé jehličkovité krystalky. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný ve vroucí vodě a v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 0,10 g chininiumsulfatu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů diethylaminu R, etheru R a toluenu R (10 + 24 + 40) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu vzduchu a vyvíjení se opakuje. Pak se vrstva 30 min suší při 105 °C v sušárně a po ochlazení se postříká zkoumadlem jodoplaticitým R. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Asi 5 mg se rozpustí v 5 ml vody R, přidá se 0,2 ml vody bromové RS a 1 ml amoniaku zředěného RS₂; vzniká zelené zbarvení.

C. 0,1 g se rozpustí ve 3 ml kyseliny sírové zředěné RS, zředí se vodou R na 100 ml a pozoruje se v ultrafialovém světle při 366 nm; vznikne intenzivně modrá fluorescence, která téměř zmizí po přidání 1 ml kyseliny chlorovodíkové R.

D. Asi 45 mg se rozpustí v 5 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

E. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,500 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 25,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než barevný porovnávací roztok ZŽ₆ (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 5,7 až 6,6; měří se suspenze ve vodě R (10 g/l).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -237° až -245° , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Jiné chinové alkaloidy. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg chininiumsulfatu CRL se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 20 mg chinidiniumsulfatu CRL se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v 5 ml mobilní fáze a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). K 1 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (b).

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 10 mg thiomocoviny R se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10 ml.

Chromatografický postup se provádí obvykle za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m až 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm nebo 10 μm),
- mobilní fáze, která je připravená následujícím způsobem: 6,8 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* a 3,0 g *hexylaminu R* se rozpustí v 700 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 2,8, přidá se 60 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru nastaveného na 250 nm pro záznam chromatogramu porovnávacího roztoku (e) a na 316 nm pro ostatní roztoky.

Odděleně se nastříkne 10 μl porovnávacího roztoku (b) a 10 μl porovnávacího roztoku (e). Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi tak, aby na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byl kapacitní poměr píku chinidinu 3,5 až 4,5, přičemž se t_R vypočítá z píku thiomochoviny na chromatogramu porovnávacího roztoku (e).

Pak se odděleně nastříkne po 10 μl porovnávacích roztoků (a), (b), (c) a (d). Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je hlavní pík odpovídající chininu a pík odpovídající dihydrochininu, jehož retenční čas vztažený k chininu je asi 1,4. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je hlavní pík odpovídající chinidinu a pík odpovídající dihydrochinidinu, jehož retenční čas vztažený k chinidinu je asi 1,2. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou 4 píky odpovídající chinidinu, chininu, dihydrochinidinu a dihydrochininu, které se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy odpovídajících píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píky chininu a chinidinu není menší než 3,0 a rozlišení mezi píky dihydrochinidinu a chininu není menší než 2,0 a na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) není poměr signálu hlavního píku k signálu šumu menší než 4.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Pak se vypočte obsah příbuzných látek v procentech z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d). Obsah dihydrochininu není vyšší než 10 %; obsah žádné příbuzné látky eluované před chininem není vyšší než 5 % a obsah žádné další příbuzné látky není vyšší než 2,5 %.

Ztráta sušením (2.2.32). 3,0 % až 5,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi 10 ml *chloroformu R* a 20 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

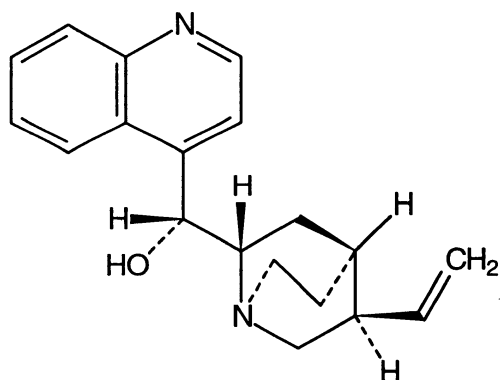
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 24,90 mg $\text{C}_{40}\text{H}_{50}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$.

Uchovávání

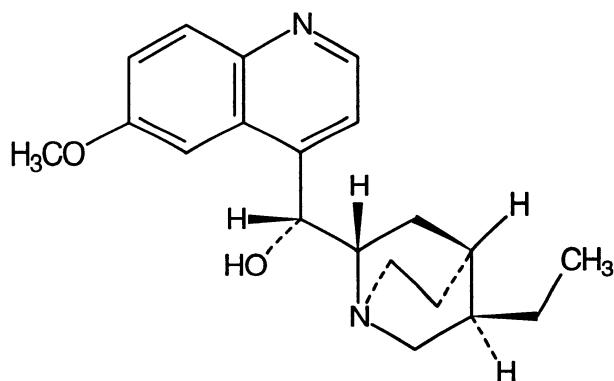
Chráněn před světlem.

Nečistoty

A. chinidin,

4616 *Quinini sulfas dihydricus*

B. (*R*)-(4-chinoly)[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-vinylchinuklidin-2-yl]methanol (cinchonidin),

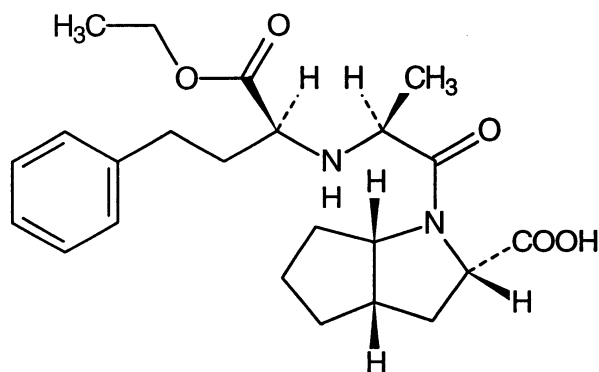


C. (*R*)-(6-methoxychinolin-4-yl)[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethylchinuklidin-2-yl]methanol (dihydrochinin).

† *Ramiprilum* 4617† **Ramiprilum**

Ramipril

1999

 $C_{23}H_{32}N_2O_5$ M_r 416,52

CAS 87333-19-5

Je to kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl]oktahydrocyklopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{23}H_{32}N_2O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *ramiprilu* CRL.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,1 g se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +32,0° až +38,0°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové* RS a *methanolu* R (14 + 86) a zředěním stejnou směsí rozpouštědel na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 20,0 ml.

4618 † Ramiprilum

Porovnávací roztok (a). Po 5 mg ramiprilu nečistoty A CRL, ramiprilu nečistoty B CRL, ramiprilu nečistoty C CRL a ramiprilu nečistoty D CRL se rozpustí v 5 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází B na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází B na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází B na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí mobilní fází B na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,
- gradientového programu:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 6	90	10	izokraticky
6 - 7	90 → 75	10 → 25	lineární gradient
7 - 20	75 → 65	25 → 35	lineární gradient
20 - 30	65 → 25	35 → 75	lineární gradient
30 - 40	25	75	izokraticky
40 - 45	25 → 90	75 → 10	lineární gradient
45 - 55	90	10	ustalování

- *mobilní fáze A* - 2,0 g *chloristanu sodného R* se rozpustí ve směsi 0,5 ml *triethylaminu R* a 800 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,6 a přidá se 200 ml *acetonitrilu R*,
- *mobilní fáze B* - 2,0 g *chloristanu sodného R* se rozpustí ve směsi 0,5 ml *triethylaminu R* a 300 ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,6 a přidá se 700 ml *acetonitrilu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje při 65 °C. Kolona se ustavuje po dobu nejméně 35 min směsí obsahující 90 % mobilní fáze A a 10 % mobilní fáze B. Pokud není dosaženo uspokojivé základní linie, použije se triethylamin jiného stupně čistoty.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (c). Nastaví se citlivost systému tak, aby na chromatogramu byl viditelný pík. Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a), 10 μl porovnávacího roztoku (b) a 10 μl zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky ramiprilu nečistoty A a ramiprilu nejméně 3,0; na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je poměr signálu k šumu hlavního píku nejméně tři a na chromatogramu zkoušeného roztoku je faktor symetrie hlavního píku 0,8 až 2,0.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy ramiprilu nečistoty A asi 14 min, ramiprilu asi 18 min, ramiprilu nečistoty B asi 22 min, toluenu asi 24 min, ramiprilu nečistoty C asi 26 min a ramiprilu nečistoty D asi 28 min.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku se násobí plocha píku odpovídajícího ramiprilu nečistotě C korekčním faktorem 2,4.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píků odpovídajících ramiprilu nečistotě A, ramiprilu nečistotě B, ramiprilu nečistotě C a ramiprilu nečistotě D není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících nečistotám ramiprilu A, B, C a D, není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků,

kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Paladium. Nejvýše 20 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 0,200 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *vody R* (0,3 + 99,7) a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Použijí se roztoky obsahující 0,02 µg, 0,03 µg a 0,05 µg paladia v mililitru, čerstvě připravené zředěním základního roztoku *paladia* (0,5 µg Pd/ml) směsí *kyseliny dusičné R* a *vody R* (0,3 + 99,7).

Roztok modifikátoru. 0,150 g *dusičnanu hořečnatého R* se rozpustí ve směsi *kyseliny dusičné R* a *vody R* (0,3 + 99,7) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku a 10 µl roztoku modifikátoru. Změří se absorbance při 247,6 nm za použití paladiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, transmisního svazku o šířce nejlépe 1 nm a grafitové kvyty.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,2 %; 1,000 g se zahřívá 4 h ve vakuové sušárně při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 25 ml *methanolu R*, přidá se 25 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 41,65 mg $C_{23}H_{32}N_2O_5$.

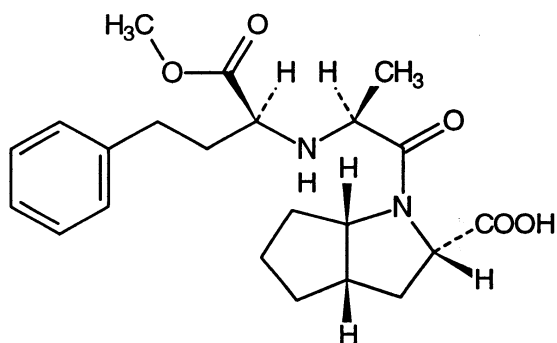
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

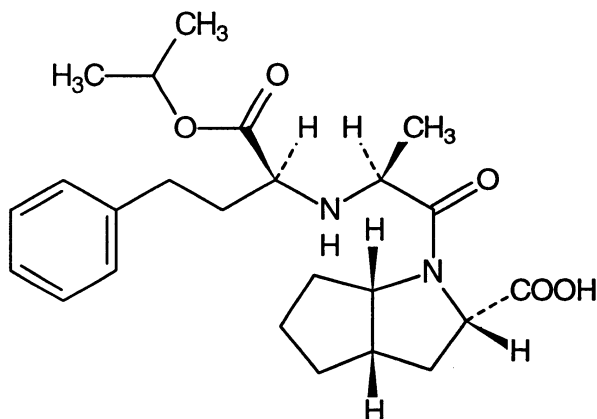
Separandum.

Nečistoty

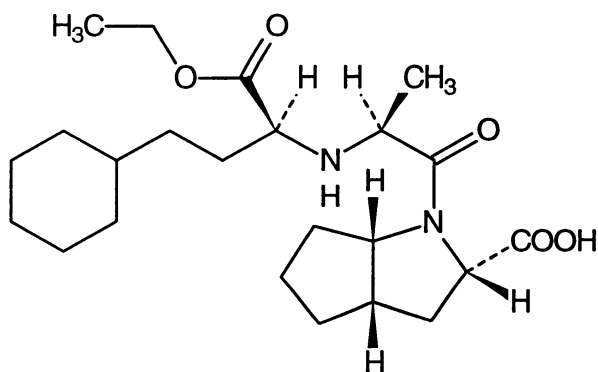
Stanovované nečistoty



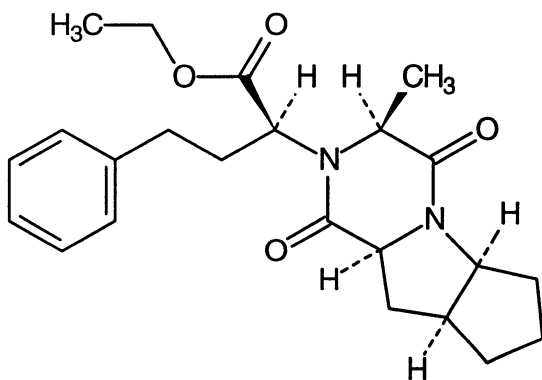
A. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-(methoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl]oktahydrocyklopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová (methylester ramiprilu),

4620 † *Ramiprilum*

B. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-((*S*)-2-[[(*S*)-1-(isopropoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl)oktahydrocyklopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová (isopropylester ramiprilu),

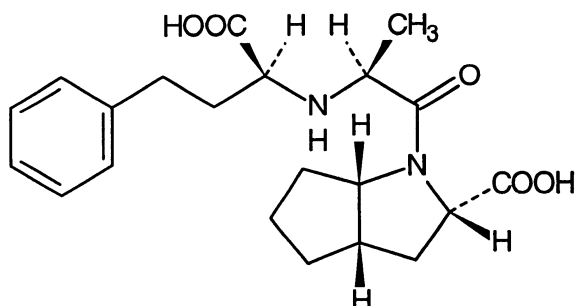


C. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-((*S*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-cyklohexylpropyl]amino]propionyl)oktahydrocyklopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová (hexahydrooramipril),

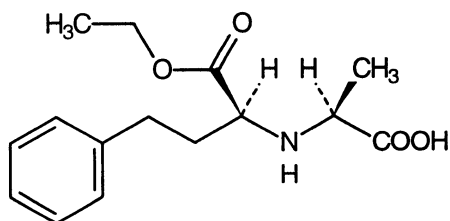


D. ethyl-(2*S*)-2-[(3*S*,5*aS*,8*aS*,9*aS*)-3-methyl-1,4-dioxodekahydro-1*H*-cyklopenta[*e*]pyrrolo-[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-fenylbutanoat (diketopiperazin ramiprilu).

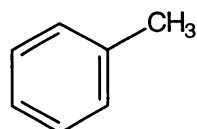
Ostatní zjistitelné nečistoty



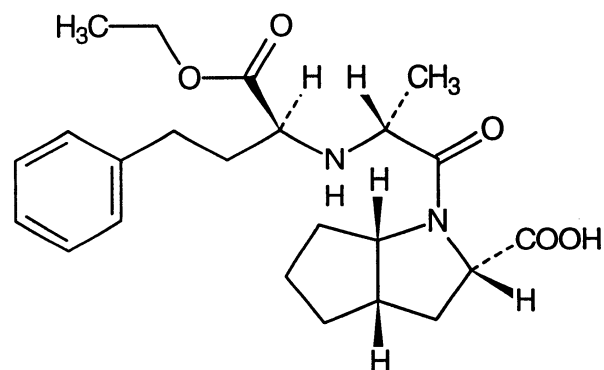
E. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-((*S*)-2-[[(*S*)-3-fenyl-1-karboxypropyl]amino]propionyl)oktahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová (dikyselina ramiprilu),



F. kyselina (*S*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propanová,

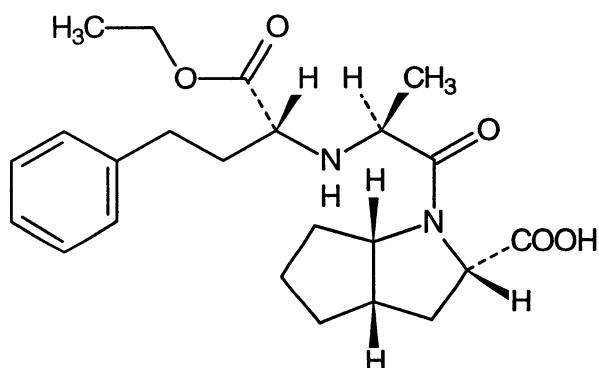


G. toluen,

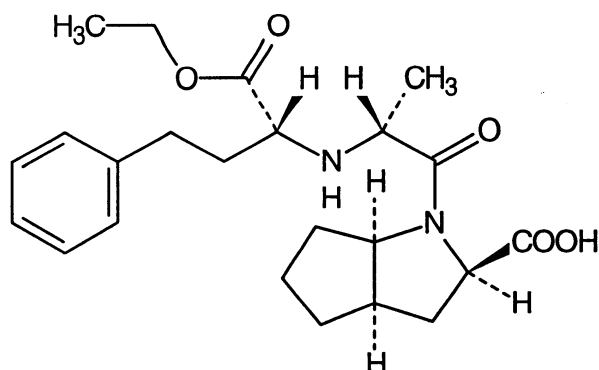


H. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-((*R*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl)oktahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová [(*R,S,S,S*) izomer ramiprilu],

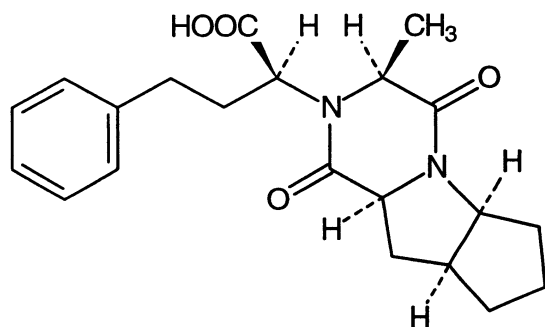
4622 † Ramiprilum



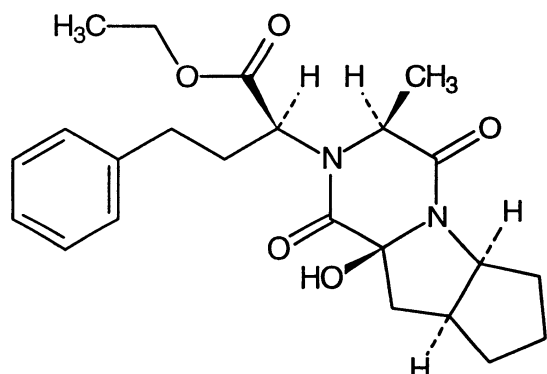
I. kyselina (2*S*,3*aS*,6*aS*)-1-[(*S*)-2-[[(*R*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl]oktahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová [(*S*,*R*-*S*,*S*,*S*) izomer ramiprilu],



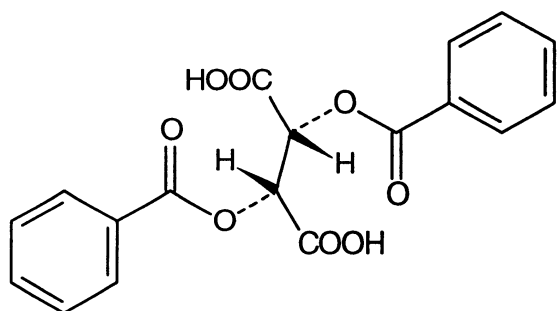
J. kyselina (2*R*,3*aR*,6*aR*)-1-[(*R*)-2-[[(*R*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propionyl]oktahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová [(*R*,*R*-*R*,*R*,*R*) izomer ramiprilu],



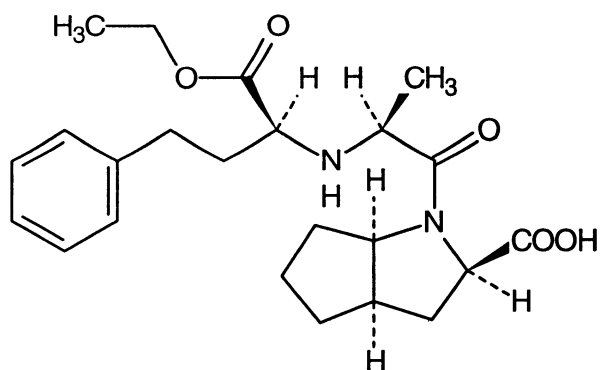
K. kyselina (2*S*)-2-[(3*S*,5*aS*,8*aS*,9*aS*)-3-methyl-1,4-dioxodekahydro-1*H*-cyclopenta[*e*]pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-fenylbutanová (kyselina ramiprildiketopiperazinová),



L. ethyl-(2*S*)-2-[(3*S*,5*aS*,8*aS*,9*aS*)-9*a*-hydroxy-3-methyl-1,4-dioxodekahydro-1*H*-cyklopen-
ta[*e*]pyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-fenylbutanoat (ramiprilhydroxydiketopiperazin),



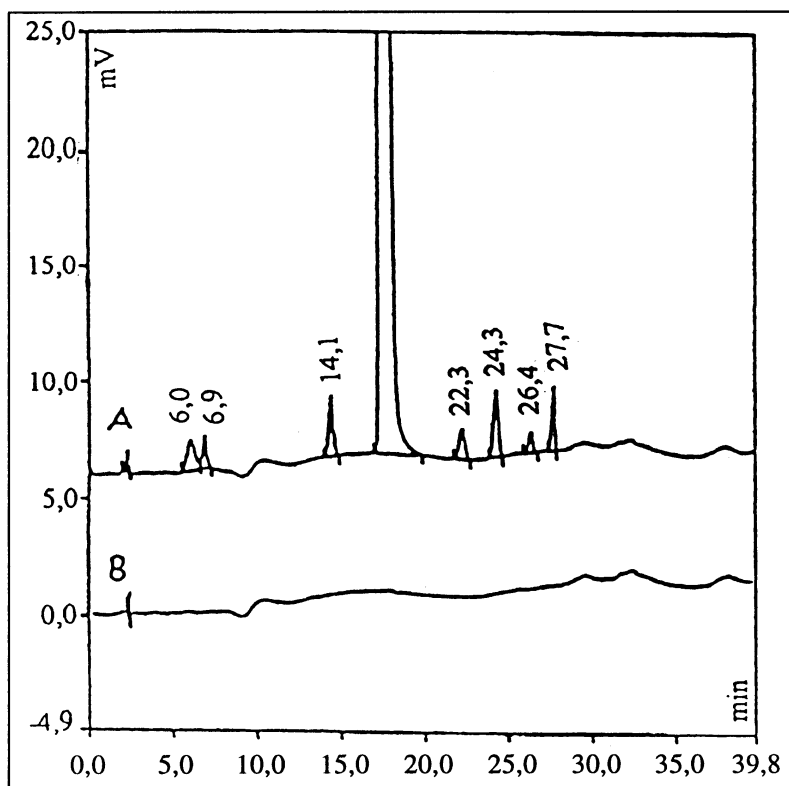
M. kyselina (2*R*,3*R*)-2,3-bis(benzoyloxy)butandiová (kyselina dibenzoylvinná),



N. kyselina (2*R*,3*aR*,6*aR*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propio-
nyl}oktahydrocyklopenta[*b*]pyrrol-2-karboxylová [(*S*,*S*-*R*,*R*,*R*) izomer ramiprilu].

4624 † Ramiprilum

Vzorový chromatogram je uváděn pouze pro informaci, není nezbytnou součástí článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram ke zkoušce Příbuzné látky

A. chromatogram zkoušeného roztoku s přidanými nečistotami

B. chromatogram kontrolního roztoku

retenční čas (min)

1. ramipril nečistota E	6,01	5. ramipril nečistota B	22,32
2. ramipril nečistota F	6,90	6. toluen (nečistota G)	24,34
3. ramipril nečistota A	14,44	7. ramipril nečistota C	26,37
4. ramipril	17,50	8. ramipril nečistota D	27,70

Rapae oleum raffinatum 4625

Rapae oleum raffinatum

Řepkový olej čištěný



1999

Je to mastný olej získaný ze semen druhu *Brassica napus* L. a *Brassica campestris* L. lisováním nebo extrakcí a následným čištěním. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

Vlastnosti

Čirá, světle žlutá tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým (TV: 40 °C až 60 °C).

Relativní hustota je asi 0,917 a index lomu asi 1,473.

Zkouška totožnosti

Provede se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky se shoduje s charakteristickým chromatogramem řepkového oleje.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0.

Nezmydelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,5 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky (2.4.19). Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

Podíl mastných kyselin. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). Podíl mastných kyselin oleje má následující složení:

- kyselina palmitová: 2,5 % až 6,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina olejová: 50,0 % až 67,0 %,
- kyselina linolová: 16,0 % až 30,0 %,
- kyselina linolenová: 6,0 % až 14,0 %,
- kyselina ikosenová: nejvýše 5,0 %,
- kyselina eruková: nejvýše 2,0 %.

Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

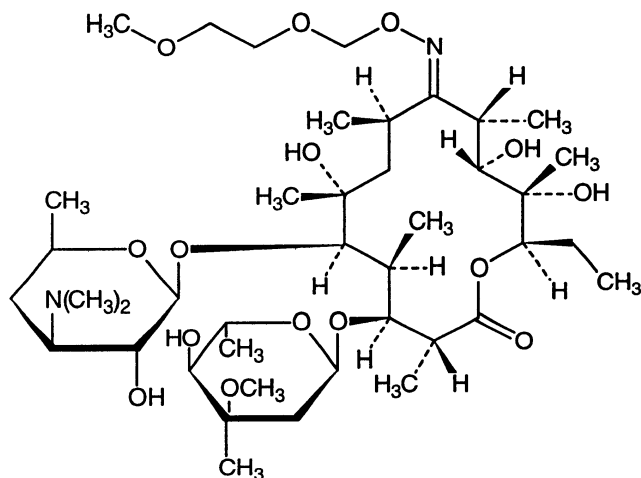
- zda byla látka připravena mechanickým lisováním nebo extrakcí,
- název a množství přidaného antioxidantu.

4626 † *Roxithromycinum*† **Roxithromycinum**

Roxithromycin



1999

 $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ M_r 837,06

CAS 80214-83-1

Je to (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*S*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl- α -*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-10-[(*E*)-[(2-methoxyethoxy)methoxy]imino]-3,5,-7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-dimethylamino- β -*D*-xylo-hexopyranosyl]oxy]oxacyklotetradekan-2-on. Počítáno na bezvodou látku prostou rozpouštědla, obsahuje 97,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v dichlormethanu. Je těžce rozpustný ve zředěné kyselině chlorovodíkové.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *roxithromycinu* CRL. Pokud se získaná spektra liší, zaznamenají se nová spektra roztoků zkoušené látky a referenční látky (90 g/l) v *dichlormethanu* R.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) přibližně odpovídají retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,2 g se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). -93° až -96° , počítáno na bezvodou látku prostou rozpouštědlem; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,500 g v acetonu R a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu za použití:

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min za použití následujících podmínek:
 - mobilní fáze A - k 510 ml vody R se přidá 200 ml roztoku dihydrogenfosforečnanu amonného R (170 g/l), pH se upraví na hodnotu 5,3 hydroxidem sodným zředěným RS a přidá se 315 ml acetonitrilu R,
 - mobilní fáze B - směs objemových dílů vody R a acetonitrilu R (300 + 700),
- s elučním programem:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 38	100	0	ustalování
38 - 39	100	0	izokraticky
39 - 80	100 → 90	0 → 10	lineární gradient
	90	10	izokraticky

Před každou analýzou se kolona promývá do ustavení rovnováhy mobilní fází A nejméně 20 min.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: N-demethyl-roxithromycinu (roxithromycinu nečistoty F) 15 min až 17 min a roxithromycinu 20 min až 22 min. Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem N-demethylroxithromycinu a píkem roxithromycinu je nejméně 6,0 a faktor symetrie píku roxithromycinu je nejvýše 1,5. Je-li třeba, upraví se průtok mobilní fáze.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než šestnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (3,0 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Pro účel zkoušky na příbuzné látky se nepřihlíží k píkům, které eluují při použití mobilní fáze B s relativním retenčním časem 3 (vztaženo k píku roxithromycinu) a odpovídají toluenu.

Ethanol a toluen (2.4.24). Nejvýše 0,2 % ethanolu a 0,1 % toluenu; provede se zkouška na zbytková rozpouštědla.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R a acetonu R (15 + 85) a zředí se stejnou směsí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití porovnávacího roztoku olova (1 μ g/ml) získaného zředěním základního roztoku olova (100 μ g Pb/ml) směsí objemových dílů vody R a acetonu R (15 + 85).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

4628 † *Roxithromycinum***Stanovení obsahu**

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 40,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fází A na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *roxithromycinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází A na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 5,0 mg *roxithromycinu CRL* a 5,0 mg *N-demethylroxithromycinu CRL* se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

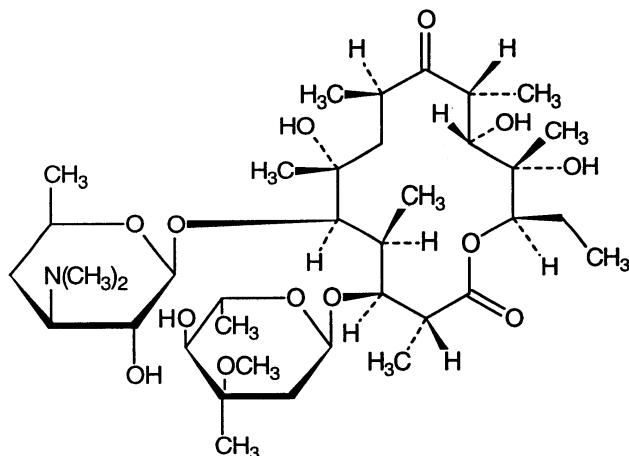
- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R*, roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (170 g/l), jehož hodnota pH se upraví na 5,3 *hydroxidem sodným zředěným RS*, a *acetonitrilu R* (510 + 200 + 315); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *N-demethylroxithromycinu* 7 min až 10 min a *roxithromycinu* 10 min až 13 min. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi píkem *N-demethylroxithromycinu* a píkem *roxithromycinu* nejméně 6,0 a faktor symetrie píku *roxithromycinu* je nejvýše 1,5.

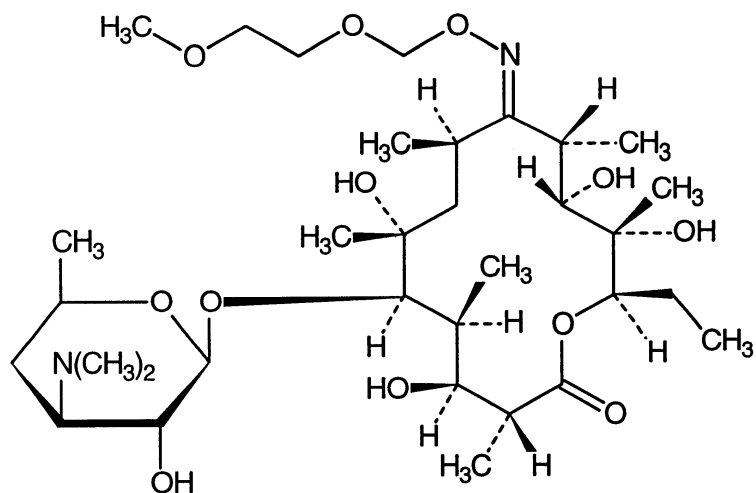
Je-li třeba, upraví se průtok mobilní fáze. Nastříkne se odděleně zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a).

Uchovávání

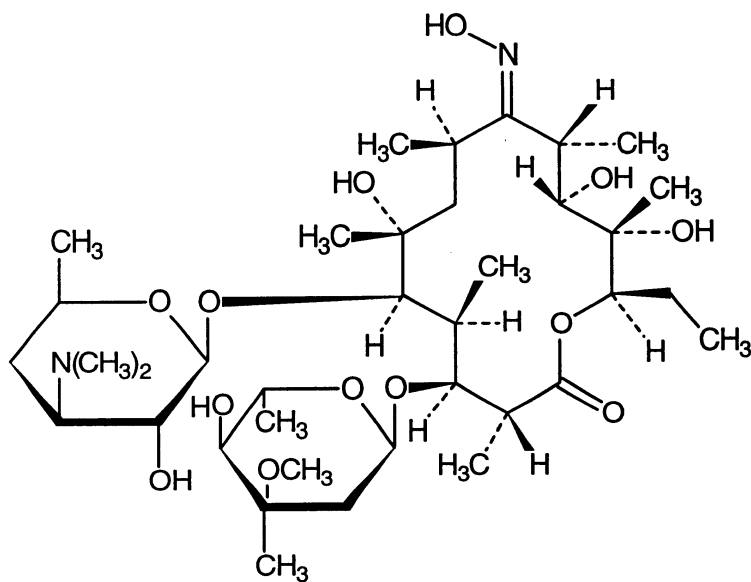
Ve vzduchotěsných obalech.
Separandum.

Nečistoty

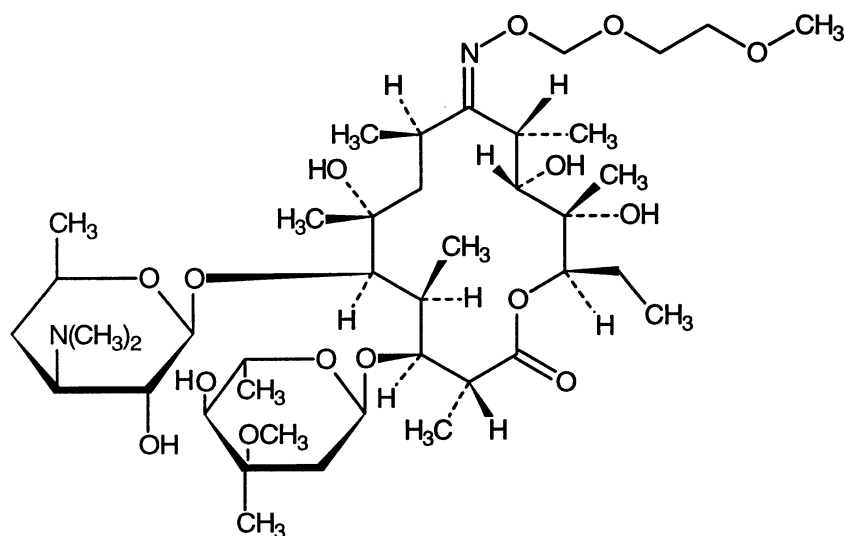
A. erythromycin A,



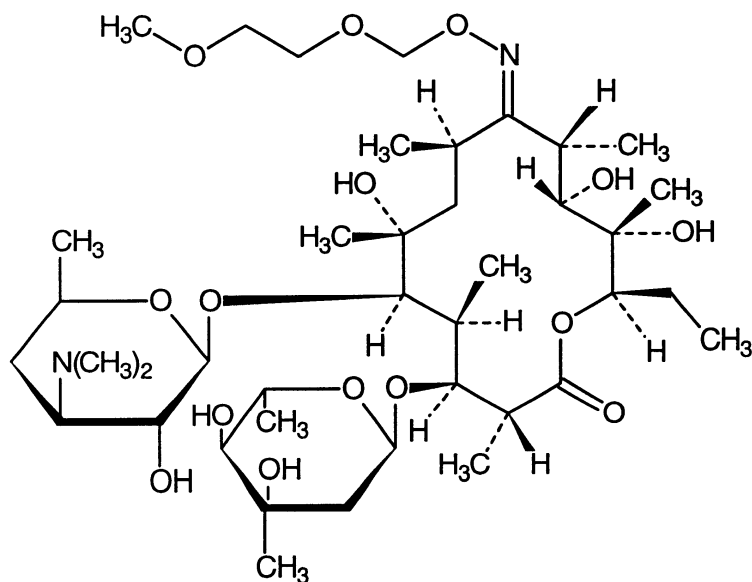
B. 4-O-de(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-O-methyl- α -ribo-hexopyranosyl)erythromycin-10-(*E*)-{O-[(2-methoxyethoxy)methyl]oxim},



C. erythromycin-10-(*E*)-oxim,

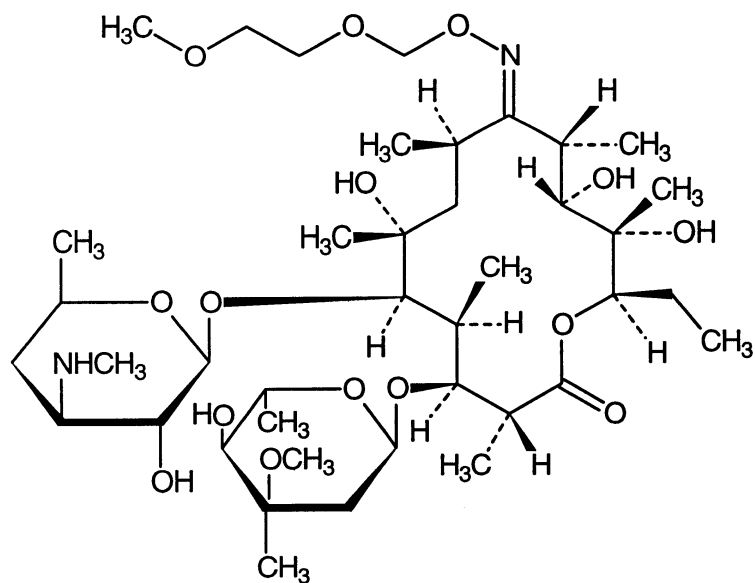
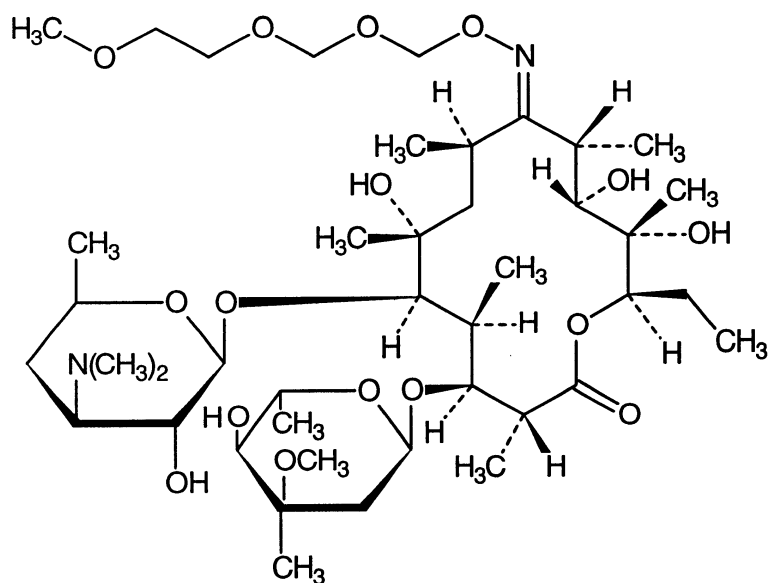
4630 † *Roxithromycinum*

D. erythromycin-10-(Z)-{[(2-methoxyethoxy)methyl]oxim},

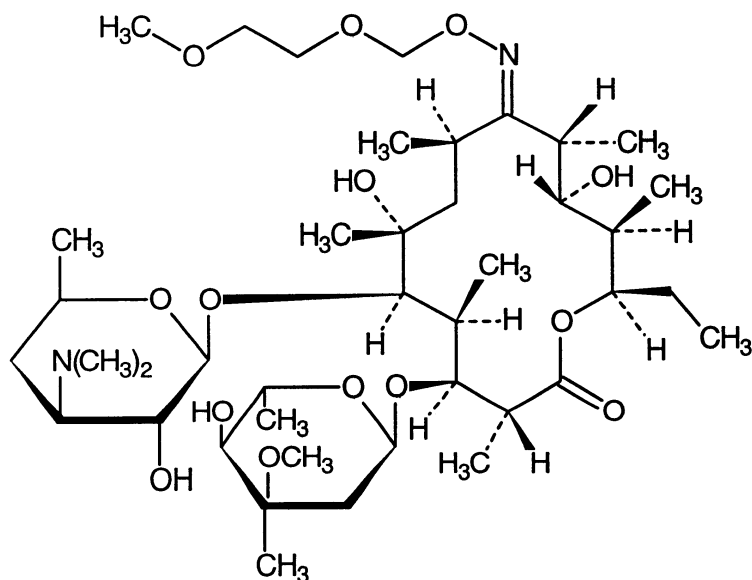
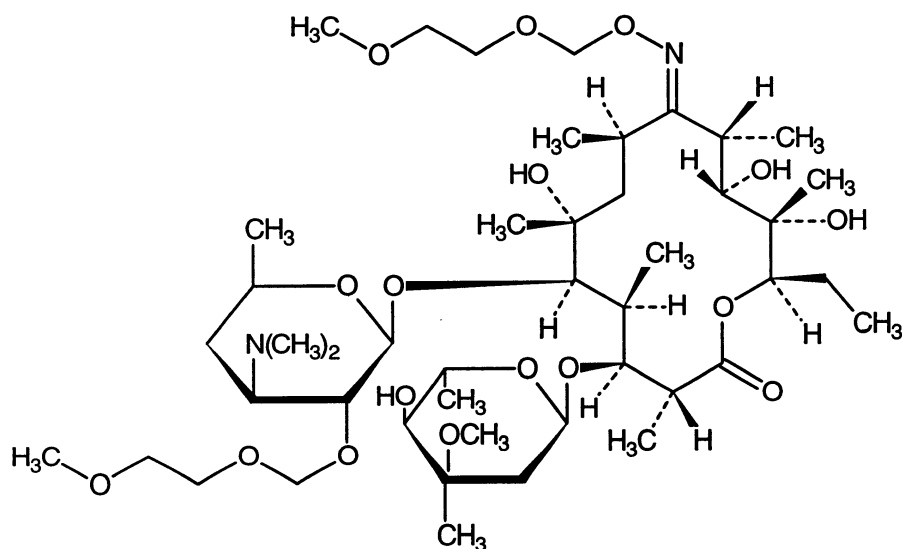


E. 3-O-demethylerythromycin-10-(E)-{O-[(2-methoxyethoxy)methyl]oxim} (roxithromycin C),

† Roxithromycinum 4631

F. N-demethylerythromycin-10-(*E*)-{[O-(2-methoxyethoxy)methyl]oxim},G. erythromycin-10-(*E*)-{O-[[2-methoxyethoxy)methoxy]methyl]oxim},

4632 † Roxithromycinum

H. 13-deoxyerythromycin-10-(*E*)-{O-[(2-methoxyethoxy)methyl]oxim} (roxithromycin B),I. 2-O-[(2-methoxyethoxy)methyl]erythromycin-10-(*E*)-{O-[(2-methoxyethoxy)methyl]oxim}.

Salviae officinalis folium

Šalvějový list

Synonymum. Folium salviae



1999

Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Salvia officinalis* L. Neřezaná droga obsahuje nejméně 15 ml silice v 1 kilogramu drogy. Řezaná droga obsahuje nejméně 10 ml silice v 1 kilogramu drogy, obojí počítáno na sušinu.

Vlastnosti

Silice druhu *Salvia officinalis* L. obsahuje velké množství thujonu.
Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

- A. Čepel listu je asi 2 cm až 10 cm dlouhá a 1 cm až 5 cm široká, obvejčitá až oválná, s okrajem jemně vroubkovaným až celokrajným, na horním konci je zaokrouhlená nebo zašpičatělá, na bázi sbíhavá, zaokrouhlená nebo téměř srdčitá. List je na svrchní straně zelenošedý, jemně zrnitý, na spodní straně bílý, pýřitý, s hustou sítí vyniklých žilek.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je světle šedý až hnědozelený. Pozoruje se v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: velmi četné svazčité krycí chlupy nebo jejich úlomky s výrazně ztlustlou bazální buňkou a ostatními buňkami tenkostěnnými, protáhlými, s úzkým lumenem; úlomky svrchní pokožky s tečkovanými, nevýrazně mnohohrannými buňkami; úlomky spodní pokožky s buňkami se stěnami vlnitě zprohýbanými a s četnými diacytickými průduchy (2.8.3); zřídka jednotlivé žláznaté chlupy s jednobuněčnou až čtyřbuněčnou nohou a jednobuněčnou nebo dvoubuněčnou hlavičkou; četné žláznaté chlupy s jednobuněčnou nohou a hlavičkou složenou z osmi paprsčité uspořádaných buněk překrytých společnou kutikulou.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,30 g čerstvě upráškové drogy (355) se 5 min protřepává s 5,0 ml *etheru R* a pak se zfiltruje přes 2 g *síranu sodného bezvodého R*.

Porovnávací roztok. 5 µl *thujonu R* a 25 µl *cineolu R* a se rozpustí ve 20,0 ml *etheru R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 µl každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině jasně fluoreskující skvrna (*cineol*) a ve střední třetině červeně fluoreskující skvrna (*thujon*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je jasně fluoreskující skvrna odpovídající *cineolu* a červeně fluoreskující skvrna odpovídající *thujonu* o stejné nebo větší velikosti a intenzitě než odpovídající skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 3 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

4634 † *Selegilini hydrochloridum*

Voda, stanovení destilací (2.2.13). Nejvýše 10,0 %; stanoví se s 20,0 g práškové drogy (355).

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Stanovení obsahu

Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 20,0 g čerstvě řezané drogy se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v 500ml baňce s 250 ml vody R jako destilační kapaliny; do dělené trubice se přidá 0,50 ml xylenu R.

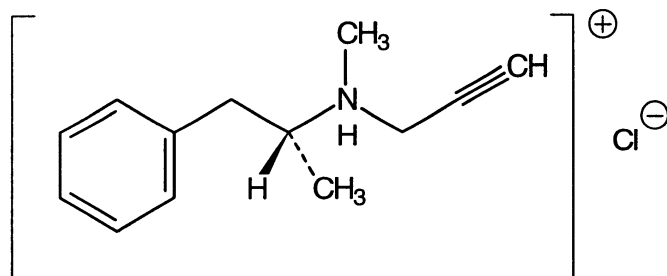
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† **Selegilini hydrochloridum**

Selegiliniumchlorid

1998

C₁₃H₁₈ClNM_r 223,74

CAS 14611-52-0

Je to methyl-(2-propin-1-yl)[(2*R*)-1-fenyl-2-propyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C₁₃H₁₈ClN.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, těžce rozpustný v acetonu.

Taje při asi 143 °C.

Zkoušky totožnosti

- A.** 2,000 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) je $-10,0^\circ$ až $-12,0^\circ$, počítáno na vysušenou látku.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety selegiliniumchloridu CRL. Tablety se připraví za použití chloridu draselného R.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 4,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,20 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *selegiliniumchloridu* CRL a 2 mg *nortriptyliniumchloridu* CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 20,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii* R (5 μm),
- mobilní fáze, která se připraví následujícím způsobem: směs 250 ml *methanolu* R a 250 ml *acetonitrilu* R se zředí butylamoniumacetatovým tlumivým roztokem o pH 6,5 na 1000,0 ml; tlumivý roztok se připraví rozpuštěním 4 ml *butylaminu* R v 900 ml *vody* R (pH se upraví *kyseleinou octovou* R na hodnotu 6,5) a zředěním *vodou* R na 1000,0 ml; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky selegilinu a nortriptylinu větší než 3. Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,7násobku retenčního času selegilinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a součet ploch těchto píků není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel a chloridů a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

(S)-Selegilin. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí ve směsi 1 ml *2-propanolu* R a 10 μl *butylaminu* R a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 8,0 mg *(RS)-selegiliniumchloridu* CRL se rozpustí ve směsi 1 ml *2-propanolu* R a 10 μl *butylaminu* R a zředí se mobilní fází na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem OD pro chirální separaci* R,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *2-propanolu* R a *cyklohexanu* R (0,2 + 99,8); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se po 20 μl každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas (S)-selegilinu asi 10 min. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píků

4636 † *Selegilini hydrochloridum*

na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla asi 10 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi píky (*S*)-selegilinu a (*R*)-selegilinu nejméně 1,5. V případě potřeby se upraví obsah 2-propanolu v mobilní fázi. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího (*S*)-selegilinu větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,5 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

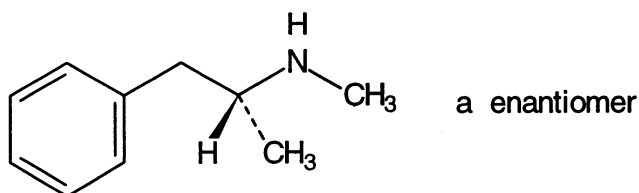
Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí v 50 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

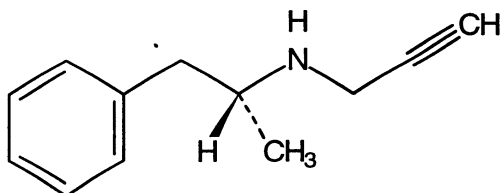
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,37 mg $C_{13}H_{18}ClN$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

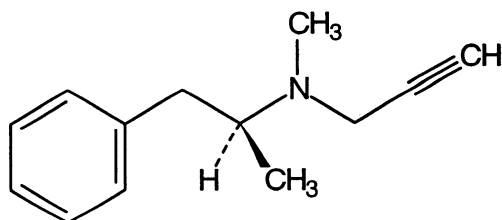
Nečistoty

- A. (2*RS*)-*N*-methyl-1-fenyl-2-propylamin [(±)-metamfetamin],
 B. (2*R*)-1-fenyl-2-propylamin (amfetamin),
 C. (1*RS*,2*SR*)-2-amino-1-fenyl-1-propanol (fenylpropanolamin),



- D. *N*-(2*R*)-(1-fenyl-2-propyl)-2-propin-1-ylamin (demethylselegilin),

Serinum 4637



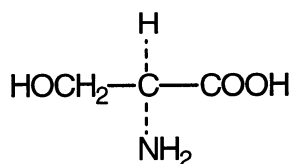
E. N-methyl-N-[(2*S*)-1-fenyl-2-propyl]-2-propin-1-ylamin [(*S*)-selegilin].

Serinum¹⁾

Serin



RR99



$C_3H_7NO_3$

M, 105,09

CAS 56-45-1

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-hydroxypropionová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_3H_7NO_3$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *serinu CRL*.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 569 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4638 *Serinum*

- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. K 1 ml roztoku zkoušené látky (10 g/l) ve zkumavce se přidá 5 ml roztoku *jodistanu sodného R* (20 g/l), zahřívá se na vodní lázni a páry se zachytávají do skleněné vaty navlhčené *vodou R* a vložené do otevřené zkumavky. Po 5 min zahřívání se skleněná vata přenesse do zkumavky obsahující 1 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (15 g/l) a 3 ml *kyseliny sírové R* a 10 min se zahřívá na vodní lázni; vznikne fialovočervené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě destilované R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+14,0^\circ$ až $+16,0^\circ$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *serinu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *methioninu CRL* a 10 mg *serinu CRL* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100°C až 105°C . Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 $\mu\text{g/g}$).

Sírany (2.4.13). 10 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 $\mu\text{g/g}$).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček *papíru lakmusového červeného R* o velikosti strany 5 mm a navlhčí se několika kapkami *vody R*. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se v 0,5 ml *vody R*. K roztoku se přidá 0,30 g *oxidu hořečnatého těžkého R* a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40°C . Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného

současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH₄/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 1,000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 30 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za použití 0,1 ml naftolbenzeinu RS jako indikátoru do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 10,51 mg C₃H₇NO₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Serpilli herba

N

Nat' mateřídoušky

Synonymum. Herba serpylli

Je to usušená kvetoucí nat' druhu *Thymus serpyllum* L. *sensu lato*. Obsahuje nejméně 2 ml silice v 1 kilogramu drogy a nejméně 1 ml těkavých fenolů v 1 kilogramu silice, počítáno jako thymol (C₁₀H₁₄O, M_r 150,2), vztaženo na vysušenou drogu.

Popis a vlastnosti

Droga aromatického pachu, kořenité chuti.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

Zkoušky totožnosti

A. Polokeřík. Lodyha plazivá nebo vystoupavá, na bázi obvykle dřevnatějící, nezřetelně čtyřhranná až téměř oblá, o průměru asi 1,5 mm, jen na hranách nebo na celé ploše chlupatá, listnatá většinou s koncovým květenstvím. Jednotlivé lístky 3 mm až 12 mm dlouhé a až 7 mm široké, přisedlé nebo kratičce řapíkaté, okrouhle vejčité až úzce kopinaté, tenké, celokrajné,

4640 *Serpylli herba*

mírně podvinuté, lysé, na bázi zpravidla brvitě, zvláště na spodní straně žláznatě tečkované. Postranní žilky tenké, jen na spodní straně listu občas vyniklé. Drobné kvítky uspořádány v hlavaté, klasovité nebo hlávkovité květenství, alespoň na bázi přetřhované. Kalich trubkovitý, se dvěma pysky, z nichž horní má tři a spodní dva ušty, v ústí s věncem tuhých chlupů. Koruna růžově nachová, červenofialová, dvoupyská, horní pysk mělce dvoulaločný, dolní trojlaločný. Dvoumocné tyčinky jsou čtyři.

- B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je zelený až zelenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky listů s jemně zvrásněnou kutikulou, pokožkové buňky se zvlněnými stěnami, často uzlíčkovitě ztlustlými. Průduchy diacytického typu (2.8.3), na spodní straně četnější, žláznaté chlupy s dvanácti sekrečními buňkami, jejichž kutikula je většinou kulovitě až měchýřovitě vychlípena vylučovaným sekretem na obou stranách listu. Zvláště na okraji čepele zubovité chlupy se silnou stěnou, na bázi listu dvoubuněčné až osmibuněčné krycí chlupy, některé v blízkosti vnitřních stěn se skupinkami velmi malých jehličkovitých krystalů šřavelanu vápenatého. Úlomky koruny s podobnými chlupy jako list, v ústí s krátkými, kuželovitými chlupy. Pylová zrna okrouhle vejčitá, 30 μm až 40 μm v průměru, s velmi jemně zrnitou exinou a šesti šterbinovitými klíčovými póry. Úlomky stonku nesou čtyři typy chlupů: jednobuněčné, krátké až delší krycí chlupy s podélně zvrásněnou kutikulou, dvoubuněčné až pětibuněčné chlupy, přímé, na bázi silně ohnuté, s kutikulou podélně vrásčitou, hlavičkovité chlupy s jednobuněčnou nohou a jednobuněčnou hlavičkou, ojediněle žláznaté chlupy s dvanácti sekrečními buňkami, jejichž kutikula je většinou kulovitě až měchýřovitě vychlípena vylučovaným sekretem, cévy jednotlivě nebo ve svazcích, jsou provázeny sklerenchymatickými vlákny.
- C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenční přísadou pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 1,0 g práškové drogy (355) se protřepává 5 min 5 ml *dichlormethanu R* a pak se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 5 mg *thymolu R* a 10 μl *karvakrolu R* se rozpustí v *dichlormethanu R* a doplní se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 μl obou roztoků. Vyvíjí se dvakrát *dichlormethanem R* po dráze 12 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Skvrny se označí. Na chromatogramech porovnávacího a zkoušeného roztoku je ve střední části patrna skvrna thymolu. Vrstva se postříká *anisaldehydem RS* a suší se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části hnědorůžová skvrna odpovídající thymolu a těsně pod ní světle fialová skvrna odpovídající karvakrolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající polohou a zabarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další skvrny.

Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 3,0 %. Nejsou přítomny čárkovité nebo čárkovitě kopinaté listy se silně podvinutým okrajem. Čepel naspodu s hlavní žilkou zřetelně vyniklou, okraj čepele, zejména na bázi s dlouhými bílými chlupy. Při hodnocení v *chloralhydrátu RS* nejsou přítomny krycí chlupy s bradavčitými stěnami a zašpičatělou koncovou buňkou a přímé nebo lehce zahnuté

† *Silymarinum* 4641

dvoubuněčné až tříbuněčné, často kolenovitě zahnuté nebo víceméně přímé chlupy (*Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %, 1,000 g práškované drogy (355) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 10,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 2,0 %.

Stanovení obsahu

Silice. Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12). 50,0 g rozdrobněné drogy (355) se destiluje 2 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min v baňce na 1000 ml s 500 ml vody R, bez přídavku xylenu R do dělené trubice.

Fenoly. Silice ze zkoušky Stanovení obsahu se převede opatrně malými dávkami lihu R 90% (V/V) do odměrné baňky na 25 ml tak, aby obsahovala nejmenší možné množství vody, dělená trubice se propláchne malými dávkami lihu R 90% (V/V) a odměrná baňka se doplní lihem R 90% (V/V) po značku. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá se 40 ml lihu R 90% (V/V) a zředí se vodou R na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se převedou do dělicí nálevky, smíchají se s 20 ml vody R, 0,25 ml amoniaku zředěného RS2 a 1 ml roztoku aminopyrazolonu R (10 g/l). Po protřepání se smíchá se 2 ml čerstvě připraveného roztoku hexakvanoželezitanu draselného R (20 g/l) a znovu se protřepe. Po 5 min se protřepává 10 ml dichlormethanu R. Dichlormethanová vrstva se zfiltruje chomáčkem vaty povlhčeným dichlormethanem R do odměrné baňky na 50,0 ml. Vodná vrstva se protřepe třikrát 10 ml dichlormethanu R. Dichlormethanové vrstvy se zfiltrují přes chomáček vaty. Vata se promyje dichlormethanem R a obsah odměrné baňky se jím zředí na 50,0 ml. Změří se absorbance (2.2.25) roztoku v maximu při 450 nm za použití dichlormethanu R jako kontrolní tekutiny a vypočítá se obsah fenolů v procentech, počítáno jako thymol (C₁₀H₁₄O).

Specifická absorbance je 805.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

† *Silymarinum*

N

Silymarin

CAS 65666-07-1

Je to směs látek flavolignanového typu získaná extrakcí plodu ostropestřce mariánského *Silybum marianum* (L) GAERTN. Hlavní podíl obsahových látek tvoří silybinin A, silybinin B, isosilybinin A, isosilybinin B, silychristin, silydianin, taxifolin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje nejméně 80 % silymarinu vyjádřeného jako silybinin.

4642 † *Silymarinum*

Vlastnosti

Hnědožlutý amorfní prášek slabého charakteristického pachu.

Zkouška totožnosti

Na chromatogramu zkoušeného roztoku ze zkoušky Obsah silybinu jako součet silybininu a isosilybininu, viz Zkoušky na čistotu, retenční časy píků silybininu A a silybininu B odpovídají retenčním píkům silybininu A a silybininu B na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. Rozpouštění lze urychlit zahřátím na 40 °C. Roztok je čirý (2.2.1).

Látky rozpustné v pentanu. Nejvýše 1,0 %. 2,000 g se v kuželové baňce se zabroušenou zátkou smíchají s 50 ml *pentanu R*, baňka se uzavře a 10 min se míchá pomocí ultrazvuku. Potom se zfiltruje přes skleněný filtr S4 a filtr i baňka se propláchnou pětkrát 5 ml *pentanu R* a nakonec se filtr propláchne ještě 10 ml *pentanu R*. Ve zvážené kuželové baňce předem 30 min sušené při 100 °C až 105 °C se filtrát a promývací tekutiny shromažďují a pentan se oddestiluje. Baňka se zbytkem se suší 30 min až 45 min při 100 °C až 105 °C a po ochlazení v exsikátoru se zváží.

Chromatografický profil. Podíl obsahových látek vyjádřený jako součet silybininu a isosilybininu (*silybin*) je nejméně 30,0 % a obsahové látky celkově, vyjádřeno jako součet silybininu A, silybininu B, isosilybininu A, isosilybininu B, silychristinu, silydianinu a taxifolinu, je nejméně 60,0 %, vzorce viz odstavec Obsahové látky.

Obsah silybinu jako součet silybininu a isosilybininu. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 3 + 6) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se stejnou směsí zředí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok. 50,0 mg *silybininu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 3 + 6) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *dimethylformamidu R*, *methanolu R* a *vody R* (5 + 40 + 55). 1 litr mobilní fáze obsahuje 0,34 g *tetrabutylamoniumhydrogensíranu R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 290 nm.

Při průtoku mobilní fáze 1,0 ml/min se kolona temperovaná na 35 °C promývá do ustálení rovnováhy po dobu asi 60 min. Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas píku silybininu A asi 19,0 min a relativní retenční čas píku silybininu B 1,10, vztaheno k retenčnímu času píku silybininu A. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky silybininu A a silybininu B není menší než 1,30.

Nastříkne se šestkrát 10 μl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku odpovídajícího silybininu A není větší než 1,0 %. Střídavě se nastříkuje 10 μl porovnávacího roztoku a 10 μl zkoušeného roztoku. Procentuální obsah silybinu

jako součet silybininu a isosilybininu se vypočítá metodou externího standardu z ploch pík silybininu A, silybininu B, isosilybininu A (pík s relativním retenčním časem 1,50) a isosilybininu B (pík s relativním retenčním časem 1,60) na chromatogramu zkoušeného roztoku a z ploch pík silybininu A a silybininu B na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Obsahové látky celkově. Použijí se chromatogramy zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku získané ve zkoušce Obsah silybinu jako součet silybininu a isosilybininu a vypočítá se celkový procentuální obsah obsahových látek metodou externího standardu z ploch těchto pík na chromatogramu zkoušeného roztoku:

taxifolinu, relativní retenční čas 0,32,

silychristinu, relativní retenční čas 0,42,

silydianinu, relativní retenční čas 0,49,

silybininu A, relativní retenční čas 1,00,

silybininu B, relativní retenční čas 1,10,

isosilybininu A, relativní retenční čas 1,50,

isosilybininu B, relativní retenční čas 1,60 a z ploch pík na chromatogramu porovnávacího roztoku (silybininu A a silybininu B).

Organická zbytková rozpouštědla. Celkový obsah organických rozpouštědel je nejvýše 1,0 %, obsah acetonu je nejvýše 0,5 %, obsah ethanolu je nejvýše 0,5 % a obsah ostatních rozpouštědel celkem není větší než 0,1 %. Stanoví se plynovou chromatografií se statickým head-space nástřikem (2.2.28).

Zkoušený roztok. (a) 0,100 g se ve vhodné lahvičce rozpustí v 1 ml *dimethylformamidu R* a přidá se 0,5 ml *vody R*. Lahvička se uzavře pryžovou zátkou pokrytou polytetrafluorethylenovou fólií a zátka se zajistí hliníkovým uzávěrem. Obsah lahvičky se protřepe.

Roztok rozpouštědel. Rozpustí se po 60 mg *acetonu R*, *etheru R*, *ethanolu R*, *methanolu R*, *ethylacetatu R* a *hexanu R* v 15 ml *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se přidají k 15 ml *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 ml roztoku rozpouštědel se ve vhodné lahvičce smíchá s 0,5 ml *vody R*. Lahvička se uzavře pryžovou zátkou pokrytou polytetrafluorethylenovou fólií a zátka se zajistí hliníkovým uzávěrem. Obsah lahvičky se protřepe.

Dále se postupuje podle stati Zbytková rozpouštědla (2.4.24) za použití systému A.

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (100 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije *základní roztok olova* (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 4,0 %. 0,200 g se zahřívá 2 hodiny v sušárně při 130 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 1,0 %. Stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Mikrobiální znečištění. Z celkového počtu živých mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10^3 aerobních bakterií v 1 g a nejvýše 10^2 hub v 1 g. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

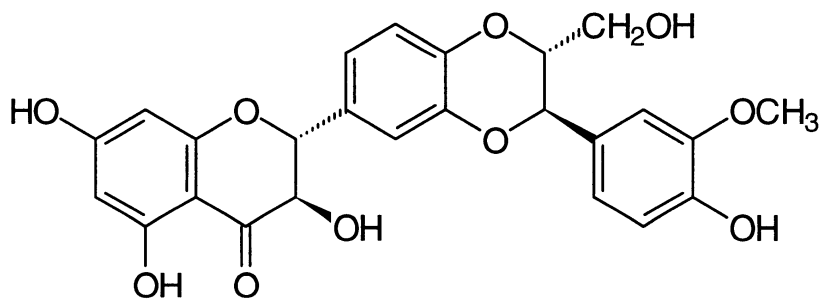
Stanovení obsahu

50 mg se rozpustí v *methanolu R* zahříváním na vodní lázni při 80 °C. Po ochlazení se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml. Změří se absorbance (2.2.25) výsledného roztoku při 288 nm proti *methanolu R* jako kontrolní tekutině.

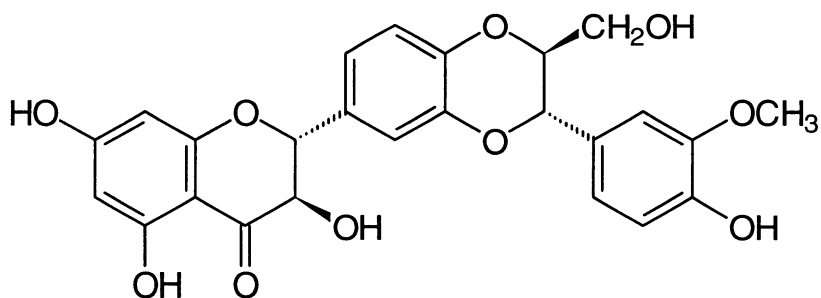
Vypočítá se obsah silymarinu vyjádřený jako silybinin za použití specifické absorbance silybininu, která má hodnotu 503. Výsledek se pře počítá na vysušenou látku.

4644 † *Silymarinum***Uchovávání**

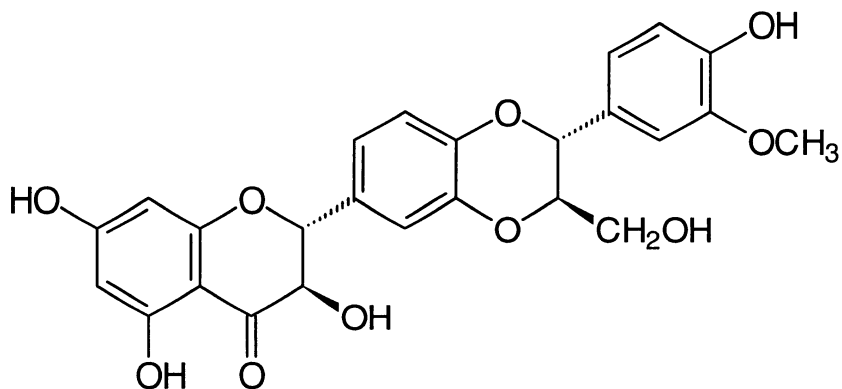
V dobře uzavřených obalech, při teplotě nepřevyšující 25 °C.
Separandum.

Obsahové látky

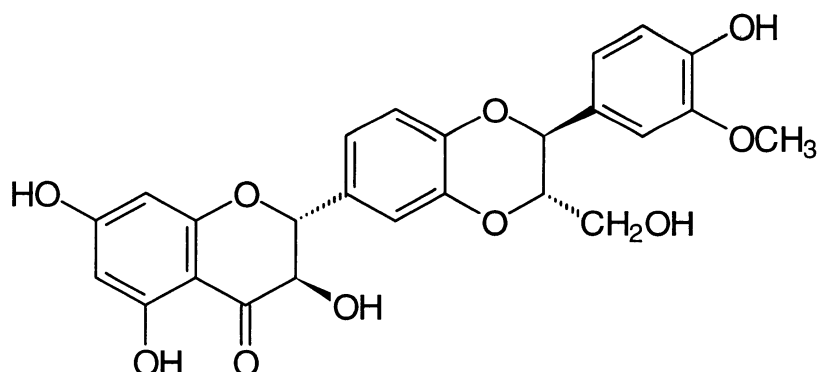
Silybinin A. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2*R*,3*R*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-2-hydroxymethyl-1,4-benzodioxan-6-yl]-4-chromanon,



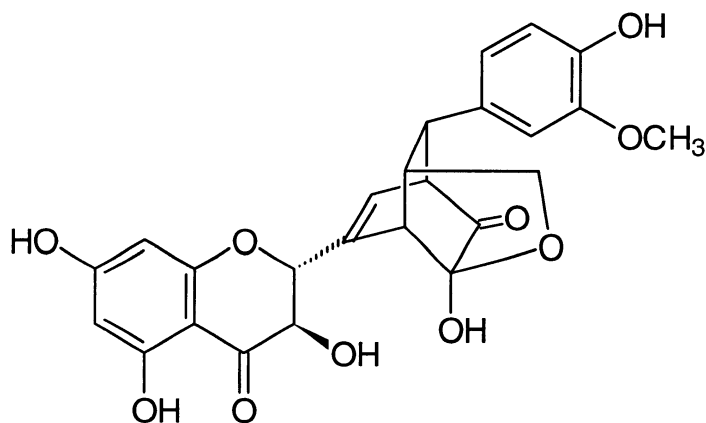
Silybinin B. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2*S*,3*S*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-2-hydroxymethyl-1,4-benzodioxan-6-yl]-4-chromanon,



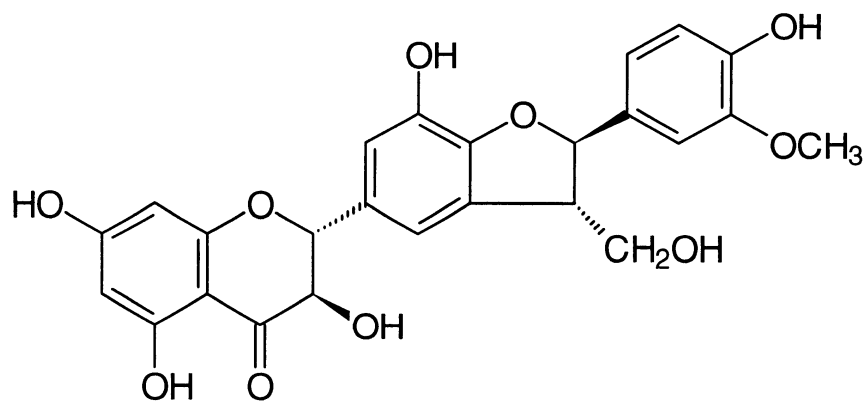
Isosilybinin A. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2*R*,3*R*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxan-6-yl]-4-chromanon,



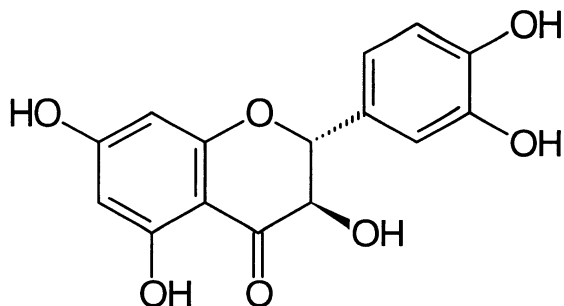
Isosilybinin B. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2*S*,3*S*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-3-hydroxy-methyl-1,4-benzodioxan-6-yl]-4-chromanon,



Silydianin. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[7*a*-hydroxy-8-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-7-oxo-2,3,3*a*,6,7,7*a*-hexahydro-3,6-methanobenzo[*b*]furan-4-yl]-4-chromanon,



Silychristin. (2*R*,3*R*)-3,5,7-trihydroxy-2-[(2*R*,3*S*)-7-hydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyfenyl)-3-hydroxymethyl-2,3-dihydrobenzo[*b*]furan-5-yl]-4-chromanon,

4646 *Sojae oleum hydrogenatum*

Taxifolin. (2*R*,3*S*)-3,5,7-trihydroxy-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-4-chromanon.

Sojae oleum hydrogenatum

Hydrogenovaný sójový olej



1998

Je to produkt připravený z oleje získaného ze semen druhu *Glycine soja* SIEB. a ZUCC. a *Glycine max* (L.) MERR. [*G. hispida* (MOENCH) MAXIM.] čištěním, bělením, hydrogenací a zbavením zápachu. Obsahuje hlavně triacylglyceroly kyseliny palmitové a stearové.

Vlastnosti

Bílá hmota nebo prášek, které zahřátím tají na čirou, světle žlutou kapalinu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu a po zahřátí v etheru petrolejovém (TV: 65 °C až 70 °C) a v toluenu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
 B. Zkouška Cizí masné oleje, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 66 °C až 72 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; titruje se ještě horký roztok připravený rozpuštěním 10,0 g v 50 ml horké směsi stejných objemových dílů lihu 96% R a toluenu R, předem zneutralizované hydroxidem draselným 0,1 mol/l VS za použití fenolftaleinu RS1 jako indikátoru.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 5,0.

Nezmydelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 1,0 %, stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky v mastných olejích (2.4.19). 2,0 g se rozpustí mírným zahřátím ve směsi obsahující 1,5 ml lihu 96% R a 3 ml toluenu R. Přidá se 0,05 ml roztoku modři bromfenolové R (0,4 g/l) v lihu 96% R. Ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

Cizí mastné oleje. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou *poly(kyanopropyl)siloxanem R* (tloušťka vrstvy 0,2 μm),
 - *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 0,65 ml/min,
 - plamenoionizačního detektoru,
 - injektoru s děličem (1 : 100).
- Teplota kolony se udržuje 20 min na 180 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C. Podíl mastných kyselin má následující složení:
- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce menší než C_{14} : nejvýše 0,1 %,
 - kyselina myristová: nejvýše 0,5 %,
 - kyselina palmitová: 9,0 % až 16,0 %,
 - kyselina stearová: 79,0 % až 89,0 %,
 - kyselina olejová a izomery ($\text{C}_{18:1}$; odpovídá délkou řetězce *poly(kyanopropyl)siloxanu* 18,5 až 18,8): nejvýše 4,0 %,
 - kyselina linolová a izomery ($\text{C}_{18:2}$; odpovídá délkou řetězce *poly(kyanopropyl)siloxanu* 19,4 až 19,8): nejvýše 1,0 %,
 - kyselina linolenová a izomery ($\text{C}_{18:3}$; odpovídá délkou řetězce *poly(kyanopropyl)siloxanu* 20,3 až 20,7): nejvýše 0,2 %,
 - kyselina arachidová: nejvýše 1,0 %,
 - kyselina behenová: nejvýše 1,0 %.

Nikl. Nejvýše 1 $\mu\text{g/g}$; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

Zkoušený roztok. 5,0 g se opatrně zahřeje v předem zváženém vyžehnaném platinovém nebo křemenném kelímku a do zkoušené látky se vloží knot ze stočeného bezpopelného filtračního papíru, který se zapálí. Po spálení zkoušené látky se zahřívání ukončí a žihá se v muflové peci při asi 600 °C do získání bílého popele. Po ochlazení se zbytek převede dvakrát 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* do 25ml odměrné baňky, přidá se 0,3 ml *kyseliny dusičné R* a zředí se *vodou R* na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se tři roztoky přidáním 1,0 ml, 2,0 ml a 4,0 ml základního *roztoku niklu* (0,2 $\mu\text{g Ni/ml}$) ke 2,0 ml zkoušeného roztoku a zředěním *vodou R* na 10,0 ml.

Změří se absorbance při 232 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření, grafitové pece jako atomového generátoru a *argonu R* jako nosného plynu.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,3 %, stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4648 † *Somatropini solutio ad praeparationem*

† Somatropini solutio ad praeparationem

Koncentrovaný roztok somatropinu



1999

Je to roztok obsahující bílkovinu se strukturou (191 aminokyselinových zbytků) hlavní složky růstového hormonu produkovaného lidskou hypofýzou. Může obsahovat tlumivé soli a jiné pomocné látky. Obsahuje 91,0 % až 105,0 % deklarovaného obsahu somatropinu ($C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$). Vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

1 mg bezvodého somatropinu ($C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$) odpovídá 3,0 m.j. biologické účinnosti.

Výroba

Připravuje se metodou založenou na rekombinaci DNK (rDNK). Při vývoji přípravku se prokáže vhodnou validovanou metodou stanovení biologické účinnosti, založenou na stimulaci růstu a schválenou oprávněnou autoritou, že výrobní postup dává látku, jejíž biologická účinnost je nejméně 2,5 m.j. v miligramu.

Zkoušený roztok vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům.

Bílkoviny hostitelské buňky. Požadavek schválí oprávněná autorita.

DNK hostitelské buňky a vektoru. Požadavek schválí oprávněná autorita.

Vlastnosti

Čirý nebo slabě opalizující, bezbarvý roztok.

Zkoušky totožnosti

- A. Hodnotí se elektroforeogramy ze zkoušky Distribuce izoforem, viz Zkoušky na čistotu. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá hlavní zóna polohou hlavní zóně na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné bílkoviny, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C. Proveďte se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Zkoušený roztok se zředí *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,5 (0,05 mol/l)* tak, aby obsahoval 2,0 mg somatropinu v mililitru. Asi 1,0 ml takto připraveného roztoku se převede do zkumavky z vhodného materiálu, např. polypropylenu, a přidá se 30 μ l čerstvého připraveného roztoku *trypsinu pro peptidové mapování R (1 mg/ml)* v *tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)*. Zkumavka se uzavře a vloží se na 4 h do vodní lázně 37 °C teplé. Potom se zkumavka vyjme z vodní lázně a ihned se probíhající reakce přeruší, např. zmrazením. Je-li okamžitě použit automatický dávkovač, udržuje se teplota na 2 °C až 8 °C.

Poznámka. Stejný vzájemný poměr (*mikrogram trypsinu na miligram somatropinu*) se použije, *jestliže nelze získat koncentrace 2 mg somatropinu v mililitru.*

Porovnávací roztok. Připraví se roztok somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) a zpracuje se současně stejným způsobem jako zkoušený roztok.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R (5 µm až 10 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - 1 ml kyseliny trifluoroctové R se zředí vodou R na 1000 ml,
 - mobilní fáze B - ke 100 ml vody R se přidá 1 ml kyseliny trifluoroctové R a zředí se acetonitrilem pro chromatografii R na 1000 ml,
- následujícího gradientu (je-li třeba, gradient nebo teplota kolony se nastaví tak, aby se dosáhlo požadovaného rozdělení produktů enzymatického štěpení):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 20	100 → 80	0 → 20
20 - 40	80 → 75	20 → 25
40 - 65	75 → 50	25 → 50
65 - 70	50 → 20	50 → 80
70 - 71	20 → 100	80 → 0
71 - 85	100	0

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Kolona se nejméně 15 min ustaluje mobilní fází A. Provede se slepá zkouška za použití výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogramy obou roztoků kvalitativně odpovídají referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného somatropinu. Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

- D.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušeného výrobku v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu nebo méně, potom se podle toho upraví objem injekce.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Roztok pro rozlišení (validační směs somatropinu a desamidomatropinu). Připraví se roztok somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru

4650 † *Somatropini solutio ad praeparationem*

obsahoval 2,0 mg. Zfiltruje se přes sterilní filtr nebo se přidá *azid sodný R* do koncentrace 0,1 mg v mililitru roztoku a nechá se 24 h stát při pokojové teplotě.

Roztoky se uchovávají při teplotě 2 °C až 8 °C a použijí se do 24 h. Pokud se používá automatický dávkovač, je nutno jej udržovat při 2 °C až 8 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem butylsilanizovaným pro chromatografii R* (velikost částic 5 μm a velikost pórů 30 nm), která je umístěna mezi pumpu a nástřikový ventil,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *propanolu R* a *tlumivého roztoku trometamolového o pH 7,5 (0,05 mol/l)* (29 + 71); průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 45 °C.

Před použitím se kolona promývá 200 ml až 500 ml 0,1% (V/V) roztokem *kyseliny trifluoroktové R* v 50% (V/V) *acetonitrilu R*. Je-li třeba, promývání se opakuje do ustálení kolony.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku. Je-li třeba, upraví se koncentrace *propanolu R* v mobilní fázi tak, aby retenční čas hlavního píku byl asi 33 min.

Nastříkne se 20 μl roztoku pro rozlišení. Na chromatogramu se objeví malý pík (desamidomatropin) s relativním retenčním časem k hlavnímu píku asi 0,85. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky somatropinu a desamidomatropinu je nejméně 1,0 a hodnota faktoru symetrie píku somatropinu je 0,9 až 1,8.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 6,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Dimer a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30), jak je popsána ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků s retenčním časem kratším, než je retenční čas hlavního píku, není větší než 4,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Distribuce izoforem. Provede se izoelektrická fokusace.

Zkoušený roztok (a). Zkoušený roztok se zředí *tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Zkoušený roztok (b). K 0,1 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,9 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,025 mol/l)*.

Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok *somatropinu CRL* v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok (b). Použije se roztok pro kalibraci izoelektrického bodu o rozmezí pH 2,5 až 6,5, připravený podle návodu výrobce.

Se zařízením se pracuje podle návodu výrobce. Izelektrická fokusace se provádí na hotových deskách s vrstvou gelu o rozměrech 245 mm x 110 mm x 1 mm a pH v rozmezí 4,0 až 6,5. Na vrstvu gelu se nanese odděleně po 15 μl každého roztoku. Jako anodický roztok se použije roztok *kyseliny glutamové R* (14,7 g/l) v roztoku *kyseliny fosforečné R* (50 g H₃PO₄/l) a jako katodický roztok se použije roztok *β-alaninu R* (89,1 g/l). Pracovní podmínky se nastaví na 2000 V a 25 mA. Fokusace se nechá probíhat 2,5 h při konstantním napětí a výkonu nepřevyšujícím 25 W. Potom se vrstva gelu ponoří na 30 min do roztoku obsahujícího *kyselinu trichloroktovou R* (115 g/l) a *kyselinu sulfosalicylovou R* (34,5 g/l) a pak na 5 min do směsi objemových dílů *kyseliny octové R*, *ethanolu R*

a deionizované vody R (8 + 25 + 67) (odbarvovací roztok). Vrstva gelu se zbarví ponořením na 10 min do 60 °C teplého roztoku *modři kyselé 83 R* (1,15 g/l) v odbarvovacím roztoku a potom se ponoří do odbarvovacího roztoku do odstranění nadbytku barviva.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozdělení zón na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b) odpovídá pokynům výrobce. Na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a) je viditelná hlavní zóna s izoelektrickým bodem při asi 5 a kyselejší menší zóna při asi 4,8. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) žádná zóna, kromě hlavní zóny, nepřevyšuje svou intenzitou hlavní zónu na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (b) (5 %).

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li v miligramu nejvýše 5 m.j. endotoxinu.

Stanovení obsahu

Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušeného roztoku v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 1,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok. Obsah lahvičky *somatropinu CRL* se zředí *tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 7,0 (0,025 mol/l)* na koncentraci 1,0 mg/ml.

Roztok pro rozlišení. Lahvička *somatropinu CRL* se nechá v sušárně při 50 °C po dobu (obvykle 12 h až 24 h) dostačující k vytvoření 1 % až 5 % dimeru. Obsah lahvičky se zředí *tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 7,0 (0,025 mol/l)* na koncentraci 1,0 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* jakosti vhodné pro dělení globulárních bílkovin v rozmezí molekulové hmotnosti 5000 až 150 000,
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů *2-propanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,063 mol/l)* (3 + 97); průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení. Na získaném chromatogramu je retenční čas hlavního píku asi 12 min až 17 min a relativní retenční časy dimeru somatropinu a proteinů s vyšší molekulovou hmotností jsou 0,90 a 0,65, vztaženo k hlavnímu píku. Rozlišení dané poměrem výšky minima nad základní linií mezi píky monomeru a dimeru k výšce píku dimeru je nejvýše 0,4.

Nastříkuje se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku.

Obsah somatropinu se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a na chromatogramu porovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu látky $C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$ v *somatropinu CRL*.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, při teplotě -20 °C. Je třeba vyhnout se opakovanému zmrazení a rozmrazení roztoku. Je-li roztok sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

4652 † *Somatropinum*

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah somatropinu v miligramech v mililitru roztoku,
- název a množství jakýchkoliv pomocných látek,
- zda je roztok sterilní,
- zda je roztok prostý bakteriálních endotoxinů.

† Somatropinum

Somatropin



$C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$

M_r 22 124,88

CAS 12629-01-5

Je to bílkovina se strukturou (191 aminokyselinových zbytků) hlavní složky růstového hormonu produkovaného lidskou hypofýzou. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 91,0 % až 105,0 % somatropinu ($C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$). Vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

1 mg bezvodého somatropinu ($C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$) odpovídá 3,0 m.j. biologické účinnosti.

Výroba

Připravuje se metodou založenou na rekombinaci DNK (rDNK). Při vývoji přípravku se vhodnou validovanou metodou stanovení biologické účinnosti založenou na stimulaci růstu a schválenou oprávněnou autoritou prokáže, že výrobní postup dává látku, jejíž biologická účinnost je nejméně 2,5 m.j. v miligramu.

Zkoušená látka vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům.

Bílkoviny hostitelské buňky. Požadavek schválí oprávněná autorita.

DNK hostitelské buňky a vektoru. Požadavek schválí oprávněná autorita.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek.

Zkoušky totožnosti

- A.** Hodnotí se elektroforeogramy ze zkoušky Distribuce izoformem, viz Zkoušky na čistotu. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá hlavní zóna polohou hlavní zóně na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).
- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné bílkoviny, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Provede se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušené látky v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby obsahoval 2,0 mg somatropinu v mililitru. Asi 1,0 ml takto připraveného roztoku se přeneso do zkumavky z vhodného materiálu, např. polypropylenu. Připraví se čerstvý roztok trypsinu pro peptidové mapování R (1 mg/ml) v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) a 30 µl tohoto roztoku se přidá k roztoku zkoušené látky. Zkumavka se uzavře a vloží se na 4 h do vodní lázně 37 °C teplé. Potom se zkumavka vyjme z vodní lázně a ihned se probíhající reakce přeruší, např. zmrazením. Je-li okamžitě použit automatický dávkovač, udržuje se teplota na 2 °C až 8 °C.

Porovnávací roztok. Současně se za stejných podmínek připraví porovnávací roztok s tím rozdílem, že se zkoušená látka nahradí somatropinem CRL.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R (5 µm až 10 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - 1 ml kyseliny trifluoroctové R se zředí vodou R na 1000 ml,
 - mobilní fáze B - ke 100 ml vody R se přidá 1 ml kyseliny trifluoroctové R a zředí se acetonitrilem pro chromatografii R na 1000 ml,
- následujícího gradientu (je-li třeba, gradient nebo teplota kolony se nastaví tak, aby se dosáhlo požadovaného rozdělení produktů enzymatického štěpení):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 20	100 → 80	0 → 20
20 - 40	80 → 75	20 → 25
40 - 65	75 → 50	25 → 50
65 - 70	50 → 20	50 → 80
70 - 71	20 → 100	80 → 0
71 - 85	100	0

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Kolona se nejméně 15 min ustaluje mobilní fází A. Provede se slepá zkouška za použití výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogramy obou roztoků kvalitativně odpovídají referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného somatropinu. Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

- D.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

4654 † Somatropinum

Zkoušky na čistotu

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušené látky v *tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok *somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Roztok pro rozlišení (validační směs somatropinu a desamidomatropinu). Připraví se roztok *somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg. Zfiltruje se přes sterilní filtr nebo se přidá *azid sodný R* do koncentrace 0,1 mg v mililitru roztoku a nechá se 24 h stát při pokojové teplotě.

Roztoky se uchovávají při teplotě 2 °C až 8 °C a použijí se do 24 h. Pokud se používá automatický dávkovač, je nutno jej udržovat při 2 °C až 8 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem butylsilanizovaným pro chromatografii R* (velikost částic 5 µm a velikost pórů 30 nm), která se umístí mezi pumpu a nástřikový ventil,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *propanolu R* a *tlumivého roztoku trometamolového o pH 7,5 (0,05 mol/l)* (29 + 71); průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 45 °C.

Před použitím se kolona promývá 200 ml až 500 ml 0,1% (V/V) roztoku *kyseliny trifluorové R* v 50% (V/V) roztoku *acetonitrilu R*. Je-li třeba, promývání se opakuje do ustálení kolony.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku. Je-li třeba, upraví se koncentrace *propanolu R* v mobilní fázi tak, aby retenční čas hlavního píku byl asi 33 min.

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení. Na chromatogramu se objeví malý pík (desamidomatropin) s relativním retenčním časem k hlavnímu píku asi 0,85. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky somatropinu a desamidomatropinu je nejméně 1,0 a hodnota faktoru symetrie píku somatropinu je 0,9 až 1,8.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 6,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Dimer a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30), jak je popsána ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků s retenčním časem kratším, než je retenční čas hlavního píku, není větší než 4,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Distribuce izoform. Provede se izoelektrická fokusace.

Zkoušený roztok (a). Připraví se roztok zkoušené látky v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Zkoušený roztok (b). K 0,1 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,9 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,025 mol/l)*.

Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok *somatropinu CRL v tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok (b). Použije se roztok pro kalibraci izoelektrického bodu o rozmezí pH 2,5 až 6,5, připravený podle návodu výrobce.

Se zařízením se pracuje podle návodu výrobce. Izoelektrická fokusace se provádí na hotových deskách s vrstvou gelu o rozměrech 245 mm x 110 mm x 1 mm a pH v rozmezí 4,0 až 6,5. Na vrstvu gelu se nanese odděleně po 15 μ l každého roztoku. Jako anodický roztok se použije roztok *kyseliny glutamové R* (14,7 g/l) v roztoku *kyseliny fosforečné R* (50 g H₃PO₄/l) a jako katodický roztok se použije roztok *β -alaninu R* (89,1 g/l). Pracovní podmínky se nastaví na 2000 V a 25 mA. Fokusace se nechá probíhat 2,5 h při konstantním napětí a příkonu nepřevyšujícím 25 W. Potom se vrstva gelu ponoří na 30 min do roztoku obsahujícího *kyselinu trichloroctovou R* (115 g/l) a *kyselinu sulfosalicylovou R* (34,5 g/l) a pak na 5 min do směsi objemových dílů *kyseliny octové R*, *ethanolu R* a deionizované *vody R* (8 + 25 + 67) (odbarvovací roztok). Vrstva gelu se zbarví ponořením na 10 min do 60 °C teplého roztoku *modři kyselé 83 R* (1,15 g/l) v odbarvovacím roztoku a potom se ponoří do odbarvovacího roztoku do odstranění nadbytku barviva.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozdělení zón na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b) odpovídá pokynům výrobce. Na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a) je viditelná hlavní zóna s izoelektrickým bodem asi 5 a kyselejší menší zóna při asi 4,8. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) žádná zóna, kromě hlavní zóny, nepřevyšuje svou intenzitou hlavní zónu na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (b) (5 %).

Voda, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 10,0 %.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li v miligramu nejvýše 5 m.j. endotoxinu.

Stanovení obsahu

Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušené látky v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0* (0,025 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 1,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok. Obsah lahvičky *somatropinu CRL* se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0* (0,025 mol/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na koncentraci 1,0 mg/ml.

Roztok pro rozlišení. Lahvička *somatropinu CRL* se nechá v sušárně při 50 °C po dobu (obvykle 12 h až 24 h) dostačující k vytvoření 1 % až 5 % dimeru. Obsah lahvičky se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0* (0,025 mol/l) a zředí se stejným rozpouštědlem na koncentraci 1,0 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* jakosti vhodné pro dělení globulárních bílkovin v rozmezí molekulové hmotnosti 5000 až 150 000,
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů *2-propanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0* (0,063 mol/l) (3 + 97); průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20 μ l roztoku pro rozlišení. Na získaném chromatogramu je retenční čas hlavního píku asi 12 min až 17 min a relativní retenční časy dimeru somatropinu a proteinů s vyšší molekulovou hmotností jsou 0,90 a 0,65, vztaženo k hlavnímu píku. Rozlišení dané poměrem výšky minima nad základní linií mezi píky monomeru a dimeru k výšce píku dimeru je nejvýše 0,4.

4656 † *Stannosi chloridum dihydricum*

Nastříkuje se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku.

Obsah somatropinu se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a na chromatogramu porovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu látky $C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$ v somatropinu CRL.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

† Stannosi chloridum dihydricum

Dihydrát chloridu cínatého



1998

$SnCl_2 \cdot 2H_2O$

M_r 225,63

CAS 10025-69-1

Obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny $SnCl_2 \cdot 2H_2O$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly, zvětrávající na vzduchu. Je snadno rozpustný ve vodě (roztoky se stáním nebo ředěním kalí) a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěné kyselině chlorovodíkové.

Zkoušky totožnosti

- A.** K 1 ml roztoku S1, viz Zkoušky na čistotu, se přidá směs obsahující 5 ml vody R a 0,05 ml chloridu rtuťnatého RS; vznikne černošedá sraženina.
- B.** 1,0 g se rozpustí ve 3,0 ml vody R a k mírně zakalenému roztoku se přidá 0,5 ml hydroxidu sodného zředěného RS; vznikne nažloutlá vločkovitá sraženina. Přidá se 6,5 ml vody R. K 1,0 ml předem protřepané suspenze se přidá 1,0 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS; sraženina se rozpustí a vzniklý roztok je čirý a bezbarvý.
- C.** 10 mg se rozpustí ve 2 ml kyseliny dusičné zředěné RS. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S1. K 0,40 g se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 20 ml.

Roztok S2. 1,0 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS*, zředí se jí na 30 ml a zahřeje se k varu. Přidá se 30 ml *thioacetamidu RS* a 15 min se vaří (roztok A). 5 ml tohoto roztoku se zfiltruje a filtrát se zahřeje k varu. Přidá se 5 ml *thioacetamidu RS* a 15 min se vaří. Pokud se tvoří sraženina, přidá se ke směsi zbytek roztoku A (roztok A'). Přidá se 10 ml *thioacetamidu RS* a vaří se. Opakuje se série operací počínaje "5 ml tohoto roztoku...", dokud již delší dobu po přidání 5 ml *thioacetamidu RS* k filtrátu získanému z 5 ml roztoku A (resp. roztoku A', roztoku A"...) nevzniká sraženina. Jestliže sraženina nevznikla nebo již nevzniká, spojí se získaný roztok se zbytkem roztoku A (resp. roztoku A', roztoku A"...), zfiltruje se a sraženina se promyje 10 ml *vody R*. Filtrát se zahřívá tak dlouho, dokud unikající páry nepřestanou barvit navlhčený kousek *papíru s octanem olovnatým R* černošedě. Nechá se vychladnout a zředí se *vodou R* na 50 ml.

Vzhled roztoku. 10,0 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Látky nesrážející se thioacetamidem. 25 ml roztoku S2 se odpaří do sucha a vyžihá se při 600 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (0,2 %).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S1 vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 µg/g).

Těžké kovy. 1,0 g se rozpustí ve 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *kyseliny chlorovodíkové R* (1 + 3). Roztok se zahřívá na vodní lázni, dokud se nepřestanou vyvíjet páry oxidů dusíku. Zbytek se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidají 3 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a 2 ml *vody R*. Zahřívá se do získání čirého roztoku, ochladí se a přidá se 0,5 ml *zkoumadla thioacetamidového R*. Zbarvení roztoku není po 2 min intenzivnější než zbarvení směsi obsahující 1,0 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*, 6 ml *vody R*, 3 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a 0,5 ml *zkoumadla thioacetamidového R* (50 µg/g).

Železo (2.4.9). 5 ml roztoku S2 se zředí *vodou R* na 10 ml; roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (100 µg/g).

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zředí se *vodou R* na 50 ml. Přidá se 5 g *vinanu draselno-sodného R*, 10 g *hydrogenuhličitanu sodného R* a 1 ml *škrobu RS* a ihned se titruje *jodem 0,05 mol/l VS*. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 11,28 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

4658 *Stearinum*

Stearinum

N

Stearin

Synonymum. Acidum stearicum

CAS 57-11-4

Je to směs obsahující hlavně kyselinu stearovou ($C_{18}H_{36}O_2$, M_r 284,48) a palmitovou ($C_{16}H_{32}O_2$, M_r 256,43).

Výroba

Je-li stearin vyráběn z tkání savců nebo z jiných materiálů získaných z teplokrevných živočichů, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority na zdravá zvířata určená pro lidskou konzumaci. Kromě toho tkáň nemají obsahovat žádné riziko definované odpovídajícími mezinárodními předpisy, nebo kde je to vhodné, národními předpisy.

Vlastnosti

Bílé voskovité vločky, bílá tvrdá hmota, na omak masná, lomu zrnitě krystalického, nebo bílý nebo nažloutle bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a etheru petrolejovém (50 °C až 70 °C).

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: D.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Teplota tání (2.2.14). 53 °C až 62 °C.
- B. Číslo kyselosti (2.5.1). 198 až 210; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.
- C. Směs ze zkoušky Tuk a parafiny, viz Zkoušky na čistotu, po ochlazení ztuhne v bílou hmotu.
- D. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *chloroformu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok \check{Z}_5 (2.2.2, *Metoda II*).

Teplota tuhnutí (2.2.18). Nejméně 53 °C.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3.

Tuk a parafiny. K 1,0 g se přidá 30 ml roztoku obsahujícího 0,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a zahřeje se k varu. Ještě horká směs neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1). Tato směs se použije ke zkoušce totožnosti C.

Kyseliny rozpustné ve vodě. 0,5 g se 2 min třepe s 10 ml horké vody *prosté oxidu uhličitého R* a po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se po přidání 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a 0,05 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* zbarví červeně.

Podíl mastných kyselin. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. 0,100 g se zahřívá pod zpětným chladičem s 5,0 ml roztoku *fluoridu boritého R* (140 g/l) v *methanolu R* 15 min nebo do úplného rozpuštění. Po ochlazení se směs převede do dělicí nálevky pomocí 10 ml *hexanu R*. Roztok se protřepe s 10 ml *vody R* a 10 ml *chloridu sodného nasyceného RS*. Po oddělení fází se spodní fáze odstraní. Horní fáze se vysuší *síranem sodným bezvodým R* a zfiltruje se. Filtrát se použije jako zkoušený roztok.

Porovnávací roztok. 25,0 mg *methylpalmitatu R* a 25,0 mg *methylstearatu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *křemelinou pro plynovou chromatografii R* (např. Chromosorb® W, 80/100 mesh) impregnovanou 10 % vhodného dimethylsilikonu pro plynovou chromatografii (např. SE-30®),
- *dusíku pro chromatografii R* s průtokovou rychlostí 50 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 215 °C, teplota vstřikovacího prostoru a detektoru na 260 °C. Nastříkne se odděleně po 1 µl až 2 µl porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku se identifikují píky *methylpalmitatu* a *methylstearatu* pomocí chromatogramu porovnávacího roztoku (*methylstearat* má delší retenční čas než *methylpalmitat*).

Součet ploch všech píků, kromě píky rozpouštědla, na chromatogramu zkoušeného roztoku je 100 %. Podíl *methylstearatu* je nejméně 40,0 % a celkové množství *methylstearatu* a *methylpalmitatu* je nejméně 90,0 %.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,0 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřeném obalu.

Stearomacrogolum

Stearomakrogol

Synonymum. Macrogoli aetherum stearylicum



1999

CAS 9005-00-9

Je to směs etherů získaná ethoxylací oktadekanolu (*stearylalkoholu*). Může obsahovat nějaké volné makrogoly a různá množství volného *stearylalkoholu*. Množství ethylenoxidu zreagovaného se *stearylalkoholem* je dvě ku dvaceti jednotkám na molekulu (nominální hodnota).

4660 Stearomacrogolum**Výroba**

Je-li stearomakrogol získáván z tkání savců nebo jiných materiálů teplokrevných zvířat, musí tato zvířata splňovat požadavky oprávněné autority, které se kladou na zvířata určená pro humánní konzumaci. Navíc tyto tkáně nesmí obsahovat specifický rizikový materiál, který je definován odpovídajícími mezinárodními, nebo kde je to vhodné, národními požadavky.

Vlastnosti

Bílá až žlutobílá voskovitá mastná hmota, tablety, mikrokuličky nebo vločky.

Stearomakrogol se dvěma jednotkami ethylenoxidu na molekulu je prakticky nerozpustný ve vodě, rozpustný v lihu 96% po zahřátí a v dichlormethanu. Stearomakrogol s deseti jednotkami ethylenoxidu na molekulu je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%. Stearomakrogol s dvaceti jednotkami ethylenoxidu na molekulu je dobře rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu.

Po roztavení tuhne při asi 45 °C.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Číslo hydroxylové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Číslo jodové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu R*.

Zkoušený roztok. 10,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 75 ml. Přidá se 60 ml *heptanu R* a protřepává se 3 min. Tvorba pěny může být snížena přidáním několika kapek *lihu 96% R*. Horní vrstva se filtruje přes *síran sodný bezvodý R*, filtr se promyje třikrát 10 ml *heptanu R* a spojené filtráty se odpaří do sucha. 50 mg vysušených heptanových extraktů se rozpustí v 10 ml *methanolu R* (roztok může opalizovat).

Porovnávací roztok. 25 mg *stearylalkoholu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 20 µl obou roztoků a vyvíjí se *ethylacetatem R* po dráze 15 cm. Vrstva se usuší a postříká vanilinem v kyselině sírové (0,5 g *vanilinu R* se rozpustí v 50 ml *lihu 96% R* a zředí se *kyselinou sírovou R* na 100 ml). Vrstva se usuší na vzduchu, zahřívá se 15 min při asi 130 °C a ochladí se na vzduchu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je několik skvrn; jedna z nich odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

- E. 0,1 g se rozpustí nebo disperguje v 5 ml *lihu 96% R*, přidají se 2 ml *vody R*, 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, 10 ml *chloridu barnatého RS1* a 10 ml roztoku *kyseliny fosfomolybdenové R* (100 g/l); vzniká sraženina.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 5,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50 ml. Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₅ (2.2.2, *Metoda II*).

Zásaditě reagující látky. 2,0 g se rozpustí v horké směsi 10 ml *lihu 96% R* a 10 ml *vody R*. Přidá se 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru do žluta se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 1,0; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Hydroxylové číslo (2.5.3, Metoda A). Viz níže uvedená tabulka.

Ethylenoxidové jednotky na molekulu (nominální hodnota)	Číslo hydroxylové
2	150 až 180
10	75 až 90
20	40 až 60

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 2,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Nejvýše 3,0; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25). Nejvýše 1 µg/g zbytkového ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g zbytkového dioxanu. Při stanovení obsahu dioxanu se použije při výpočtu korekční faktor 1/5.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

Označování

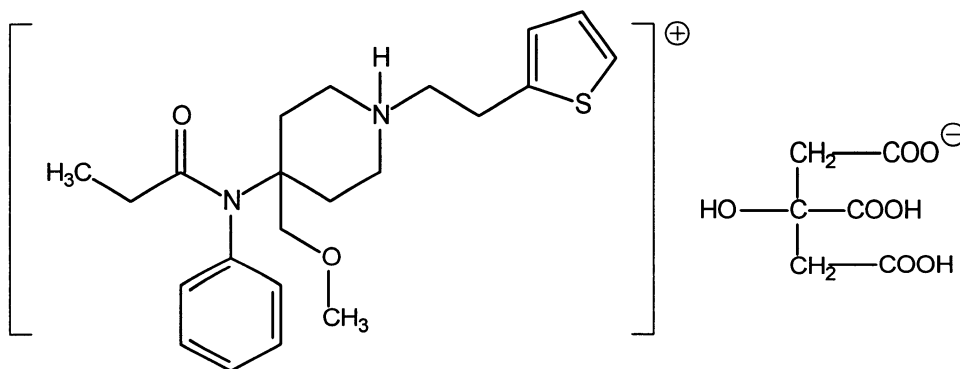
V označení na obalu se uvede počet ethylenoxidových jednotek zreagovaných se stearylalkoholem (nominální hodnota).

§§ Sufentanili dihydrogenocitras

Sufentaniliumdihydrogencitrat

Synonymum. Sufentanili citras

1999



$C_{28}H_{38}N_2O_9S$

M_r 578,68

CAS 60561-17-3

4662 §§ Sufentanili dihydrogenocitras

Je to 4-[(N-fenyl)propanamido]-4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidinium-dihydrogencitrat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{28}H_{38}N_2O_9S$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, snadno rozpustný v methanolu.

Taje při asi 140 °C, za rozkladu.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. sufentaniliumdihydrogencitratu.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,2 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Pro přípravu *in situ* degradační sloučeniny (sufentanil nečistota E) se rozpustí 10 mg v 10,0 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 4 h se zahřívá na vodní lázni pod zpětným chladičem. Pak se zneutralizuje 10,0 ml hydroxidu sodného zředěného RS a odpaří se do sucha na vodní lázni. Po ochlazení se zbytek rozpustí v 10 ml methanolu R a zfiltruje se.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí methanolem R na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok uhličitanu amonného R (5 g/l) ve směsi objemových dílů tetrahydrofuranu R a vody R (10 + 90),
 - mobilní fáze B - acetonitril R,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	90 → 40	10 → 60	lineární gradient izokraticky
15 - 20	40	60	
20 - 25	90	10	
25 = 0	90	10	zачátek nového gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrilem R* a pak nejméně 5 min mobilní fází o počátečním složení. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 μ l byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: sufentanilu nečistoty E asi 12 min a sufentanilu asi 13 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky sufentanilu a sufentanilu nečistoty E je nejméně 4,0. Pokud je to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 μ l *methanolu R* jako slepá zkouška, 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému ve slepé zkoušce, k žádnému píku, jehož relativní retenční čas vztažený k hlavnímu píku je 0,05 nebo méně, a k žádnému píku s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuové sušárně při 60 °C.

Stanovení obsahu

0,400 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanolu R* (1 + 7). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

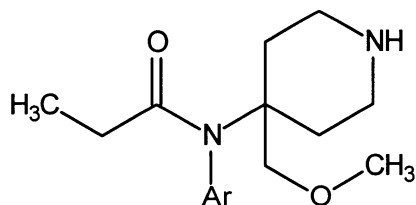
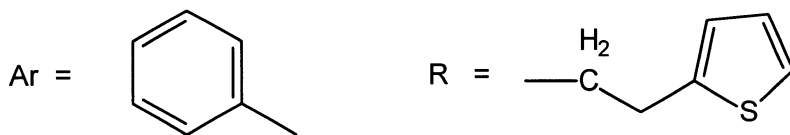
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 57,87 mg $C_{28}H_{38}N_2O_9S$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

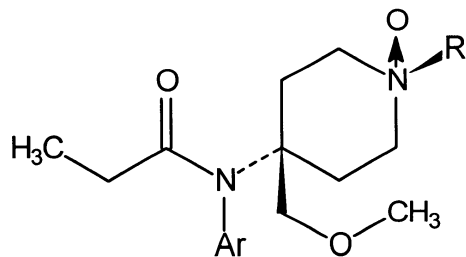
Omamná látka.

Nečistoty

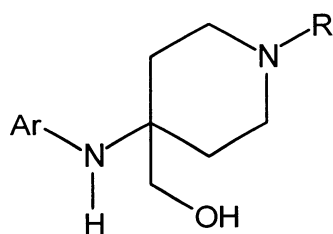


A. N-fenyl-N-(4-methoxymethyl-4-piperidyl)propanamid,

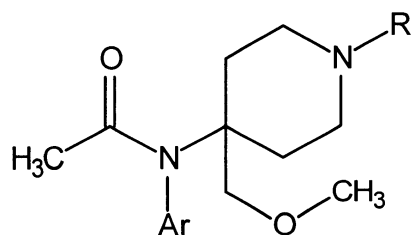
4664 §§ Sufentanili dihydrogenocitras



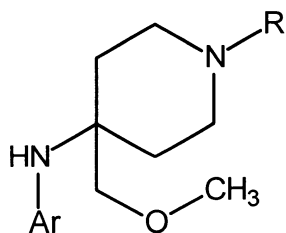
B. *cis*-4-[(N-fenyl)propionylamino]-4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid,



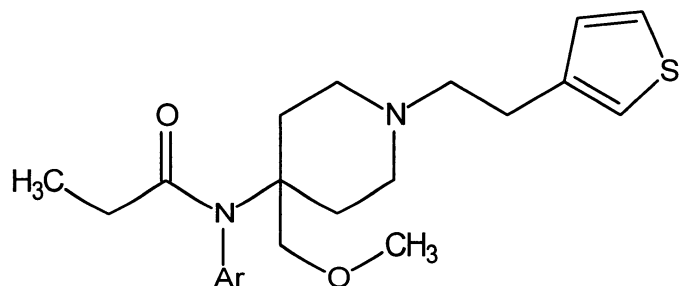
C. {4-fenylamino-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidyl} methanol,



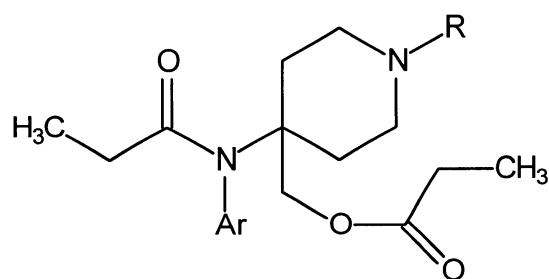
D. N-fenyl-N-{4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidyl} acetamid,



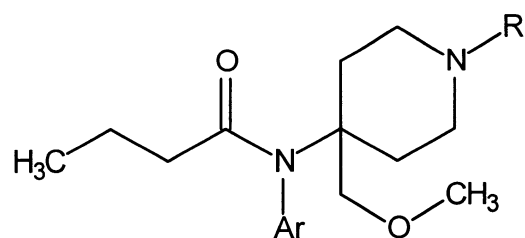
E. N-fenyl-{4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidyl} amin,



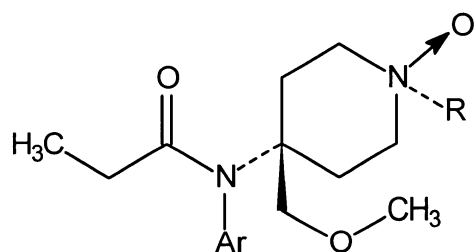
F. N-fenyl-N-{4-methoxymethyl-1-[2-(3-thienyl)ethyl]-4-piperidyl}propionamid,



G. 4-{[(N-fenyl)propionylamino]-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidyl}methylpropionat,



H. N-fenyl-N-{4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]-4-piperidyl}butyramid,

I. *trans*-4-[(N-fenyl)propylamino]-4-methoxymethyl-1-[2-(2-thienyl)ethyl]piperidin-1-oxid.

4666 *Talcum*

Talcum

Mastek



1999

 $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ M_r 379,27

CAS 14807-96-6

Je to práškový vybraný přírodní hydratovaný křemičitan hořečnatý. Může obsahovat proměnlivá množství doprovodných minerálů, mezi kterými převažují chlority (hydratované křemičitany hlinito-hořečnaté), magnezit (uhličitan hořečnatý), kalcit (uhličitan vápenatý) a dolomit (uhličitan vápenato-hořečnatý).

Výroba

Mastek získaný z ložisek známých obsahem azbestu není vhodný pro farmaceutické použití. Proveďte se zkouška na amfiboly a na serpentiny; výrobce je zodpovědný za prohlášení, že výrobek neobsahuje azbest. Přítomnost amfibolů a serpentinů se určí rentgenovou difrakcí nebo infračervenou spektrofotometrií (viz A a B). Pokud jsou tyto látky detegovány, sledují se specifická morfologická kritéria azbestu vhodnou metodou optické mikroskopie, aby se zjistilo, zda se jedná o tremolitový azbest nebo chryzolit, jak je níže popsáno.

A. Proveďte se absorpční spektrofotometrie v infračervené oblasti (2.2.24) v rozmezí 740 cm^{-1} až 760 cm^{-1} za použití rozšířené stupnice; absorpční pás při $(758 \pm 1)\text{ cm}^{-1}$ může ukazovat přítomnost tremolitu nebo chloritu. Pokud se absorpční pás objeví i po vyžhání při $850\text{ }^\circ\text{C}$ (nejméně 30 min), je přítomen tremolit. V rozmezí 600 cm^{-1} až 650 cm^{-1} za použití rozšířené stupnice může absorpční pás nebo prodleva ukazovat přítomnost serpentinů. Měří se tablety zkoušené látky připravené za použití *bromidu draselného R*.

B. Proveďte se rentgenová difrakce za následujících podmínek:

- Cu K α monochromatické 40 kV záření, 24 mA až 30 mA,
- vstupní štěrbina 1° ,
- výstupní štěrbina $0,2^\circ$,
- rychlost goniometru: $1/10^\circ$ $2\theta/\text{min}$,
- snímací rozmezí: 10° až 13° 2θ a 24° až 26° 2θ ,
- vzorek není orientován.

Vzorek se umístí do držáku; přikryje se vyleštěným mikroskopickým sklíčkem a zaznamenají se difraktogramy.

Přítomnost amfibolů je dokázána difrakčním píkem při $(10,5 \pm 0,1)^\circ$ 2θ a přítomnost serpentinů je dokázána difrakčními píky při $(24,3 \pm 0,1)^\circ$ 2θ až $(12,1 \pm 0,1)^\circ$ 2θ .

Pokud byla jednou z těchto metod prokázána přítomnost amfibolů a/nebo serpentinů, zkouší se dále vhodnou metodou optické mikroskopie charakter azbestu.

Přítomnost azbestu se prokáže za použití optické mikroskopie, pokud jsou splněna následující kritéria:

- poměr délky a šířky se pohybuje v rozmezí 20 : 1 až 100 : 1 nebo je vyšší u vláken delších než $5\text{ }\mu\text{m}$,
- schopnost štěpení do velmi tenkých vláken, a pokud jsou splněna dvě nebo více z následujících čtyř kritérií:
- rovnoběžná vlákna se vyskytují ve svazcích,

- svazky vláken mají roztřepené konce,
- vlákna jsou ve formě tenkých jehliček,
- propletená jednotlivá vlákna a/nebo vlákna vykazují zakřivení.

Vlastnosti

Lehký homogenní bílý nebo téměř bílý prášek, mastný na dotek (neabrazivní). Je prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a ve zředěných roztocích kyselin a alkalických hydroxidů.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky vykazují absorpční pásy při $(3677 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$, při $(1018 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$ a při $(669 \pm 2) \text{ cm}^{-1}$. Tablety se připraví za použití *bromidu draselného R*.

B. Směs obsahující 0,2 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a 2,0 g *uhličitanu draselného R* se taví v platinovém kelímku. K roztavené hmotě se přidá 0,1 g zkoušené látky a zahřívá se do úplného roztavení směsi. Po ochlazení se roztavená hmota přenese s 50 ml horké *vody R* do odpařovací misky a přidává se *kyselina chlorovodíková R*, dokud směs nepřestane šumět. Pak se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a odpaří se do sucha na vodní lázni. Po ochlazení se přidá 20 ml *vody R*, zahřeje se k varu a zfiltruje se (zbytek se použije ve zkoušce totožnosti C). K 5 ml filtrátu se přidá 1 ml *amoniaku 17,5% RS* a 1 ml *chloridu amonného RS* a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 1 ml *hydrogenfosforečnanu sodného RS*; vznikne bílá krystalická sraženina.

C. Zbytek získaný ve zkoušce totožnosti B vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S1. 10,0 g se naváží do kuželové baňky opatřené zpětným chladičem, postupně se přidává 50 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS* za stálého míchání a zahřívání na vodní lázni po dobu 30 min. Po ochlazení se směs přenese do kádinky a nerozpuštěná látka se nechá sedimentovat. Supernatantní tekutina se zfiltruje přes středně rychlý filtrační papír do 100ml odměrné baňky tak, aby co nejvíce nerozpuštěné látky zůstalo v kádince. Zbytek a kádinka se třikrát promyjí 10 ml horké *vody R*, pak se promyje filtr 15 ml horké *vody R*, filtrát se ochladí a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

Roztok S2. 0,5 g se naváží do 100ml polytetrafluorethylenové misky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, 5 ml *kyseliny dusičné prosté olova R*, 5 ml *kyseliny chloristé R*, opatrně se zamíchá, pak se přidá 35 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a pomalu se odpařuje do sucha na horké desce. Ke zbytku se přidá 5 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, přikryje se hodinovým sklíčkem, zahřeje se k varu a nechá se ochladit. Hodinové sklíčko i miska se vypláchnou *vodou R* do odměrné baňky obsahující 5 ml roztoku *chloridu cesného R* (25,34 g/l), miska se znovu vypláchnou *vodou R* a obsah baňky se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Hodnota pH (2.2.3). 7,0 až 9,0; měří se filtrát získaný ve zkoušce Látky rozpustné ve vodě. Hodnota se odečte 1 min po vložení elektrody.

4668 *Talcum*

Látky rozpustné ve vodě. K 10,0 g se přidá 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, zahřeje se k varu a 30 min se vaří pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje přes středně rychlý filtrační papír a zředí se *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 50,0 ml. 25,0 ml tohoto filtrátu se odpaří do sucha a 1 h se zahřívá při 105 °C. Zbytek váží nejvýše 10 mg (0,2 %).

Hliník. Nejvýše 2,0 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. K 5,0 ml roztoku S2 se přidá 10 ml roztoku *chloridu cesného R* (25,34 g/l), 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Do čtyř stejných odměrných baněk obsahujících po 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a po 10 ml roztoku *chloridu cesného R* (25,34 g/l), se převede 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml a 20,0 ml základního roztoku *hliníku* (100 µg Al/ml) a všechny roztoky se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Změří se absorbance při 309,3 nm za použití hliníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene oxid dusný-acetylen.

Vápník. Nejvýše 0,9 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. K 5,0 ml roztoku S2 se přidá 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, 10 ml *chloridu lanthanitého RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Do čtyř stejných odměrných baněk obsahujících po 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a po 10 ml *chloridu lanthanitého RS* se převede 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml a 4,0 ml základního roztoku *vápníku* (100 µg Ca/ml)(1) a všechny roztoky se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Změří se absorbance při 422,7 nm za použití vápníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene oxid dusný-acetylen.

Železo. Nejvýše 0,25 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. K 2,5 ml roztoku S1 se přidá 50,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Do čtyř stejných odměrných baněk obsahujících po 50,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS* se převedou 2,0 ml, 2,5 ml, 3,0 ml a 4,0 ml základního roztoku *železa* (250 µg Fe/ml) a všechny roztoky se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Změří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Provede se korekce za použití deuteriové lampy.

Hořčík. 17,0 % až 19,5 %; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 0,5 ml roztoku S2 se zředí *vodou R* na 100,0 ml. K 4,0 ml tohoto roztoku se přidá 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, 10 ml *chloridu lanthanitého RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztoky. Do čtyř stejných odměrných baněk obsahujících po 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a po 10 ml *chloridu lanthanitého RS* se převedou 2,5 ml, 3,0 ml, 4,0 ml a 5,0 ml základního roztoku *hořčíku* (10 µg Mg/ml)(1) a všechny roztoky se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Změří se absorbance při 285,2 nm za použití hořčíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Olovo. Nejvýše 10 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. Roztok S1.

† Terbutalini sulfas 4669

Porovnávací roztoky. Do čtyř stejných odměrných baněk obsahujících po 50,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS se převede 5,0 ml, 7,5 ml, 10,0 ml a 12,5 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml)(1) a všechny roztoky se zředí vodou R na 100,0 ml.

Změří se absorbance při 217,0 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Ztráta žháním. Nejvýše 7,0 %; 1,000 g se žihá při 1050 °C až 1100 °C do konstantní hmotnosti.

Mikrobiální znečištění. Pokud je látka určena pro lokální podání, celkový počet živých mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10² aerobních bakterií a hub v gramu.

Pokud je látka určena pro perorální podání, celkový počet živých mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10³ aerobních bakterií v gramu a nejvýše 10² hub v gramu.

Označování

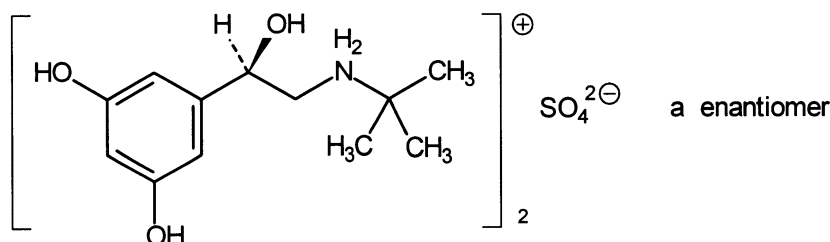
V označení na obalu se uvede, zda je látka vhodná pro lokální nebo perorální podání.

† Terbutalini sulfas

Terbutaliniumsulfat



1999

C₂₄H₄₀N₂O₁₀SM_r 548,65

CAS 23031-32-5

Je to bis {N-terc.butyl-[(2RS)-2-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-hydroxyethyl]amonium} sulfat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny C₂₄H₄₀N₂O₁₀S.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem terbutaliniumsulfatu CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně

4670 † *Terbutalini sulfas*

zkoušená látka i referenční látka v *methanolu prostém aldehydů R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1). Absorbance roztoku S (2.2.25) měřená při 400 nm v 2cm kyvetě je nejvýše 0,11.

Kysele reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*. Ke změně indikátoru na žluté zbarvení se spotřebuje nejvýše 1,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$. Měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 75,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 7,5 mg *terbutalinu nečistoty C CRL* a 22,5 mg *terbutaliniumsulfatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem *oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μ m),
- mobilní fáze, kterou je roztok 4,23 g *hexansulfonanu sodného R* v 770 ml roztoku *mravenčanu amonného R* (0,050 mol/l), který se připraví následovně: 3,15 g *mravenčanu amonného R* se rozpustí v 980 ml *vody R*, pH se upraví přidáním asi 8 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* na hodnotu 3,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml; potom se přidá 230 ml *methanolu R*; průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 276 nm.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *terbutaliniumsulfatu nečistoty C* asi 9 min a *terbutaliniumsulfatu* asi 11 min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem *terbutalinu nečistoty C* a píkem *terbutaliniumsulfatu* je nejméně 2,0. Je-li třeba, upraví se složení mobilní fáze. Zvýšením koncentrace *methanolu* se zvýší retenční čas.

Nastříkne se odděleně 20 μ l zkoušeného roztoku, 20 μ l porovnávacího roztoku (a) a 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času *terbutaliniumsulfatu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, odpovídajícího píku *terbutalinu nečistoty C*, větší než dvojnásobek plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %); plocha žádného jiného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího *terbutalinu nečistoty C*, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku

(b) (0,4 %). Nepřihlíží se k píkům mobilní fáze a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

0,400 g se zahřátím rozpustí v 70 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou* 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

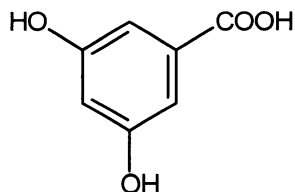
1 ml *kyseliny chloristé* 0,1 mol/l VS odpovídá 54,87 mg $C_{24}H_{40}N_2O_{10}S$.

Uchovávání

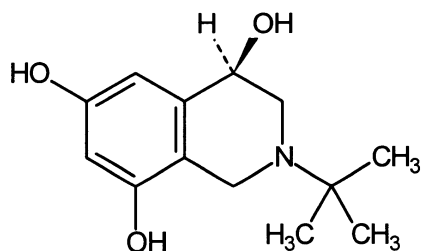
V dobře uzavřených obalech.

Separandum.

Nečistoty

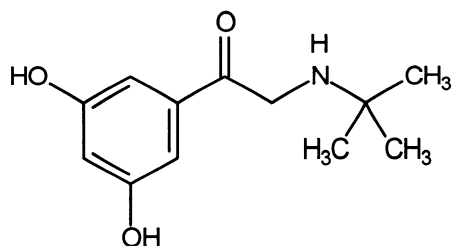


A. kyselina 3,5-dihydroxybenzoová (kyselina α -resorcylová),



a enantiomer

B. (4*RS*)-2-terc.butyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-4,6,8-triol,



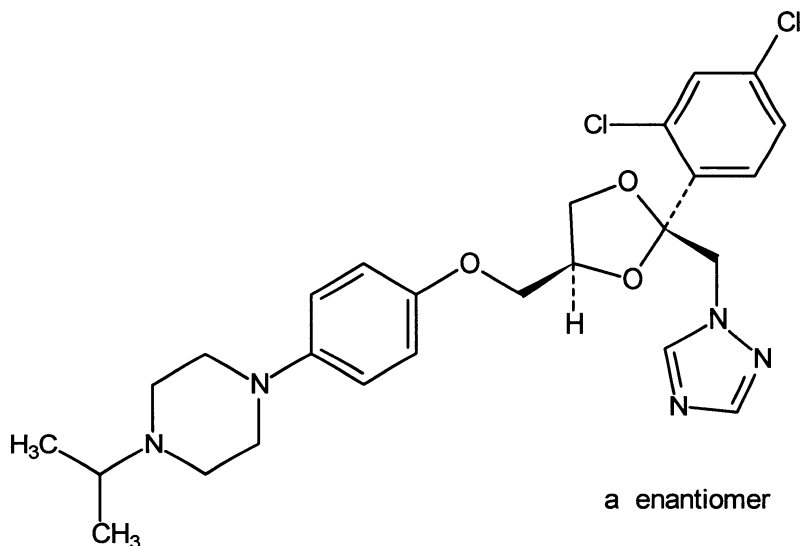
C. (3,5-dihydroxyfenyl)-terc.butylaminomethylketon.

4672 † *Terconazolom*† **Terconazolom**

Terkonazol



1998

 $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$ M_r 532,47

CAS 67915-31-5

Je to 1-{4-{[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl]-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}fenyl}-4-isopropylpiperazin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v acetonu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *terkonazolu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka i referenční látka v minimálním množství *acetonu R*, odpaří se do sucha v proudu vzduchu a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanovaného silikagelu.

Zkoušený roztok. 30 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 30 mg *terkonazolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (b). 30 mg *terkonazolu CRL* a 30 mg *ketokonazolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku. Vytvoří se v nenasyčené komoře mobilní fázi, která je směsí objemových dílů *octanu amonného RS*, *dioxanu R* a *methanolu R* (20 + 40 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min v proudu horkého vzduchu a pak se vystaví působení jodových par do objevení skvrn. Pozoruje se v denním světle; hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se shoduje polohou, barvou a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. K 30,0 mg v porcelánovém kelímku se přidá 0,3 g *uhlíčitanu sodného bezvodého R*, 10 min se zahřívá nad otevřeným plamenem a nechá se zchladnout. Zbytek se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*; roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost. $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,0 g v *dichlor-methanu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Přibuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 2,5 mg *terkonazolu CRL* a 2,0 mg *ketokonazolu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,1 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (3 μ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2,0 ml/min:
 - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (3,4 g/l),
 - mobilní fáze B - *acetonitril R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 10	95 → 50	5 → 50	lineární gradient izokraticky přepnutí na původní podmínky začátek dalšího gradientu
10 - 15	50	50	
15 - 20	95	5	
20 = 0	95	5	

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy nejméně 30 min *acetonitrilem R* při průtokové rychlosti 2 ml/min a pak nejméně 5 min mobilní fázi o počátečním složení.

Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 10 μ l byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

4674 † Terconazolom

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: ketokonazolu asi 6 min a terkonazolu asi 7,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky ketokonazolu a terkonazolu je nejméně 13,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.

Nastříkne se odděleně 10 μ l *methanolu R* jako slepá zkouška, 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k žádnému píku získanému ve slepé zkoušce a k žádnému píku s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %, 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

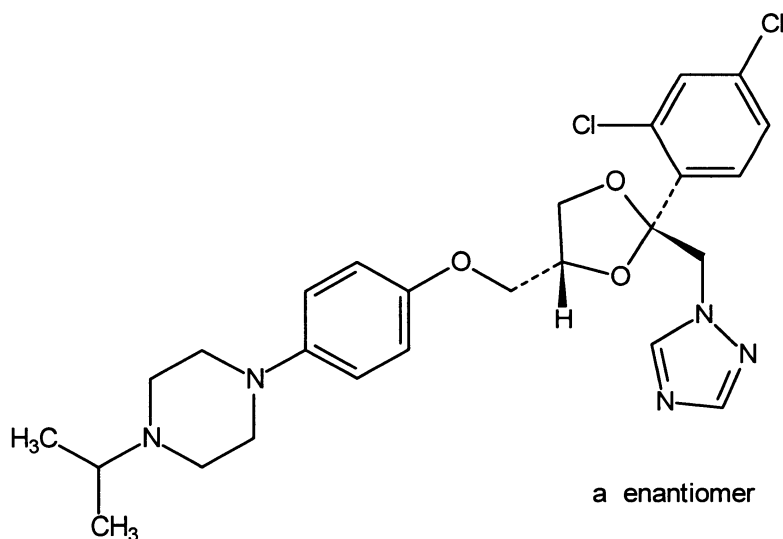
0,150 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7). Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence do druhého inflexního bodu (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 17,75 mg $C_{26}H_{31}Cl_2N_5O_3$.

Uchovávání

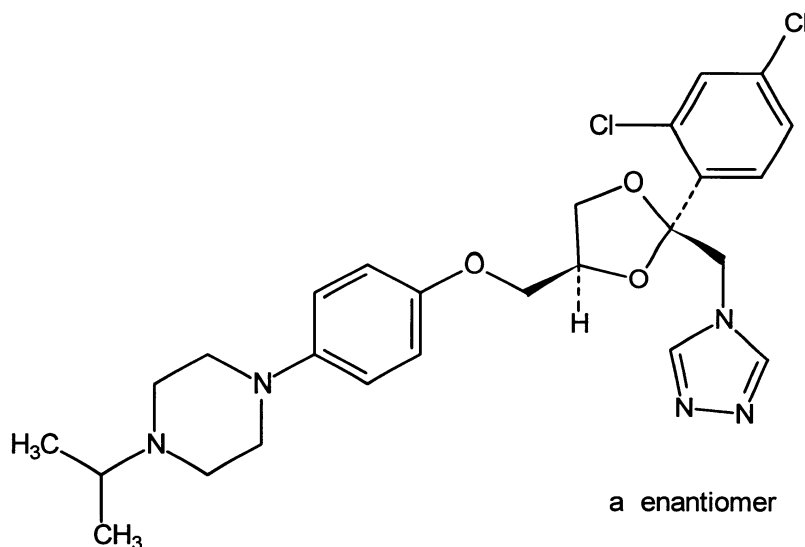
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. 1-{4-[[[(2*RS*,4*RS*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-[(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)methyl]-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]-4-isopropylpiperazin,

† Testosteronum 4675



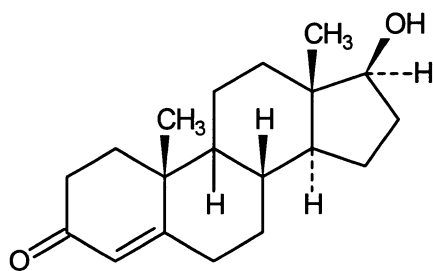
B. 1-{4-[[*(2RS,4SR)*-2-(2,4-dichlorfenyl)-2-[(*4H*-1,2,4-triazol-4-yl)methyl]-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy}fenyl}-4-isopropylpiperazin.

† Testosteronum

Testosteron



1999



$C_{19}H_{28}O_2$

M_r 288,41

CAS 58-22-0

Je to 17β-hydroxy-4-androsten-3-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{19}H_{28}O_2$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé nebo nažloutle bílé krystaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v mastných olejích.

Taje při asi 155 °C.

4676 † *Testosteronum***Zkoušky totožnosti**

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *testosteronu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+106^{\circ}$ až $+114^{\circ}$, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,25 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dichlormethanem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *dichlormethanem R* na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 12,5 mg testosteronu CRL se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *testosteronu nečistoty A CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem (a) na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí stejných objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

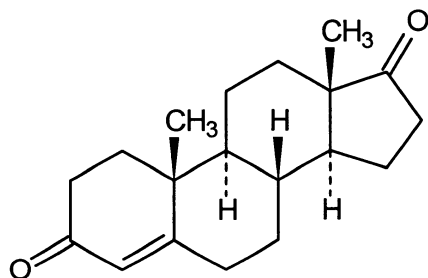
50,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 241 nm.

Vypočítá se obsah $C_{19}H_{28}O_2$ za použití specifické absorbance, která má hodnotu 569.

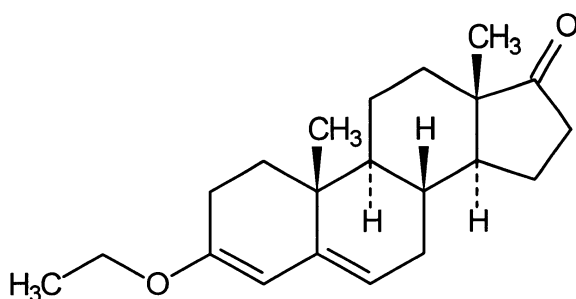
Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

†† *Thiomersalum* 4677**Nečistoty**

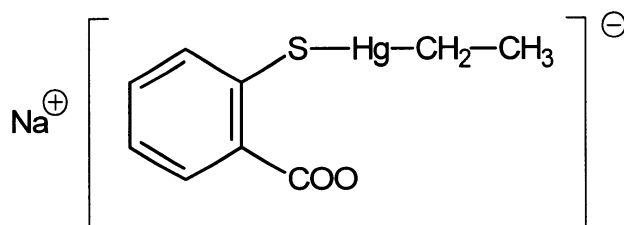
A. 4-androsten-3,17-dion (androstendion),



B. 3-ethoxy-3,5-androstadien-17-on (enoether androstendionu).

†† Thiomersalum**N**

Thiomersal

 $C_9H_9HgNaO_2S$ M_r 404,81

CAS 54-64-8

Je to natrium-2-(ethylhydrargyriothio)benzoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_9H_9HgNaO_2S$.

4678 †† *Thiomersalum*

Vlastnosti

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

- A. 0,5 g se rozpustí v 10 ml vody a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Vyloučená bílá sraženina se odfiltruje, promyje se malým množstvím *vody R* a překrystalizuje se z *lihu 96% R*. Vzniklé krystaly se odfiltrují a usuší se nad *oxidem fosforečným R* za sníženého tlaku nepřevyšujícího 2,7 kPa; taje (2.2.14) při 107 °C až 115 °C (za rozkladu).
- B. Asi 0,1 g se rozpustí v 10 ml *vody R* a přidají se 2 ml *dusičnanu stříbrného RS₂*; vzniká nažloutlá sraženina.
- C. 50 mg se rozpustí v 5 ml *kyseliny sírové R*. Zelenožlutý roztok se zahřeje na vodní lázni; do 2 min vznikne sytě červené zbarvení.
- D. 50 mg se spálí v kyslíku (2.5.10), při tom se plyny absorbují do směsi 50 ml *vody R* a 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. K získanému roztoku se přidá 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*. 0,1 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce (a) na rtuť (2.3.1). Ke zbytku roztoku se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vzniklá sraženina se zfiltruje. 5 ml filtrátu vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1) (bez přidání *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*).
- E. 20 mg se rozpustí v 0,5 ml *vody R*. Roztok vyhovuje zkoušce (b) na sodík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,0 až 7,4. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Cizí snadno zuhelnitelné organické látky. 20 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové R*. Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ₁ (2.2.2, *Metoda I*).

Anorganické sloučeniny rtuti. Nejvýše 0,70 %.

Jodidové zkoumadlo. 33,2 g *jodidu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. Roztok se uchovává nejvýše 1 den dobře uzavřen a chráněn před světlem.

Zkoušený roztok (a). 0,500 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50,0 ml.

Zkoušený roztok (c). K 10,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 5 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,1900 g *chloridu rtuťnatého R* se zředí *vodou R* na 200,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 50,0 ml (asi 95 µg chloridu rtuťnatého v mililitru).

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 5 ml jodidového zkoumadla a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Během stanovení absorpance musí být všechny roztoky chráněny před světlem.

Pět odměrných baněk o objemu 10 ml se označí A, B, C, D a E. Do baněk A a B se převede po 5,0 ml zkoušeného roztoku (b), do baněk C a D se převede po 5,0 ml zkoušeného roztoku (c) a do baňky E se převede 5,0 ml *vody R*. Baňky A a C se doplní *vodou R* a baňky B, D a E *jodidovým zkoumadlem* po značku.

Měří se absorpční maximum porovnávacího roztoku (b) (2.2.25) při vlnové délce asi 323 nm proti *vodě R*. Nakonec se změří absorbance roztoků ve zkumavkách A, B, C, D a E proti *vodě R* při stejné vlnové délce (A_A , A_B , A_C , A_D a A_E).

Obsah anorganických sloučenin rtuti v procentech se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{0,739 \cdot 5c \cdot A_U}{m \cdot A_S},$$

v němž značí:

0,739 - přepočítávací faktor získaný z relativní atomové hmotnosti rtuti a relativní molekulové hmotnosti chloridu rtuťnatého,

A_U - $A_B - A_E - A_A$,

A_S - $A_D - A_E - A_C - A_U$,

c - koncentraci chloridu rtuťnatého v mikrogramech na mililitr porovnávacího roztoku (a),

m - navážku zkoušené látky v miligramech.

Látky rozpustné v etheru. 0,5 g se protřepává 10 min s 20 ml *etheru R*. Směs se zfiltruje a filtr s nerozpuštěnou látkou se promyje 5 ml *etheru R* a spojené filtráty se odpaří v předem vysušené a zvážené odpařovací misce do sucha. Zbytek se usuší nad *oxidem fosforečným R* za sníženého tlaku nepřevyšujícího 2,7 kPa; váží nejvýše 3 mg.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně 2 h při 105 °C.

Stanovení obsahu

Asi 0,500 g se ve spalovací Kjeldahlově baňce s vloženou nálevkou zahřívá s 5 ml *kyseliny sírové R* až do počínajícího uhelnatění. Pak se v zahřívání pokračuje a zároveň se opatrně přidává po kapkách *peroxid vodíku koncentrovaný R* do vzniku čirého roztoku. Po přidání 10 ml *vody R* se roztok zahřívá do vzniku bílého dýmu. Potom se přidá 10 ml *vody R*, nechá se ochladit a po přidání 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* se titruje *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* do červenohnědého zbarvení.

1 ml *thiokyanatanu amonného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,24 mg $C_9H_9HgNaO_2S$.

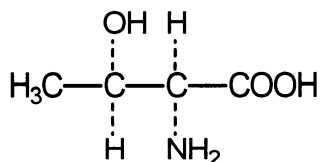
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Venenum.

4680 *Threoninum***Threoninum**¹⁾

Threonin

 $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_3$ M_r 119,12

CAS 72-19-5

Je to kyselina (2*S*,3*R*)-2-amino-3-hydroxybutanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_3$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v líhu 96% a v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *threoninu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. 1 ml roztoku zkoušené látky (2 g/l) se smíchá s 1 ml roztoku *jodistanu sodného R* (20 g/l). Přidá se 0,2 ml *piperidinu R* a 0,1 ml roztoku *nitroprussidu sodného R* (25 g/l); vznikne modré zbarvení, které se po několika minutách mění na žluté.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve vodě *prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 557 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 6,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-27,6^\circ$ až $-29,0^\circ$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,50 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové zředěné RS a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg threoninu CRL se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V) a zředí se jím na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg threoninu CRL a 10 mg prolinu CRL se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V) a zředí se jím na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku, usuší se na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 μ g/g).

Amonium (2.4.1). 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,2 ml základního roztoku amonia (100 μ g NH₄/ml).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát po 3 min vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μ g/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 1,000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí v 5 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 30 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 11,91 mg C₄H₉NO₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

4682 *Thymi etheroleum*

Thymi etheroleum

Tymiánová silice

Synonyma. Oleum thymi, Thymi aetheroleum

1999

CAS 8007-46-3

Je to silice získaná z čerstvé kvetoucí natě druhu *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* LOEFL. ex L. nebo směsi obou druhů destilací s vodní párou.

Vlastnosti

Čirá žlutá nebo velmi tmavá červenohnědá těkavá kapalina, charakteristického aromatického kořeného pachu, připomínajícího thymol, mísitelná s ethanolem, etherem a etherem petrolejovým.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodné vrstvy silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,2 g zkoušené látky se rozpustí v *pentanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 0,15 g *thymolu R*, 25 μ l *terpinen-4-olu R* a 40 μ l *linalolu R* se rozpustí v *pentanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *toluenu R* (5 + 95) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a suší se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Tři skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku: fialová skvrna odpovídá *terpinen-4-olu*, další fialová skvrna odpovídá *linalolu* a hnědorůžová skvrna odpovídá *thymolu*. Bezprostředně pod těmito skvrnami je bleděfialová skvrna odpovídající *karvacrolu*. Velká fialová skvrna v čele chromatogramu odpovídá uhlovodíkům.

B. Hodnotí se chromatogramy ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Relativní hustota (2.2.5). 0,915 až 0,935.

Index lomu (2.2.6). 1,490 až 1,505.

Chromatografický profil. Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. Zkoušená látka.

Porovnávací roztok. 0,15 g β -*myrcenu R*, 0,1 g γ -*terpinenu R*, 0,1 g *p-cymenu R*, 0,1 g *linalolu R*, 0,2 g *terpinen-4-olu R*, 0,2 g *thymolu R* a 0,05 g *karvacrolu R* se rozpustí v 5 ml *hexanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 25 m až 60 m a vnitřního průměru asi 0,3 mm s vnitřní stěnou pokrytou *makrogolem 20 000 R*,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru,
- dělicího poměru 1/100.

Teplota kolony se udržuje 15 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 3 °C za min až na 180 °C, při níž se udržuje; teplota nástřikového prostoru je 200 °C a detektoru 220 °C.

Nastříkne se 0,2 µl porovnávacího roztoku. Při dodržení předepsaných podmínek eluují jednotlivé látky v pořadí uvedeném ve složení porovnávacího roztoku. Zaznamenají se retenční časy těchto látek.

Zkoušku lze hodnotit pouze v případě, že počet teoretických pater je nejméně 30 000, počítáno pro pík *p*-cymenu při 80 °C, a je-li rozlišení píků thymolu a karvakrolu nejméně 1,5. Nastříkne se 0,2 µl zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikují látky, které jsou přítomny ve zkoušeném roztoku (nepřihlíží se k píku odpovídajícímu hexanu). Obsah jednotlivých látek v procentech se stanoví obvyklým postupem (metoda normalizace). Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezí:

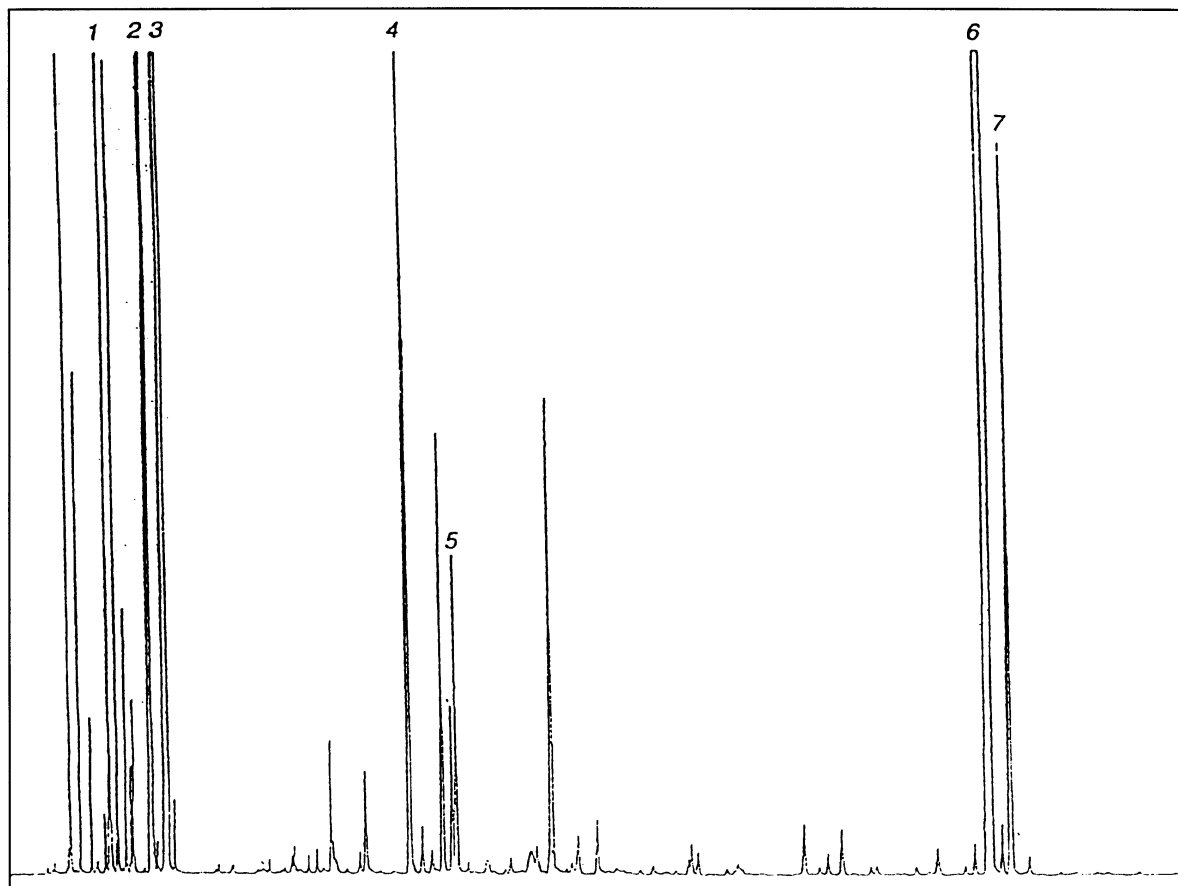
β-myrcen	1,0 % až 3,0 %
γ-terpinen	5,0 % až 10,0 %
<i>p</i> -cymen	15,0 % až 28,0 %
linalol	4,0 % až 6,5 %
terpinen-4-ol	0,2 % až 2,5 %
thymol	36,0 % až 55,0 %
karvakrol	1,0 % až 4,0 %

Uchovávání

Ve zcela naplněných, vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.

4684 *Thymi etheroleum*

Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.



Obr. 1. Vzorový chromatogram tymiánové silice pro zkoušku Chromatografický profil

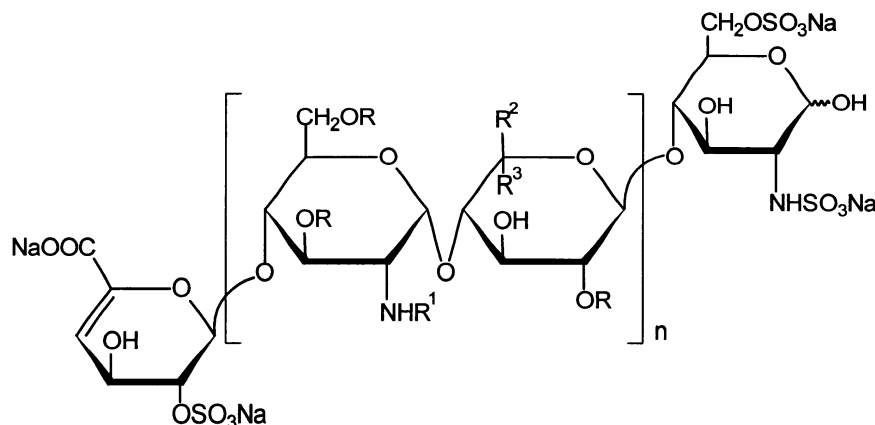
1. β -myrcen
2. γ -terpinen
3. *p*-cymen
4. linalol

5. terpinen-4-ol
6. thymol
7. karvakrol

† *Tinzaparinum natricum* 4685† **Tinzaparinum natricum**

Sodná sůl tinzaparinu

1998



$n = 1$ až 25 , $R = H$ nebo SO_3Na , $R^1 = H$ nebo SO_3Na nebo $COCH_3$,
 $R^2 = H$ a $R^3 = COONa$ nebo $R^2 = COONa$ a $R^3 = H$

Je to sodná sůl nízkomolekulárního heparinu, která se získává enzymatickou depolymerizací heparinu z prasečí střevní sliznice heparinasou z *Flavobacterium heparinum*. Většina složek má na neredukujícím konci řetězce strukturu kyseliny 2-O-sulfo-4-enpyranosuronové a na redukujícím konci řetězce strukturu 2-N,6-O-disulfo-D-glukosaminu.

Sodná sůl tinzaparinu vyhovuje požadavkům článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími změnami a doplňky.

Průměrná molekulová hmotnost je v rozmezí 5500 až 7500 s charakteristickou hodnotou asi 6500.

Stupeň sulfatace je 1,8 až 2,5 na disacharidovou jednotku.

Účinnost je 70 m.j. až 120 m.j. účinnosti protifaktoru Xa v miligramu, počítáno na vysušenou látku. Poměr účinnosti protifaktoru Xa k účinnosti protifaktoru IIa je v rozmezí 1,5 až 2,5.

Zkouška totožnosti

Provede se zkouška totožnosti C uvedená v článku *Heparina massae molecularis minoris* s následujícími požadavky:

Průměrná molekulová hmotnost je v rozmezí 5500 až 7500. Podíl řetězců s molekulovou hmotností nižší než 2000 je nejvýše 10,0 %. Podíl řetězců s molekulovou hmotností v rozmezí 2000 až 8000 je 60,0 % až 72,0 %. Podíl řetězců s molekulovou hmotností nad 8000 je v rozmezí 22,0 % až 36,0 %.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v 10 ml vody R. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než stupeň 5 nejpodobnějšího porovnávacího barevného roztoku (2.2.2, *Metoda II*).

4686 † *Tocoferoli alfa acetat*

Absorbance (2.2.25). 50,0 mg se rozpustí ve 100 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*. Měří se absorbance při 231 nm; specifická absorbance je 8,0 až 12,5, počítáno na vysušenou látku.

Uchovávání

Separandum.

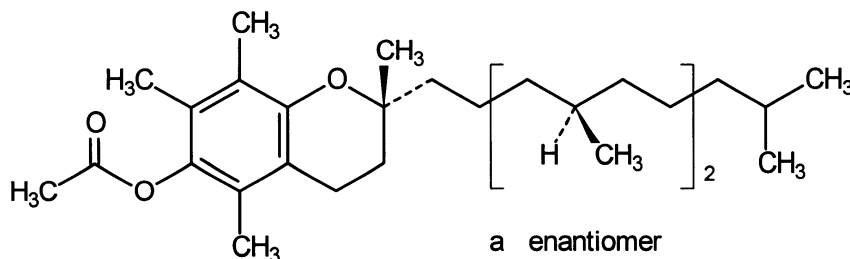
† **Tocoferoli alfa acetat**

Tokoferolacetat alfa

1998



Synonyma. α-Tocopheroli acetat, Tocoferolum aceticum, Tocoferoli acetat, octan vitamini E



$C_{31}H_{52}O_3$

M_r 472,75

CAS 7695-91-2

Je to (2*RS*)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4*RS*,8*RS*)-4,8,12-trimethyltridecyl]chroman-6-ylacetat. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{31}H_{52}O_3$.

Vlastnosti

Čirá slabě zelenožlutá viskózní olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu, v etheru a v mastných olejích, dobře rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A.** 10 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku při 230 nm až 350 nm (2.2.25). Absorpční maximum roztoku je při 284 nm, prodleva při 278 nm a minimum při 254 nm.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *tokoferolacetatu alfa CRL*.
- C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.
Zkoušený roztok (a). Asi 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Zkoušený roztok (b). Ve zkumavce se zabroušenou zátkou se rozpustí asi 10 mg ve 2 ml *kyseliny sírové* v *lihu 2,5 mol/l RS* a 5 min se zahřívá na vodní lázni. Po ochlazení se přidají 2 ml *vody R*, 2 ml *cyklohexanu R* a 1 min se protřepává. Po oddělení se použije horní vrstva.

Porovnávací roztok (a). Asi 10 mg *tokoferolacetatu alfa CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok (b). Připraví se, jak je popsáno u zkoušeného roztoku (b). Namísto zkoušené látky se použije *tokoferolacetat alfa CRL*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) jsou dvě skvrny: skvrna s vyšší hodnotou R_F je skvrna *tokoferolacetatu alfa* a odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a); skvrna o nižší hodnotě R_F je skvrna *tokoferolu alfa*. Vrstva se pak postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenantroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40); na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) je skvrna *tokoferolu alfa* zbarvena oranžově.

D. Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,01^\circ$ až $+0,01^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Absorbance (2.2.25). 0,150 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok a). 20,0 ml původního roztoku se zředí na 50,0 ml *ethanolem R* (roztok b). Změří se absorbance roztoku (a) v maximu při 284 nm a absorbance roztoku (b) v minimu při 254 nm. Specifická absorbance v maximu je 42,0 až 45,0 a v minimu je 7,0 až 9,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Volný tokoferol. Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se rozpustí ve 100 ml roztoku *kyseliny sírové* v *lihu 0,25 mol/l RS*. Přidá se 20 ml *vody R* a 0,1 ml roztoku *difenylaminu R* (2,5 g/l) v *kyselině sírové R* a titruje se *tetrasulfatoceričitanem amonným 0,01 mol/l VS* do modrého zbarvení, které vydrží alespoň 5 s. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,01 mol/l VS* odpovídá 2,154 mg volného tokoferolu.

Těžké kovy (2.4.8). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku *olova* (10 μ g Pb/ml).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1,0 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

4688 † *Tocoferoli alfa acetat*

Porovnávací roztok. 0,100 g *tokoferolacetatu alfa CRL* se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- silanizované skleněné kolony délky 2,0 m až 3,0 m a vnitřního průměru 2,2 mm až 4,0 mm naplněné *křemelinou pro plynovou chromatografii R* (125 μm až 150 μm nebo 150 μm až 180 μm) impregnovanou 1 % až 5 % *polydimethylsiloxanu R*; na obou koncích kolony je zátka silanizované skleněné vaty,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 25 ml/min až 90 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje konstantní v rozmezí 245 °C až 280 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru je v rozmezí 270 °C až 320 °C. Teplota kolony a průtoková rychlost nosného plynu se nastaví tak, aby se dosáhlo požadovaného rozlišení.

Nastříkuje se přímo do kolony nebo prostřednictvím nástřikového prostoru (přednostně vložného sklem) za použití automatického nastřikovacího zařízení nebo nějaké jiné reprodukovatelné nastřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátorem.

Rozlišení. Nastříkne se 1 μl porovnávacího roztoku. Postup se opakuje, až odezvoový faktor (RF), stanovený, jak je popsáno dále, je konstantní s odchylkou do ±2 %. Rozlišení (R_s) musí být větší než 1,4.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 μl a zaznamená se chromatogram. Nastaví se citlivost tak, aby výška píku *tokoferolacetatu alfa* byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Během zaznamenávání se změní citlivost tak, aby pík se stejnou hodnotou t_R jako *dotriakontan* se zaznamenal s citlivostí nejméně osmkrát větší než pík *tokoferolacetatu alfa*. Jestliže se na registračním papíru šířky 250 mm zaznamená nějaký pík výšky alespoň 5 mm stejné hodnoty t_R jako pík *dotriakontanu*, použije se, je-li to nutné, pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ podle vzorce:

$$S'_{D(kor)} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{f \cdot S_{TI}}$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném při zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku *tokoferolacetatu alfa* na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku *tokoferolacetatu alfa* na chromatogramu získaném při zkoušce na rušící látky,

f - faktor vyjadřující změnu citlivosti.

Po ověření rozlišení kolony se nastříkne 1 μl porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram, přičemž se nastaví taková citlivost, aby pík *tokoferolacetatu alfa* byl nejméně 50 % rozsahu stupnice zapisovače. Změří se plochy píků *tokoferolacetatu alfa* (S_T) a *dotriakontanu* (S_D) a stanoví se odezvoový faktor (RF), jak je popsáno níže. Stejným způsobem se nastříkne 1 μl zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků *tokoferolacetatu alfa* (S'_T) a *dotriakontanu* (S'_D).

Stanoví se odezvoový faktor (RF) pro *tokoferolacetat alfa* na chromatogramu porovnávacího roztoku z ploch píku *tokoferolacetatu alfa* a píku *dotriakontanu* podle vzorce:

$$\frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Obsah tokoferolacetatu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100(S'_T \cdot m_D \cdot RF)}{S'_{D(kor)} \cdot m}$$

V nich značí:

- S_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,
 $S'_{D(kor)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
 S_T - plochu píku *tokoferolacetatu alfa CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,
 S'_T - plochu píku tokoferolacetatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,
 m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném roztoku a v porovnávacím roztoku,
 m_T - hmotnost *tokoferolacetatu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,
 m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

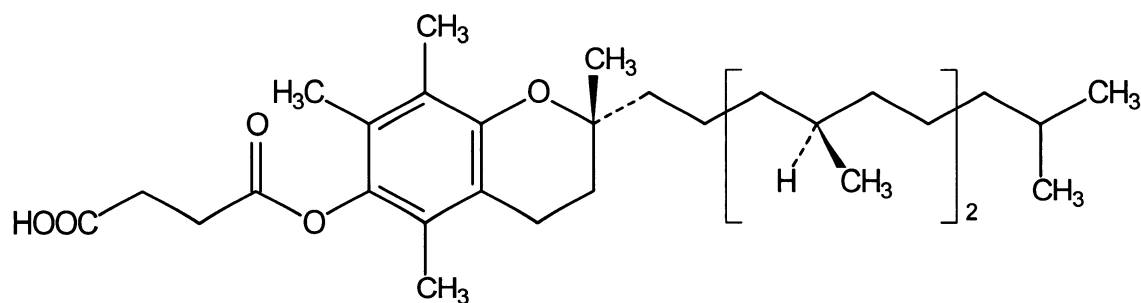
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
 Separandum.

† *Tocoferoli alfa DL hydrogenosuccinas*

Tokoferolhydrogensukcinat alfa DL

1998

Synonymum. DL- α -Tocopheroli hydrogenosuccinas



a enantiomer

$C_{33}H_{54}O_5$

M_r 530,78

Je to 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-6-chromanylhydrogensukcinat. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{33}H_{54}O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, v ethanolu a v etheru, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu.

4690 † *Tocoferoli alfa DL hydrogenosuccinas***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Zkoušený roztok (b). 10 mg se rozpustí v zábrusové zkumavce ve 2 ml *kyseliny sírové v lihu 2,5 mol/l RS*. Zahřívá se na vodní lázni 5 min, ochladí se a přidají se 2 ml *vody R* a 2 ml *cyklohexanu R*. Třepe se 1 min. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok (b). Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* místo zkoušené látky.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směs obsahující 0,2 ml *kyseliny octové ledové R* ve směsi objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se suší v proudu vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) jsou dvě skvrny: skvrna s vyšší hodnotou R_F je skvrna tokoferolu alfa; skvrna s nižší hodnotou R_F je skvrna *tokoferolhydrogensukcinatu alfa* a odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). V závislosti na stupni hydrolyzy může být skvrna s nižší hodnotou R_F slabá nebo může dokonce chybět. Vrstva se postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenanthroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) je skvrna tokoferolu alfa zbarvena oranžově.

D. Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,01^\circ$ až $+0,01^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Absorbance (2.2.25). 0,150 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok a). 20,0 ml původního roztoku se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml (roztok b). Změří se absorbance roztoku (a) v maximu při 284 nm a absorbance roztoku (b) v minimu při 254 nm. Specifická absorbance v maximu je 35,0 až 38,0 a v minimu 6,0 až 8,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). 101 až 108; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Volný tokoferol. Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se rozpustí ve 100 ml *kyseliny sírové v lihu 0,25 mol/l RS*. Přidá se 20 ml *vody R* a 0,1 ml roztoku *difenylaminu R* (2,5 g/l) v *kyselině sírové R* a titruje se

tetrasulfatoceričitanem amonným 0,01 mol/l VS do vzniku modrého zbarvení, které vydrží nejméně 5 s. Provede se slepá zkouška.

1 ml *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,01 mol/l VS* odpovídá 2,154 mg volného tokoferolu.

Těžké kovy (2.4.8). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Použije se *kyselina sírová R* místo *kyseliny sírové zředěné RS*.

Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,300 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. K 30,0 mg ve 20ml lahvičce se pipetou převede 2,0 ml *methanolu R*, 1,0 ml *dimethoxypropanu R* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Lahvička se těsně uzavře, obsah se promíchá v ultrazvukové lázni a ponechá se stát ve tmě 1 h (± 5 min). Vzorek se na 10 min přemístí ze tmy na parní lázeň pod ochrannou dusíkovou atmosférou, pak se přidá pipetou 10,0 ml roztoku vnitřního standardu a promíchá se vířivým míchadlem.

Porovnávací roztok. K 30,0 mg *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* ve 20ml lahvičce (zváženo s přesností na 0,01 mg) se pipetou převedou 2,0 ml *methanolu R*, 1,0 ml *dimethoxypropanu R* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Lahvička se těsně uzavře, obsah se promíchá v ultrazvukové lázni a ponechá se stát ve tmě 1 h (± 5 min). Porovnávací roztok se na 10 min přemístí ze tmy na parní lázeň pod ochrannou dusíkovou atmosférou, pak se přidá pipetou 10,0 ml roztoku vnitřního standardu a promíchá se vířivým míchadlem.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými 0,25µm vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 3 ml/min až 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 300 °C a teplota detektoru na 330 °C. Dělicí poměr se nastaví mezi 1 : 10 až 1 : 20. Teplota kolony je 200 °C a zvyšuje se rychlostí 5 °C/min do 250 °C, při nichž se udržuje 10 min.

Nastříkuje se přímo na kolonu nebo prostřednictvím skleněné vstříkovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátorem. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky *dotriakontanu* a *tokoferolhydrogensukcinatu alfa* nejméně 12,0.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 µl tohoto roztoku a zaznamená se chromatogram. Jestliže je na něm zaznamenán pík se stejnou hodnotou t_R jako *dotriakontan*, vypočítá se relativní plocha tohoto píku vzhledem k ploše píku *tokoferolsukcinatu alfa*. Jestliže je relativní plocha píku větší než 0,5 %, použije se pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ vypočítaná podle vzorce:

4692 † *Tocoferoli alfa DL hydrogensuccinas*

$$S'_{D(\text{kor})} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{S_{TI}},$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky.

Po vhodném nastavení systému se nastříkne 1 μl porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram. Změří se plochy piků tokoferolhydrogensukcinatu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D) a vypočítá se odezvoový faktor (RF) podle vzorce:

$$\text{RF} = \frac{S'_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}.$$

Stejným způsobem se nastříkne 1 μl zkoušeného roztoku. Změří se plochy piků tokoferolhydrogensukcinatu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D).

Obsah tokoferolhydrogensukcinatu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 (S'_T \cdot m_D \cdot \text{RF})}{S'_{D(\text{kor})} \cdot m},$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$S'_{D(\text{kor})}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_T - plochu píku *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

S'_T - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa DL na chromatogramu zkoušeného roztoku,

m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném a v porovnávacím roztoku,

m_T - hmotnost *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

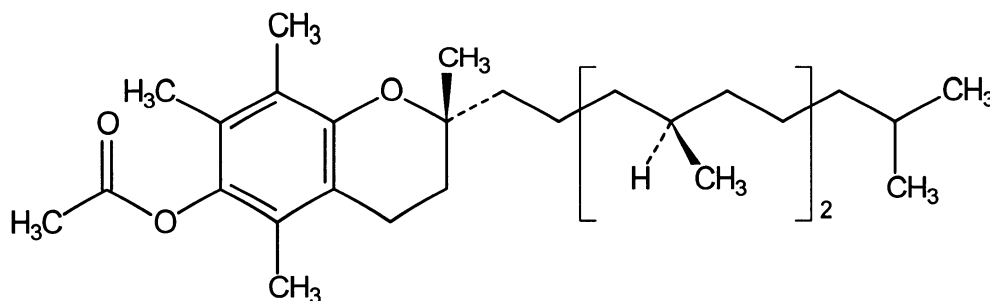
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

† **Tocoferoli alfa RRR acetat**

Tokoferolacetat alfa RRR

1998

Synonymum. RRR-α-Tocopheroli acetat $C_{31}H_{52}O_3$ M_r 472,75

Je to (2*R*)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4*R*,8*R*)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanylacetat. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{31}H_{52}O_3$.

Vlastnosti

Čirá světle zelenožlutá viskózní olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu, v etheru a v mastných olejích.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1. 2).

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *tokoferolacetatu alfa RRR CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Zkoušený roztok (b). 10 mg se rozpustí v zábrusové zkumavce ve 2 ml *kyseliny sírové v lihu 2,5 mol/l RS*. Zahřívá se na vodní lázni 5 min, ochladí se a přidají se 2 ml *vody R* a 2 ml *cyklohexanu R*. Třepe se 1 min. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *tokoferolacetatu alfa RRR CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok (b). Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *tokoferolacetatu alfa RRR CRL* místo zkoušené látky.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se suší v proudu vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného

4694 † *Tocoferoli alfa RRR acetat*

roztoku (a) se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) jsou dvě skvrny: skvrna s vyšší hodnotou R_F je skvrna tokoferolacetatu alfa a odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a); skvrna s nižší hodnotou R_F je skvrna tokoferolu alfa. Vrstva se postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenanthroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) je skvrna tokoferolu alfa zbarvena oranžově.

D. Po zmýdelnění je vzniklý tokoferol alfa *RRR* pravotočivý (2.2.7). Specifická optická otáčivost po oxidaci na chinonovou formu je nejméně +24°.

Zkouška se provádí za ochrany před aktinickým světlem. 1,0 g se ve 250ml zábrusové baňce s kulatým dnem rozpustí ve 30 ml *ethanolu R* a 3 min se zahřívá pod zpětným chladičem. Do vroucího roztoku se přidá chladičem 20 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*, zahřívá se pod zpětným chladičem dalších 20 min a bez ochlazení se přidají chladičem po kapkách 4,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Ochladí se, chladič se opláchne 10 ml *ethanolu R*, obsah baňky se převede do 500ml dělicí nálevky a baňka se vypláchne čtyřikrát 25 ml *vody R* a čtyřikrát 25 ml *etheru R*. Všechny promývací roztoky se převedou do dělicí nálevky a 2 min se intenzivně protřepávají. Po oddělení vrstev se každá vrstva převede do samostatné dělicí nálevky. Vodná vrstva se dvakrát protřepe 50 ml *etheru R* a spojené extrakty se přidají k hlavnímu etherovému extraktu. Spojené etherové podíly se promyjí čtyřikrát 100 ml *vody R* a promývací vodné vrstvy se odstraní.

K etherovému roztoku se přidá 40 ml roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (100 g/l) v roztoku *hydroxidu sodného R* (8 g/l) a třepe se 3 min. Etherový roztok se promyje čtyřikrát 50 ml *vody R*, promývací vodné vrstvy se odstraní, etherová vrstva se vysuší nad *síranem sodným bezvodým R*. Ether se odpaří na vodní lázni za sníženého tlaku nebo v atmosféře dusíku na zbytek několika mililitrů, potom se bez zahřátí zcela odstraní poslední stopy etheru. Zbytek se ihned rozpustí v 25,0 ml *trimethylpentanu R* a změří se optická otáčivost.

Vypočítá se specifická optická otáčivost látky ve zkoušeném roztoku, přičemž c je počet gramů odpovídajících tokoferolu alfa (faktor 0,911) v 1000 ml.

Zkoušky na čistotu

Absorbance (2.2.25). 0,150 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok a). 20,0 ml původního roztoku se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml (roztok b). Změří se absorbance roztoku (a) v maximu při 284 nm a absorbance roztoku (b) v minimu při 254 nm. Specifická absorbance v maximu je 42,0 až 45,0 a v minimu 7,0 až 9,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Volný tokoferol. Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se rozpustí ve 100 ml *kyseliny sírové v lihu 0,25 mol/l RS*. Přidá se 20 ml *vody R* a 0,1 ml roztoku *difenylaminu R* (2,5 g/l) v *kyselině sírové R* a titruje se *tetrasulfatoceričitanem amonným 0,01 mol/l VS* do vzniku modrého zbarvení, které vydrží nejméně 5 s. Provede se slepá zkouška.

1 ml *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,01 mol/l VS* odpovídá 2,154 mg volného tokoferolu.

Těžké kovy (2.4.8). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Použije se *kyselina sírová R* místo *kyseliny sírové zředěné RS*.

Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1,0 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

Porovnávací roztok. 0,100 g *tokoferolacetatu alfa CRL* se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými 0,25 µm vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 3 ml/min až 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 300 °C a teplota detektoru na 330 °C. Dělicí poměr se nastaví mezi 1 : 10 až 1 : 20. Teplota kolony je 200 °C a zvyšuje se rychlostí 5 °C/min do 250 °C, při nichž se udržuje 10 min.

Nastříkuje se přímo na kolonu nebo prostřednictvím skleněné vstřikovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátorem. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky *dotriakontanu* a *tokoferolacetatu alfa* nejméně 4,0.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 µl tohoto roztoku a zaznamená se chromatogram. Jestliže je na něm zaznamenán pík se stejnou hodnotou t_R jako *dotriakontan*, vypočítá se plocha tohoto píku vzhledem k ploše píku *tokoferolacetatu alfa*. Jestliže je relativní plocha píku větší než 0,5 %, použije se pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ vypočítaná podle vzorce:

$$S'_{D(kor)} = S'_D - \frac{S'_I \cdot S'_T}{S_{TI}}$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S'_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku *tokoferolacetatu alfa* na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku *tokoferolacetatu alfa* na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky.

Po vhodném nastavení systému se nastříkne 1 µl porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram. Změří se plochy píků *tokoferolacetatu alfa* (S_T) a *dotriakontanu* (S_D) a vypočítá se odezvoový faktor (RF) podle vzorce:

4696 † *Tocoferoli alfa RRR hydrogenosuccinas*

$$RF = \frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Stejným způsobem se nastříkne 1 μ l zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků tokoferolacetatu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D).

Obsah tokoferolacetatu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 (S'_T \cdot m_D \cdot RF)}{S'_{D(kor)} \cdot m}$$

V nich značí:

- S_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- $S'_{D(kor)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- S_T - plochu píku *tokoferolacetatu alfa CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,
- S'_T - plochu píku tokoferolacetatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném a v porovnávacím roztoku,
- m_T - hmotnost *tokoferolacetatu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,
- m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

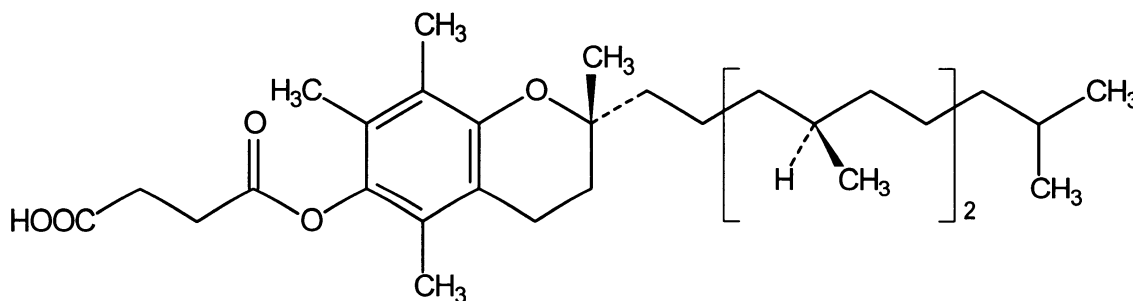
Separandum.

† **Tocoferoli alfa *RRR* hydrogenosuccinas**

Tokoferolhydrogensukcinat alfa *RRR*

1998

Synonymum. *RRR*- α -Tocopheroli hydrogenosuccinas



$C_{33}H_{54}O_5$

M_r 530,78

Je to (2*R*)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4*R*,8*R*)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanylhydrogen-sukcinat. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{33}H_{54}O_5$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, v ethanolu a v etheru, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok (a). 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Zkoušený roztok (b). 10 mg se rozpustí v zábrusové zkumavce ve 2 ml *kyseliny sírové v lihu 2,5 mol/l RS*. Zahřívá se na vodní lázni 5 min, ochladí se a přidají se 2 ml *vody R* a 2 ml *cyklohexanu R*. Třepe se 1 min. Použije se horní vrstva.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok (b). Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* místo zkoušené látky.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směs obsahující 0,2 ml *kyseliny octové ledové R* ve směsi objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se suší v proudu vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) jsou dvě skvrny: skvrna s vyšší hodnotou R_F je skvrna tokoferolu alfa; skvrna s nižší hodnotou R_F je skvrna *tokoferolhydrogensukcinatu alfa* a odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). V závislosti na stupni hydrolyzy může být skvrna s nižší hodnotou R_F slabá nebo může dokonce chybět. Vrstva se postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenanthroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40). Na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) je skvrna tokoferolu alfa zbarvena oranžově.

D. Po zmýdelnění je vzniklý tokoferol alfa *RRR* pravotočivý (2.2.7). Specifická optická otáčivost po oxidaci na chinonovou formu je nejméně +24°.

Zkouška se provádí za ochrany před aktinickým světlem. 1,0 g se v 250ml zábrusové baňce s kulatým dnem rozpustí ve 30 ml *ethanolu R* a 3 min se zahřívá pod zpětným chladičem. Do vroucího roztoku se přidá chladičem 20 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*, zahřívá se pod zpětným chladičem dalších 20 min a bez ochlazení se přidají chladičem po kapkách 4,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Ochladí se, chladič se opláchne 10 ml *ethanolu R*, obsah baňky se převede do 500ml dělicí nálevky a baňka se vypláchne čtyřikrát 25 ml *vody R* a čtyřikrát 25 ml *etheru R*. Všechny promývací roztoky se převedou do dělicí nálevky a 2 min se intenzivně protřepávají. Po oddělení vrstev se každá vrstva převede do samostatné dělicí nálevky. Vodná vrstva se dvakrát protřepe 50 ml *etheru R* a spojené extrakty se přidají

4698 † *Tocoferoli alfa RRR hydrogenosuccinas*

k hlavnímu etherovému extraktu. Spojené etherové podíly se promyjí čtyřikrát 100 ml *vody R* a promývací vodné vrstvy se odstraní.

K etherovému roztoku se přidá 40 ml roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (100 g/l) v roztoku *hydroxidu sodného R* (8 g/l) a třepe se 3 min. Etherový roztok se promyje čtyřikrát 50 ml *vody R*, promývací vodné vrstvy se odstraní, etherová vrstva se vysuší nad *síranem sodným bezvodým R*. Ether se odpaří na vodní lázni za sníženého tlaku nebo v atmosféře dusíku na zbytek několika mililitrů, potom se bez zahřátí zcela odstraní poslední stopy etheru. Zbytek se ihned rozpustí v 25,0 ml *trimethylpentanu R* a změní se optická otáčivost.

Vypočítá se specifická optická otáčivost látky ve zkoušeném roztoku, přičemž *c* je počet gramů odpovídajících tokoferolu alfa (faktor 0,811) v 1000 ml.

Zkoušky na čistotu

Absorbance (2.2.25). 0,150 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok a). 20,0 ml původního roztoku se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml (roztok b). Změří se absorbance roztoku (a) v maximu při 284 nm a absorbance roztoku (b) v minimu při 254 nm. Specifická absorbance v maximu je 35,0 až 38,0 a v minimu 6,0 až 8,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). 101 až 108; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Volný tokoferol. Nejvýše 1,0 %; 0,500 g se rozpustí ve 100 ml *kyseliny sírové v lihu 0,25 mol/l RS*. Přidá se 20 ml *vody R* a 0,1 ml roztoku *difenylaminu R* (2,5 g/l) v *kyselině sírové R* a titruje se *tetrasulfatoceričitanem amonným 0,01 mol/l VS* do vzniku modrého zbarvení, které vydrží nejméně 5 s. Provede se slepá zkouška.

1 ml *tetrasulfatoceričitanu amonného 0,01 mol/l VS* odpovídá 2,154 mg volného tokoferolu.

Těžké kovy (2.4.8). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)*.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Použije se *kyselina sírová R* místo *kyseliny sírové zředěné RS*.

Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,300 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. K 30,0 mg ve 20ml lahvičce se pipetou převedou 2,0 ml *methanolu R*, 1,0 ml *dimethoxypropanu R* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Lahvička se těsně uzavře, obsah se promíchá v ultrazvukové lázni a ponechá se stát ve tmě 1 h (±5 min). Vzorek se na 10 min přemístí ze tmy na parní lázeň pod ochrannou dusíkovou atmosférou, pak se přidá pipetou 10,0 ml roztoku vnitřního standardu a pomocí vířivého míchadla se rozpustí.

Porovnávací roztok. K 30,0 mg *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* ve 20ml lahvičce se pipetou převedou 2,0 ml *methanolu R*, 1,0 ml *dimethoxypropanu R* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Lahvička se těsně uzavře, obsah se promíchá v ultrazvukové lázni a ponechá se stát ve tmě 1 h (±5 min). Porovnávací roztok se na 10 min přemístí ze tmy na parní lázeň pod ochrannou dusíkovou atmosférou, pak se přidá pipetou 10,0 ml roztoku vnitřního standardu a pomocí vířivého míchadla se rozpustí.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými 0,25 μm vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 3 ml/min až 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 300 °C a teplota detektoru na 330 °C. Dělicí poměr se nastaví mezi 1 : 10 až 1 : 20. Teplota kolony je 200 °C a zvyšuje se rychlostí 5 °C/min do 250 °C, při nichž se udržuje 10 min.

Nastříkuje se přímo na kolonu nebo prostřednictvím skleněné vstříkovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátorem. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky dotriakontanu a tokoferolhydrogensukcinatu alfa nejméně 12,0.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 μl tohoto roztoku a zaznamená se chromatogram. Jestliže je na něm zaznamenán pík se stejnou hodnotou t_R jako pík dotriakontanu, vypočítá se relativní plocha tohoto píku vzhledem k ploše píku tokoferolsukcinatu alfa. Jestliže je relativní plocha píku větší než 0,5 %, použije se pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ vypočítaná podle vzorce:

$$S'_{D(kor)} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{S_{TI}}$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky.

Po vhodném nastavení systému se nastříkne 1 μl porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram. Změří se plochy píků tokoferolhydrogensukcinatu alfa (S_T) a dotriakontanu (S_D) a vypočítá se odezvový faktor (RF) podle vzorce:

$$RF = \frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Stejným způsobem se nastříkne 1 μl zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků tokoferolhydrogensukcinatu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D).

Obsah tokoferolhydrogensukcinatu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 (S'_T \cdot m_D \cdot RF)}{S'_{D(kor)} \cdot m}$$

v němž značí:

S_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$S'_{D(kor)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_T - plochu píku *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

S'_T - plochu píku tokoferolhydrogensukcinatu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném a v porovnávacím roztoku,

4700 † *Tocoferolum alfa*

m_T - hmotnost *tokoferolhydrogensukcinatu alfa RRR CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

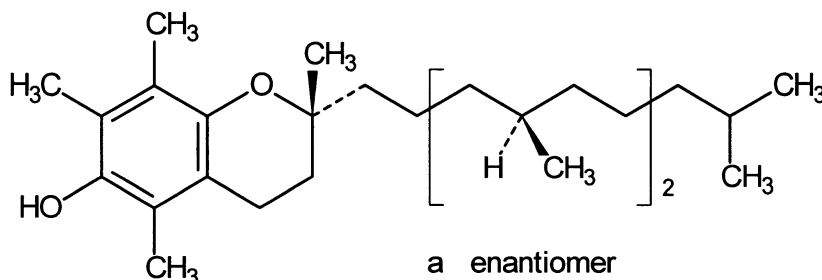
† Tocoferolum alfa

Tokoferol alfa

Synonyma. α -Tocopherolum, Tocoferolum



1999

 $C_{29}H_{50}O_2$ M_r 430,71

CAS 10191-41-0

Je to (2*RS*)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4*RS*,8*RS*)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanol. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{29}H_{50}O_2$.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo žlutohnědá viskózní olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu, v etheru, v dichlormethanu a v mastných olejích.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky je shodné se spektrem *tokoferolu alfa CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok. 10 mg *tokoferolu alfa CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenantroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40). Po 1 h až 2 h se hlavní skvrny zbarví oranžově.

D. Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,01^\circ$ až $+0,01^\circ$; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *ethanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

Absorbance (2.2.25). 0,100 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml (roztok a). 10,0 ml roztoku (a) se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok b). Měří se absorbance roztoku (b) v maximu při 292 nm a roztoku (a) v minimu při 255 nm. Specifická absorbance v maximu je 72,0 až 76,0 a v minimu je 6,0 až 8,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Těžké kovy (2.4.8). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku *olova* (10 µg *Pb/ml*).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Použije se *kyselina sírová R* namísto *kyseliny sírové zředěné RS*.

Stanovení obsahu

Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu. *Roztok vnitřního standardu.* 0,20 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 0,100 g *tokoferolu alfa CRL* se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- silanizované skleněné kolony délky 2,0 m až 3,0 m a vnitřního průměru 2,2 mm až 4,0 mm naplněné *křemelinou pro plynovou chromatografii R* (125 µm až 150 µm nebo 150 µm až 180 µm) silanizovanou a impregnovanou 1 % až 5 % *polydimethylsiloxanu R*; na obou koncích kolony je zátka silanizované skleněné vaty,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 25 ml/min až 90 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje konstantní v rozmezí 245 °C až 280 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru je v rozmezí 270 °C až 320 °C. Teplota kolony a průtoková rychlost nosného plynu se nastaví tak, aby se dosáhlo požadovaného rozlišení.

Nástřikuje se přímo do kolony nebo prostřednictvím nástřikového prostoru (přednostně vyloženého sklem) za použití automatického nástřikovacího zařízení nebo nějaké jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy pík se měří elektronickým integrátorem.

4702 † *Tocopherolum alfa*

Rozlišení. Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku. Postup se opakuje, až odezvvý faktor (RF) stanovený, jak je popsáno dále, je konstantní s odchylkou ±2 %. Rozlišení (R_s) mezi píkem dotriakontanu a tokoferolu alfa je nejméně 2,6.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v hexanu *R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 µl a zaznamená se chromatogram. Nastaví se citlivost tak, aby výška píku tokoferolu alfa byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Během zaznamenávání se změní citlivost tak, aby pík se stejnou hodnotou t_R jako dotriakontan se zaznamenal s citlivostí nejméně osmkrát větší než pík tokoferolu alfa. Jestliže se na registračním papíru šířky 250 mm zaznamená nějaký pík výšky alespoň 5 mm stejné hodnoty t_R jako pík dotriakontanu, použije se pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ vypočtená podle vzorce:

$$S'_{D(kor)} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{f \cdot S_{TI}}$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném při zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu získaném při zkoušce na rušící látky,

f - faktor vyjadřující změnu citlivosti.

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram, přičemž se nastaví taková citlivost, aby pík tokoferolu alfa byl nejméně 50 % rozsahu stupnice zapisovače. Změří se plochy píků tokoferolu alfa (S_T) a dotriakontanu (S_D) a stanoví se odezvvý faktor (RF), jak je popsáno níže. Stejným způsobem se nastříkne 1 µl zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků tokoferolu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D).

Stanoví se odezvvý faktor (RF) pro tokoferol alfa na chromatogramu porovnávacího roztoku z plochy píku tokoferolu alfa a píku dotriakontanu podle vzorce:

$$\frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Obsah tokoferolu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 (S'_T \cdot m_D \cdot RF)}{S'_{D(kor)} \cdot m}$$

V nich značí:

S_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$S'_{D(kor)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_T - plochu píku *tokoferolu alfa CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

S'_T - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném roztoku a v porovnávacím roztoku,

m_T - hmotnost *tokoferolu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech pod inertním plynem, chráněn před světlem.

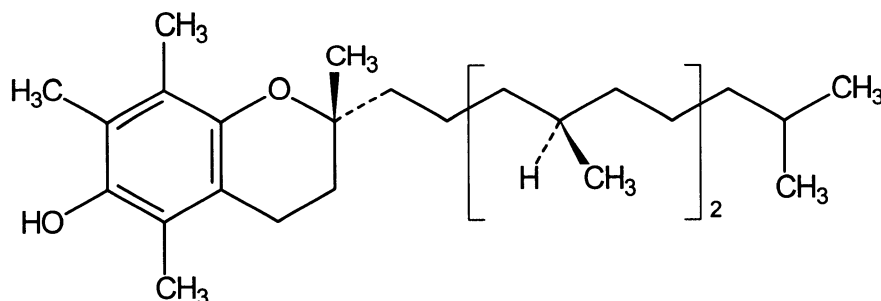
Separandum.

† *Tocopherolum alfa RRR* 4703† **Tocopherolum alfa RRR**

Tokoferol alfa RRR

Synonymum. RRR- α -Tocopherolum

1998

 $C_{29}H_{50}O_2$ M_r 430,71

Je to (2*R*)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4*R*,8*R*)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanol. Obsahuje 96,0 % až 102,0 % sloučeniny $C_{29}H_{50}O_2$.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo žlutohnědá viskózní olejovitá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu, v etheru, v dichlormethanu a v mastných olejích.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *tokoferolu alfa CRL*.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF₂₅₄ R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Porovnávací roztok. 10 mg *tokoferolu alfa CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *etheru R* a *cyklohexanu R* (20 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se suší v proudu vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká směsí objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R*, roztoku *chloridu železitého R* (2,5 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *fenanthroliniumchloridu R* (10 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 40). Po 1 h až 2 h se hlavní skvrny zbarví oranžově.

4704 † *Tocopherolum alfa RRR*

D. Tokoferol alfa RRR je pravotočivý (2.2.7). Specifická optická otáčivost po oxidaci na chinonovou formu je nejméně +24°.

1,0 g se rozpustí v 50 ml *etheru R*. K roztoku se přidá 20 ml roztoku *hexakvanoželezitanu draselného R* (100 g/l) v roztoku *hydroxidu sodného R* (8 g/l) a třepe se 3 min. Etherový roztok se promyje čtyřikrát 50 ml *vody R*. Promývací vodné vrstvy se odstraní, etherová vrstva se vysuší nad *síranem sodným bezvodým R*. Ether se odpaří na vodní lázni za sníženého tlaku nebo v atmosféře dusíku na zbytek několika mililitrů, potom se bez zahřátí zcela odstraní poslední stopy etheru. Zbytek se ihned rozpustí v 5,0 ml *trimethylpentanu R* a změří se optická otáčivost.

Vypočítá se specifická optická otáčivost látky ve zkoušeném roztoku, přičemž *c* je počet gramů odpovídajících tokoferolu alfa v 1000 ml.

Zkoušky na čistotu

Absorbance (2.2.25). 0,100 g se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100 ml (roztok a). 10,0 ml roztoku (a) se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml (roztok b). Měří se absorbance roztoku (b) v maximu při 292 nm a absorbance roztoku (a) v minimu při 255 nm. Specifická absorbance v maximu je 72,0 až 76,0 a v minimu 5,5 až 8,0.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Těžké kovy (2.4.8). 0,50 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky. Použije se *kyselina sírová R* místo *kyseliny sírové zředěné RS*.

Stanovení obsahu

Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *dotriakontanu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 1,0 g *dotriakontanu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

Porovnávací roztok. 0,100 g *tokoferolu alfa CRL* se rozpustí v 10,0 ml roztoku vnitřního standardu, zředí se *hexanem R* na 50,0 ml a promíchá se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 15 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřními stěnami pokrytými 0,25 µm vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 3 ml/min až 6 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 300 °C a teplota detektoru na 330 °C. Dělicí poměr se nastaví mezi 1 : 10 až 1 : 20. Teplota kolony je 200 °C a zvyšuje se rychlostí 5 °C/min do 250 °C, při nichž se udržuje 10 min.

Nastříkuje se přímo na kolonu nebo prostřednictvím skleněné vstřikovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy pík se měří elektronickým integrátorem. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píky *dotriakontanu* a *tokoferolu alfa* nejméně 9,0.

Zkouška na rušící látky. 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml. Nastříkne se 1 μ l tohoto roztoku a zaznamená se chromatogram. Jestliže je na něm zaznamenán pík se stejnou hodnotou t_R jako dotriakontan, vypočítá se relativní plocha tohoto píku vzhledem k ploše píku tokoferolu alfa. Jestliže je relativní plocha píku větší než 0,5 %, použije se pro konečný výpočet korigovaná plocha píku $S'_{D(kor)}$ vypočítaná podle vzorce:

$$S'_{D(kor)} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{S_{TI}}$$

v němž značí:

S'_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_I - plochu rušícího píku (stejně hodnoty t_R , jako má vnitřní standard) na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky,

S'_T - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_{TI} - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu získaném ve zkoušce na rušící látky.

Po vhodném nastavení systému se nastříkne 1 μ l porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram. Změří se plochy píků tokoferolu alfa (S_T) a dotriakontanu (S_D) a vypočítá se odezvoový faktor (RF) podle vzorce:

$$RF = \frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Stejným způsobem se nastříkne 1 μ l zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků tokoferolu alfa (S'_T) a dotriakontanu (S'_D).

Obsah tokoferolu alfa v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 (S'_T \cdot m_D \cdot RF)}{S'_{D(kor)} \cdot m}$$

V nich značí:

S_D - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$S'_{D(kor)}$ - korigovanou plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

S_T - plochu píku *tokoferolu alfa CRL* na chromatogramu porovnávacího roztoku,

S'_T - plochu píku tokoferolu alfa na chromatogramu zkoušeného roztoku,

m_D - hmotnost vnitřního standardu v miligramech ve zkoušeném a v porovnávacím roztoku,

m_T - hmotnost *tokoferolu alfa CRL* v miligramech v porovnávacím roztoku,

m - hmotnost zkoušené látky v miligramech ve zkoušeném roztoku.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech pod inertním plynem, chráněn před světlem.

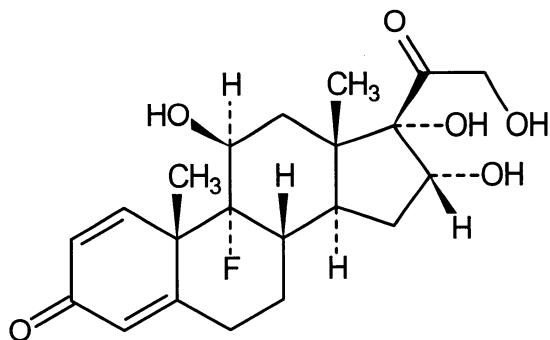
Separandum.

4706 † *Triamcinolonum*† **Triamcinolonum**

Triamcinolon



1999

 $C_{21}H_{27}FO_6$ M_r 394,45

CAS 124-94-7

Je to 9-fluor-11 β ,16 α ,17,21-tetrahydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny $C_{21}H_{27}FO_6$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *triamcinolonu* CRL. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená i referenční látka v *methanolu* R, odpaří se do sucha, vysuší při 60 °C a tlaku nejvýše 0,7 kPa a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vhodné vrstvy silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm. *Roztoky se připraví těsně před použitím a chrání se před světlem. Vrstva se pozoruje v ultrafialovém světle ihned po vyvíjení.*

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *triamcinolonu* CRL se rozpustí v *methanolu* R a zředí se jím na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *dexamethasonu* CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku. Vyvíjí se mobilní fázi připravenou přidáním směsi objemových dílů *vody* R a *methanolu* R (1,2 + 8) ke směsi objemových dílů *etheru* R a *dichlormethanu* R (15 + 77) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku

odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+65^{\circ}$ až $+72^{\circ}$, počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,10 g v *dimethylformamidu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). Roztoky se připraví těsně před použitím a chrání se před světlem.

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

Porovnávací roztok. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min, která je směsí stejných objemových dílů *vody R* a *methanolu R*,
- spektrofotometrického detektoru, 238 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku byla nejméně 50 % stupnice zapisovače. Jestliže se chromatogramy zaznamenávají za předepsaných podmínek, je retenční čas triamcinolonu asi 5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je počet teoretických pater vypočítaných pro pík triamcinolonu nejméně 5000.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (2 %) a nejvýše jeden takový pík má plochu větší, než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (4 %). Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1 %; stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

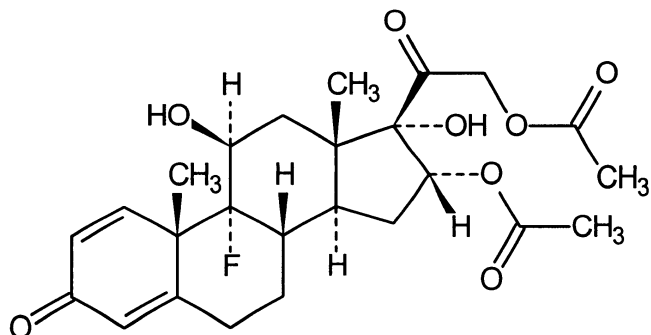
Roztoky se připraví těsně před použitím a chrání se před světlem.

20,0 mg se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *lihem 96% R* na 100,0 ml, měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 238 nm a vypočítá se obsah $C_{21}H_{27}FO_6$ za použití specifické absorbance, která má hodnotu 389.

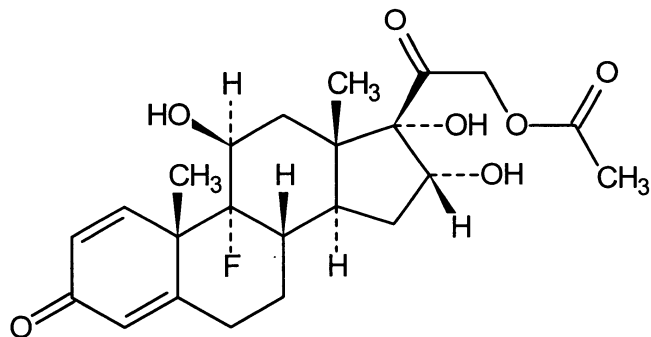
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

4708 † *Triflusalum***Nečistoty**

A. triamcinolon-16,21-diacetat,



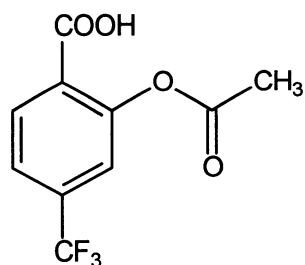
B. triamcinolon-21-acetat.

† Triflusalum

Triflusal



1999

 $C_{10}H_7F_3O_4$ M_r 248,16

CAS 322-79-2

Je to kyselina 2-acetoxy-4-(trifluormethyl)benzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % $C_{10}H_7F_3O_4$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v ethanolu, snadno rozpustný v dichlormethanu.

Taje při asi 118 °C, za rozkladu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B, D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** 50,0 mg se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 20,0 ml. Měří se absorbance tohoto roztoku těsně po přípravě při 220 nm až 300 nm (2.2.25). Roztok vykazuje dvě maxima, při 223 nm a 278 nm. Specifické absorbance v maximech jsou 63 až 73 a 350 až 370.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *triflusalu CRL*.
- C.** K 0,2 g se přidají 2,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*. Zahřeje se k varu a vaří se 15 min. Potom se ochladí a přidá se 25,0 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Vznikne krystalická sraženina. Zfiltruje se, sraženina se promyje *vodou R* a suší se při 100 °C až 105 °C. Krystaly tají (2.2.14) při 176 °C až 178 °C.
- D.** Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku do získání bílého zbytku (obvykle méně než 5 min). Potom se ochladí, přidá se 1 ml *vody R*, 0,05 ml *fenolftaleinu RS1* a asi 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, aby roztok byl bezbarvý. Zfiltruje se a 1,0 ml filtrátu se přidá k čerstvě připravené směsi 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnanoxidu zirkoničitého RS*. Promíchá se, nechá se stát 5 min a porovná se barva roztoku s kontrolním roztokem získaným při slepé zkoušce připravené stejným způsobem; roztok je žlutý a kontrolní roztok je červený.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 20 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselina 2-acetoxytereftalová. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok. 40,0 mg *triflusalu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem aminopropylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 4,5* (0,05 mol/l) a *acetonitrilu R* (25 + 75), s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 250 nm.

4710 † *Triflusalum*

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zaznamenaném za předepsaných podmínek je retenční čas triflusalu asi 2,4 min a retenční čas kyseliny 2-acetoxytereftalové (triflusalu nečistoty A) vzhledem k triflusalu je asi 5. Chromatogram se zaznamenává 20 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku kyseliny 2-acetoxytereftalové není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,1 %).

Kyselina 4-(trifluormethyl)salicylová. 0,10 g se rozpustí v 15 ml *lihu 96% R*, přidá se 15 ml studené *vody R* a 0,5 ml roztoku *síranu železito-amonného R* (5 g/l). Nechá se stát 1 min. Roztok není zbarven intenzivněji (2.2.2, *Metoda II*) než porovnávací roztok připravený takto: 10,0 mg *triflusal nečistoty B CRL* se rozpustí ve 100 ml *lihu 96% R*. Ke 3 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml *kyseliny octové ledové R*, 0,5 ml roztoku *síranu železito-amonného R* (5 g/l), 12 ml *lihu 96% R* a 15 ml *vody R* (0,3 %).

Těžké kovy (2.4.8). 1,50 g se rozpustí v 9 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 15 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 μ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije roztok olova (1 μ g Pb/ml) získaný zředěním základního roztoku olova (100 μ g Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *lihu 96% R* (6 + 9).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %, 1,00 g se suší v exsikátoru nad *oxidem fosforečným R* ve vakuu.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

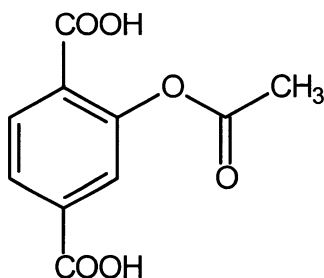
Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 50,0 ml *ethanolu R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

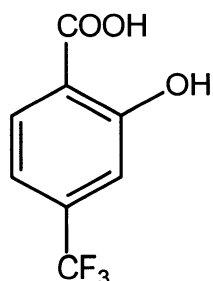
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 24,82 mg $C_{10}H_7F_3O_4$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, při teplotě nepřevyšující 25 °C.
Separandum.

Nečistoty

A. kyselina 2-acetoxy-1,4-benzendikarboxylová (kyselina 2-acetoxytereftalová),

† *Trimethoprimum* 4711

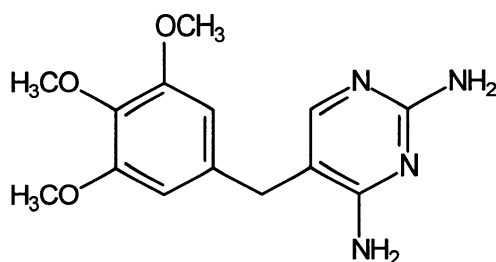
B. kyselina 2-hydroxy-4-(trifluormethyl)benzoová (kyselina 4-(trifluormethyl)salicylová).

† *Trimethoprimum*¹⁾

Trimethoprim



RR99

C₁₄H₁₈N₄O₃M_r 290,32

CAS 738-70-5

Je to 5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C₁₄H₁₈N₄O₃.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.
Vykazuje polymorfismus.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 199 °C až 203 °C.

B. Asi 20 mg se rozpustí v *hydroxidu sodném* 0,1 mol/l RS a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *hydroxidem sodným* 0,1 mol/l RS na 10,0 ml. Měří se absorbance

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 314 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4712 † *Trimethoprimum*

roztoku (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 287 nm. Specifická absorbance v maximu je 240 až 250.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *trimethoprimu CRL*.

D. Asi 25 mg se zahřátím rozpustí v 5 ml *kyseliny sírové 0,005 mol/l RS*, přidají se 2 ml roztoku *manganistanu draselného R* (16 g/l) v *hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS* a zahřeje se k varu. K horkému roztoku se přidá 0,4 ml *formaldehydu R*, zamíchá se a přidá se 1 ml *kyseliny sírové 0,5 mol/l RS*, znovu se zamíchá a zahřeje k varu, pak se ochladí a zfiltruje. K filtrátu se přidají 2 ml *dichlormethanu R* a intenzivně se protřepe. Organická vrstva při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm vykazuje zelenou fluorescenci.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v 10 ml směsi objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 4,5 + 5). Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky.

A. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 mg *trimethoprimu CRL* a 2,5 mg *trimethoprimu nečistoty E CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,250 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *methanolu R* a roztoku *chloristanu sodného R* (1,4 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,6 (30 + 70); průtoková rychlost je 1,3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 11násobku retenčního času trimethoprimu. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek relativní retenční časy látek jsou:

Látka	Přibližný relativní retenční čas	Korekční faktor
Trimethoprim	1,0 ($R_t = 5,2$ min)	1
Nečistota A	1,5	-
Nečistota B	2,3	0,43
Nečistota C	0,8	-
Nečistota D	2,0	-
Nečistota E	0,9	0,53
Nečistota F	4,0	-
Nečistota G	2,1	-
Nečistota J	2,7	0,66

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi dvěma píky nejméně 2,5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %) s použitím korekčních faktorů uvedených v tabulce pro nečistoty B, E a J; součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) s použitím korekčních faktorů uvedených v tabulce pro nečistoty B, E a J. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,04násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a k píku odpovídajícímu nečistotě H (relativní retenční čas asi 10,3).

B. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 mg *trimethoprimu CRL* a 5,0 mg *trimethoprimu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem kyano-propylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm) se specifickým povrchem 350 m²/g a velikostí pórů 10 nm,
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: 1,14 g *hexansulfonanu sodného R* se rozpustí v 600 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (13,6 g/l), upraví se pH *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,1 a tento roztok se smíchá se 400 objemovými díly *methanolu R*; průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 6násobku retenčního času trimethoprimu. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek relativní retenční časy látek jsou:

Látka	Přibližný relativní retenční čas	Odezvový faktor
Trimethoprim	1,0 ($R_t = 4,3$ min)	1
Nečistota B	1,3	-
Nečistota H	1,8	0,50
Nečistota I	4,9	0,28

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi dvěma píky nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %), za použití korekčních faktorů uvedených v tabulce pro nečistoty H a I; součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %), za použití odezvových faktorů uvedených v tabulce pro nečistoty H a I. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,04násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

4714 † *Trimethoprimum*

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

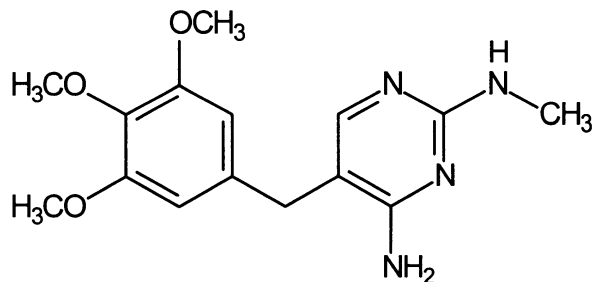
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,03 mg C₁₄H₁₈N₄O₃.

Uchovávání

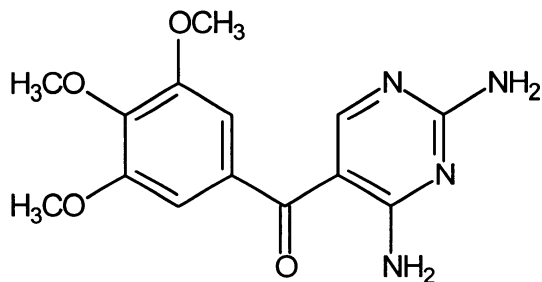
Separandum.

Nečistoty

U kapalinové chromatografie A:

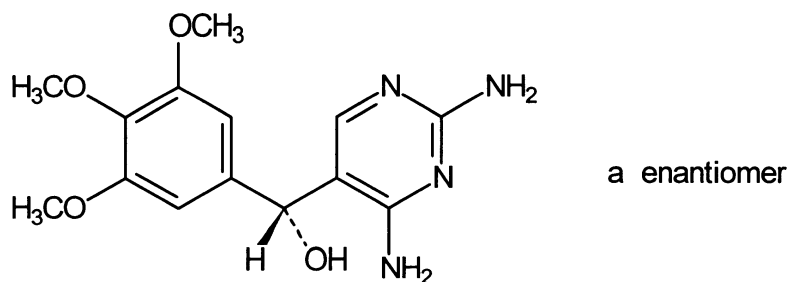
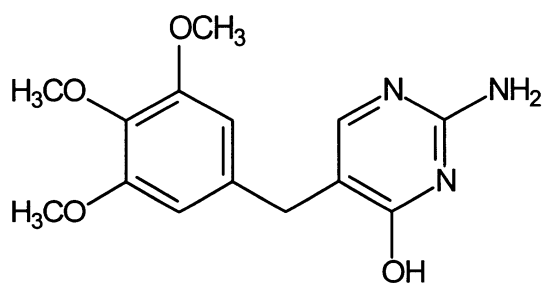


A. N²-methyl-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin,

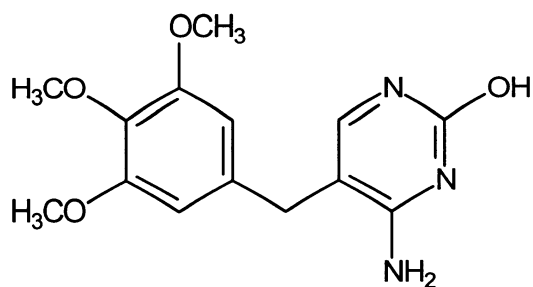


B. (2,4-diaminopyrimidin-5-yl)-3,4,5-trimethoxyfenylketon,

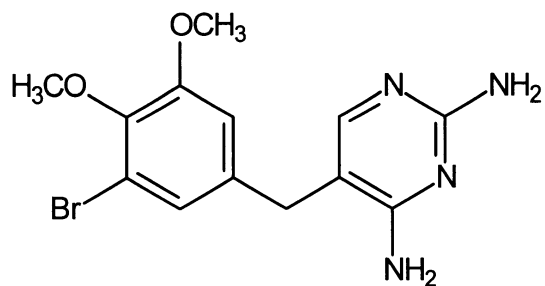
† Trimethoprimum 4715

C. (*RS*)-(2,4-diaminopyrimidin-5-yl)(3,4,5-trimethoxyfenyl)methanol,

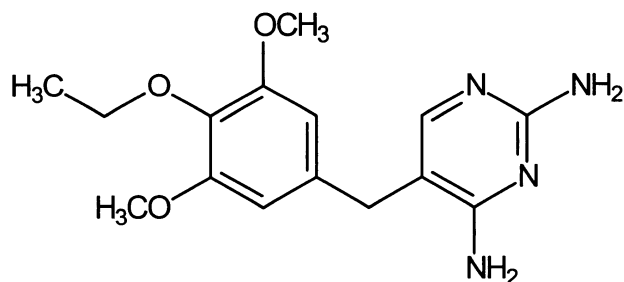
D. 2-amino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-4-ol,



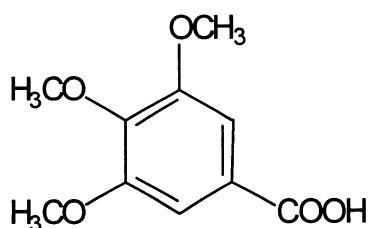
E. 4-amino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2-ol,



F. 5-(3-brom-4,5-dimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin,

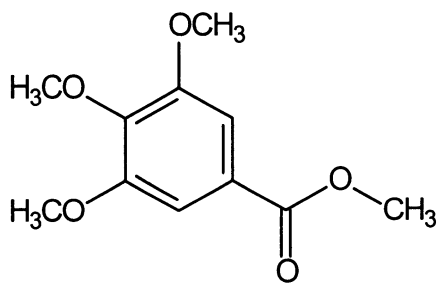
4716 † *Trimethoprimum*

G. 5-(4-ethoxy-3,5-dimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin,

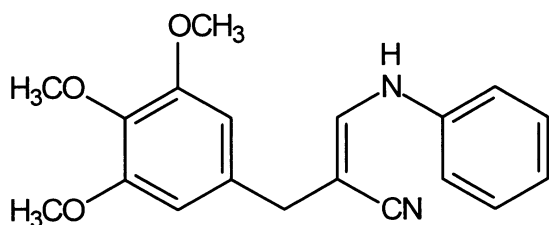


J. kyselina 3,4,5-trimethoxybenzoová.

U kapalinové chromatografie B:



H. methyl-3,4,5-trimethoxybenzoat (detekce také u kapalinové chromatografie A),



I. 3-fenylamino-2-(3,4,5-trimethoxybenzyl)prop-2-ennitril.

Tritici oleum raffinatum 4717

Tritici oleum raffinatum

Čištěný pšeničný olej

*Synonymum.* Tritici aestivi oleum raffinatum

Je to mastný olej získaný z klíčků semen druhu *Triticum aestivum* L. lisováním za studena nebo jinými vhodnými mechanickými způsoby. Potom je přečištěn a může být přidána vhodná antioxidační přísada.

Vlastnosti

Čirá nažloutlá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým (40 °C až 60 °C).

Relativní hustota je asi 0,925 a index lomu je asi 1,475.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky odpovídá charakteristickému chromatogramu pšeničného oleje.

B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je číslo kyselosti nejvýše 0,3.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10,0. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je číslo peroxidové nejvýše 5,0.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Zásaditě reagující látky (2.4.19). Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

Podíl mastných kyselin. Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22). Podíl mastných kyselin oleje má následující složení:

kyselina palmitová	14,0 % až 19,0 %,
kyselina stearová	nejvýše 2,0 %,
kyselina olejová	12,0 % až 23,0 %,
kyselina linolová	52,0 % až 59,0 %,
kyselina linolenová	3,0 % až 10,0 %,
kyselina eikosenová	nejvýše 2,0 %.

Brassikasterol (2.4.23). Nejvýše 0,3 % brassikasterolu ve sterolovém podílu zkoušené látky.

Voda, mikrostanovení (2.5.32). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, obsahuje nejvýše 0,1 % vody; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky. Použije se směs stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* jako rozpouštědlo.

4718 *Tryptophanum*

Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka vhodná k výrobě parenterálních lékových forem,
- název a množství případně přidaného antioxidantu.

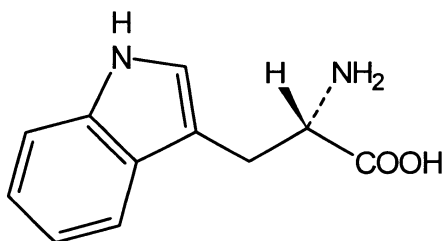
Tryptophanum¹⁾

Tryptofan

Synonymum. L-Tryptophanum



RR99



$C_{11}H_{12}N_2O_2$

M_r 204,23

CAS 73-22-3

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{11}H_{12}N_2O_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický nebo amorfní prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů a minerálních kyselin.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 551 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *tryptofanu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** Asi 20 mg se rozpustí v 10 ml *vody R*, přidá se 5 ml *dimethylaminobenzaldehydu RS6* a 2 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřeje se na vodní lázni; vzniká nachově modré zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,1 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-30,0^{\circ}$ až $-33,0^{\circ}$, počítáno na vysušenou látku. Měří se následující roztok: 0,25 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím na vodní lázni, ve *vodě R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *tryptofanu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí směsí stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *tryptofanu CRL* a 10 mg *tyrosinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *vody R* a zředí se stejnou směsí na 25 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

1,1'-Ethylidenbistryptofan a jiné příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Thumivý roztok o pH 2,3. 3,90 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí v 1000 ml *vody R*, přidá se asi 700 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (2,9 g/l) a stejnou kyselinou se upraví pH na hodnotu 2,3.

Roztoky se připraví těsně před použitím.

Standardní roztok. 10,0 mg *N-acetyltryptofanu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

4720 *Tryptophanum*

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 0,10 g se rozpustí ve standardním roztoku a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 mg *1,1'-ethylidenbistryptofanu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí standardním roztokem na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 10,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 0,10 g zkoušené látky se rozpustí v porovnávacím roztoku (c) a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (e). 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 90) na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,7 ml/min:
 - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a tlumivého roztoku o pH 2,3 (115 + 885),
 - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a tlumivého roztoku o pH 2,3 (350 + 650),
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 10	100	0	izokraticky
10 - 45	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
45 - 65	0	100	izokraticky
65 - 66	0 → 100	100 → 0	lineární gradient
66 - 80	100	0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b), 20 µl porovnávacího roztoku (d) a 20 µl porovnávacího roztoku (e). Jsou-li chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, retenční časy látek jsou: tryptofan asi 8 min, N-acetyltryptofan asi 29 min a 1,1'-ethylidenbistryptofan asi 34 min. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška píku N-acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) rozlišení mezi píky N-acetyltryptofanu a 1,1'-ethylidenbistryptofanu je nejméně 8,0. Je-li třeba, upraví se gradientový program. Zvýšením mobilní fáze A v průběhu eluce se prodlouží retenční časy a zlepší se rozlišení; na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) je signál píku k šumu nejméně 15.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (a) a 20 µl zkoušeného roztoku (b). Zjistí se, není-li na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) pík se stejným retenčním časem, jako má pík N-acetyltryptofanu (v takovém případě se provede korekce píku N-acetyltryptofanu). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) plocha píku odpovídajícího 1,1'-ethylidenbistryptofanu není větší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) (10 µg/g). Součet ploch všech píků s retenčním časem menším, než má tryptofan, není větší než 0,5násobek plochy píku odpovídajícího N-acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (100 µg/g).

Součet ploch všech píků s retenčním časem větším, než má tryptofan, kromě píku N-acetyltryptofanu a píku do 1,8násobku retenčního času N-acetyltryptofanu, není větší než 1,5násobek plochy píku odpovídajícího N-acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (300 µg/g). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,02násobek plochy píku odpovídajícího N-acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g), bez dalšího přidání kyseliny dusičné.

Sírany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a *vody destilované R* (5 + 25) a zředí se stejnou směsí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium (2.4.1). 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,2 ml základního roztoku *amonia* (100 µg NH₄/ml).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). 0,50 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát 3 min vždy s 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 µg/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

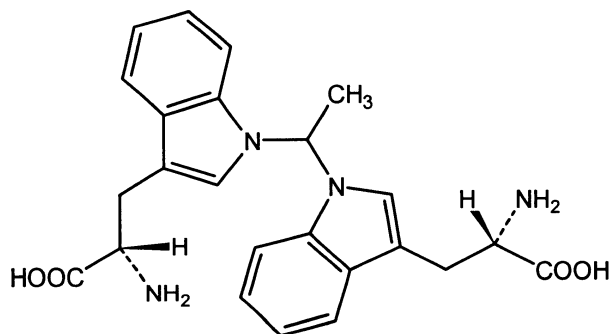
0,150 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 0,1 ml *naftolbenzeinu RS* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS*.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,42 mg C₁₁H₁₂N₂O₂.

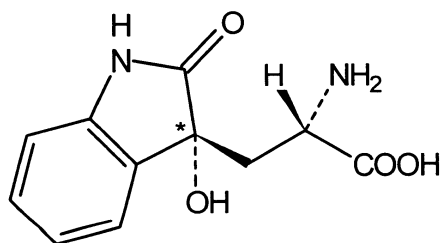
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Nečistoty

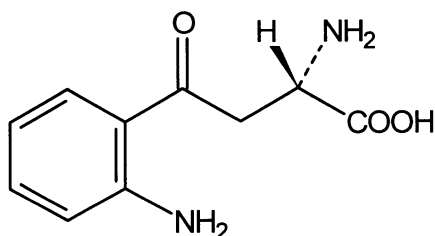


A. kyselina 3,3'-[ethylidenebis(1*H*-indol-1,3-diyl)]bis[(2*S*)-2-aminopropanová] (1,1'-ethylidenebis-tryptofan),

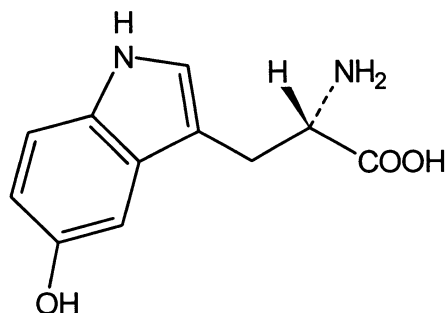
4722 *Tryptophanum*

a epimer na C *

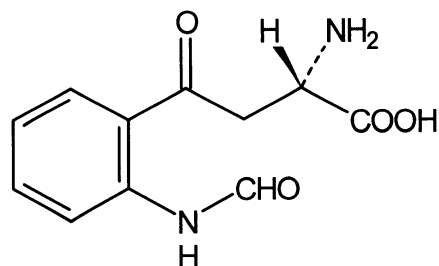
B. kyselina (*S*)-2-amino-3-[(3*RS*)-3-hydroxy-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-indol-3-yl]propanová (dioxyindolyalanin),



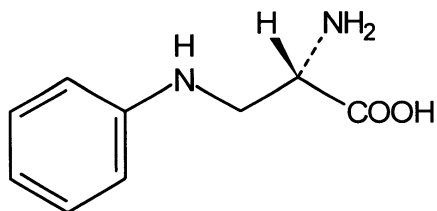
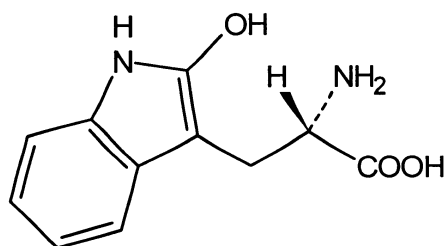
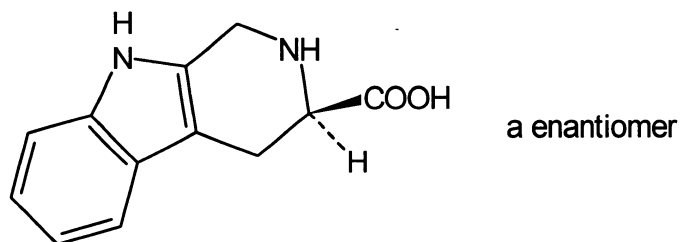
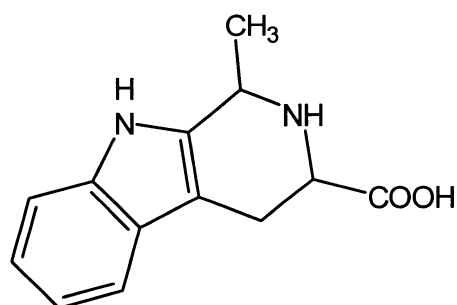
C. kyselina (*S*)-2-amino-4-(2-aminofenyl)-4-oxobutanová (kynurenin),



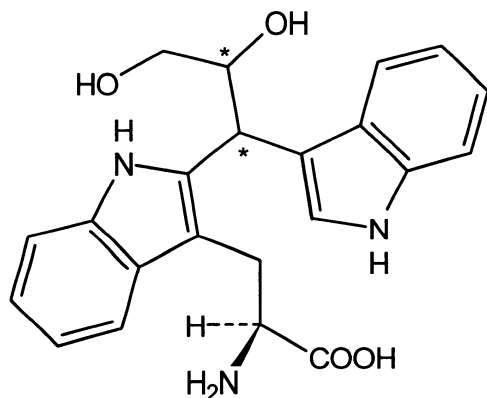
D. kyselina (*S*)-2-amino-3-(5-hydroxy-1*H*-indol-3-yl)propanová (5-hydroxytryptofan),



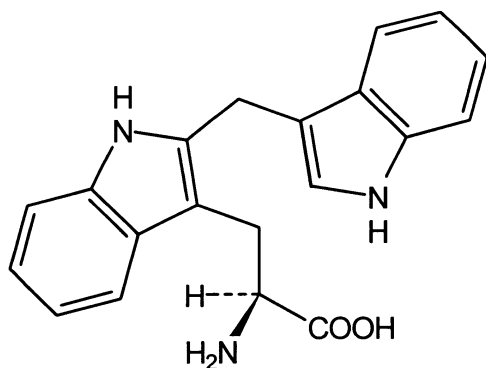
E. kyselina (*S*)-2-amino-4-[2-(formylamino)fenyl]-4-oxobutanová (N-formylkynurenin),

F. kyselina (*S*)-2-amino-3-(fenylamino)propanová (3-fenylaminoalanin),G. kyselina (*S*)-2-amino-3-(2-hydroxy-1*H*-indol-3-yl)propanová (2-hydroxytryptofan),H. kyselina (3*RS*)-1,2,3,4-tetrahydro-9*H*-β-karbolin-3-karboxylová,I. kyselina 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-9*H*-β-karbolin-3-karboxylová,

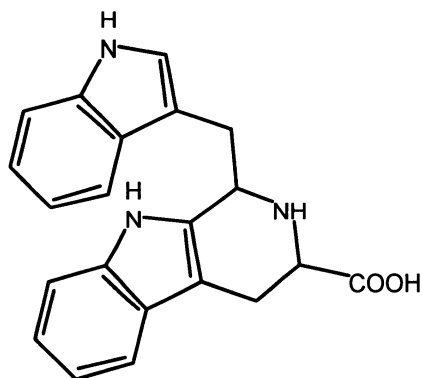
4724 Tryptophanum



J. kyselina (*S*)-2-amino-3-{2-[2,3-dihydroxy-1-(1*H*-indol-3-yl)propyl]-1*H*-indol-3-yl}propanová,



K. kyselina (*S*)-2-amino-3-[2-(1*H*-indol-3-ylmethyl)-1*H*-indol-3-yl]propanová,

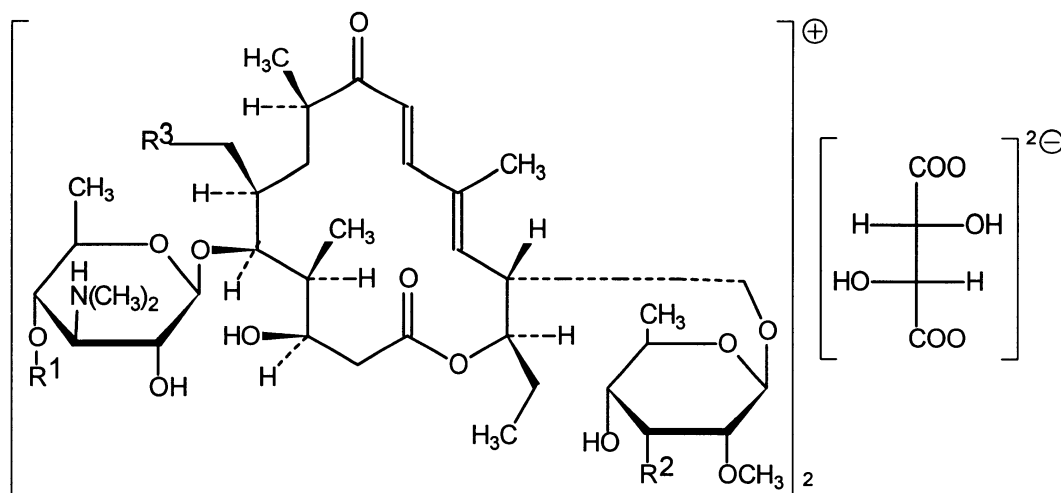


L. kyselina 1-(1*H*-indol-3-ylmethyl)-1,2,3,4-tetrahydro-9*H*-β-karbolin-3-karboxylová.

† Tylosini tartras ad usum veterinarium

Tylosiniumtartarat pro veterinární použití

1999



Název	Sumární vzorec	R ¹	R ²	R ³
tylosin A	C ₄₆ H ₇₇ N O ₁₇		OCH ₃	CHO
tylosin C	C ₄₅ H ₇₅ N O ₁₇		OH	CHO
tylosin D	C ₄₆ H ₇₉ N O ₁₇		OCH ₃	CH ₂ OH
tylosin B	C ₃₉ H ₆₅ N O ₁₄	H	OCH ₃	CHO

Je to směs vlnanů makrolidových antibiotik produkovaných organismem *Streptomyces fradiae* nebo získaná jiným způsobem. Hlavní složkou směsi je tylosinium A tartarat (M_r 1982,29), tj. bis{(11*E*,13*E*)-(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,15*R*,16*R*)-15-[[[(6-deoxy-2,3-di-O-methyl-β-D-allopyranosyl)oxy]-methyl]-6-[[3,6-dideoxy-4-O-(2,6-dideoxy-3-C-methyl-α-L-ribo-hexapyranosyl)-3-(dimethylammonio)-β-D-glukopyranosyl]oxy]-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-7-(2-oxoethyl)-11,13-oxacyklohexadekadien-2,10-dion}tartarat. Tylosin B (demykosini-umtartarat, M_r 1693,97), tylosin C (makrociniumtartarat, M_r 1954,25) a tylosin D (relomycini-umtartarat, M_r 1986,33) mohou být také přítomny a přispívají k účinnosti zkoušené látky. Účinnost je nejméně 800 m.j. v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

Vlastnosti

Téměř bílý nebo slabě žlutý hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v dichlormethanu, těžce rozpustný v ethanolu. Rozpouští se ve zředěných roztocích minerálních kyselin.

4726 † *Tylosini tartras ad usum veterinarium*

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. *tylosiniumtartratu*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Složení, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku se shodují s retenčním časem a velikostí hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C. 30 mg se rozpustí ve směsi 0,15 ml vody R, 2,5 ml *acetanhydridu R* a 7,5 ml *pyridinu R* a nechá se stát asi 10 min; vznikne zelené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 7,2; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,25 g v 10 ml vody *prosté oxidu uhličitého R*.

Složení. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím.* Obsah tylosinu A je nejméně 80,0 % a součet obsahů tylosinu A, tylosinu B, tylosinu C a tylosinu D je nejméně 95,0 %.

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *tylosinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 mg *tylosinu CRL* a 2 mg *tylosinu D CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,20 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *chloristanu sodného R* (200 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu 2,5 (40 + 60); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 290 nm.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Jestliže se chromatogramy zaznamenávají za předepsaných podmínek, je retenční čas tylosinu A asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi píky tylosinu A a tylosinu D nejméně 2,0. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Obsah složek v procentech se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace).

Tyramin. Nejvýše 0,35 %. 50,0 mg se rozpustí ve 25,0 ml odměrné baňce v 5,0 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (3,4 g/l). Přidá se 1,0 ml *pyridinu R* a 2,0 ml nasyceného roztoku *ninhydrinu R* (asi 40 g/l). Baňka se uzavře kouskem hliníkové fólie a zahřívá se 30 min na vodní lázni při 85 °C. Roztok se rychle ochladí a zředí *vodou R* na 25,0 ml. Promíchá se a ihned se měří absorbance (2.2.25) roztoku při 570 nm proti kontrolnímu roztoku. Absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku *tyraminu R* (35 mg/l) v roztoku *kyseliny fosforečné R* (3,4 g/l).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 4,5 %; 1,000 g se 3 h suší při 60 °C při tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 2,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

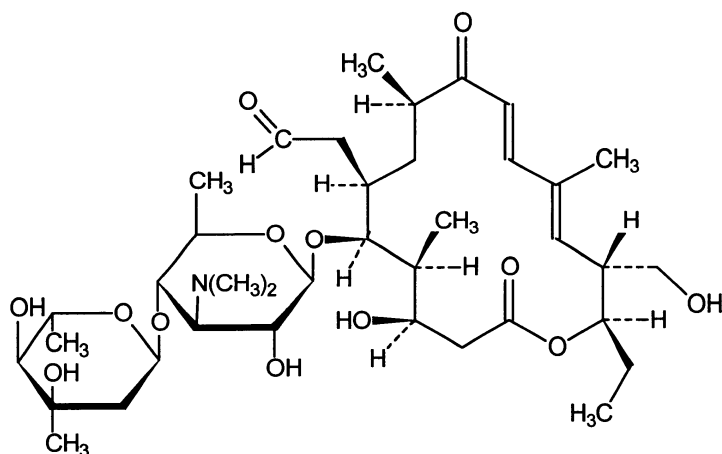
Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2) za použití *tylosinu CRL*.

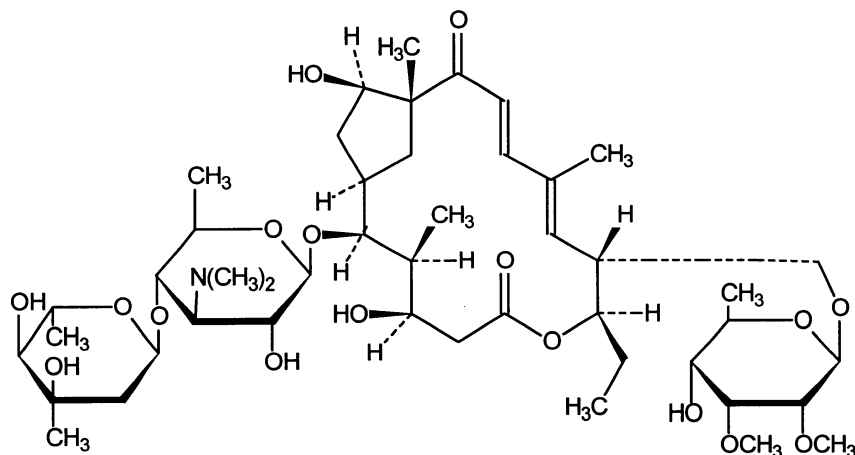
Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.
Separandum.

Nečistoty



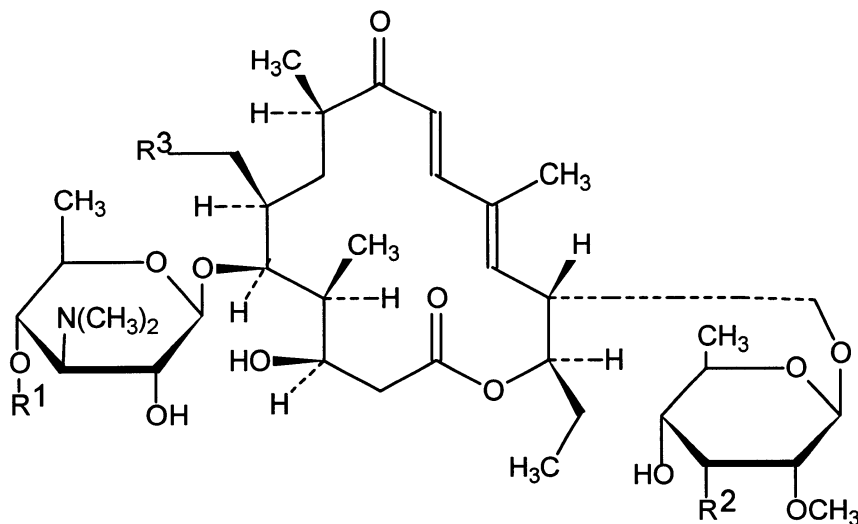
A. demycinosyltylosin,

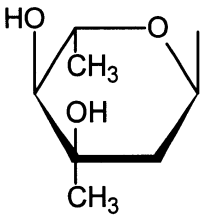
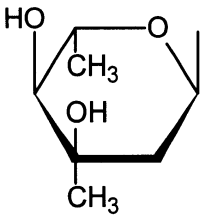
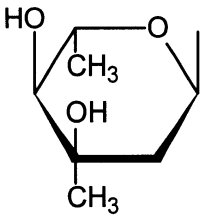


B. aldol tylosinu A.

4728 † *Tylosinum ad usum veterinarium*† **Tylosinum ad usum veterinarium**

Tylosin pro veterinární použití


 1999


Název	Sumární vzorec	R ¹	R ²	R ³
tylosin A	C ₄₆ H ₇₇ N O ₁₇		OCH ₃	CHO
tylosin C	C ₄₅ H ₇₅ N O ₁₇		OH	CHO
tylosin D	C ₄₆ H ₇₉ N O ₁₇		OCH ₃	CH ₂ OH
tylosin B	C ₃₉ H ₆₅ N O ₁₄	H	OCH ₃	CHO

CAS 1401-69-0

Je to směs makrolidových antibiotik produkovaných organismem *Streptomyces fradiae* nebo získaná jiným způsobem. Hlavní složkou směsi je tylosin A (M_r 916,10), tj. (11*E*,13*E*)-(4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,15*R*,16*R*)-15-[[[(6-deoxy-2,3-di-*O*-methyl-β-*D*-allopypyranosyl)oxy]methyl]-6-[[[3,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-α-*L*-ribo-hexopyranosyl)-3-dimethylamino-β-*D*-glukopyranosyl]oxy]-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-7-(2-oxoethyl)-11,13-oxacyklohexadekadien-2,10-dion. Tylosin B (demykosin, M_r 771,94), tylosin C (makrocin, M_r 902,08) a tylosin D (relomycin, M_r 918,12) mohou být také přítomny a přispívají k účinnosti zkoušené látky. Účinnost je nejméně 900 m.j. v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

Vlastnosti

Téměř bílý nebo slabě žlutý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích minerálních kyselin.

Zkoušky totožnosti

- A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem *tylosinu CRL*.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Složení, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku se shodují s retenčním časem a velikostí hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- C.** 30 mg se rozpustí ve směsi 0,15 ml *vody R*, 2,5 ml *acetanhydridu R* a 7,5 ml *pyridinu R* a nechá se stát asi 10 min; nevznikne zelené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 8,5 až 10,5; měří se suspenze 0,25 g v 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

Složení. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím.* Obsah *tylosinu A* je nejméně 80,0 % a součet obsahů *tylosinu A*, *tylosinu B*, *tylosinu C* a *tylosinu D* je nejméně 95,0 %.

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *tylosinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 2 mg *tylosinu CRL* a 2 mg *tylosinu D CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* a zředí se touto směsí rozpouštědel na 10 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,20 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *chloristanu sodného R* (200 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu 2,5 (40 + 60); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 290 nm.

Teplota kolony se udržuje na 35 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Jestliže se chromatogramy zaznamenávají za předepsaných podmínek, je retenční čas *tylosinu A* asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu je rozlišení mezi píky *tylosinu A* a *tylosinu D* nejméně 2,0. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Obsah složek v procentech se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace).

Tyramin. Nejvýše 0,35 %. 50,0 mg se rozpustí ve 25,0 ml odměrné baňce v 5,0 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (3,4 g/l). Přidá se 1,0 ml *pyridinu R* a 2,0 ml nasyceného roztoku *ninhydrinu R* (asi 40 g/l). Baňka se uzavře kouskem hliníkové fólie a zahřívá se 30 min na vodní lázni při 85 °C. Roztok se rychle ochladí a zředí *vodou R* na 25,0 ml. Promíchá se a ihned se měří absorbance (2.2.25) roztoku při 570 nm proti kontrolnímu roztoku. Absorbance není větší než

4730 † *Tylosinum ad usum veterinarium*

absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku *tyraminu R* (35 mg/l) v roztoku *kyseliny fosforečné R* (3,4 g/l).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se 3 h suší při 60 °C při tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

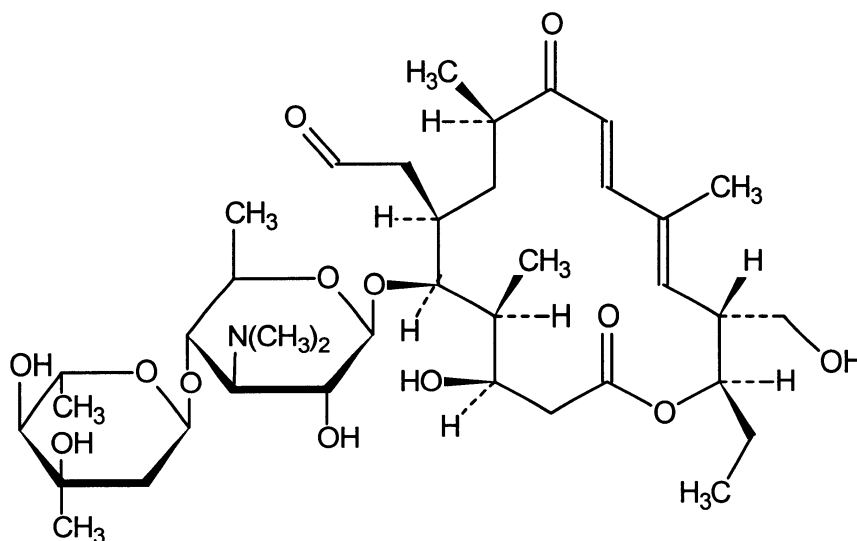
Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2) za použití *tylosinu CRL*.

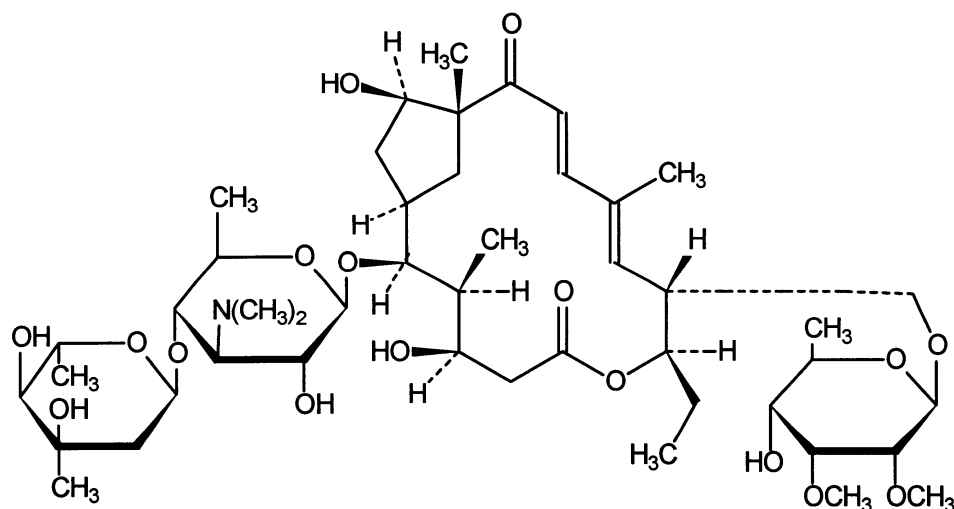
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. demycinosyltylosin,



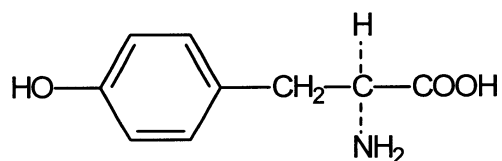
B. aldol tylosinu A.

Tyrosinum¹⁾

Tyrosin



RR99

 $C_9H_{11}NO_3$ M_r 181,19

CAS 60-18-4

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-(4-hydroxyfenyl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_9H_{11}NO_3$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných minerálních kyselinách a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 555 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4732 *Tyrosinum***Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).

- A.** Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *tyrosinu CRL*.
- C.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D.** K asi 50 mg se přidá 1 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*; během 15 min vznikne tmavě červené zbarvení.
- E.** Asi 30 mg se rozpustí ve 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidají se 3 ml čerstvě připravené směsi stejných objemových dílů roztoku *dusitanu sodného R* (100 g/l) a roztoku 0,5 g *kyseliny sulfanilové R* ve směsi 6 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a 94 ml *vody R*; vznikne oranžovočervené zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_7 (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $-11,0^\circ$ až $-12,3^\circ$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,25 g ve směsi stejných objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a *vody R* a zředěním stejnou směsí na 25,0 ml.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v *amoniaku zředěném RS2* a zředí se *vodou R* na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *tyrosinu CRL* se rozpustí v 1 ml *amoniaku zředěného RS2* a zředí se *vodou R* na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *vodou R* na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg *tyrosinu CRL* a 10 mg *fenylalaninu CRL* se rozpustí v 1 ml *amoniaku zředěného RS2* a zředí se *vodou R* na 25 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 32% R* a *1-propanolu R* (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší na vzduchu, postříká se *ninhydrinem RS* a zahřívá se 15 min při 100°C až 105°C . Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 0,25 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 $\mu\text{g/g}$), bez dalšího přidání *kyseliny dusičné*.

Sírany (2.4.13). 0,5 g se opatrným zahřátím rozpustí v 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (300 µg/g).

Amonium (2.4.1). 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 0,2 ml základního roztoku amonia (100 µg NH₄/ml). Oxid hořečnatý těžký R se nahradí 2,0 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*.

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a vytřepává se třikrát 3 min 10 ml *isobutylmethylketonu R1*. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml *vody R* a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; suší se 1,000 g v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R*, přidá se 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 18,12 mg C₉H₁₁NO₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

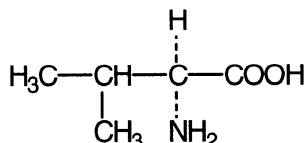
4734 Valinum

Valinum¹⁾

Valin



RR99

 $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$ M_r 117,15

CAS 72-18-4

Je to kyselina (*S*)-2-amino-3-methylbutanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2$.

Výroba

Je-li vyráběn fermentací, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v etheru.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *valinu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Látky reagující s ninhydrinem, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₆ (2.2.2, *Metoda II*).

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +26,5° až +29,0°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,00 g v *kyselině chlorovodíkové RS* a zředěním stejnou kyselinou na 25,0 ml.

¹⁾ *Pharmeuropa* 10, 4, 569 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Látky reagující s ninhydrinem. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,10 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové zředěné RS a zředí se jí na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 50 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg valinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí vodou R na 20 ml.

Porovnávací roztok (c). 10 mg fenylalaninu CRL a 10 mg valinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (a), kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 μ g/g).

Sířany (2.4.13). 0,5 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sířany (300 μ g/g).

Amonium. Připraví se dvě hodinová sklíčka o průměru 60 mm a umístí se těsně vedle sebe. Na vnitřní stěnu horního sklíčka se přilepí čtvereček papíru lakmusového červeného R o velikosti strany 5 mm a navlhčí se několika kapkami vody R. 50 mg upráškované zkoušené látky se umístí na spodní sklíčko a rozpustí se nebo suspenduje v 0,5 ml vody R. K roztoku nebo k suspenzi se přidá 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R a rychle se promíchá skleněnou tyčinkou. Sklíčko s lakmusovým papírem se překlopí na sklíčko se zkoušenou látkou a vzniklá komůrka se zahřívá 15 min při 40 °C. Lakmusový papír není zbarven intenzivněji modře než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 μ g NH_4/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 μ g/g).

Železo (2.4.9). 1,0 g se rozpustí v dělicí nálevce v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vytřepává se třikrát 3 min s 10 ml isobutylmethylketonu RI. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 μ g/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,0 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve 3 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 30 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za použití 0,1 ml naftolbenzeinu RS jako indikátoru do změny hnědožlutého zbarvení na zelené.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 11,71 mg $C_5H_{11}NO_2$.

4736 † *Verapamili hydrochloridum***Uchovávání**

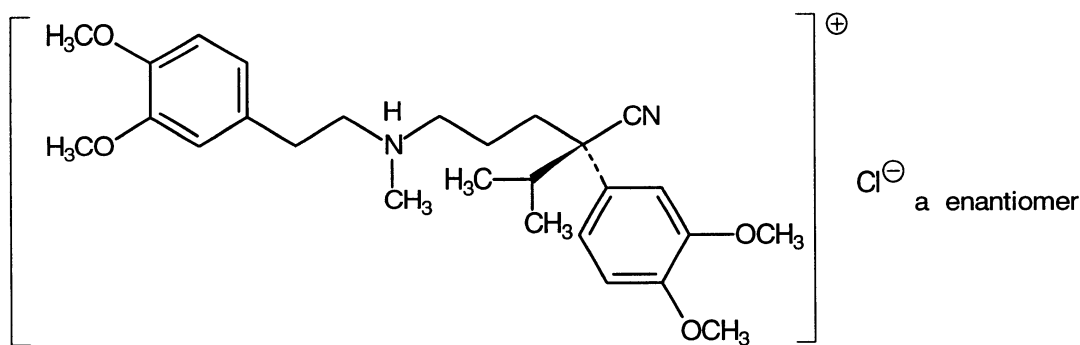
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† Verapamili hydrochloridum

Verapamiliumchlorid



1999

 $C_{27}H_{39}ClN_2O_4$ M_r 491,07

CAS 152-11-4

Je to N-[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl]-N-methyl-N-[[4(4*RS*)-4-(3,4-dimethoxyfenyl)-4-isopropyl-4-kyan]butyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny $C_{27}H_{39}ClN_2O_4$.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, snadno rozpustný v methanolu.

Taje při asi 144 °C.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 20,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou kyselinou na 50,0 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 210 nm až 340 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 229 nm a 278 nm, a prodlevu při 282 nm. Poměr absorbance naměřené v maximum při 278 nm k absorbanci naměřené v maximum při 229 nm je 0,35 až 0,39.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety verapamiliumchloridu CRL.

C. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenční přísadou pro detekci při 254 nm.

† *Verapamili hydrochloridum* 4737

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *verapamiliumchloridu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *papaveriniumchloridu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R* a *cyklohexanu R* (15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

D. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí za mírného zahřívání ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 6,0; měří se roztok S.

Optická otáčivost (2.2.7). $-0,10^\circ$ až $+0,10^\circ$; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi počátečního složení a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *verapamiliumchloridu CRL*, 5 mg *verapamilu nečistoty I CRL* a 5 mg *verapamilu nečistoty M CRL* se rozpustí v mobilní fázi počátečního složení a zředí se jí na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejnou mobilní fází na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází základního složení na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí na 10,0 ml stejnou mobilní fází.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-dekanoylamino-propylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze při průtokové rychlosti 1,5 ml/min a tomto elučním programu:
 - *mobilní fáze A* - roztok *hydrogenfosforečnanu draselného R* (6,97 g/l), jehož pH se upraví na hodnotu 7,20 *kyselinou fosforečnou R*,
 - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 22	63	37	izokraticky přepnutí na druhý izokratický chod
22 - 27	63→35	37→65	
27 - 35	35	65	izokraticky přepnutí na původní podmínky ustalování
35 - 36	35→63	65→37	
36 - 50	63	37	

4738 † *Verapamili hydrochloridum*

- spektrofotometrického detektoru, 278 nm.

Kolona se ustaluje asi 60 min mobilní fází počátečního složení.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (a) a při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: verapamilu asi 16 min, verapamilu nečistoty I asi 21 min a verapamilu nečistoty M, která se eluuje jako dublet, asi 32 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky verapamilu a verapamilu nečistoty I je nejméně 5,0 a dochází k eluci verapamilu nečistoty M.

Nastříkne se 10 μ l porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 15 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se odděleně 10 μ l zkoušeného roztoku a 10 μ l porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Těžké kovy (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (10 μ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku olova (10 μ g Pb/ml).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

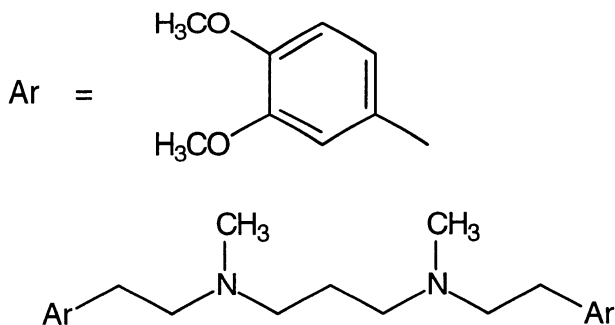
0,400 g se rozpustí v 50 ml *ethanolu R* a přidá se 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 49,11 mg $C_{27}H_{39}ClN_2O_4$.

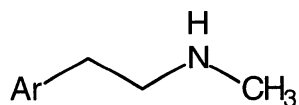
Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

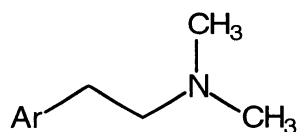
Separandum.

Nečistoty

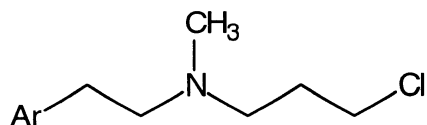
A. N,N'-bis[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl]-N,N'-dimethyltrimethylen-1,3-diamin,



B. N-methyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethylamin,

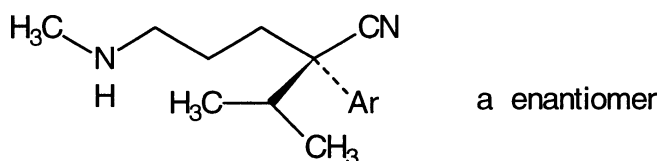


C. N,N-dimethyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethylamin,



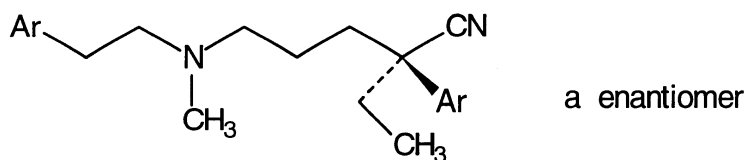
D. N-(3-chloropropyl)-N-methyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethylamin,

E. Ar-CH₂OH: (3,4-dimethoxyfenyl)methanol,

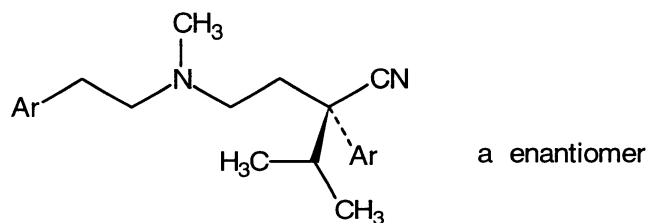


F. (2RS)-2-isopropyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-5-(methylamino)pentannitril,

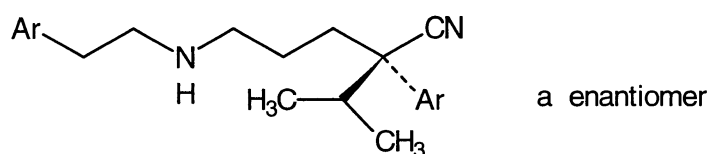
G. Ar-CHO: 3,4-dimethoxybenzaldehyd,



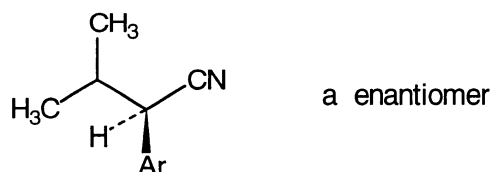
H. (2RS)-2-ethyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-5-[[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl](methylamino)pentannitril,

4740 † *Verapamili hydrochloridum*

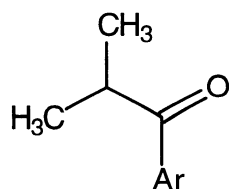
I. (2*RS*)-2-isopropyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-4-{{2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl}(methyl)amino}butannitril,



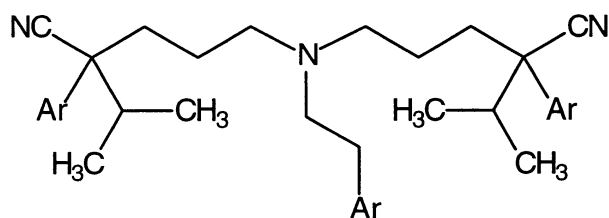
J. (2*RS*)-2-isopropyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-5-{{2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl}amino}pentannitril (N-norverapamil),



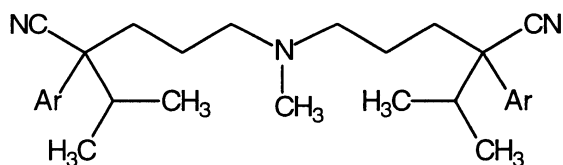
K. (2*RS*)-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-3-methylbutannitril,



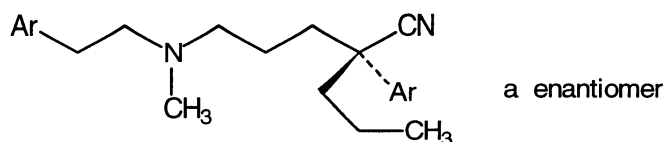
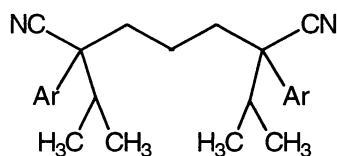
L. isopropyl(3,4-dimethoxyfenyl)keton,



M. 5,5'-{{2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl}imino}bis[2-isopropyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)pentannitril,

† *Vindesini sulfas* 4741

N. 5,5'-(methylimino)bis[2-isopropyl-2-(3,4-dimethoxyfenyl)pentannitril],

O. (2*RS*)-2-(3,4-dimethoxyfenyl)-5-{[2-(3,4-dimethoxyfenyl)ethyl](methyl)amino}-2-propylpentannitril,

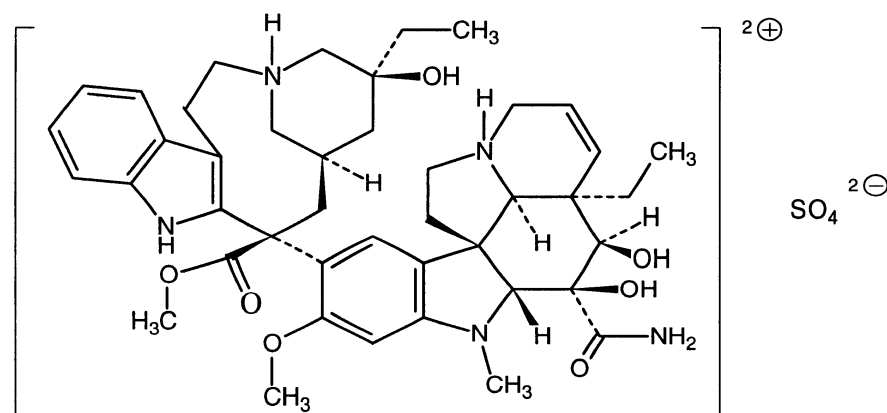
P. 2,6-diisopropyl-2,6-bis(3,4-dimethoxyfenyl)-1,7-heptandinitril.

† **Vindesini sulfas**

Vindesiniumsulfat



1999

C₄₃H₅₇N₅O₁₁SM_r 852,01

CAS 59917-39-4

4742 † *Vindesini sulfas*

Je to (5*S*,7*R*,9*S*)-9-[(3*aR*,4*R*,5*S*,5*aR*,10*bR*,13*aR*)-3*a*-ethyl-4,5-dihydroxy-5-karbamoyl-8-methoxy-6-methyl-3*a*,4,5,5*a*,6,11,12,13*a*-oktahydro-1*H*-indolizino[8,1-*cd*]karbazol-4-ium-9-yl]-5-ethyl-5-hydroxy-9-methoxykarbonyl-1,4,5,6,7,8,9,10-oktahydro-2*H*-3,7-methano-3-azacykloundecino-[4,5-*b*]indol-3-iumsulfat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 96,0 % až 103,0 % sloučeniny C₄₃H₅₇N₅O₁₁S.

Vlastnosti

Bílá nebo téměř bílá amorfni látka, hygroskopická. Je snadno rozpustný ve vodě a v methanolu, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. vindesiniumsulfatu*.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 50 mg se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředí se jí na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok *S* je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž₇* (2.2.2, *Metoda I*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 5,5; měří se roztok *S*.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Připravené roztoky je nutno před použitím uchovávat ve vodě s ledem.*

Zkoušený roztok. 10,0 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou *R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 mg deacetylvinblastinu *CRL* se rozpustí ve vodě *R*, přidá se 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se vodou *R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou *R* na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii *R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 2 ml/min:
 - mobilní fáze *A* - roztok diethylaminu *R* 1,5% (V/V), jehož pH bylo upraveno na hodnotu 7,4 kyselinou fosforečnou *R*,
 - mobilní fáze *B* - methanol *R*,
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 40	49	51	ustalování
40 - 49	49	51	izokraticky
49 - konec	49 → 30	51 → 70	lineární gradient
	30	70	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 270 nm.

Nastříkne se odděleně po 200 µl každého roztoku. Udržuje se konečná koncentrace mobilní fáze, dokud celkový čas záznamu chromatogramů není dvojnásobkem retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je retenční čas vindesinu menší než 40 min; faktor symetrie píku vindesinu je nejvýše 2,0; rozlišení mezi píky vindesinu a deacetylvinblastinu je nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Acetonitril. Nejvýše 1,5 %; provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Roztok vnitřního standardu (a). 0,500 g 1-propanolu R se zředí vodou R na 100,0 ml.

Roztok vnitřního standardu (b). 10,0 ml roztoku vnitřního standardu (a) se zředí vodou R na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 10,0 g acetonitrilu R se zředí vodou R na 1000 ml. Ke 3,0 ml tohoto roztoku se přidá 10,0 ml roztoku vnitřního standardu (a) a zředí se vodou R na 50,0 ml.

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v 1,0 ml roztoku vnitřního standardu (b).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 1,25 m a vnitřního průměru 3 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 60 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 170 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Nastříknou se 3 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky acetonitrilu a 1-propanolu je větší než 1,5 a faktor symetrie píku acetonitrilu je nejvýše 1,6.

Nastříknou se 3 µl porovnávacího roztoku a 3 µl zkoušeného roztoku.

Ztráta sušením. Nejvýše 10,0 %; stanoví se termogravimetricky (2.2.34) s 9,00 mg zkoušené látky. Zahřívá se rychlostí 5 °C/min na teplotu 200 °C v proudě *dusíku pro chromatografii R* s průtokovou rychlostí 40 ml/min.

Sterilita (2.6.1). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Připravené roztoky je nutno před použitím uchovávat v ledové vodě.*

Zkoušený roztok. 5,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). Úplný obsah lahvičky *vindesiniumsulfatu CRL* se rozpustí ve vodě R tak, aby koncentrace roztoku byla přibližně 0,50 mg/ml.

Porovnávací roztok (b). K 1,0 mg *deacetylvinblastinu CRL* se přidají 2,0 ml porovnávacího roztoku (a).

4744 † *Vindesini sulfas*

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min, která je směsí objemových dílů roztoku *diethylaminu R* 1,5% (V/V), jehož pH je upraveno na hodnotu 7,4 *kyselinou fosforečnou R*, a *methanolu R* (38 + 62),
- spektrofotometrického detektoru, 270 nm.

Nastříkne se pětkrát po 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky vindesiniumsulfatu a deacetylvinblastiniumsulfatu je nejméně 1,5; faktor symetrie píku vindesinu je nejvýše 2,0; relativní směrodatná odchylka plochy píku vindesinu, vypočtená z pěti nástřiků, je nejvýše 1,5 %.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a).

Vypočítá se obsah vindesiniumsulfatu (C₄₃H₅₇N₅O₁₁S) za použití deklarovaného obsahu *vindesiniumsulfatu CRL*.

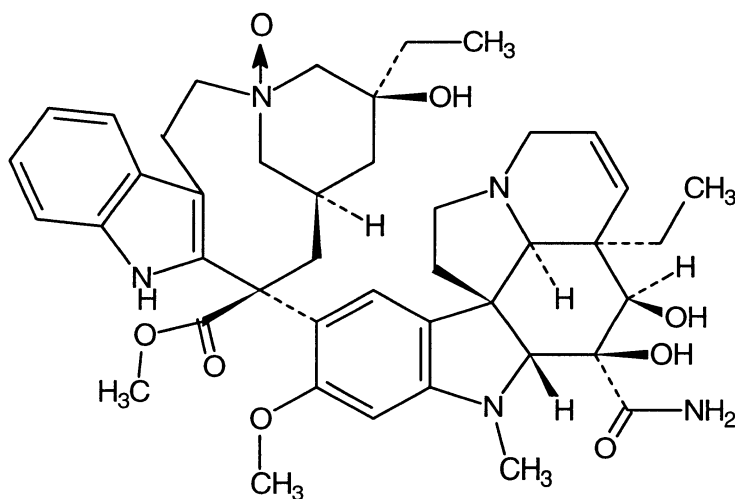
Uchovávání

Ve vzduchotěsných polypropylenových obalech s polypropylenovým uzávěrem, při teplotě nepřevyšující -50 °C. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních, vzduchotěsných, zabezpečených obalech.

Separandum.

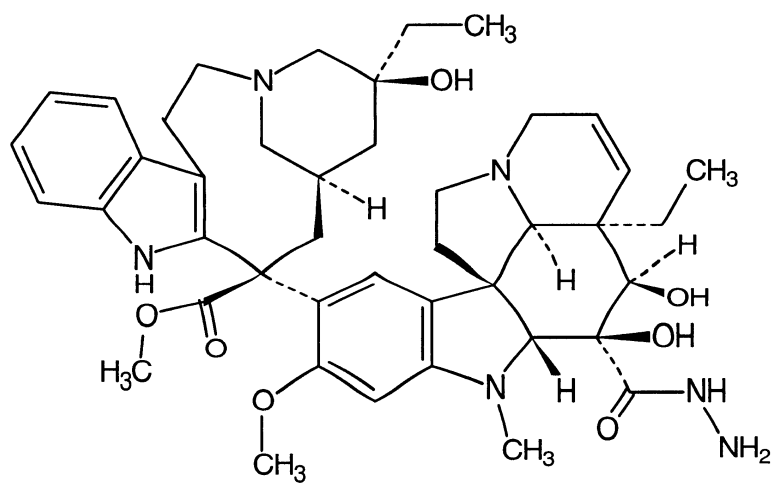
Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka sterilní.

Nečistoty

A. vindesin-3'-N-oxid,

B. vinblastin,

† *Vindesini sulfas* 4745

C. hydrazid deacetylvinblastinu.

4746 *Xanthani gummi*

Xanthani gummi

Xanthanová klovatina

Synonymum. Gummi xanthani

1999

CAS 11138-66-2

Je to vysokomolekulární anionický polysacharid, který vzniká při fermentaci cukrů pomocí mikroorganismu *Xanthomonas campestris*. Skládá se z hlavního řetězce $\beta(1\rightarrow4)$ -spojených D-glukosových jednotek s trisacharidovými vedlejšími řetězci na střídajících se anhydroglukosových jednotkách, sestávajících z jednotky kyseliny glukuronové včleněné mezi dvě mannosové jednotky. Většina koncových jednotek obsahuje pyruvatový podíl a mannosovou jednotku, sousedící s hlavním řetězcem, která může být acetylována na C-6.

Xanthanová klovatina má relativní molekulovou hmotnost přibližně 1×10^6 . Počítáno na vysušenou látku, obsahuje nejméně 1,5 % pyruvoylových skupin ($C_3H_3O_2$; relativní hmotnost skupiny je 71,1). Xanthanová klovatina se vyskytuje ve formě sodné, draselné nebo vápenaté soli.

Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý sypký prášek. Je dobře rozpustná ve vodě za vzniku silně viskózního roztoku, prakticky nerozpustná v organických rozpouštědlech.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se v baňce suspenduje v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*, baňka se uzavře fermentační zátkou obsahující *hydroxid barnatý RS* a 5 min se opatrně zahřívá. Roztok hydroxidu barnatého se bíle zakalí.
- B. K 300 ml *vody R*, předem zahřáté na 80 °C a intenzivně míchané mechanickým míchadlem ve 400ml kádince, se přidá suchá směs obsahující 1,5 g *rohovníkové mo R* a 1,5 g zkoušené látky. Míchá se do úplného rozpuštění a v míchání se pokračuje ještě 30 min nebo déle; během míchání teplota vody nepoklesne pod 60 °C. Pak se míchání přerušuje a směs se nechá stát nejméně 2 h. Při teplotě nižší než 40 °C vzniká tuhý gumovitý gel; gel však nevzniká v 1% kontrolním roztoku vzorku připraveném stejným způsobem, bez přídavku rohovníkové moučky.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,0 až 8,0; měří se roztok zkoušené látky (10,0 g/l).

Viskozita (2.2.10). Nejméně 600 mPa·s při (24 ± 1) °C. 3,0 g se přidají během 45 s až 90 s k 250 ml roztoku *chloridu draselného R* (12 g/l) v 500ml kádince za stálého míchání pomocí vrtulové míchačky při 800 ot/min. Při přidávání zkoušené látky se postupuje opatrně, aby nedocházelo ke tvorbě shluků. Pak se přidá dalších 44 ml *vody R* tak, aby se odstranily ulpívající zbytky zkoušené látky na stěnách kádinky. Míchá se 2 h při 800 ot/min při (24 ± 1) °C. Do 15 min se stanoví viskozita rotačním viskozimetrem při 60 ot/min za použití rotujícího válce o průměru 12,7 mm a výšce 1,6 mm, který je připevněn k pevnému válci o průměru 3,2 mm. Vzdálenost

vrcholu rotujícího válce ke spodnímu konci pevného válce je 25,4 mm a hloubka ponoření je 50,0 mm.

2-propanol. Nejvýše 750 µg/g; provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *terc.butanolu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 0,50 g *terc.butanolu R* se zředí vodou *R* na 500 ml.

Zkoušený roztok. K 200 ml vody *R* v 1000ml baňce s kulatým dnem se přidá 5,0 g zkoušené látky a 1 ml emulze *dimetikonu R* (10 g/l) v *parafínu tekutém R*, baňka se uzavře a 1 h se protřepává. Asi 90,0 ml se destiluje, destilát se smíchá se 4,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou *R* na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. Vhodné, přesně zvážené množství *2-propanolu R* se smíchá s vodou *R* tak, aby získaný roztok známé koncentrace obsahoval asi 1 mg/ml *2-propanolu*. 4,0 ml tohoto roztoku se smíchají se 4,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou *R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 1,8 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R*,
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 165 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 200 °C.

Nastříkne se 5 µl zkoušeného roztoku a 5 µl porovnávacího roztoku. Relativní retenční čas *terc.butanolu* vztažený k *2-propanolu* je asi 1,5.

Jiné polysacharidy. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 10 mg se v silnostěnné odstředivací zkumavce smíchá se 2 ml roztoku *kyseliny trifluorocetové R* (230 g/l) a intenzivně se protřepává až do rozpuštění vzniklého gelu. Zkumavka se uzavře a směs se zahřívá 1 h při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí, čirá supernatantní kapalina se opatrně převede do 50ml baňky, přidá se 10 ml vody *R* a roztok se odpaří za sníženého tlaku do sucha. Ke zbytku se přidá 10 ml vody *R* a odpaří se za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se promyje třikrát 20 ml *methanolu R* a odpaří se za sníženého tlaku do sucha. K výslednému čirému filmu, který není citlivý na kyselinu octovou, se přidá 0,1 ml vody *R* a 1 ml *methanolu R* a odstředěním se oddělí amorfni sraženina. Je-li třeba, supernatantní kapalina se zředí *methanolem R* na 1 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg *glukosy R* a 10 mg *mannosy R* se rozpustí ve 2 ml vody *R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (16 g/l), *1-butanolu R* a *acetonu R* (10 + 40 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se rovnoměrně postříká roztokem obsahujícím 0,5 g *difenylaminu R* v 25 ml *methanolu R*, ke kterému bylo přidáno 0,5 ml *anilinu R* a 2,5 ml *kyseliny fosforečné R*, 5 min se zahřívá při 120 °C a pozoruje se v denním světle. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou ve střední třetině dvě zřetelně oddělené šedohnědé skvrny, odpovídající glukose a mannose. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou skvrny odpovídající skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Nad startem může být jedna slabě načervenalá a dvě slabě modrošedé skvrny a v horní čtvrtině chromatogramu může být jedna nebo dvě modrošedé skvrny. Žádné další skvrny nejsou viditelné.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 15,0 %; 1,000 g se suší 2,5 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). 6,5 % až 16,0 %.

4748 *Xylitolum*

Mikrobiální znečištění. Z celkového počtu živých aerobů je nejvýše 10^3 bakterií a 10^2 hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

Stanovení obsahu

Zkoušený roztok. Množství zkoušené látky odpovídající 120,0 mg vysušené látky se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 20,0 ml.

Porovnávací roztok. 45,0 mg kyseliny pyrohroznové *R* se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 500,0 ml.

10,0 ml zkoušeného roztoku se v 50ml baňce s kulatým dnem smíchá s 20,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a baňka se zváží. Vaří se 3 h na vodní lázni pod zpětným chladičem, zváží se a doplní se na původní hmotnost vodou *R*. 2,0 ml roztoku se v dělicí nálevce smíchají s 1,0 ml dinitrofenylhydraziniumchloridu *RS* a po 5 min stání se přidá 5,0 ml ethylacetatu *R*. Protřepe se a pevné částice se nechají usadit. Horní vrstva se protřepává třikrát 5,0 ml uhličitanu sodného *RS*. Spojené vodné vrstvy se zředí uhličitanem sodným *RS* na 50,0 ml a tekutina se promíchá. Současně a stejným způsobem se postupuje s 10,0 ml porovnávacího roztoku.

Ihned se měří absorbance (2.2.25) obou roztoků při 375 nm za použití uhličitanu sodného *RS* jako kontrolní tekutiny.

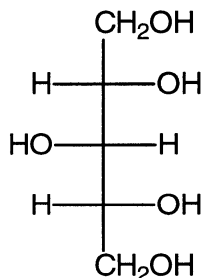
Absorbance zkoušeného roztoku není menší než absorbance porovnávacího roztoku, což odpovídá obsahu nejméně 1,5 % kyseliny pyrohroznové.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Xylitolum**Xylitol**

1999

 $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$ M_r 152,15

CAS 87-99-0

Je to *meso*-xylitol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}_5$.

Vlastnosti

Bílé krystaly nebo krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a mírně rozpustný v lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 92 °C až 96 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *xylitolu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 5,0 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí *vodou R* na 50,0 ml.

Porovnávací roztok. 25 mg *xylitolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *1-butanolu R* a *acetonu R* (10 + 40 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R*, roztoku *anilinu R* (40 g/l) v *lihu 96% R* a roztoku *difenylaminu R* (40 g/l) v *lihu 96% R* (10 + 40 + 50) a zahřívá se 20 min při 110 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,50 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 50,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze IV (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,05 ml *fenolftaleinu RS*. Po přidání nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* se zbarvení indikátoru změní na růžové. K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 0,05 ml *červeně methylové RS*. Po přidání nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* se zbarvení indikátoru změní na červené.

Příbuzné látky. Nejvýše 2,0 %. Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *erythritolu R* jako vnitřního standardu.

Roztok vnitřního standardu. 500 mg *erythritolu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25,0 ml.

Zkoušený roztok. 5,000 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok. Ve *vodě R* se rozpustí po 25,0 mg *L-arabinitolu CRL*, *galaktitolu CRL*, *mannitolu CRL* a *sorbitolu CRL* a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá asi 490 mg přesně zváženého *xylitolu CRL* tak, aby porovnávací roztok obsahoval známou koncentraci *xylitolu CRL* asi 49 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné kyselinou promytou *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* (150 μ m až 180 μ m), impregnovanou 3% *poly(kyanpropyl)(methylfenylmethyl)siloxanem R*,

4750 *Xylitolum*

- dusíku *R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 200 °C a teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Do dvou baněk s kulatým dnem na 100 ml se odpipetuje odděleně po 1,0 ml porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku. Do každé baňky se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a příslušné směsi se odpaří do sucha na vodní lázni při teplotě 60 °C pomocí rotační odparky. Každý zbytek po odpaření se rozpustí v 1 ml *pyridinu bezvodého R*, do každé baňky se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a roztoky se vaří 1 h pod zpětným chladičem do úplné acetylace.

Nastříkne se odděleně po 1 µl roztoku získaného z porovnávacího roztoku a ze zkoušeného roztoku. Při záznamu chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke xylitolu následující: erythritolu asi 0,3; L-arabinolu asi 0,7; xylitolu asi 1,0; galaktitolu asi 1,8; mannitolu asi 2,0; sorbitolu asi 2,2.

Obsah každé ze složek v procentech se vypočte bez použití korekčního faktoru podle vzorce:

$$100 \cdot \frac{m_s}{m_u} \cdot \frac{R_u}{R_s},$$

v němž značí:

m_s - navážku příslušné složky porovnávacího roztoku v miligramech,

m_u - navážku pro přípravu zkoušeného roztoku v miligramech,

R_s - poměr plochy píku derivatizované složky k ploše píku derivatizovaného erythritolu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

R_u - poměr plochy píku derivatizované složky k ploše píku derivatizovaného erythritolu na chromatogramu zkoušeného roztoku.

Obsah příbuzných látek v procentech se vypočítá jejich součtem.

Redukující cukry. 5,0 g se rozpustí za mírného zahřátí ve 3 ml *vody R*, ochladí se a přidá se 20 ml *citronanu měďnatého RS* a několik skleněných kuliček. Zahřívá se tak, aby k varu došlo za 4 min, a vaří se 3 min. Rychle se ochladí a přidá se 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* 2,4 % (V/V) a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/l VS*. Za stálého třepání se přidá 25 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *vody R* (6 + 94) a po rozpuštění sraženiny se přebytek jodu titruje *thiosíranem sodným 0,05 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS*, který se přidá ke konci titrace. Spotřebuje se nejméně 12,8 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/l VS* (0,2 %).

Olovo (2.4.10). Vyhovuje limitní zkoušce na olovo v cukrech (0,5 µg/g).

Nikl (2.4.15). Vyhovuje limitní zkoušce na nikl v polyolech (1 µg/g). Látka se rozpustí ve 150,0 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h ve vakuu při 60 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 4 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky o koncentraci xylitolu menší než 100 g/l a nejvýše 2,5 m.j. endotoxinu v gramu pro parenterální přípravky o koncentraci xylitolu 100 g/l nebo vyšší.

Mikrobiální znečištění. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků, je celkový počet živých aerobů (2.6.12) nejvýše 10^2 bakterií a 10^2 hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13) a *Salmonella* (2.6.13).

Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 20,0 ml roztoku jodistanu draselného R (21,4 g/l) a 2,0 ml kyseliny sírové zředěné RS a zahřívá se přesně 15 min na vodní lázni. Roztok se ochladí a přidají se 3 g hydrogenuhličitanu sodného R, za malou chvíli pak 25,0 ml arsenitanu sodného 0,1 mol/l VS a promíchá se. Přidá se 5 ml roztoku jodidu draselného R (200 g/l) a nechá se stát 15 min. Titruje se jodem 0,5 mol/l VS až do vzniku prvního žlutého zbarvení. Provede se slepá zkouška.

1 ml jodu 0,5 mol/l VS odpovídá 19,01 mg C₅H₁₂O₅.

Uchovávání

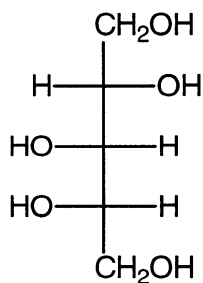
V dobře uzavřených obalech.

Označování

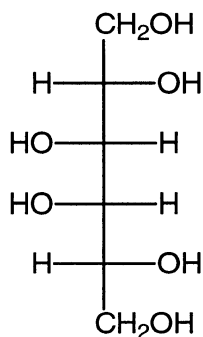
V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné:

- nejvyšší koncentrace bakteriálních endotoxinů,
- zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních lékových forem.

Nečistoty



A. L-arabinitol (arabitol),



B. galaktikol,

C. mannitol,

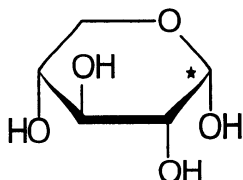
D. sorbitol (D-glucitol).

4752 *Xylosum***Xylosum**

Xylosa



1998



a epimer na C*

 $C_5H_{10}O_5$ M_r 150,13

CAS 6763-34-4

Je to (+)-D-xylopyranosa.

Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé jehlice. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v horkém lihu 96%.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *xylosy CRL*.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *xylosy CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *fruktosy R*, 10 mg *glukosy R* a 10 mg *xylosy R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *methanolu R* (2 + 3) a zředí se stejnou směsí na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a důkladně se vysuší startovací body. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R*, *kyseliny octové bezvodé R* a *dichloroethanu R* (10 + 15 + 25 + 50) po dráze 15 cm.

Rozpouštědla by měla být odměřována přesně, protože nepatrný přebytek vody způsobuje zákal. Vrstva se usuší v proudu horkého vzduchu a postříká se roztokem *thymolu R* (5 g/l) ve směsi 5 ml *kyseliny sírové R* a 95 ml *lihu 96% R*. Zahřívá se 10 min v sušárně při 130 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou tři zřetelně oddělené skvrny.

C. 0,1 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. Přidají se 3 ml *vínanu měďnatého RS* a zahřívá se; vzniká oranžová až červená sraženina.

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 50 ml roztoku S se přidá 0,3 ml *fenolftaleinu RS1*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru na růžové se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). $+18,5^{\circ}$ až $+19,5^{\circ}$, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 10,0 g v 80 ml *vody R*, přidáním 1 ml *amoniaku zředěného RS2* a zředěním *vodou R* na 100,0 ml. Nechá se 30 min stát.

Chloridy (2.4.4). 1,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (330 $\mu\text{g/ml}$).

Těžké kovy (2.4.8). 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (20 $\mu\text{g/ml}$). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova* (2 $\mu\text{g Pb/ml}$).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C za tlaku nepřevyšujícího 0,7 kPa.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

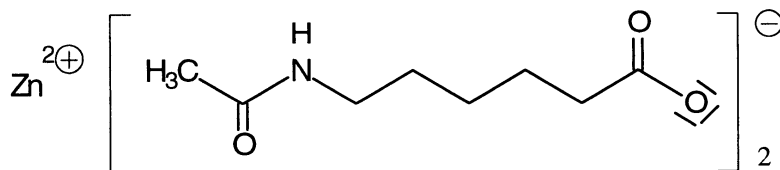
4754 † Zinci acexamas

† Zinci acexamas

Zinečnatá sůl kyseliny acexamové



1998

 $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{Zn}$ M_r 409,80

CAS 70020-71-2

Je to zinečnatá sůl kyseliny 6-(acetylamino)hexanové. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,5 % až 101,0 % sloučeniny $\text{C}_{16}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{Zn}$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v acetonu a lihu 96%. Rozpouští se ve zředěné kyselině dusičné.

Taje při asi 198 °C.

Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem zinečnaté soli kyseliny acexamové CRL.
- B. 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze IV (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 7,0; měří se roztok S.

Kyselina 6-aminohexanová. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,30 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Porovnávací roztok. 15 mg kyseliny 6-aminohexanové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μl každého roztoku, nechá se vysušit na vzduchu a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 17,5% RS, vody R a lihu 96% R (2 + 30 + 68) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu, postříká se ninhydrinem RS a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna odpovídající kyseli-

ně 6-aminohexanové intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok (a). 0,50 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Zkoušený roztok (b). K 20,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 20,0 ml mobilní fáze, 0,4 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (100 g/l) a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 40 mg *N-acetyl-ε-kaprolaktamu R* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 20 mg *zinečnaté soli kyseliny acexamové nečistoty A CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 40 mg *ε-kaprolaktamu R* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (e). K 20,0 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (b), 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) a 5,0 ml porovnávacího roztoku (d), 0,4 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (100 g/l) a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (f). K 5,0 ml porovnávacího roztoku (c) se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (b), 5,0 ml porovnávacího roztoku (d), 0,4 ml roztoku *kyseliny fosforečné R* (100 g/l) a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (0,2 + 8 + 92), jejíž pH se upraví *amoniakem zředěným RS1* na hodnotu 4,5, s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek se látky elují v tomto pořadí: zinečnatá sůl kyseliny acexamové, ε-kaprolaktam, zinečnatá sůl kyseliny acexamové nečistota A a N-acetyl-ε-kaprolaktam. Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (e). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající osminásobku retenčního času zinečnaté soli kyseliny acexamové. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška píku odpovídajícího zinečnaté soli kyseliny acexamové nečistotě A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (zinečnatá sůl kyseliny acexamové) a druhým píkem (ε-kaprolaktam) je nejméně 3,0. Pokud je to nutné, upraví se pH mobilní fáze na hodnotu 4,7 *amoniakem zředěným RS1*.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (f). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b): plocha píku odpovídajícího N-acetyl-ε-kaprolaktamu není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,1 %); plocha píku odpovídajícího zinečnaté soli kyseliny acexamové nečistotě A není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (2 %); plocha píku odpovídajícího ε-kaprolaktamu není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího zinečnaté soli kyseliny acexamové nečistotě A, není větší než pětina plochy píku N-acetyl-ε-kaprolaktamu na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,5násobek plochy píku N-acetyl-ε-kaprolaktamu na chromatogramu porovnávacího roztoku (f).

4756 † *Zinci acexamas*

Arsen (2.4.2). 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (2 µg/g).

Kadmium. Nejvýše 2 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Zkoušený roztok. 2,50 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *kadmia* (1 mg Cd/ml) zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l).

Měří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Železo. Nejvýše 50 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Zkoušený roztok. 1,25 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *železa* (20 µg Fe/ml) zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l).

Změří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Olovo. Nejvýše 10 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Zkoušený roztok. 5,00 g se rozpustí ve 20 ml roztoku *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml.

Porovnávací roztoky. Připraví se za použití základního roztoku *olova* (1 mg Pb/ml) zředěním roztokem *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R* (200 g/l).

Změří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stanovení obsahu

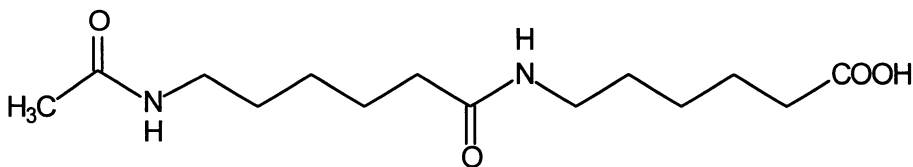
0,400 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové zředěné RS* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 40,98 mg C₁₆H₂₈N₂O₆Zn.

Uchovávání

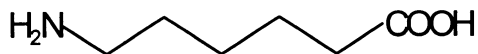
V dobře uzavřených nekovových obalech.
Separandum.

Nečistoty

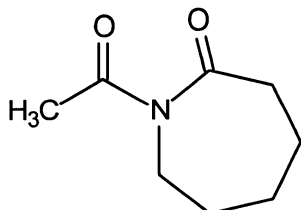


A. kyselina 6-[[6-(acetylamino)hexanoyl]amino]hexanová,

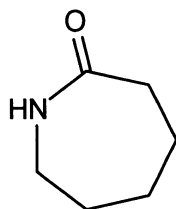
Zinci undecylenas 4757



B. kyselina 6-aminohexanová (kyselina 6-aminokapronová),



C. 1-acetylhexahydro-2H-azepin-2-on (N-acetyl-ε-kaprolaktam),



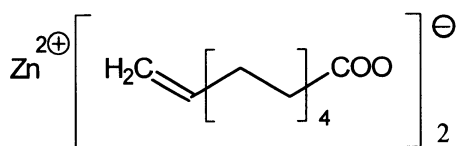
D. hexahydro-2H-azepin-2-on (ε-kaprolaktam).

Zinci undecylenas¹⁾

Undecylenan zinečnatý



RR99

C₂₂H₃₈O₄ZnM_r 431,92

CAS 557-08-4

Je to zinečnatá sůl kyseliny 10-undecenové. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C₂₂H₃₈O₄ Zn.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru. Taje při 116 °C až 121 °C, ale v tavenině může zůstat malý zbytek pevné látky.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 317 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4758 *Zinci undecylenas***Zkoušky totožnosti**

- A.** K 2,5 g se přidá 10 ml *vody R* a 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a protřepe se dvakrát 10 ml *etheru R*. Vodná vrstva se uchová pro zkoušku C. Spojené etherové vrstvy se promyjí *vodou R* a odpaří se do sucha. K odparku se přidají 2 ml čerstvě destilovaného *anilinu R* a 10 min se vaří pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit, přidá se 30 ml *etheru R* a protřepe se třikrát 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a jednou 20 ml *vody R*. Organická vrstva se odpaří do sucha na vodní lázni, odparek se dvakrát rekrystalizuje z *lihu R 70% (V/V)* a suší se 3 h ve vakuu. Taje (2.2.14) při 66 °C až 68 °C.
- B.** 0,1 g se rozpustí ve směsi 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 5 ml *kyseliny octové ledové R* a po kapkách se přidá 0,25 ml *manganistanu draselného RS*. Roztok manganistanu draselného se odbarví.
- C.** Směs 1 ml vodné vrstvy ze zkoušky A a 4 ml *vody R* vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Zásaditě reagující látky. 1,0 g se smíchá s 5 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *červeně fenolové RS* a 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a ihned se hodnotí; roztok se nezbarví červeně.

Alkalické kovy a kovy alkalických zemin. K 1,0 g se přidá 25 ml *vody R* a 5 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zahřeje se k varu. Za horka se filtruje a zbytek na filtru se promyje 25 ml horké *vody R*. Filtrát a promývací tekutina se spojí a zalkalizují *amoniakem 26% R*. Přidá se 7,5 ml *thioacetamidu RS* a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Zfiltruje se a sraženina se promyje dvakrát 10 ml *vody R*. Filtrát a promývací tekutiny se spojí, na vodní lázni se odpaří do sucha a odparek se vyžihá. Zbytek váží nejvýše 20 mg (2 %).

Sírany (2.4.13). K 0,1 g se přidá směs 2 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 10 ml *vody destilované R* a zahřeje se k varu. Ochladí se, zfiltruje a filtrát se zředí *vodou destilovanou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku *síranů (10 µg SO₄/ml)* a 10 ml *vody destilované R*.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 1,5 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Stupeň nenasycenosti. 0,100 g se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 30 ml *kyseliny octové ledové R*. Titruje se *bromičnanem draselným 0,0167 mol/l* s *bromidem draselným VS* do změny modrého zbarvení na žluté za použití 0,05 ml *indigokarmínu RS1* jako indikátoru přidaného ke konci titrace. Spotřeba *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l* s *bromidem draselným VS* je 9,1 ml až 9,4 ml. Provede se slepá zkouška.

Stanovení obsahu

K 0,350 g se přidá 25 ml *kyseliny octové zředěné RS* a zahřeje se k varu. Provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 43,19 mg C₂₂H₃₈O₄Zn.

Uchovávání

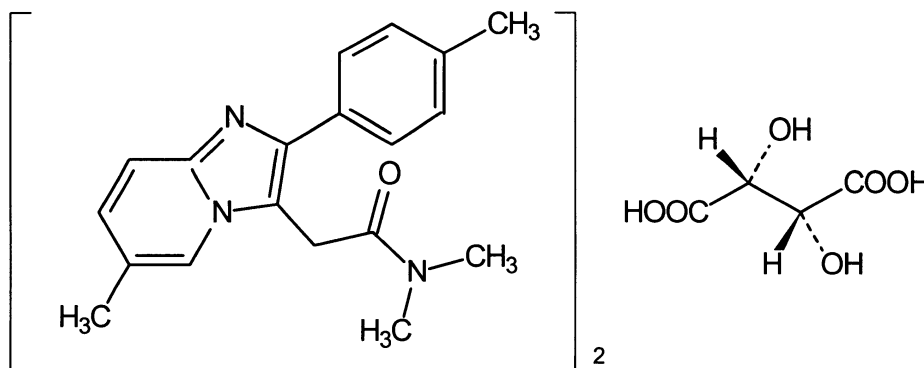
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

† Zolpidemi tartras 4759

† Zolpidemi tartras

Zolpidemiumtartarat

1999

 $C_{42}H_{48}N_6O_8$ M_r 764,88

CAS 99294-93-6

Je to bis{N,N-dimethyl-2-[6-methyl-2-(4-methylfenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl]acetamid}-*(2R,3R)*-2,3-dihydroxybutandioat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny $C_{42}H_{48}N_6O_8$.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a C.

Alternativní sestava zkoušek: B a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. 0,10 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*, přidá se 10 ml *vody R* a po kapkách za stálého míchání 1 ml *amoniaku zředěného RS2*. Sraženina se zfiltruje, promyje se *vodou R* a pak se suší 2 h při 100 °C až 105 °C (zkoušený zbytek). Stejný postup se provede za použití *zolpidemiumtartaratu CRL* (porovnávací zbytek). Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety připravené ze zkoušeného zbytku se shoduje se spektrem tablety připravené z porovnávacího zbytku.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F₂₅₄ pro TLC R*.

Zkoušený roztok. 50 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R*, přidá se 0,1 ml *diethylaminu R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 50 mg *zolpidemiumtartaratu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R*, přidá se 0,1 ml *diethylaminu R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

4760 † Zolpidemi tartras

Porovnávací roztok (b). 50 mg *flunitrazepamu CRL* se rozpustí v 5 ml *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se smíchá s 1 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *cyklohexanu R* a *ethylacetatu R* (10 + 45 + 45) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

C. Asi 0,1 g se rozpustí mírným zahřátím v 1 ml *methanolu R*. 0,1 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce (b) na vínany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. *Roztoky se připravují za ochrany před světlem a zkouška se provede co nejrychleji.* 0,25 g se rozetře s 0,125 g *kyseliny vinné R*. Směs se rozpustí v 10 ml *vody R* a zředí se jí na 25 ml. Takto připravený roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok \check{Z}_6 nebo $H\check{Z}_6$ (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 5 mg *zolpidemu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50 ml. K 10 ml tohoto roztoku se přidá 10 ml porovnávacího roztoku (a).

Porovnávací roztok (c). 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (4 μ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R*, *methanolu R* a *kyseliny fosforečné 0,05 mol/l RS* (18 + 23 + 59), jejíž hodnota pH byla upravena na 5,5 *triethylaminem R*,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška píku odpovídajícího zolpidemu nečistotě A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píkem zolpidemu nečistoty A a píkem zolpidemiumtartaratu nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 μ l zkoušeného roztoku a 20 μ l porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší, než je 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c), a k žádnému píku (s relativním retenčním časem 0,16 vztaženým k píku zolpidemu) odpovídajícímu kyselině vinné.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

† Zolpidemi tartras 4761

Stanovení obsahu

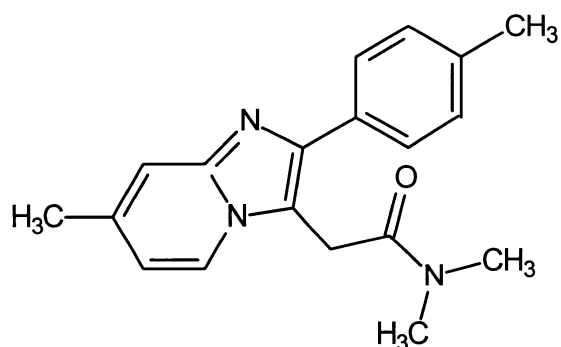
0,300 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové bezvodé R* a 20 ml *acetanhydridu R*. Titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 38,24 mg $C_{42}H_{48}N_6O_8$.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

Nečistoty

A. N,N-dimethyl-2-[7-methyl-2-(4-methylfenyl)imidazo[1,2-*a*]pyridin-3-yl]acetamid.

4762 *Gummi manducabile medicinale*

6.2 Léčivé přípravky

6.2.1 Obecné články lékových forem

Gummi manducabile medicinale



Léčivé žvýkácké gummy

1998

Léčivé žvýkácké gummy jsou tuhé jednodávkové přípravky, které jsou tvořeny hlavně gumou určenou ke žvýkání, nikoli k polykání.

Obsahují jednu nebo více léčivých látek, které se uvolňují při žvýkání. Podle rozpouštění nebo rozptýlení léčivé látky (látek) ve slinách jsou žvýkácké gummy určeny k použití při:

- místní léčbě onemocnění dutiny ústní,
- systémové distribuci po absorpci sliznicí dutiny ústní nebo gastrointestinálním traktem.

Výroba

Léčivé žvýkácké gummy jsou vyráběny ze žvýkáckého polymerního základu, který je bez chuti a je tvořen přírodními nebo syntetickými elastomery. Mohou obsahovat další pomocné látky, jako jsou plniva, změkčovadla, sladidla, aromatické přísady, stabilizátory, barviva a plastifikátory schválené oprávněnou autoritou.

Léčivé žvýkácké gummy jsou vyráběny lisováním, případně změkčením nebo tavením žvýkáckého polymerního základu a postupným přidáváním dalších látek. V případě tavení jsou žvýkácké gummy zpracovány do požadovaného tvaru. Pokud je nutná ochrana před vlhkostí a světlem, mohou být potaženy ochranným povlakem.

Není-li předepsáno a schváleno jinak, provádí se vhodná zkouška prokazující průběh uvolňování účinných látek.

Při výrobě, balení, skladování a distribuci léčivých žvýkáckých gum se využívá vhodných prostředků k zajištění jejich mikrobiální kvality; odpovídající doporučení jsou uvedena ve stati *Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4)*.

Zkoušky na čistotu

Obsahová stejnoměrnost (2.9.6). Pokud není oprávněnou autoritou stanoveno jinak, žvýkácké gummy s obsahem účinné látky menším než 2 mg nebo menším než 2 % celkové hmotnosti vyhovují zkoušce A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Jestliže přípravek obsahuje více účinných látek, stanovení se provede pouze u těch látek, které odpovídají výše uvedeným podmínkám.

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Nepotažené i potažené žvýkácké gummy (pokud není předepsáno a schváleno jinak) vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem. Jestliže zkouška na obsahovou stejnoměrnost je předepsána pro všechny účinné látky, není zkouška na hmotnostní stejnoměrnost požadována.

Uchovávání

Nepotažené léčivé žvýkácké gummy se uchovávají za ochrany před vlhkostí a světlem.

Inhalanda



Inhalační přípravky

1999

Jsou to tekuté nebo tuhé přípravky určené k podání ve formě par nebo aerosolů do plic k místnímu nebo celkovému účinku. Obsahují jednu nebo několik léčivých látek rozpuštěných nebo dispergovaných ve vhodném vehikulu.

Inhalační přípravky mohou, podle typu přípravku, obsahovat propelenty, rozpouštědla, ředidla, protimikrobní přísady, solubilizátory nebo stabilizátory apod. Pomocné látky nemají nepříznivý účinek na funkci mukózy nebo cilií v dýchacích cestách.

Inhalační přípravky se dodávají ve vícedávkových nebo jednodávkových obalech. Jsou-li v tlakovém balení, vyhovují požadavkům článku *Praeparata pharmaceutica in vasis cum pressu*.

Přípravky určené k podání ve formě aerosolů (disperze pevných nebo kapalných částic v plynu) se aplikují jedním z těchto zařízení:

- rozprašovačem (nebulizerem),
- dávkovacím tlakovým inhalátorem,
- inhalátorem pro suchý prášek.

Výroba

Při vývoji inhalačního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady k uspokojení oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení a kritéria pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku jsou popsány ve stati *Účinnost protimikrobních konzervačních látek (5.1.3)*.

Kontrola velikosti inhalovaných aerosolových částic zajistí, aby se podstatná část částic dostala do plic. Frakce jemných částic inhalačních přípravků se stanoví vhodnou metodou pro *Aerodynamické stanovení jemných částic (2.9.18)*.

Při stanovení stejnoměrnosti podané dávky může výrobce použít alternativní postupy posuzující více inhalátorů. Tak má být zajištěno splnění lékopisných požadavků u všech inhalátorů.

Tlakové dávkovací inhalátory jsou zkoušeny na těsnost a kontaminaci cizími částicemi.

Označování

V označení na obalu dávkovaného přípravku se uvede:

- aplikační dávka, s výjimkou přípravků, pro které byla dávka pevně stanovena jako odměřená dávka,
- kde je to vhodné, počet podání (stříků, insuflací) z balení pro dosažení minimální doporučené dávky,
- počet dávek v balení přípravku.

Kde je to vhodné, v označení na obalu se uvádějí názvy všech protimikrobních přísad.

Inhalanda liquida

Tekuté inhalační přípravky

Lze rozlišit tři druhy tekutých inhalačních přípravků:

4764 Inhalanda

- přípravky určené k vypařování,
 - tekutiny k rozprašování,
 - dávkované tlakové přípravky pro inhalaci.
- Tekuté inhalační přípravky jsou roztoky nebo disperze.

Disperze jsou snadno homogenizovatelné protřepáním a jsou natolik stabilní, aby bylo umožněno podání správné dávky. Mohou se použít vhodné pomocné látky.

Inhalanda vaporem formantia**Inhalační přípravky tvořící páry**

Jsou to roztoky, disperze nebo tuhé přípravky, které se obvykle přidávají do horké vody a výpary se inhalují.

Liquida nebulam formantia**Kapaliny pro rozprašování**

Jsou to přípravky určené k přeměně na aerosoly pomocí kontinuálně pracujících rozprašovačů nebo dávkovacích rozprašovačů. Tvoří je roztoky, suspenze nebo emulze. Ke zlepšení rozpustnosti léčivých látek lze použít vhodná rozpouštědla a solubilizátory.

Kapaliny pro rozprašování v koncentrovaném stavu se před použitím v kontinuálně pracujících rozprašovačích ředí na předepsaný objem předepsanou kapalinou. Kapaliny pro rozprašování mohou být také připraveny z prášků.

Vodné tekutiny v kontinuálně pracujících rozprašovačích mají hodnotu pH 3 až 8,5.

Suspenze a emulze se snadno zhomogenizují protřepáním a zůstávají dostatečně stabilní, což umožní podat správnou dávku.

Vodné přípravky pro inhalaci se dodávají ve vícedávkových obalech. Pokud přípravek nemá přiměřené protimikrobní vlastnosti, může obsahovat vhodnou protimikrobní přísadu v odpovídající koncentraci.

Kontinuálně pracující rozprašovače jsou zařízení přeměňující kapaliny na aerosoly pomocí vysokého tlaku plynů, ultrazvukových vibrací nebo jinými způsoby. Tato zařízení umožňují při vhodné rychlosti tvorbu částic o vhodné velikosti, a tím jejich inhalaci a vpravení do plic.

Dávkovací rozprašovače jsou zařízení přeměňující kapaliny na aerosoly pomocí vysokého tlaku plynů, ultrazvukových vibrací nebo jinými způsoby. Objem kapaliny tvořící aerosol je odměřen tak, aby dávka aerosolu mohla být inhalována jedním vdechnutím.

Inhalanda in vasis cum pressu doses emittentia**Dávkované tlakové přípravky pro inhalaci**

Jsou to roztoky, suspenze nebo emulze dodávané ve speciálních nádobách (tlakovkách) opatřených dávkovacím ventilem. Tyto přípravky jsou udržovány pod tlakem vhodnými hnacími plyny nebo vhodnou směsí zkvalněných propelentů, které mohou být současně rozpouštědly. Mohou se přidat vhodná rozpouštědla, solubilizátory a stabilizátory.

Podaná dávka je dávka, která je z inhalátoru podána pacientovi. U některých přípravků je dávka pevně stanovena jako odměřená dávka. Odměřenou dávku určuje množství přípravku vložené do zařízení. Odměřenou dávku lze stanovit také přímo.

Zkoušení

Stejnóměrnost podané dávky. Tlakové nádoby se obvykle používají v obrácené poloze. Pro nádoby, s nimiž se pracuje ve vzpřímené poloze, se použije srovnatelná zkouška využívající metod zajišťujících úplné zachycení podané dávky uvolněné z ventilu u vzpřímené tlakovky. Inhalátor se vždy připraví podle pokynů v instrukcích pro pacienta.

Použije se zařízení kvantitativně zachycující podanou dávku.

Vhodné zařízení je na obrázku 1. Skládá se z držáku filtru, sběrné trubice a adaptéru pro náustek inhalátoru. V držáku filtru je podložka pro filtr, např. mřížka z nerezové oceli. Sběrnou trubici lze přišroubovat nebo upevnit k držáku filtru. Adaptér má vzduchotěsně upevnit náustek inhalátoru k zařízení. Použije se adaptér, který zajistí, aby čelo náustku bylo zarovnáno se vstupní částí sběrné trubice. Přípojka na vakuum se spojí se systémem zahrnujícím zdroj vakua a regulaci průtoku. Sání vzduchu procházejícího celým zařízením, zahrnujícím filtr a nasazený inhalátor, je upraveno na rychlost $(28,3 \pm 1,5)$ l/min. Vzduch by měl kontinuálně procházet zařízením tak, aby byla vyloučena ztráta léčiva do atmosféry. Držák filtru je uzpůsoben k použití kruhových filtrů o průměru 25 mm. Filtr a další materiály tvořící zařízení jsou kompatibilní s léčivem a rozpouštědly, které se použijí k extrakci léčiva z filtru. Jeden konec sběrací trubice je přizpůsoben k těsnému uchycení kruhového filtru k základní části držáku filtru. Po sestavení jsou jednotlivé spoje zařízení vzduchotěsné. Připojením vakua k držáku filtru veškerý vzduch procházející sběracím zařízením prošel inhalátorem.

Hodnotí se první tři dávky z plného obalu přípravku, čtyři dávky z poloprázdného a dále poslední tři dávky podle počtu dávek udaných na obalu.

Není-li v instrukcích pro pacienty předepsáno jinak, třepe se inhalátorem 5 s a vystříkne se jednou do odpadu. Po připojení k zařízení se vystříkne aerosol stisknutím ventilu na dobu zajišťující kompletní výstřík. Celý postup se opakuje, až počet vystříknutí odpovídá minimálně doporučené dávce. Extrahuje se, kvantitativně se shromáždí obsah ze zařízení a stanoví se množství účinné látky.

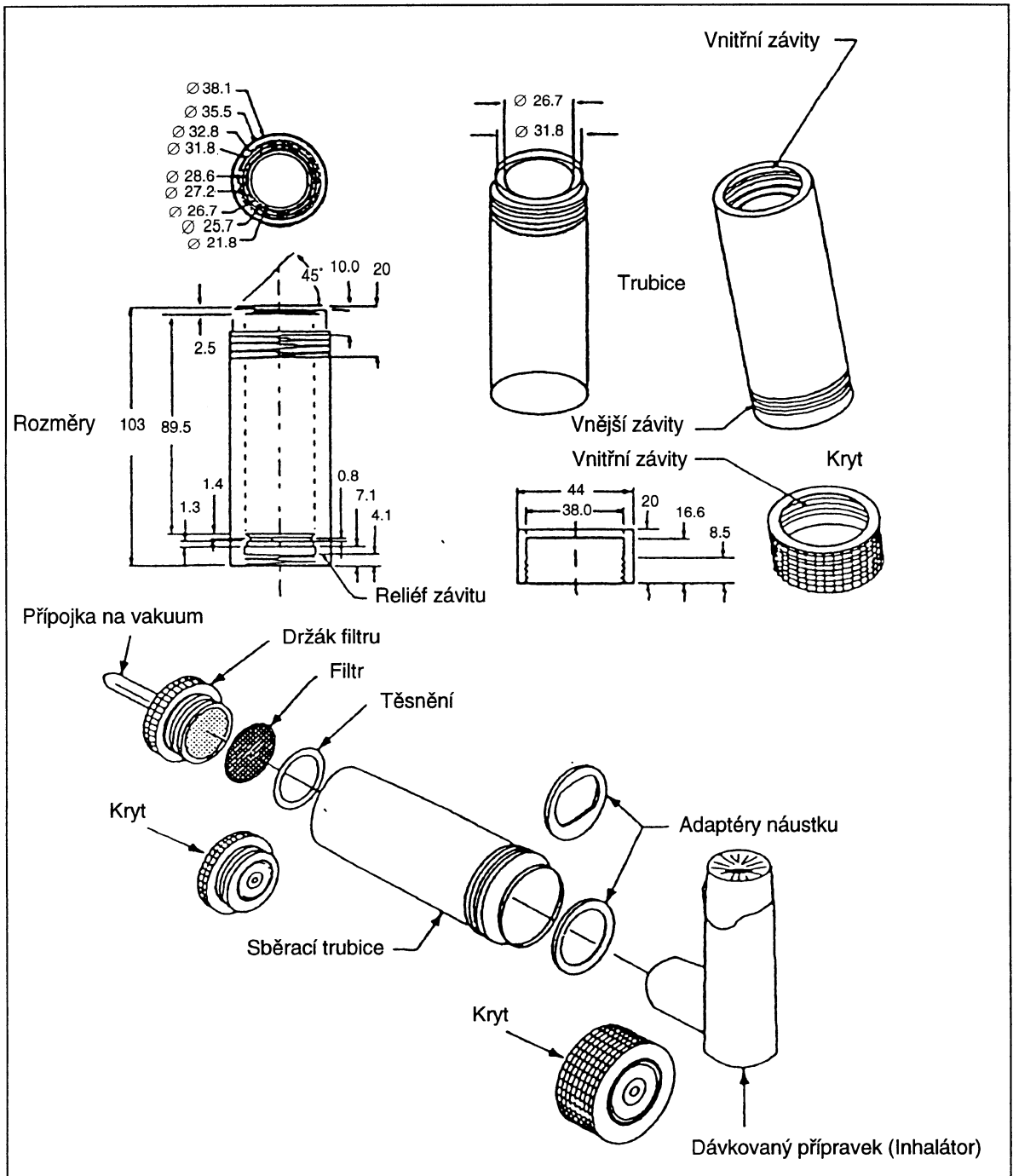
Postup se opakuje s dalšími dvěma dávkami.

Přípravek se vyprazdňuje do odpadu s přestávkami nejméně 5 s mezi jednotlivými výstříky tak dlouho, až v obalu zůstane $n/2 + 1$ dávka, kde n je počet dávek uvedených v označení na obalu. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy čtyř dávek.

Přípravek se dále vyprazdňuje do odpadu s přestávkami nejméně 5 s mezi jednotlivými výstříky, až v obalu zůstanou tři dávky. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy tří dávek.

U přípravků obsahujících více účinných látek se provede zkouška stejnoměrnosti podané dávky pro každou účinnou látku.

4766 Inhalanda

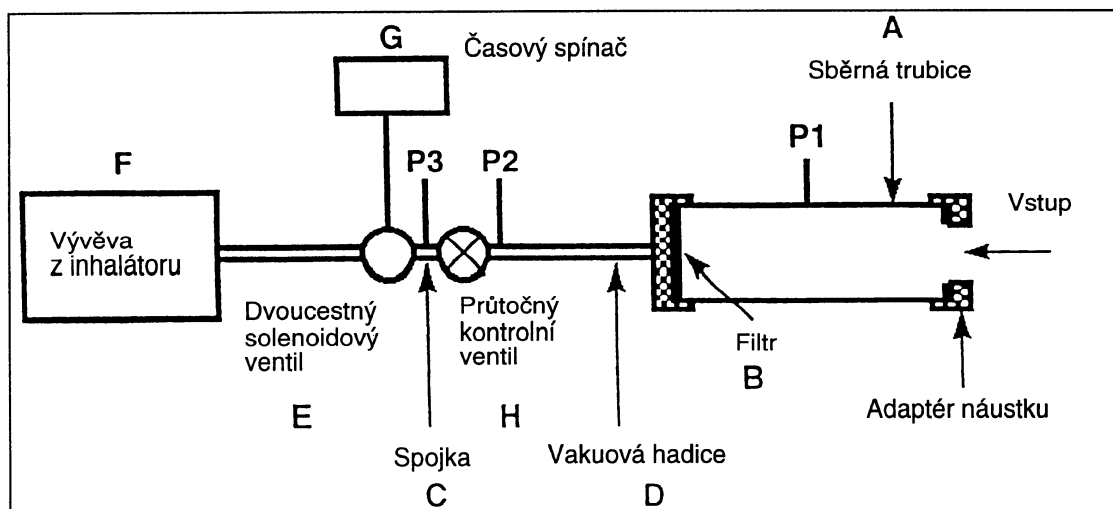


Obr. 1. Sběrné zařízení pro dávkové tlakové přípravky
Rozměry v milimetrech

Tab. 1. Specifikace dílů k obr. 2

Označení	Název	Popis
A	sběrná trubice	je schopna zachytit podanou dávku, např. trubice pro sběr dávky viz obr. 1., s rozměry: vnitřní průměr 34,85 mm, délka 12 cm (např. výrobek č. XX40047 00, Millipore Corp., Bedford, MA 01732 s upravenou výstupní trubicí, vnitřní průměr ≥ 8 mm, přizpůsobený výrobku fy Gelman č. 61631) nebo ekvivalentní
B	filtr	47 mm filtr, např. A/E filtr ze skleněných vláken (Gelman Sciences, Ann Arbor, MI 48106) nebo ekvivalentní
C	spojka	vnitřní průměr ≥ 8 mm, např. krátká kovová spojka, s odbočkou k P3 s malým průměrem
D	vakuová hadice	vnitřní průměr ($8 \pm 0,5$) mm, délka (50 ± 10) cm, např. silikonová hadice vnějšího průměru asi 14 mm a vnitřního průměru asi 8 mm
E	dvoucestný solenoidový ventil	ústí s minimálním odporem průtoku vzduchu, vnitřním průměrem ≥ 8 mm a maximálním časem odezvy 100 ms (např. typ 256-A08, Burkert GmbH, D7118) nebo ekvivalentní
F	vývěva	vyhovuje kapacitou pro požadovanou rychlost průtoku vzduchu zařízením s napojeným práškovým inhalátorem přes náustkový adaptér (např. výrobky typu 1023, 1423 nebo 2565, Gast Manufact. Inc., Benton Harbor, MI 49022), nebo ekvivalentní, vývěva je propojena se solenoidovým ventilem krátkou a/nebo širokou (≥ 10 mm vnitřní průměr) vakuovou hadicí, spoje minimalizující snížení kapacity vývěvy
G	časový spínač	schopný řídit solenoidní ventil v požadovaných časových periodách (např. typ G814, RS Components Int., Corby, NN17 9RS, UK) nebo ekvivalentní
P1	přípoj na tlakoměr	vnitřní průměr 2,2 mm, vnější 3,1 mm, proplachování vnitřního povrchu sběrné trubice, vystředěno, bez hrubých okrajů, 59 mm od ústí
P1, P2, P3	tlakoměry	diferenciální tlak k atmosféře (P1) nebo absolutní tlak (P2 a P3)
H	průtočný kontrolní ventil	nastavitelný regulační ventil s maximálním $C_v \geq 1$ (např. typ 8FV12LNSS, Parker Hannifin plc., Barnstaple, EX31 1NP, UK) nebo ekvivalentní

4768 Inhalanda



Obr. 2. Aparatura vhodná ke stanovení stejnoměrnosti podané dávky pro práškové inhalátory

Není-li předepsáno a schváleno jinak, přípravek vyhovuje zkoušce, když nejméně devět z deseti výsledků je v rozmezí 75 % až 125 % průměrné hodnoty a všechny výsledky jsou v rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty. Jestliže dva nebo více výsledků je mimo rozmezí 75 % až 125 %, opakuje se zkouška s dalšími dvěma tlakovými nádobami. Nejvýše tři z třiceti výsledků mohou být mimo rozmezí 75 % až 125 % a žádný výsledek není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty.

Dávka jemných částic. Použije se zařízení a postup popsané v článku *Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic (2.9.18)* a vypočte se dávka jemných částic.

Počet dávkových jednotek v nádobce. Tlaková nádoba s přípravkem (inhalátor) se stisknutím ventilu vyprázdí do odpadu vždy nejméně po 5 s. Celkový počet takto zjištěných dávkových jednotek není menší, než je uvedeno v označení. (Tuto zkoušku lze kombinovat se zkouškou na stejnoměrnost podaných dávek.)

Pulveres ad inhalationem

Prášky k inhalaci

Jsou to přípravky ve formě jednodávkových dělených prášků nebo vícedávkových nedělených prášků. Pro usnadnění použití mohou být léčivé látky kombinovány s vhodným nosičem. Podávají se pomocí inhalátorů pro suché prášky. U předem dávkovaných systémů se inhalátor plní prášky z tobolek nebo z jiné vhodné lékové formy. U zařízení používajících prášek ze zásobníku je dávka odměřena dávkovacím mechanismem v inhalátoru.

Podaná dávka je dávka, která je z inhalátoru podána pacientovi. U některých přípravků je dávka pevně stanovena jako odměřená dávka. Odměřená dávka je určena vložením množství přípravku do zařízení k podání dávky. Odměřenou dávku lze stanovit také přímo.

Zkoušení

Stejnóměrnost podané dávky. Ve všech případech se připraví inhalátor podle předpisu v pokynech pro pacienta. Použije se sběrné zařízení schopné kvantitativně zachytit podanou dávku.

Sběrné zařízení, podobné popsanému ve zkoušce pro tlakové dávkované přípravky pro inhalaci, lze použít za předpokladu, že trubice a filtr vyhovují požadované měřené rychlosti průtoku plynů. Vhodná trubice je uvedena na obrázku 1.

Trubice se spojí s odsávacím systémem podle schématu a popisu uvedených na obrázku 2 a v tabulce 1.

Není-li předepsáno jinak, provede se zkouška při rychlosti průtoku a době za použití trubice pro sběr dávky spojené s odsávacím systémem, vhodným diferenciálním tlakoměrem a vhodným objemovým průtokoměrem kalibrovaným pro odtokové měření v souladu s následujícím postupem.

Inhalátor připravený k použití se připojí k vstupní části zařízení přes náustkový adaptér zajišťující vzduchotěsný spoj. Použije se adaptér, který zajistí, aby čelo náustku sahalo ke vstupní části sběrné trubice. Jeden vstup diferenciálního tlakoměru se připojí k místu P1 na obrázku 1 a další se ponechá otevřený vzhledem k atmosféře. Zapne se vývěva, otevře se dvoucestný ventil a nastaví se kontrolní průtočný ventil tak, aby tlak, zaznamenaný diferenciálním tlakoměrem, po průchodu vzduchu inhalátorem byl 4,0 kPa (40,8 cm H₂O). Inhalátor se sejme z náustkového adaptéru a bez změny polohy průtočného kontrolního ventilu se připojí průtokoměr ke vstupu vzorkovacího zařízení. Je-li rychlost průtoku nad 100 l/min, nastaví se průtočným ventilem na hodnotu (100 ± 5) l/min. Hodnota se zaznamená a používá se dále jako testovací průtoková rychlost Q, v litrech za minutu. Určí se testovací doba průtoku T v sekundách tak, aby za tuto dobu protekly přes inhalátor 4 litry vzduchu.

Kritický průtok přes průtočný kontrolní ventil se zajistí dále uvedeným způsobem. S připojeným inhalátorem se měří absolutní hodnoty tlaku na obou stranách průtočného ventilu (viz odečítací body tlaku P3 a P3 na obrázku 2), za testovací průtokové rychlosti Q. Poměr P3 : P2 menší než 0,5 nebo rovnající se 0,5 indikuje kritický průtok. Není-li dosaženo kritického průtoku, zvýší se výkon (otáčky) vývěvy a měření se opakuje.

Předdávkované systémy. Inhalátor se připraví dle pokynů pro pacienta a napojí se na sběrné zařízení pomocí dobře těsnícího adaptéru. Přes inhalátor se pustí vzduch podle výše určených podmínek. Celý postup se opakuje, až počet podání odpovídá minimálně doporučené dávce. Kvantitativně se shromáždí obsah léčiva ze zařízení a stanoví se množství účinné látky.

Postup se opakuje s dalšími devíti dávkami.

Zásobníkové systémy. Inhalátor se připraví dle pokynů pro pacienta a napojí se na sběrné zařízení pomocí dobře těsnícího adaptéru. Přes inhalátor se pustí vzduch podle výše určených podmínek. Celý postup se opakuje, až počet podání odpovídá minimálně doporučené dávce. Kvantitativně se shromáždí obsah ze zařízení a stanoví se množství účinné látky.

Postup se opakuje s dalšími dvěma dávkami.

Přípravek se vyprazdňuje do odpadu, až v zásobníku zůstane $n/2 + 1$ dávka, kde n je počet dávek uvedených v označení na obalu. Je-li třeba, nechá se vybit elektrostatický náboj inhalátoru před dalším použitím. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy čtyř dávek.

Přípravek se dále vyprazdňuje do odpadu, až v obalu zůstanou tři dávky. Je-li třeba, nechá se vybit elektrostatický náboj inhalátoru před dalším použitím. Výše popsaným postupem se nyní stanoví obsahy tří dávek.

U přípravků obsahujících více účinných látek se provede zkouška stejnoměrnosti podané dávky pro každou účinnou látku.

4770 *Insertum intraruminale*

Není-li předepsáno a schváleno jinak, přípravek vyhovuje zkoušce, když nejméně devět z deseti výsledků je v rozmezí 75 % až 125 % průměrné hodnoty a všechny výsledky jsou v rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty. Jestliže dva nebo více výsledků je mimo rozmezí 75 % až 125 %, opakuje se zkouška s dalšími dvěma inhalátory. Nejvýše tři z třiceti výsledků mohou být mimo rozmezí 75 % až 125 % a žádný výsledek není mimo rozmezí 65 % až 135 % průměrné hodnoty.

V předepsaných a schválených případech může být rozsah hodnot větší, ale žádný naměřený výsledek není vyšší než 150 % a není nižší než 50 % průměrné hodnoty.

Dávka jemných částic. Použije se zařízení a postup popsané v článku *Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic (2.9.18)* a vypočte se dávka jemných částic.

Počet dávkových jednotek v nádobce vícedávkového inhalátoru. Dávky se vyprazdňují ze zařízení vhodnou tokovou rychlostí. Zaznamená se počet podání. Celkový počet dávkových jednotek není menší, než je uvedeno v označení na obalu. (Tuto zkoušku lze kombinovat se zkouškou na stejnoměrnost podaných dávek.)

Insertum intraruminale

Intraruminální inzerť



1998

*Požadavky tohoto článku se nevztahují na přípravky (označené někdy jako boly), jakými jsou obvykle velké tablety, tobolky nebo tvarované lékové formy, ze kterých se účinná látka (účinné látky) uvolňuje ihned nebo s prodlouženým účinkem. Na tyto přípravky se vztahují příslušné oddíly článků *Tabulettae* nebo *Capsulae*.*

Intraruminální inzerty jsou pevné přípravky obsahující jednu nebo více účinných látek. Jsou určeny k perorálnímu podání přežvýkavcům a uzpůsobeny tak, aby se zadržely v batoru ke kontinuálnímu nebo pulznímu uvolňování účinné látky (účinných látek). Doba uvolňování může být různá, od několika dnů po několik týdnů, podle povahy receptury a/nebo inzertu.

Intraruminální inzerty se podávají podavačem pilulek. Některé jsou určeny k tomu, aby se vznášely na hladině batorové tekutiny, zatímco jiné jsou určeny k setrvání na bázi batoru nebo čepce. Každý inzerť má hustotu přiměřenou předpokládanému použití.

Výroba

Pro kontinuální uvolňování je intraruminální inzerť konstruován tak, aby účinná látka (účinné látky) byla uvolňována ve stanovené míře po stanovenou dobu. Toho je dosahováno erozí, korozí, difuzí, osmotickým tlakem nebo jiným vhodným chemickým, fyzikálním nebo fyzikálně-chemickým pochodem.

Pro pulzní uvolňování je intraruminální inzerť uzpůsoben k uvolňování určitého množství účinné látky (účinných látek) v jednom nebo v několika vymezených časových intervalech. Toho je dosahováno korozí kovových složek inzertu působením batorové tekutiny vedoucí k následnému uvolňování jednotek, které jsou obvykle ve formě tablet.

Při výrobě intraruminálních inzertů jsou uplatňovány postupy, kterými je zajišťováno přiměřené uvolňování účinné látky (účinných látek).

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci intraruminálních inzertů jsou přijímána vhodná opatření k zabezpečení jejich mikrobiologické jakosti; při tom se postupuje podle požadavků uvedených v článku Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4).

Zkoušky

Obsahová stejnoměrnost (2.9.6). Pokud není předepsáno a schváleno jinak, základní tabletové jednotky intraruminálních inzertů, obsahující účinné látky v množství menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti, vyhovují požadavkům zkoušky A na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových lékových forem. Jestliže přípravek obsahuje více než jednu účinnou látku, vztahují se požadavky jen na účinné látky odpovídající výše uvedeným podmínkám.

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Pokud není předepsáno a schváleno jinak, základní tabletové jednotky intraruminálních inzertů vyhovují požadavkům zkoušky na hmotnostní stejnoměrnost.

Pokud je zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny účinné látky, zkouška na hmotnostní stejnoměrnost není vyžadována.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- u kontinuálně uvolňujících inzertů dávka uvolňovaná za jednotku času
- u pulzně uvolňujících inzertů dávka uvolňovaná v předepsaných časových intervalech.

Praeparata homeopathica

Homeopatické přípravky



1999

Připravují se z látek, produktů nebo přípravků nazývaných Výchozí suroviny pro výrobu za použití homeopatických postupů. Označují se obvykle latinským názvem výchozí suroviny a stupněm zředění.

Suroviny

Suroviny pro výrobu homeopatických přípravků jsou rostlinného, chemického, minerálního nebo živočišného původu.

U surovin živočišného původu musí být prokázáno, že neobsahují patogenní agens. Suroviny rostlinného a živočišného původu mohou být použity v čerstvém nebo sušeném stavu. Kde je to vhodné, může být čerstvý materiál uchováván hluboce zmrazený.

V oprávněných a schválených případech může být k přepravním a skladovacím účelům čerstvý materiál uchováván v lihu 96% za podmínky, že celý materiál, včetně lihu 96%, se použije pro výrobu.

Suroviny vyhovují požadavkům lékopisných článků.

4772 Praeparata homeopathica

Vehikula

Jsou to pomocné látky použité k přípravě konkrétních výchozích surovin pro výrobu nebo k potenciaci, např. čištěná voda, líh o vhodné koncentraci, glycerol a laktosa.

Vehikula vyhovují požadavkům lékopisných článků.

Výchozí suroviny pro výrobu

Jsou to látky, produkty nebo přípravky použité jako výchozí materiály pro výrobu homeopatických přípravků. Výchozími surovinami pro výrobu jsou obvykle látky rostlinného nebo živočišného původu, matečné tinktury, glycerolové výluhy; jako suroviny chemického nebo minerálního původu slouží jednotlivé látky.

Matečné tinktury

Jsou to tekuté přípravky získávané působením vhodného vehikula na suroviny rostlinného nebo živočišného původu. Mohou se připravit také z rostlinných šťáv s přidáním nebo bez přidání vehikula. Matečná tinktura se označuje symboly „MT“ nebo „0“.

Glycerolové výluhy

Jsou to tekuté přípravky získávané ze surovin rostlinného nebo živočišného původu za použití glycerolu, směsi glycerolu a lihu vhodné koncentrace nebo směsi glycerolu a roztoku chloridu sodného vhodné koncentrace.

Potenciace

Zředění a triturace se získávají z výchozích surovin pro výrobu potenciací podle výrobních homeopatických postupů; pro tekuté přípravky to jsou postupná ředění a třepání, pro pevné přípravky to jsou postupné vhodné triturace.

Potenciační kroky jsou obvykle:

- 1 díl výchozí suroviny pro výrobu a 9 dílů vehikula; lze je označit jako „D“ nebo „DH“ nebo „X“ (desetinásobné, decimální),
- 1 díl výchozí suroviny pro výrobu a 99 dílů vehikula; lze je označit jako „C“ nebo „CH“ (stonásobné, centezimální).

Počet potenciačních kroků určuje stupeň ředění. Např. symboly „D3“ nebo „3 DH“ nebo „3X“ znamenají tři decimální potenciační kroky a symboly „C3“ nebo „3 CH“ nebo „C3“ znamenají tři centezimální potenciační kroky.

Lékové formy

Léková forma homeopatického přípravku vyhovuje příslušnému článku lékové formy a následujícím požadavkům:

- u lékových forem pro homeopatické účely jsou za „účinné látky“ považována „zředění nebo triturace homeopatických výchozích surovin“,
- tyto lékové formy jsou připraveny za použití vhodných pomocných látek,
- zkouška Obsahová stejnoměrnost se běžně neprovádí, avšak za určitých okolností je předepsána.

Definice homeopatické lékové formy „Pilulae - Pilulky“

Pilulky pro homeopatické účely jsou tuhé přípravky připravené ze sacharosy, laktosy nebo jiných vhodných pomocných látek postupně přidávaných ke zředění nebo zředěním homeopatických výchozích surovin. Jsou určeny k perorálnímu nebo sublinguálnímu podání.

Praeparata insulini iniectionabilia

Injekční insulinové přípravky



1999

Injekční insulinové přípravky vyhovují požadavkům pro injekce, které jsou uvedeny v článku Parenteralia.

Jsou to sterilní přípravky obsahující lidský insulin, viz článek Insulinum humanum, nebo hovězí nebo prasečí insulin, viz článek Insulinum, pokud není uvedeno jinak. Obsahují 90,0 % až 110,0 % deklarovaného množství insulinu. Jsou vyráběny ve formě roztoků nebo suspenzí nebo směsi roztoků a suspenzí.

Výroba

Způsoby výroby injekčních insulinových přípravků jsou zvoleny tak, aby tyto přípravky splňovaly požadavky na počáteční dávkování a trvání terapeutického účinku.

Následující postupy se provedou ve vhodném pořadí v závislosti na způsobu přípravy:

- přidání vhodných protimikrobních látek,
- přidání vhodné izotonizační přísady nebo přísad,
- přidání vhodné látky nebo látek k upravení pH na předepsanou hodnotu,
- stanovení síly (koncentrace) složky nebo složek obsahujících insulin s její následnou úpravou, kde je to třeba, aby konečný přípravek obsahoval předepsaný počet mezinárodních jednotek insulinu v mililitru,
- sterilizace filtrací složky nebo složek obsahujících insulin; pokud tento postup byl proveden, všechny ostatní postupy je třeba provádět asepticky za použití materiálů, které byly sterilizovány vhodnou metodou.

V případě potřeby se přidávají vhodná aditiva a použijí se vhodné postupy k zajištění příslušné fyzikální formy složky nebo složek obsahujících insulin. Konečný přípravek je asepticky plněn do sterilních obalů, které jsou uzavřeny tak, aby nedošlo k mikrobiálnímu znečištění.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,9 až 7,8; měří se roztok nebo suspenze, pokud není v článku uvedeno jinak.

Insulin v supernatantu. Nejvýše 2,5 % celkového obsahu insulinu v přípravcích tvořených suspenzí, není-li uvedeno jinak. Odstředí se 10 min 10 ml suspenze při 1500 g a opatrně se oddělí supernatantní tekutina od zbytku. Obsah insulinu v supernatantní tekutině (S) se stanoví vhodnou metodou, např. užitím chromatografických podmínek popsanych ve zkoušce Stanovení obsahu. Obsah insulinu v procentech se vypočítá podle vztahu:

4774 *Praeparata insulini iniectabilia*

$$\frac{100 \cdot S}{T},$$

v němž značí:

T - celkový obsah insulínu zjištěný ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nečistoty s molekulovou hmotností větší než insulín. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. 4 μ l *kyseliny chlorovodíkové 6 mol/l RS* se přidají k 1 ml zkoušeného přípravku, suspenze nebo roztoku k získání čirého okyseleného roztoku insulínu. Při vzorkování suspenze se směs předem protřepává, aby byl vzorek homogenní. Pokud suspenze není čirá do 5 min od počátečního přidavku kyseliny chlorovodíkové, přidá se malý podíl kyseliny chlorovodíkové (méně než 4 μ l/ml), až je získán roztok. Přípravky s koncentrací vyšší než 100 m.j./ml by se měly zředit *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS*, aby se předešlo přesycení kolony monomerním insulínem.

Rozlišovací roztok. Použije se roztok insulínu (asi 4 mg/ml), který obsahuje více než 0,4 % vysokomolekulárních bílkovin. Mohou být použity injekční přípravky insulínu, roztok nebo suspenze, která se vyčechá dostatečným množstvím *kyseliny chlorovodíkové 6 mol/l RS*, obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin, nebo roztok připravený z insulínu rozpuštěním v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS*. Insulín obsahující určité procento vysokomolekulárních bílkovin může být připraven tak, že se prášek insulínu asi 10 dní nechá stát při pokojové teplotě. Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 30 h (injekce s rozpustným insulínem) nebo do 7 dnů (jiné insulínové přípravky). Při použití automatického dávkovače se jeho teplota nastaví na 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru nejméně 7,5 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* (5 μ m až 10 μ m), vhodného stupně pro separaci monomerního insulínu z dimeru a polymerů,
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonitrilu R* a roztoku *argininu R* (1,0 g/l) (15 + 20 + 65), s průtokovou rychlostí 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 276 nm.

Rovnováha kolony. Před použitím nové kolony pro chromatografickou analýzu se ustaluje rovnováha opakovaným nástřikem roztoku insulínu obsahujícího vysokomolekulární bílkoviny. Nejméně třikrát se nástříkne rozlišovací roztok. Kolona je ustálena, když výsledky dvou po sobě následujících nástřiků jsou opakovatelné. Jestliže jsou analyzovány vzorky obsahující protamin, rovnováha kolony se ustaluje za použití roztoku obsahujícího protamin.

Nástříkne se 100 μ l rozlišovacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek retenční časy jsou: polymerní komplexy insulínu nebo kovalentní insulín-protaminové komplexy 13 min až 17 min, kovalentní dimer insulínu asi 17,5 min, monomerní insulín asi 20 min, soli asi 22 min. Jestliže roztok vzorku obsahuje konzervační látky, např. methylparaben, *m*-kresol nebo fenol, tyto látky eluují později. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení, definované poměrem výšky píku dimeru k výšce minima mezi píky monomeru a dimeru, je nejméně 2,0.

Nástříkne se 100 μ l zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává asi 35 min. Na získaném chromatogramu součet ploch píků s retenčním časem menším než retenční čas píku insulínu není větší než 3,0 % (přípravky obsahující protamin) nebo 2,0 % (přípravky neobsahující protamin) celkové plochy píků. Nepřihlíží se k žádnému píku s retenčním časem větším než retenční čas píku insulínu.

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu, s elučními podmínkami popsanými v následující tabulce:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	42	58	izokraticky
30 - 44	42 → 11	58 → 89	lineární gradient
44 - 50	11	89	izokraticky

Roztoky se udržují při 2 °C až 10 °C a použijí se do 24 h. Zkontroluje se vhodnost systému (rozlišení, linearita) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu. Pokud je třeba, upraví se relativní vlastnosti mobilní fáze tak, aby se zajistila úplná eluce prasečího A21 deamidoinsulinu před začátkem gradientu. Profil gradientu může být upraven tak, aby se zajistila úplná eluce všech příbuzných nečistot insulinu.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a buď 20 µl porovnávacího roztoku (a), pro insulinové přípravky obsahující 100 m.j./ml, nebo 20 µl porovnávacího roztoku (b), pro insulinové přípravky obsahující 40 m.j./ml. Je-li třeba, upraví se nastříkovaný objem na objem mezi 10 µl a 20 µl v souladu s výsledky získanými pro zkoušku linearitu popsanou ve Stanovení obsahu. Chromatogramy se zaznamenávají asi 50 min. Je-li třeba, provedou se další úpravy mobilní fáze, aby se zajistilo, že konzervační látky přítomné ve zkoušeném roztoku budou odděleny z insulinu a vyloučí se v krátkém retenčním čase. Malé snížení koncentrace acetonitrilu prodlouží retenční časy píků insulinu relativně více než retenční časy konzervačních látek. Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a), nebo porovnávacího roztoku (b), co je vhodné, se A21 deamidoinsulin objeví jako malý pík za hlavním píkem s relativním retenčním časem asi 1,3 vzhledem k hlavnímu píku insulinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku A21 deamidoinsulinu není větší než 5,0 % z celkové plochy píků; součet ploch všech píků, kromě píku insulinu a píku A21 deamidoinsulinu, není větší než 6,0 % z celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píků konzervačních látek a protaminu (píky eluující dříve).

Celkový zinek. Nejvýše množství uvedené v jednotlivých člancích; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Použije se následující postup, pokud není v jednotlivých člancích uvedeno jinak.

Zkoušený roztok. Objem zkoušeného přípravku obsahující 200 m.j. insulinu se opatrně protřepáním zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 25,0 ml. Je-li třeba, zředí se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na koncentraci např. 0,4 µg Zn/ml až 1,6 µg Zn/ml.

Porovnávací roztoky. Použijí se čerstvě připravené roztoky obsahující 0,40 µg Zn/ml, 0,80 µg Zn/ml, 1,00 µg Zn/ml, 1,20 µg Zn/ml, 1,60 µg Zn/ml připravené ředěním základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS.

Měří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen vhodného složení (např. 11 l vzduchu/min a 2 l acetylen/min).

Zinek v roztoku. Kde lze, nejvýše množství uvedené v jednotlivých člancích. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

Zkoušený roztok. 1 ml čiré supernatantní tekutiny získané odstředováním zkoušeného přípravku se zředí vodou R na 25,0 ml. Je-li třeba, zředí se na vhodnou koncentraci, např. 0,4 µg Zn/ml až 1,6 µg Zn/ml, vodou R.

4776 *Praeparata insulini iniectionabilia*

Porovnávací roztoky. Použijí se čerstvě připravené roztoky obsahující 0,40 µg Zn/ml, 0,80 µg Zn/ml, 1,00 µg Zn/ml, 1,20 µg Zn/ml, 1,60 µg Zn/ml připravené ředěním základního roztoku zinku (5 mg Zn/ml) kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS.

Měří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen vhodného složení (např. 11 l vzduchu/min a 2 l acetylen/min).

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 80 m.j. endotoxinu na 100 m.j. insulínu.

Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 4 µl kyseliny chlorovodíkové 6 mol/l RS se přidají k 1 ml zkoušeného přípravku, roztoku nebo suspenze, aby byl získán čirý roztok. Při použití suspenze se směs protřepává před odměřením vzorku, aby byl vzorek homogenní. Pokud suspenze není čirá do 5 min od počátečního přidavku kyseliny chlorovodíkové, přidá se malý podíl kyseliny (méně než 4 µl/ml), až je získán roztok. Přípravky s koncentrací vyšší než 100 m.j./ml by se měly navíc zředit kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS, aby se předešlo přesycení kolony.

Porovnávací roztok (a). Pro přípravek obsahující jeden druh insulínu se rozpustí obsah lahvičky lidského insulínu CRL nebo prasečího insulínu CRL nebo definované množství hovězího insulínu CRL v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí tak, aby výsledná koncentrace byla 4,0 mg/ml. Pro přípravek obsahující hovězí insulín a prasečí insulín se smíchá 1,0 ml roztoku obsahujícího 4,0 mg/ml hovězího insulínu CRL v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a 1,0 ml roztoku obsahujícího 4,0 mg/ml prasečího insulínu CRL v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS.

Porovnávací roztok (a) se použije pro stanovení obsahu insulínu v přípravcích obsahujících 100 m.j./ml.

Porovnávací roztok (b). 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml. *Porovnávací roztok (b) se použije pro stanovení obsahu insulínu v přípravcích obsahujících 40 m.j./ml.*

Porovnávací roztok (c). Obsah lahvičky lidského insulínu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS tak, aby získaná koncentrace byla 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (d). Obsah lahvičky prasečího insulínu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS tak, aby získaná koncentrace byla 4,0 mg/ml.

Porovnávací roztok (e). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (f). 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 10,0 ml.

Rozlišovací roztok. Smíchá se 1,0 ml porovnávacího roztoku (c) a 1,0 ml porovnávacího roztoku (d).

Roztoky se udržují při teplotě 2 °C až 10 °C a použijí se do 48 h. Při použití automatického dávkovače se jeho teplota nastaví na 2 °C až 10 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, kterou jsou následující roztoky připravené a udržované při teplotě nejméně 20 °C, průtoková rychlost je 1 ml/min:

Praeparata insulini iniectionabilia 4777

- *mobilní fáze A* - 28,4 g *síranu sodného bezvodého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml, přidá se 2,7 ml *kyseliny fosforečné R*, a je-li třeba, upraví se pH na hodnotu 2,3 *ethanolaminem R*, zfiltruje se a roztok se odplyní,
- *mobilní fáze B* - smíchá se 550 ml *mobilní fáze A* se 450 ml *acetonitrilu R*, roztok se zahřeje na teplotu nejméně 20 °C, aby se předešlo srážení (smíchání *mobilní fáze* s *acetonitrem* je endotermická reakce), zfiltruje se a roztok se odplyní,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.
Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Zaznamenají se chromatogramy *mobilní fáze* obsahující směs objemových dílů *mobilní fáze A* a *mobilní fáze B* (42 + 58). V případě potřeby se upraví složení *mobilní fáze*.

Nastříkne se 20 µl *rozlišovacího roztoku* a 20 µl *porovnávacího roztoku* (d). Zaznamenává se chromatogram *rozlišovacího roztoku*, až pík odpovídající hlavnímu píku na chromatogramu *porovnávacího roztoku* (d) je zřetelně viditelný. Na chromatogramu *rozlišovacího roztoku* se určí totožnost píků *prasečího insulínu* a *lidského insulínu*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími *lidskému insulínu* a *prasečímu insulínu* je nejméně 1,2. Je-li třeba, upraví se koncentrace *acetonitrilu* v *mobilní fázi* tak, aby bylo toto rozlišení dosaženo.

Nastříkne se 20 µl *zkoušeného roztoku* a po 20 µl *porovnávacího roztoku* (a) a (e) pro *insulinové přípravky* obsahující 100 m.j./ml nebo po 20 µl *porovnávacího roztoku* (b) a (f) pro *insulinové přípravky* obsahující 40 m.j./ml. Je-li třeba, provedou se další úpravy *mobilní fáze*, aby se zajistilo, že konzervační látky přítomné ve *zkoušeném roztoku* budou odděleny od *insulínu* a vyloučí se v kratších retenčních časech. Malé snížení koncentrace *acetonitrilu* prodlouží retenční časy píků *insulínu* relativně více než retenční časy konzervačních látek. Je-li třeba, provede se promytí kolony před nástřikem dalšího roztoku směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* dostatečnou dobu, aby se zajistila eluce všech interferujících látek. Zkoušku lze hodnotit, jestliže plocha hlavního píku na chromatogramu *porovnávacího roztoku* (a) nebo (b) je $(10 \pm 0,5)$ násobek plochy hlavního píku na chromatogramu *porovnávacího roztoku* (e) nebo (f). Pokud je tato zkouška neúspěšná, upraví se nastříkovaný objem na 10 µl až 20 µl, aby byl lineární rozsah detektoru.

Vypočítá se obsah *insulínu* a A21 *deamidoinsulínu* z plochy píku *hovězího, prasečího* nebo *lidského insulínu* a plochy píku A21 *deamidoinsulínu* z deklarovaného obsahu *insulínu* a A21 *deamidoinsulínu* v *hovězím insulínu CRL, prasečím insulínu CRL* nebo *lidském insulínu CRL*, jak je vhodné. U *přípravků* obsahujících *hovězí insulín* a *prasečí insulín* se použije součet ploch píků odpovídajících *hovězímu insulínu* a *prasečímu insulínu* a píků odpovídajících derivátům A21 *deamidoinsulínu*.

100 m.j. odpovídá 3,47 mg *lidského insulínu*, 3,45 mg *prasečího insulínu* a 3,42 mg *hovězího insulínu*.

Uchovávání

Pokud není předepsáno jinak, uchovávají se ve vzduchotěsných sterilních zabezpečených obalech, chráněny před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. *Insulinové přípravky* nesmí zmrznout.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- účinnost v m.j. na mililitr,
- obsah *insulínu* v miligramech na mililitr, u *přípravků* obsahujících *hovězí insulín* a *prasečí insulín* se uvede jejich součet,

4778 *Producta fermentationis*

- kde je to vhodné, že byla výchozí látka vyrobena enzymatickou přeměnou prasečího insu-linu,
- kde je to vhodné, že byla výchozí látka vyrobena rDNK technologií,
- v případě potřeby původ zvířete,
- že přípravek se musí chránit před mrazem,
- v případě potřeby, že se přípravek před podáním musí protřepat.

Producta fermentationis¹⁾

Produkty fermentace



RR99

Článek se vztahuje na nepřímé genové produkty získané fermentací. Netýká se:

- *lékopisných článků na vakcíny pro humánní a veterinární použití,*
- *přípravků odvozených z kontinuálních buněčných linií humánního nebo zvířecího původu,*
- *přímých genových produktů získaných transkripcí a translací z nukleové kyseliny na bílkovinu, ať jsou či nejsou vystaveny posttranslační modifikaci,*
- *produktů získaných polosynteticky z produktů fermentace a produktů získaných biokatalytickou transformací,*
- *úplných živných koncentrátů nebo surových fermentačních produktů.*

Ustanovení tohoto článku se použijí pro jednotlivé lékopisné články na přípravky získané přímo fermentací, jak je definována dále. Tyto požadavky se nezbytně nevztahují na produkty fermentace, které nejsou předmětem těchto článků. Nicméně oprávněná autorita se může k tomuto účelu na tyto požadavky odvolávat.

Pro účely tohoto článku se jako produkty fermentace chápou léčivé a pomocné látky vyráběné kontrolovanou fermentací jako nepřímé genové produkty. Jsou to primární nebo sekundární genové metabolity mikroorganismů, jako jsou bakterie, kvasinky, houby a mikroskopické řasy, ať jsou či nejsou modifikovány tradičními postupy nebo technologií rekombinace DNK (r-DNK). Tyto metabolity zahrnují vitamíny, aminokyseliny, antibiotika, alkaloidy a polysacharidy.

Mohou se získávat buď jednorázovou, nebo kontinuální fermentací, po níž následují postupy, jako jsou extrakce, koncentrace, čištění a izolace.

Výroba

Výroba je založena na postupu, který byl validován a ukázala se jeho vhodnost. Rozsah validace závisí na kritické povaze případného postupného kroku.

Charakteristika produkčních mikroorganismů

Historie kmene použitého k výrobě je dokumentována. Mikroorganismy jsou přiměřeně charakterizovány. Charakteristika může obsahovat stanovení fenotypu mikroorganismu, makroskopické i mikroskopické metody a biochemické zkoušky, a je-li to vhodné, stanovení genotypu mikroorganismu a molekulárně genetické zkoušky.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 4, 547 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

Postupy používající systém jednotné inokulace

Banka základních buněk je homogenní suspenze nebo lyofilizát původních buněk rozplněných do jednotlivých obalů pro uchovávání. Prokáže se životaschopnost a produktivita buněk ve vybraných podmínkách uchovávání a jejich vhodnost pro zahájení uspokojivého výrobního procesu po uchovávání.

Pomnožení banky základních buněk se provede systémem jednotné inokulace, který používá banku pracovních buněk.

Banka pracovních buněk je homogenní suspenze nebo lyofilizát buněčného materiálu pocházejícího z banky základních buněk. Je ve stejných objemech rozplněna do jednotlivých obalů pro uchovávání (např. v tekutém dusíku).

Výroba se může provádět buď jednorázovou, nebo kontinuální kultivací a může se ukončit za definovaných podmínek.

Všechny nádoby buněčné banky se uchovávají ve stejných podmínkách. Vyjmou-li se jednotlivé ampule, lahvičky nebo kapiláry s kulturou během uchovávání z buněčné banky, již se do ní nevrátí.

Postupy užívající fázový růst v buněčných kulturách

K přípravě inokula ve vhodném médiu se použijí obsahy obalů banky pracovních buněk po resuspendování, je-li třeba. Ve vhodné růstové fázi se kultury použijí k zahájení fermentačního procesu po prekultivaci v prefermentoru, je-li třeba. Podmínky používané pro každý výrobní stupeň se definují a v každém výrobním cyklu se splní.

Kontrola změn

Dojde-li k takové změně výrobního postupu, která způsobí významnou změnu v profilu nečistot výrobku, validují se znovu kritické kroky spojené s touto změnou v profilu nečistot.

Provedla-li se významná změna v mikroorganismech použitých při výrobě, která způsobí významnou změnu v profilu nečistot výrobku, validují se znovu všechny kritické kroky výrobního postupu spojené s touto změnou, zvláště průběh čištění a izolace.

Revalidace též prokazuje, že nové nečistoty přítomné ve výrobku jako výsledek této změny se přiměřeně kontrolují při zkušebním postupu. Je-li to nutné, zavedou se dodatečné nebo náhradní zkoušky spolu s vhodnými limity. Způsobí-li změna ve výrobě nebo v mikroorganismech vzestup hladiny nečistoty, jež je trvale přítomna, určí se přijatelnost takového vzestupu.

Při přemístění banky základních buněk se znovu validují kritické kroky výrobního procesu v rozsahu nezbytném k průkazu, že nedošlo k nepříznivým změnám v kvalitě a bezpečnosti výrobku. Je-li do postupu zaveden modifikovaný nebo nový mikroorganismus, věnuje se zvláštní pozornost možným změnám v profilu nečistot přípravku.

Suroviny

Suroviny použité k fermentaci a/nebo v následujících výrobních postupech jsou ve vhodné kvalitě pro zamýšlené použití. Suroviny se zkouší, aby se zajistilo, že vyhovují předepsaným požadavkům.

Hladiny biologické zátěže v živných půdách nebo v přívodu vzduchu pro zavzdušnění se sníží na přiměřeně nízkou úroveň, aby se zajistilo, že případná mikrobiologická kontaminace nebude

4780 *Producta fermentationis*

mít nepříznivý účinek na jakost, čistotu a bezpečnost výrobku. Přidávání složek, jako jsou živiny, prekurzory a substráty, se děje v průběhu fermentace asepticky.

Mezioperační kontroly

Mezioperační kontroly se provádějí k zajištění trvale stejných podmínek při fermentaci a při následných výrobních postupech a k zajištění jakosti izolovaného produktu. Zvláštní pozornost se věnuje zabezpečení, že při prováděných kontrolách bude zjištěna mikrobiologická kontaminace, která by nepříznivě ovlivnila jakost, čistotu a bezpečnost výrobku.

Výrobní podmínky se mohou monitorovat odpovídajícími postupy vhodnými pro řízení a kontrolu:

- teploty,
- hodnoty pH,
- stupně zavzdušnění,
- stupně protřepávání,
- tlaku

a sledování koncentrace požadovaného produktu.

Následující výrobní postupy

Na konci fermentace se produkční mikroorganismus inaktivuje nebo odstraní. Další postupy jsou určeny ke snížení obsahu reziduí pocházejících z kultivační živné půdy na přijatelnou úroveň a k zajištění toho, aby se požadovaný produkt získával ve stále stejné jakosti.

Použité purifikační postupy (např. čištění aktivním uhlím, ultrafiltrace, extrakce rozpouštědly) prokazatelně snižují nebo odstraňují:

- rezidua z produkčního mikroorganismu, kultivační živné půdy, substrátů a prekurzorů,
- nežádoucí produkty transformace substrátů a prekurzorů.

Je-li třeba, provedou se vhodné zkoušky buď při mezioperačních kontrolách, nebo na izolovaném produktu fermentace.

Zkoušky totožnosti a na čistotu a stanovení obsahu

Požadavky, kterým produkt po dobu platnosti vyhovuje, jsou uvedeny stejně jako specifické zkušební metody v jednotlivých lékopisných člácích.

Uchovávání

Viz jednotlivé lékopisné články.

Označování

Viz jednotlivé lékopisné články.

Rectalia

Rektální přípravky



1999

Jsou to přípravky určené k rektální aplikaci s místním nebo systémovým účinkem nebo podávané k diagnostickým účelům.

Obaly pro rektální přípravky, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům statí *Materiály používané na výrobu obalů* (3.1 a příslušné části) a *Obaly* (3.2 a příslušné části).

Rozlišuje se několik druhů rektálních přípravků:

- čípky,
- rektální tobolky,
- rektální roztoky a suspenze,
- prášky a tablety pro rektální roztoky a suspenze,
- polotuhé rektální přípravky,
- rektální pěny,
- rektální tampony.

Výroba

Při vývoji rektálního přípravku obsahujícího protimikrobní přísadu má být prokázána účinnost této přísady podle požadavků oprávněné autority. Vhodná metoda zkoušení spolu s kritérii pro posouzení konzervačních vlastností v daném složení přípravku je popsána ve statí *Účinnost protimikrobních konzervačních látek* (5.1.3).

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci rektálních přípravků je vhodnými způsoby zajištěna jejich mikrobiální čistota; odpovídající doporučení jsou ve statí *Mikrobiologická jakost léčivých přípravků* (5.1.4).

Při výrobě polotuhých a tekutých rektálních přípravků obsahujících dispergované částice se používají měření k zajištění vhodné a kontrolované velikosti částic pro určené použití.

Zkoušení

Obsahová stejnoměrnost (2.9.6). Není-li předepsáno a schváleno jinak, pevné nebo tuhé jednodávkové lékové formy s obsahem léčivé látky menším než 2 mg nebo méně než 2 % celkové hmotnosti, vyhovují zkoušce A (tablety) nebo zkoušce B (čípky, rektální tobolky) na obsahovou stejnoměrnost jednodávkových přípravků. Obsahuje-li přípravek více léčivých látek, požadavek zkoušky se vztahuje jen na ty látky, které odpovídají uvedeným podmínkám.

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Pevné nebo tuhé jednodávkové lékové formy vyhovují zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost. Je-li zkouška na obsahovou stejnoměrnost předepsána pro všechny přítomné léčivé látky, zkouška na hmotnostní stejnoměrnost se neprovádí.

Disoluce. Použije se vhodná zkouška k prokázání příslušného uvolňování léčivé látky (látek) z pevných a tuhých jednodávkových lékových forem, např. zkouška disoluce čípků a měkkých tobolek (2.9.3). Provádí-li se zkouška disoluce, neprovádí se zkouška rozpavavosti.

4782 Rectalia**Označování**

V označení na obalu se uvedou názvy všech protimikrobních přísad.

Suppositoria**Čípky**

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky. Tvarem, velikostí a konzistencí jsou vhodné pro podání do konečníku.

Čípky obsahují jednu nebo více léčivých látek dispergovaných nebo rozpuštěných v jednoduchém nebo ve složeném čípkovém základu, který je rozpustný nebo dispergovatelný ve vodě nebo taje při teplotě těla. Je-li to potřebné, mohou být přidány pomocné látky, jako jsou rozpouštědla, látky s adsorpčními vlastnostmi, povrchově aktivní látky, kluzné látky, protimikrobní přísady a barviva schválená oprávněnou autoritou.

Výroba

Čípky jsou připravovány lisováním nebo litím. Je-li třeba, léčivé látky jsou rozdrobněny a přesáty vhodným sítem. Jsou-li připravovány litím, hmota s léčivými látkami (čípkovina) je zahřátím roztavena a lita do vhodných forem. Následným ochlazením čípky ztuhnou. Pro tento způsob přípravy jsou vhodné různé pomocné látky, jako např. tuhý tuk, makrogoly, kakaový olej a různé gelotvorné směsi tvořené např. želatinou, vodou a glycerolem.

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování účinné látky (látek) z přípravku s řízeným uvolňováním nebo s prodlouženým místním účinkem.

Zkoušení

Zkouška rozpadavosti. Pokud se nejedná o přípravky s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem, vyhovují zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Čípky s mastným základem se kontrolují po 30 min a čípky se základem rozpustným ve vodě se kontrolují po 60 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Capsulae rectales**Rektální tobolky**

Synonymum. Rektální kapsle

Jsou to tuhé jednodávkové přípravky obecně podobné měkkým tobolkám popsaným v článku *Capsulae*, od nichž se liší možností použití lubrifikačního potahu. Jsou protáhlého tvaru, hladké a mají jednotný vnější vzhled.

Výroba

Použije se vhodná zkouška k ověření příslušného uvolňování účinné látky (látek) z přípravku s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem.

Zkoušení

Zkouška rozpadavosti. Pokud se nejedná o přípravky s řízeným uvolňováním nebo prodlouženým místním účinkem, vyhovují zkoušce rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Rektální tobolky se hodnotí po 30 min, není-li předepsáno a schváleno jinak.

Solutiones et suspensiones rectales

Rektální roztoky a suspenze

Synonymum. Klyzmata

Jsou to tekuté přípravky určené k rektálnímu podání s celkovým nebo místním účinkem nebo k diagnostickým účelům.

Jsou to jednodávkové přípravky obsahující jednu nebo více léčivých látek rozpuštěných nebo dispergovaných ve vodě, v glycerolu, v makrogolech nebo v jiných vhodných rozpouštědlech. Suspenze mohou obsahovat sediment, který se snadno roztřepe; takto vzniklá suspenze je natolik stabilní, aby bylo umožněno podání správné dávky.

Rektální roztoky a suspenze mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě viskozity přípravku, úpravě a stabilizaci pH, ke zvýšení rozpustnosti léčivé látky (látek) nebo ke stabilizaci přípravku. Tyto pomocné látky nemají nepříznivě ovlivňovat léčebný účinek nebo v použitých koncentracích být příčinou přílišné místní dráždivosti.

Rektální roztoky a suspenze jsou dodávány v obalech o obsahu 2,5 ml až 2000 ml. Obal je upraven k podání přípravku do konečníku nebo je přiložen vhodný aplikátor.

Zkoušení

Obsahová stejnoměrnost (2.9.6). Není-li předepsáno a schváleno jinak, rektální suspenze vyhovují následující zkoušce. Každý obal se vyprázdní co nejvíce a stanoví se jednotlivé obsahy. Vyhovují zkoušce B.

Hmotnostní stejnoměrnost. Rektální roztoky vyhovují následující zkoušce. Jednotlivě se zváží obsah dvaceti obalů vyprázdněných, jak lze nejvíce, a vypočte se průměrná hmotnost. Pro přípravky s hmotností do 100 g se nejvíce dvě jednotlivé hmotnosti odlišují od průměrné hmotnosti o více než 10 % a žádná se neliší o více než 20 %. U přípravků s hmotností nad 100 g se nejvíce dvě jednotlivé hmotnosti odlišují od průměrné hmotnosti o více než 5 % a žádná se neliší o více než 10 %.

Pulveres et tabulettae rectales pro solutionibus et suspensionibus

Prášky a tablety pro rektální roztoky a suspenze

Jsou to jednodávkové přípravky, které jsou rozpuštěny nebo dispergovány ve vodě v čas potřeby před podáním. Mohou obsahovat pomocné látky k usnadnění rozpouštění nebo dispergace nebo k zabránění shlukování částic.

4784 *Vaccina ad usum humanum*

Po rozpuštění nebo dispergaci vyhovují požadavkům na rektální roztoky nebo rektální suspenze, jak je to vhodné.

Zkoušení

Zkouška rozpadavosti. Tablety pro rektální roztoky nebo suspenze se rozpadají do 3 min při zkoušce rozpadavosti tablet a tobolek (2.9.1), ale používá se *voda R* o teplotě 15 °C až 25 °C.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- návod na přípravu rektálního roztoku nebo suspenze,
- podmínky a doba uchovávání roztoku nebo suspenze po přípravě.

Rectalia semisolida

Polotuhé rektální přípravky

Jsou to masti, krémy nebo gely.

Jsou často dodávány jako jednodávkové přípravky v obalech s vhodným aplikátorem.

Polotuhé rektální přípravky vyhovují požadavkům článku *Unguenta*.

Spumae rectales

Rektální pěny

Rektální pěny vyhovují požadavkům článku *Spumae medicatae*.

Tampona rectalia medicata

Rektální tampony

Jsou to pevné jednodávkové přípravky určené k zavedení do konečníku na určenou dobu.

Vyhovují požadavkům článku *Tampona medicata*.

Vaccina ad usum humanum

Vakcíny pro humánní použití

Synonymum. Očkovací látky pro humánní použití



1998

Ustanovení v tomto článku jsou určena pro použití v souvislosti s lékopisnými články na vakcíny pro humánní použití. Tyto požadavky se nevztahují nezbytně na vakcíny, které nejsou předmětem těchto článků. Kombinované vakcíny, jejichž složení není popsáno ve zvláštním článku, vyhovují článkům pro jednotlivé složky s případnými nezbytnými modifikacemi provedenými oprávněnou autoritou.

Jsou to přípravky obsahující antigenní látky schopné vyvolat u člověka specifickou aktivní imunitu proti infekčnímu agens nebo jím vytvořenému toxinu či antigenu. Mělo by se prokázat, že při dodržení zamýšleného vakcinačního schématu mají přijatelnou imunogenní účinnost u člověka.

Mohou obsahovat buď organismy inaktivované vhodnými chemickými nebo fyzikálními prostředky, nebo živé organismy přirozeně nevirulentní nebo přiměřeně ošetřené k oslabení jejich virulence, oboje při zachování odpovídajících imunogenních vlastností; nebo mohou obsahovat antigeny extrahované z organismů nebo jimi vylučované nebo připravené rekombinantní DNK technologií. Tyto antigeny mohou být použity v přirozené podobě nebo mohou být chemicky či fyzikálně detoxikovány, agregovány, polymerizovány nebo konjugovány na nosič ke zvýšení jejich imunogenity.

Termíny použité v člancích na humánní vakcíny jsou definovány ve stati (5.2.1).

Bakteriální vakcíny

Jsou to suspenze s různým stupněm zákalu v bezbarvých nebo téměř bezbarvých tekutinách; mohou být lyofilizované. Koncentrace živých nebo inaktivovaných bakterií se vyjadřuje v mezinárodních zákalových jednotkách, nebo je-li to vhodné, se stanoví přímým spočítáním buněk nebo u živých bakterií stanovením počtu životaschopných zárodků.

Bakteriální toxoidy

Bakteriální toxoidy se připravují z toxinů snížením jejich toxicity na nedetekovatelnou hladinu nebo úplným odstraněním toxicity fyzikálními nebo chemickými postupy, přičemž se zachovají jejich přiměřené imunizační vlastnosti.

Toxiny se získávají z vybraných kmenů mikroorganismů. Postup přípravy je takový, aby se toxoid nezměnil zpět na toxin. Toxoidy mohou být tekuté nebo lyofilizované. Mohou být čištěné a adsorbované.

Adsorbované toxoidy jsou suspenze bílých nebo šedých částic rozptýlených v bezbarvých nebo slabě žlutých tekutinách a mohou tvořit sediment na dně nádoby.

Virové vakcíny

Virové vakcíny se připravují z virů vypěstovaných na zvířatech, ptačích embryích, ve vhodných buněčných kulturách, ve vhodných tkáních nebo v kulturách získaných metodami genového inženýrství. Jsou to tekutiny různého stupně opalescence podle typu přípravy; mohou být lyofilizované. Tekuté přípravky nebo lyofilizované přípravky jsou po rekonstituci zbarveny podle indikátoru pH použitého v kultivačním médiu, např. fenolové červeně.

Výroba

Všeobecná ustanovení. Požadavky na výrobu včetně zkoušení meziprojektu jsou obsaženy v jednotlivých člancích. Po schválení oprávněnou autoritou mohou být některé zkoušky vynechány, jestliže je prokázáno, např. validační studií, že výrobní postup plynule zajišťuje výrobky vyhovující zkouškám.

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, používá se při výrobě vakcín systém jednotné inokulace. Metody přípravy jsou navrženy k zachování odpovídajících imunologických vlastností k vytvoření neškodných přípravků a k zabezpečení před kontaminací cizorodými antigeny.

4786 *Vaccina ad usum humanum*

Vakcíny vyráběné rekombinantní DNK technologií vyhovují článku *Praeparata ab ADN recombinante*.

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, nepoužije se při výrobě šarže vakcíny vyšší pasáž viru nebo větší počet bakteriálních subkultur od matečného inokula, než bylo použito při výrobě vakcíny, která v klinické studii vyhověla z hlediska bezpečnosti a účinnosti.

Vakcíny jsou v mezích možností prosty složek, o nichž je známo, že jsou toxické nebo způsobují alergické reakce nebo nežádoucí účinky u člověka. Mohou se přidat vhodné přísady včetně stabilizátorů a adjuvancií. Penicilin a streptomycin se nepřidávají v žádném stupni výroby ani se nepřidávají ke konečnému výrobku. Avšak matečné inokulum připravené v médiu obsahujícím penicilin nebo streptomycin se může použít pro výrobu, je-li to předepsáno a schváleno.

Provedou se taková opatření, aby se zabránilo kontaminaci vakcín agens způsobujícími spongiformní encefalopatii, např. bovinní spongiformní encefalopatii. Užije-li se k výrobě materiál bovinního nebo ovčího původu, jsou použita prosta spongiformní encefalopatie a ani nebyla vystavena riziku takových vlivů, jako je strava s proteiny přežvýkavců. Z těchto důvodů mají zvířata pocházet z certifikovaných zdrojů. Při výběru použitých tkání se zvažuje riziko jejich infekčnosti a potenciálního rizika spojeného s rozdílnými tkáněmi.

Substráty pro pomnožení. Substráty pro pomnožení odpovídají souvisejícím požadavkům lékopisu (5.2.2, 5.2.3), a pokud chybí, požadavkům oprávněné autority. Práce s buněčnou bankou a následnými buněčnými kulturami se provádějí v aseptických podmínkách v prostoru, kde se nepracuje s jinými buňkami. Sérum a trypsin použité při přípravě buněčné suspenze jsou prokazatelně prosty cizorodých agens.

Inokula. Bakteriální nebo virové kmeny použité jako matečné inokulum jsou identifikovány záznamy o udržování, které obsahují zprávu o původu a následném zacházení. V inokulech není přítomen jiný mikroorganismus než matečný kmen.

Kultivační média. Kultivační média jsou co nejvíce možno prosta složek, o nichž je známo, že způsobují u člověka toxické, alergické nebo jiné nežádoucí reakce; jestliže je použití takových složek nezbytné, je třeba prokázat, že jejich přítomnost v šarži je snížena na hladinu zaručující bezpečnost přípravku. Schválené sérum živočišného původu (nikoli lidské) se může použít pro kultivaci buněčných kultur, ale médium použité pro udržování buněčných kultur během pomnožování viru sérum neobsahuje, není-li stanoveno jinak. Médium pro buněčné kultury může obsahovat indikátor pH, např. fenolovou červen, a schválená antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Přednostně se pro výrobu používají média bez antibiotik.

Pomnožování a sklizeň. Inokulované kultury se pomnožují a sklízí se za definovaných podmínek. Čistota sklizně se ověřuje vhodnými zkouškami uvedenými v člancích.

Kontrolní buňky. Při výrobě vakcín na buněčných kulturách se kontrolní buňky udržují a zkoušejí, jak je předepsáno. K zajištění platnosti kontroly se tyto buňky udržují v přísně stejných podmínkách jako výrobní buňky, včetně použití stejných šarží média a výměn média.

Kontrolní vejce. Je-li vakcína vyráběna na vejcích, jsou kontrolní vejce inkubována a zkoušena podle předpisu v příslušném článku.

Purifikace. Je-li to vhodné, použije se validovaný purifikační postup.

Inaktivace. Inaktivované vakcíny se vyrábějí validovaným inaktivačním postupem, jehož účinnost a pravidelnost byly prokázány. Je-li známa možná kontaminace při sklizni, např. u vakcín vyráběných na vejcích ze zdravých chovů, které nemají označení, že jsou prosty specifikovaných patogenů, je inaktivační proces validován i vzhledem k těmto možným kontaminantům. Zkouška

inaktivace se provede co nejdříve po ukončení inaktivačního procesu, není-li předepsáno a schváleno jinak.

Meziprodukty. Je-li to vhodné, vyhodnotí se stabilita meziproduktů v daných podmínkách uchovávání a stanoví se doba platnosti.

Konečná várka. Konečná várka se připraví aseptickým smícháním všech složek vakcíny.

Adsorbenty. Vakcíny mohou být adsorbované na hydroxid hlinitý, fosforečnan hlinitý, fosforečnan vápenatý nebo jiný vhodný sorbent. Sorbenty se připravují ve zvláštních podmínkách, které jim zajistí vhodnou fyzikální formu a adsorpční vlastnosti.

Protimikrobní konzervační látky. Ke sterilním a inaktivovaným přípravkům se může přidat vhodná protimikrobní konzervační látka, jež se přidává vždy, když se přípravky dodávají v mnohodávkových obalech, pokud není stanoveno jinak. Použije-li se protimikrobní konzervační látka, má se prokázat, že nemá vliv na bezpečnost a účinnost vakcíny a že je účinná po dobu platnosti.

Šarže. U vakcín pro parenterální podání se šarže asepticky plní do sterilních a zabezpečených obalů, které se po případné lyofilizaci uzavrou tak, aby se vyloučila kontaminace.

Vakcíny pro neparenterální podání se připraví rozplněním konečné várky do sterilních zabezpečených obalů za vhodných podmínek.

Stabilita. Uchování účinnosti šarže v době platnosti se má prokázat validační studií.

Určí se pokles účinnosti za doporučených skladovacích podmínek a vyšší pokles může naznačit, že vakcína není přijatelná, i když stanovená účinnost je vyhovující.

Stupeň adsorpce. Během vývoje adsorbované vakcíny se hodnotí stupeň adsorpce jako součást zkoušek pravidelnosti výroby. Propouštěcí specifikace pro stupeň adsorpce se stanoví na základě výsledků šarží propuštěných ke klinickému zkoušení. Ze stabilitních údajů vytvořených pro vakcínu má být prokázáno, že stupeň adsorpce ke konci doby platnosti nebude menší než u šarží použitých v klinické studii.

Zkoušky na čistotu

Vakcíny vyhovují zkouškám předepsaným v jednotlivých člancích, obsahujících, je-li to vhodné:

Hliník (2.5.13). Je-li jako sorbent ve vakcíně použit hliník, je jeho obsah v jedné lidské dávce nejvýše 1,25 mg hliníku (Al), není-li stanoveno jinak.

Vápník (2.5.14). Je-li jako sorbent ve vakcíně použit vápník, je jeho obsah v jedné lidské dávce nejvýše 1,3 mg vápníku (Ca), není-li stanoveno jinak.

Formaldehyd (2.4.18). Pokud byl při výrobě použit formaldehyd, je obsah volného formaldehydu v konečném výrobku nejvýše 0,2 g/l, není-li stanoveno jinak.

Fenol (2.5.15). Pokud byl při výrobě použit fenol, je jeho obsah v konečném výrobku nejvýše 2,5 g/l, není-li stanoveno jinak.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Lyofilizované vakcíny obsahují nejvýše 3,0 % vody, není-li stanoveno jinak.

Uchovávání

Vakcíny se chrání před světlem, a není-li stanoveno jinak, uchovávají se při $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Tekuté adsorbované vakcíny nesmějí zmraznout.

4788 *Acaciae mucilago*

Doba použitelnosti. Není-li stanoveno jinak, stanovuje se doba použitelnosti od začátku zkoušení. Doba použitelnosti platí pro vakcíny uchovávané za předepsaných podmínek.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- název přípravku,
- údaj identifikující šarži,
- doporučená humánní dávka a způsob podání,
- podmínky uchovávání,
- doba použitelnosti,
- název a množství protimikrobní konzervační látky,
- názvy antibiotik, adjuvans, příchuti nebo stabilizátoru přítomných ve vakcíně,
- název jakékoliv složky, která může způsobit nežádoucí reakce a jakékoliv kontraindikace použití vakcíny,
- u lyofilizovaných vakcín:
 - název nebo složení a objem přiložené tekutiny k rekonstituci,
 - doba, do které se má vakcína po rekonstituci podat.

6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky**Acaciae mucilago****N**

Sliz z arabské klovatiny

Synonymum. Mucilago gummi arabici

Je to koloidní roztok arabské klovatiny v konzervační vodě.

Příprava

Acaciae gummi dispersione desiccatum (Acaciae gummi) 100,0 g
Aqua conservans ad 300,0 g

Arabská klovatina usušená rozprášením (popř. arabská klovatina) se rozpustí v konzervační vodě. Je-li třeba, zfiltruje se, rozplní se do lahví nejvýše po 100 ml a sterilizuje se např. 15 min párou při 121 °C (5.1.1).

Vlastnosti

Bezbarvá nebo nažloutlá čirá nebo slabě opalizující viskózní lepivá kapalina, mísitelná s vodou.

Zkoušky totožnosti

A. Několik kapek se smíchá se 2 ml vody R a přidá se octan olovnatý zásaditý RS; po několika minutách vznikne bílá sraženina (klovatina).

B. Ke 2 ml se přidá 0,5 ml *zkoumadla Millonova R* a zahřeje se k varu; kapalina se zbarví tmavě červeně (*parabeny*).

C. Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 1,110 \text{ g/cm}^3$ až $1,130 \text{ g/cm}^3$.

Zkoušky na čistotu

Zásaditě reagující látky a volné kyseliny. 1 ml se smíchá se 4 ml *vody R*. Ke 2 ml této směsi se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*; směs je zbarvená červeně. K dalším 2 ml této směsi se přidá 0,05 ml *modři bromfenolové RS*; směs je zbarvená zeleně nebo modře.

Tragant. 3 ml se smíchají se 7 ml *vody R* a přidá se 1 ml *octanu olovnatého RS*; po protřepání nevznikne zákal.

Parabeny. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 10 ml se třikrát intenzivně protřepe s 5 ml *etheru R*. Spojené etherové výtřepky se odpaří na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *methylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg *propylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchají.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny, z nichž jedna polohou a intenzitou zhášení fluorescence odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a druhá skvrna odpovídá polohou a intenzitou zhášení fluorescence skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

Uchování

Ve vzduchotěsných obalech, v chladnu, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede, že přípravek obsahuje methylparaben a propylparaben.

Acidi borici aqua ophthalmica

N

Oční voda s kyselinou boritou

Je to sterilní roztok kyseliny borité stabilizovaný vhodnou protimikrobní přísadou.

4790 *Acidi borici aqua ophthalmica*

Obsahuje 1,63 % až 1,75 % H_3BO_3 (M_r 61,83).

Příprava

Acidum boricum	1,690 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Kyselina boritá se rozpustí v roztoku 0,002 g thiomersalu v 90 g vysterilizované čištěné vody 60 °C až 70 °C teplé. Roztok se ochladí, doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou do 100,0 g, provede se membránová filtrace, rozplní se do vhodných obalů v prostoru čistoty A nebo se sterilizuje v konečném obalu párou (5.1.1) 15 min při 121 °C.

Jako vhodnou protimikrobní přísadu lze také použít např. fenylhydrargyriumborat (0,01 g/l).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A. 10 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml lihu 96% R a 0,5 ml kyseliny sírové R. Tento roztok po zapálení hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (kyselina boritá).
- B. 2 ml se protřepou s 1 ml chloroformu R a 0,2 ml dithizonu RS. Chloroformová vrstva se zbarví hnědožlutě (sloučenina Hg).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,5.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

6,000 g se smíchá s 10 ml čerstvě připraveného roztoku sorbitolu R (200 g/l) předem zneutralizovaného hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS na 0,5 ml modři thymolové RS do zeleného zbarvení a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS do stejného zbarvení.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Uchování

Viz článek *Ocularia*.

Chráněna před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Aquae ophthalmicae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Vydává se v obalech o obsahu obvykle 100 ml, nejvýše však 200 ml. Odděleně dodaný aplikátor vyhovuje zkoušce na sterilitu, viz článek *Ocularia*, odstavec Sterilita.

Acidi borici oculo guttae

N

Oční kapky s kyselinou boritou

Synonymum. Collyrium acidi borici

Je to sterilní roztok kyseliny borité stabilizovaný vhodnou protimikrobní přísadou. Obsahuje 1,63 % až 1,75 % H_3BO_3 (M_r 61,83).

Příprava

Acidum boricum	1,690 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Kyselina boritá se rozpustí v roztoku 0,002 g thiomersalu v 90 g vysterilizované čištěné vody 60 °C až 70 °C teplé. Roztok se ochladí, doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou do 100,0 g, provede se membránová filtrace, rozplní se do vhodných obalů v prostoru čistoty A nebo se sterilizuje v konečném obalu párou (5.1.1) 15 min při 121 °C.

Jako vhodnou protimikrobní přísadu lze také použít např. fenylhydrargyriumborat (0,01 g/l).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A. 10 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml lihu 96% R a 0,5 ml kyseliny sírové R. Tento roztok po zapálení hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (kyselina boritá).
- B. 2 ml se protřepou s 1 ml chloroformu R a 0,2 ml dithizonu RS. Chloroformová vrstva se zbarví hnědožlutě (sloučenina Hg).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,5.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

4792 *Acidi borici rhinoguttae cum ephedrino***Stanovení obsahu**

6,000 g se smíchá s 10 ml čerstvě připraveného roztoku *sorbitolu R* (200 g/l) předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *modři thymolové RS* do zeleného zbarvení a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Vydává se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml a s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Předepíše-li lékař *Solutio acidi borici* nebo *Acidum boricum solutum* a z návodu k použití přípravku je zřejmé, že přípravek je určen k podání do oka, vydává se *Acidi borici oculoguttae*.

Acidi borici rhinoguttae cum ephedrino**N**

Nosní kapky s kyselinou boritou a s efedrinem

Synonymum. *Acidi borici cum ephedrino naristillae*

Je to roztok efedriniumchloridu ($C_{10}H_{16}ClNO$, $M_r 201,70$) a kyseliny borité (H_3BO_3 , $M_r 61,83$). Obsahuje 0,90 % až 1,10 % $C_{10}H_{16}ClNO$ a 2,85 % až 3,15 % H_3BO_3 .

Příprava

Ephedrini hydrochloridum 1,0 g

Acidum boricum 3,0 g

Aqua purificata ad 100,0 g

Kyselina boritá se rozpustí v čištěné vodě zahřáté na 60 °C až 70 °C, roztok se ochladí, přidá se efedriniumchlorid, doplní se převařenou a vychladlou čištěnou vodou do 100,0 g a zfiltruje se.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A.** K 1 ml se přidá několik krystalků *hexakynoželezitanu draselného R*, 0,2 ml *hydroxidu sodného RS* a zahřeje se k varu. Je cítit pach benzaldehydu a navlhčený lakmusový papír se vznikajícími parami postupně barví modře (*efedrin*).
- B.** 1 ml vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- C.** 5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Tento roztok po zapálení hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,5.

Mikrobiální znečištění. Vyhovuje požadavkům na 2. kategorii (5.1.4). Počet mikroorganismů se stanoví metodou membránové filtrace (2.6.12).

Stanovení obsahu

Efedriniumchlorid. 3,000 g se zředí 40 ml *vody R*, přidá se 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,02 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,02 mol/l VS* odpovídá 4,034 mg $C_{10}H_{16}ClNO$.

Kyselina boritá. 3,500 g se smíchá s 10 ml čerstvě připraveného roztoku *sorbitolu R* (200 g/l) předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *červeně fenolové RS* do fialové červeného zbarvení a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Uchovávání

Viz článek *Nasalia*.

V chladu, chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Nasalia*.

Vydávání

Vydává se jen na lékařský předpis.

4794 *Acidi borici solutio 3%***Acidi borici solutio 3%****N**

Roztok kyseliny borité 3%

Je to roztok kyseliny borité. Obsahuje 2,85 % až 3,15 % H_3BO_3 (M_r 61,83).

Příprava

Acidum boricum	3,0 g
Aqua purificata	97,0 g

Kyselina boritá se rozpustí v čištěné vodě zahřáté na 60 °C až 70 °C a roztok se zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkouška totožnosti

5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Tento roztok po zapálení hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,0 až 5,0.

Stanovení obsahu

3,500 g se smíchá s 10 ml čerstvě připraveného roztoku *sorbitolu R* (200 g/l) předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *modři thymolové RS* do zeleného zbarvení a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Uchovávání

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

V chladnu.

Vydávání

Předepíše-li lékař *Solutio acidi borici* nebo *Acidum boricum solutum* nebo *Aqua borica* a z návodu k použití je zřejmé, že jde o přípravek určený k podání do oka, vydá se *Acidi borici oculoguttae* nebo *Acidi borici aqua ophthalmica*.

Acidi borici unguentum 10% 4795

Acidi borici unguentum 10%

N

Borová mast 10%

Synonymum. Unguentum acidi borici 10%

Je to hydrofobní mast obsahující 9,4 % až 10,6 % kyseliny borité (H_3BO_3 , M_r 61,83).

Příprava

Acidum boricum (180)	100,0 g
Vaselinum album	900,0 g

Za stálého roztírání se ke kyselině borité po částech přidává roztavená bílá vazelína a míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Bílá prosvítavá mast.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se smíchá v kádince s 5 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Masťový základ se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B. Asi 1 g se rozetře v porcelánové misce se 3 ml *lihu 96% R* a 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Zapálený lihový výluh hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).

Stanovení obsahu

1,000 g se v baňce se zabroušenou zátkou protřepává s 20 ml *etheru petrolejového R*, až se bílá vazelína rozpustí. Pak se přidá 20 ml čerstvě připraveného roztoku *sorbitolu R* (100 g/l) předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *modři thymolové RS* do zeleného zbarvení a titruje se za stálého silného protřepávání *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.

4796 *Acidi salicylici solutio ethanolica***Vydávání**

Předepíše-li lékař *Acidi borici unguentum* a neuvede-li koncentraci, vydává se mast 3%. Na tuto koncentraci se upravuje bílou vazelínou.

Acidi salicylici solutio ethanolica**N**

Ethanolický roztok kyseliny salicylové

Synonymum. *Acidi salicylici solutio spirituosa*

Je to roztok kyseliny salicylové ($C_7H_6O_3$, M_r 138,12) v ethanolu 60%. U individuálně připravených roztoků kyseliny salicylové obsahují koncentrace do 2 % včetně 90,0 % až 110,0 % deklarovaného množství $C_7H_6O_3$, vyšší koncentrace obsahují 92,5 % až 107,5 % deklarovaného množství $C_7H_6O_3$. Zásobní roztok určený k další přípravě léčivých přípravků obsahuje 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství $C_7H_6O_3$.

Příprava

Koncentrace roztoku	1 %	2 %	3 %	5 %	10 %
Acidum salicylicum	1,0 g	2,0 g	3,0 g	5,0 g	10,0 g
Ethanolum 60%	99,0 g	98,0 g	97,0 g	95,0 g	90,0 g

Kyselina salicylová se rozpustí v ethanolu 60% a roztok se zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina pachu po ethanolu.

Zkouška totožnosti

0,1 ml až 0,3 ml (podle deklarované koncentrace kyseliny salicylové) se zředí 10 ml vody *R* a přidá se 0,1 ml *chloridu železitého RS1*; vznikne intenzivně červenofialové zbarvení.

Zkouška na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2).

Stanovení obsahu

Kyselina salicylová. Množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 0,250 g kyseliny salicylové se zředí *lihem 96% R* na 25 ml, přidá se 0,1 ml *červeně fenolové RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do vzniku červenofialového zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Acidi salicylici unguentum 10% 4797

Ethanol. Pyknometricky se stanoví relativní hustota (d_{20}^{20}) zkoušeného přípravku (2.2.5). Obsah ethanolu ve zkoušeném přípravku v procentech (x) se vypočítá podle vzorce:

$$x = 445,64 - 432A + 4,12B - 3,36 AB + 0,0116B^2,$$

v němž značí:

A - d_{20}^{20} zkoušeného přípravku,

B - obsah kyseliny salicylové v procentech stanovený v odstavci Kyselina salicylová.

Uchovávání

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

Chráněn před světlem.

Označování

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

Vydávání

Je-li předepsáno *Acidi salicylici solutio ethanolica* (spirituosa) bez uvedení koncentrace kyseliny salicylové, vydá se 1% roztok.

Acidi salicylici unguentum 10%

N

Salicylová mast 10%

Synonymum. Unguentum acidi salicylici concentratum

Je to hydrofobní mast obsahující 9,4 % až 10,6 % kyseliny salicylové ($C_7H_6O_3$, M_r 138,12).

Příprava

Acidum salicylicum (180)	100,0 g
Paraffinum liquidum	50,0 g
Vaselinum flavum	850,0 g

Kyselina salicylová se důkladně rozetře s tekutým parafínem a asi 100 g žluté vazelíny podle potřeby roztavené, potom se přidá zbytek žluté vazelíny a míchá se do vychladnutí nebo se zhomogenizuje ve vhodném zařízení.

Vlastnosti

Světle žlutá stejnorodá mast.

4798 *Alcoholis cetylici cremor***Zkoušky totožnosti**

- A. 1 g se smíchá v kádince s 5 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Masťový základ se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní masť*).
- B. 0,5 g se zahřeje s 10 ml *vody R* k varu. Po vychladnutí se tekutina zfiltruje. Filtrát reaguje na lakmusový papír zřetelně kysele a po přidání 0,1 ml *chloridu železitého RS1* se zbarví červeno-fialově (*kyselina salicylová*).

Stanovení obsahu

1,000 g se v baňce se zabroušenou zátkou protřepává s 20 ml *etheru petrolejového R* do rozpustění. K roztoku se přidá 10 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,2 ml *fenolftaleinu RS1* do slabě červeného zbarvení. Titruje se za stálého protřepávání *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.

Vydávání

Je-li předepsáno *Acidi salicylici unguentum* bez uvedení koncentrace kyseliny salicylové, vydává se *Acidi salicylici unguentum 1%*. Na nižší koncentraci kyseliny salicylové se masť upraví žlutou vazelinou.

Alcoholis cetylici cremor**N****Cetanolový krém***Synonymum*. *Cremor cetylicus*

Je to hydrofobní krém s cetylalkoholem. Obsahuje 37,5 % až 42,5 % vody.

Příprava

Alcoholis cetylici unguentum	60,0 g
Aqua purificata	40,0 g

Do změkklé nebo roztavené cetanolové masti se po částech vmíchá stejně teplá čištěná voda a míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Bílý krém, na jehož povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva vody. Ve vodě se nerozpouští. Dá se do něj vmíchat další, ale jen omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** Na dvě podložní sklička se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *parafinu tekutém R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou *vodou R* a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem *sudanu III* zbarví červeně a roztokem *modři methylenové* se nezbarví (*hydrofobní krém*).
- B.** Asi 0,5 g se protřepe s 5 ml *chloroformu R* a zakalený roztok se zfiltruje suchým papírovým filtrem. K filtrátu se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví zeleně (*cholesterol*).

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 5.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10.

Stanovení obsahu

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným ve stati Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a mrazem.

Alcoholis cetylici unguentum**N****Cetanolová mast**

Synonymum. Unguentum cetylicum

Je to mast emulgující vodu s cetylalkoholem.

Příprava

Alcohol cetylicus	20,0 g
Adeps lanae	150,0 g
Vaselinum album	830,0 g

Cetylalkohol, tuk z ovčí vlny a bílá vazelína se roztaví a směs se míchá do vychladnutí.

4800 *Alcoholis cetylici unguentum***Vlastnosti**

Slabě nažloutlá mast, téměř bez pachu. V 1mm až 2mm tloušťce vrstvy je prosvítavá. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g se smíchá v kádince s 5 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B.** Asi 0,5 g se protřepe s 5 ml *chloroformu R* a zakalený roztok se zfiltruje suchým papírovým filtrem. K filtrátu se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sirové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví zeleně (*cholesterol*).

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 5.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10.

Zkouška lékové formy

Vodné číslo. Nejméně 60. Do 25,0 g měkké nebo při nejnižší možné teplotě roztavené masti ve třence odvážené s těrkou se za stálého míchání postupně přidává *voda R* stejné teploty tak dlouho, pokud ji mast váže. Míchá se do vychladnutí. Vzniklá emulze se nechá 24 h stát při pokojové teplotě. Oddělená voda se odstraní, směs se opatrně rozetře po stěnách třenky a kapky vody se odsají filtračním papírem. Potom se třenka s těrkou i obsahem zvaží. Vodné číslo se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot a}{n},$$

v němž značí:

a - množství vody zjištěné diferenčním vážením v gramech,

n - navážku zkoušeného přípravku v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.

Alcoholum adipis lanae cremor 4801

Alcoholum adipis lanae cremor

N

Krém s alkoholy tuku z ovčí vlny

Synonymum. Cremor lanalcoli

Je to hydrofobní krém obsahující 48,0 % až 52,0 % vody a alkoholy z tuku z ovčí vlny.

Příprava

Alcoholum adipis lanae unguentum 50,0 g

Aqua purificata 50,0 g

Do změkklé nebo roztavené masti s alkoholy tuku z ovčí vlny se po částech vmíchá stejně teplá čištěná voda a směs se míchá do vychladnutí.

Vlastnosti

Bledě žlutý krém slabého charakteristického pachu. Na povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva vody. Ve vodě se nerozpouští. Dá se do něj vmíchat další, ale jen omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** Na dvě podložní sklíčka se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *tekutém parafinu R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou *vodou R* a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem *sudanu* zbarví červeně a roztokem *modři methylenové* se nezbarví (*hydrofobní krém*).
- B.** Asi 0,5 g se třepáním rozpustí v 5 ml *chloroformu R* a zakalený roztok se zfiltruje suchým papírovým filtrem. K filtrátu se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R* a roztok se opatrně promíchá; roztok se zbarví zeleně (*cholesterol*).

Stanovení obsahu

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným ve stati Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a mrazem.

4802 *Alcoholum adipis lanae unguentum*

Alcoholum adipis lanae unguentum

N

Mast s alkoholy tuku z ovčí vlny

Synonyma. Unguentum lanalcoli

Je to mast emulgující vodu s alkoholy tuku z ovčí vlny.

Příprava

Alcoholes adipis lanae

100,0 g

Vaselinum flavum

900,0 g

Alkoholy tuku z ovčí vlny a žlutá vazelína se roztaví a směs se míchá do vychladnutí.

Vlastnosti

Prosvítavá mast slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se smíchá v kádince s 5 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B. Asi 0,5 g se třepáním rozpustí v 5 ml *chloroformu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a roztok se opatrně promíchá; roztok se zbarví sytě zeleně (*cholesterol*).

Zkouška lékové formy

Vodné číslo. Nejméně 100. Do 25,0 g měkké nebo při nejnižší možné teplotě roztavené masti ve třence odvážené s těrkou se za stálého míchání postupně přidává *voda R* stejné teploty tak dlouho, pokud ji mast váže. Míchá se do vychladnutí. Vzniklá emulze se nechá 24 h stát při pokojové teplotě. Oddělená voda se odstraní, směs se opatrně rozetře po stěnách třenky a kapky vody se odsají filtračním papírem. Potom se třenka s těrkou i obsahem zváží. Vodné číslo se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot a}{n},$$

v němž značí:

a - množství vody zjištěné diferenčním vážením v gramech,

n - navážku zkoušeného přípravku v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Aluminii acetotartratis cremor 4803

OznačováníViz článek *Unguenta*.**Aluminii acetotartratis cremor****N**

Krém s octanem a vínanem hlinitým

Synonymum. Cremor aluminii acetico-tartarici

Je to hydrofobní krém s octanem hlinitým a vínanem hlinitým. Obsahuje 0,12 % až 0,16 % hliníku (Al, A_r 26,98) a 16,0 % až 20,0 % vody (H₂O, M_r 18,02).

Příprava

Aluminii acetotartratis solutio	100,0 g
Aqua purificata	100,0 g
Adeps lanae	200,0 g
Vaselinum flavum	600,0 g

Tuk z ovčí vlny a žlutá vazelína se zahřívají na vodní lázni při 40 °C a mícháním se zhomogenizují. Do této směsi se po částech vmíchá 40 °C teplá směs roztoku octanu a vínanu hlinitého a čištěné vody. Směs se míchá do vychladnutí. Po 24 h se znovu promíchá.

Vlastnosti

Nažloutlý krém, slabě páchnoucí po kyselině octové. Na jeho povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva vody. Ve vodě se nerozpouští. Dá se do něj vmíchat další, ale jen omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** Na dvě podložní sklíčka se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *parafinu tekutém R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou *vodou R* a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem *sudanu III* zbarví červeně a roztokem *modři methylenové* se nezbarví (*hydrofobní krém*).
- B.** 5 g se protřepe s 20 ml *chloroformu R* a s 10 ml *vody R*. Vodná vrstva se zfiltruje přes navlhčený filtrační papír, filtrát se rozdělí na 3 díly a použije se také ke zkouškám C a D. K první části filtrátu se přidá 0,3 ml *kyseliny octové zředěné RS*, 0,6 ml *hydrogenfosforečnanu sodného RS* a zahřeje se k varu; vznikne bílá gelovitá sraženina rozpustná v *kyselině chlorovodíkové 10% RS* (*hliník*).

4804 *Aluminii acetotartratis otoguttae*

- C. Ke druhé části filtrátu ze zkoušky B se přidají 2 ml *lihu 96% R*, 2 ml *kyseliny sírové R* a mírně se zahřeje; vzniká pach ethylacetatu (*kyselina octová*).
- D. Ke třetí části filtrátu ze zkoušky B se přidá 0,05 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l RS* a 0,1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a mírně se zahřeje; tekutina se odbarví (*kyselina vinná*).
- E. Asi 0,5 g se protřepe s 5 ml *chloroformu R* a zakalený roztok se zfiltruje suchým papírovým filtrem. K filtrátu se přidá 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví zeleně (*cholesterol*).

Stanovení obsahu

Hliník. Do 250ml baňky se zábrusem se naváží 10,00 g zkoušeného přípravku, přidá se 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 2 mol/l RS*, 15 ml *ethylacetatu R*, 15,0 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* a zahřívá se 15 min pod zpětným chladičem za mírného varu. Potom se chladič propláchne asi 20 ml *vody R*, přidá se 5,0 g *methenaminu R*, asi 0,04 g *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R* a ještě teplá směs se za stálého míchání titruje *dusičnanem olovnatým 0,1 mol/l VS* ze žlutého do trvale fialově červeného zbarvení vodné vrstvy.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,698 mg Al.

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným v článku Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a mrazem.

Aluminii acetotartratis otoguttae**N**

Ušní kapky s octanem a vínanem hlinitým

Synonymum. Instillatio aluminii acetico-tartarici

Je to lihovodný roztok octanu a vínanu hlinitého. Obsahuje 0,50 % až 0,62 % hliníku (Al, A_r 26,98) a 22,2 % až 25,8 % ethanolu (C_2H_6O , M_r 46,07).

Příprava

Aluminii acetotartratis solutio	40,0 g
Aqua purificata	20,0 g
Ethanolum 60%	40,0 g

Roztok octanu a vínanu hlinitého se postupně smíchá s předem připravenou směsí čištěné vody a ethanolu 60%.

Vlastnosti

Čirá nebo bezbarvá velmi slabě nažloutlá tekutina se slabým pachem po kyselině octové a ethanolu.

Zkoušky totožnosti

- A. Vyhovuje zkoušce na hliník (2.3.1).
B. K 1 ml se přidá 1 ml *kyseliny sírové R*; po zahřátí je cítit pach ethylacetatu (*kyselina octová, lih*).
C. Vyhovuje zkoušce b) na vlnany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 3,6 až 4,4.

Stanovení obsahu

1,000 g se smíchá s 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 50 ml *vody R*. Přidá se 10,0 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS*, 0,1 ml *červeně methylové RS* a po kapkách roztok *hydroxidu sodného R* (42 g/l) do trvalého oranžově žlutého zbarvení. Potom se tekutina zahřeje k varu, nechá se 10 min na vodní lázni, pak se rychle ochladí, přidá se asi 50 mg *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R*, 5,0 g *methenaminu R* a retitruje se *dusičnanem olovnatým 0,1 mol/l VS* ze žlutého do trvalého červenofialového zbarvení.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,698 mg Al.

Ethanol. 1,000 g se v baňce zředí na 250,0 ml. V kuželové baňce se zábrusem na 250 ml se za stálého chlazení smíchá 10,0 ml *dichromanu draselného 0,0167 mol/l VS* a 14 ml *kyseliny sírové R*. Do chladné směsi se odměří 5,0 ml naředěného roztoku zkoušeného přípravku. Po uzavření a promíchání se nechá 10 min stát, zředí se asi 150 ml *vody R* a přidá se 1 g *jodidu draselného R*. Titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 2 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Současně se provede slepá zkouška, kde se místo vzorku použije 5,0 ml *vody R*.

1 ml *dichromanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 1,150 mg C₂H₆O.

Uchovávání

Viz článek *Auricularia*.
Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Auricularia*.

Vydávání

Obsahuje-li přípravek sediment, nesmí se použít.

4806 *Aluminii acetotartratis solutio*

Aluminii acetotartratis solutio

N

Roztok octanu a vínanu hlinitého

Synonymum. Solutio aluminii acetico-tartarici

Je to roztok octanu a vínanu hlinitého. Obsahuje 1,30 % až 1,50 % hliníku (Al, A_r 26,98).

Příprava

Aluminii sulfas	240,0 g
Calcii carbonas	105,0 g
Acidum aceticum 99%	88,0 g
Aqua purificata	1520,0 g
Acidum tartaricum	q.s.

Síran hlinitý se rozpustí v čištěné vodě, přidá se uhličitán vápenatý a kyselina octová 99%. Po promíchání a vyšumění se směs nechá 48 h ustát. Pak se zfiltruje a na každých 100,0 g filtrátu se přidá 3,5 g kyseliny vinné.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá tekutina se slabým pachem po kyselině octové, mísitelná s vodou. *Lakmusový papír modrý R* barví červeně.

Zkoušky totožnosti

- Vyhovuje zkoušce na hliník (2.3.1).
- K 1 ml se přidá 1 ml *lihu 96% R*, 1 ml *kyseliny sírové R* a mírně se zahřeje; vzniká pach ethylacetatu (*kyselina octová*).
- 0,1 ml zkoušeného přípravku vyhovuje zkoušce (b) na vínany (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ₇ (2.2.2, *Metoda II*).

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 1,054 \text{ g/cm}^3$ až $1,061 \text{ g/cm}^3$.

Zbytek po odpaření. 9,5 % až 11,5 %. 10,0 g se odpaří na vodní lázni do sucha a suší se 30 min v sušárně při 100 °C až 105 °C; hmotnost zbytku je 0,95 g až 1,15 g.

Stanovení obsahu

1,000 g zkoušeného přípravku se smíchá s 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 50 ml *vody R*. Přidá se 15,0 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS*, 0,1 ml *červeně methylové RS* a po kapkách roztok *hydroxidu sodného R* (42 g/l) do trvalého oranžově žlutého zbarvení. Potom se tekutina zahřeje k varu, nechá se 10 min na vodní lázni, pak se rychle ochladí, přidá se asi 50 mg *oranže*

Ammoniae solutio 10% **4807**

xylolové s dusičnanem draselným R, 5,0 g methenaminu R a retitruje se dusičnanem olovnatým 0,1 mol/l VS ze žlutého do trvalého červenofialového zbarvení.

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 2,698 mg Al.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, při teplotě 15 °C až 25 °C, chráněn před světlem.

Ammoniae solutio 10%

N

Roztok amoniaku 10%

Synonymum. Solutio ammoniae diluta

Je to roztok obsahující 9,8 % až 10,2 % amoniaku (NH_3 , M_r 17,03).

Příprava

Ammoniae solutio concentrata 38,5 g

Aqua purificata 61,5 g

Obě kapaliny se smíchají.

Poznámka. Množství koncentrovaného amoniaku se upraví podle aktuálního obsahu NH_3 .

Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina charakteristického pachu, mísitelná s vodou a lihem 96%.

Zkoušky totožnosti

A. Relativní hustota (2.2.5). 0,957 až 0,961.

B. K 1 ml se přidají 2 ml vody R a 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS. Přidá se 1 ml hexanitrokobaltitanu sodného RS; vznikne žlutá sraženina (amoniak).

C. 1 ml se po přidání 0,1 ml modři thymolové RS zbarví modře.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 5 ml se zředí vodou R na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Zbytek po odpaření. 50 ml se odpaří na vodní lázni do sucha a 1 h se suší při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (nejvýše 0,02 g/l).

4808 *Anisi spiritus compositus*

Stanovení obsahu

Baňka se zabroušenou zátkou obsahující 25,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* se zváží, přidá se 1,5 ml zkoušeného přípravku a opět se zváží. Potom se přidá 0,15 ml *červeně methylové RS* a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* do změny červeného zbarvení na žluté.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 17,03 mg NH₃.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, při teplotě nepřevyšující 20 °C.

Žíravina.

Vydávání

Předepíše-li lékař *Solutio ammoniae*, vydává se *Ammoniae solutio* 10%.

Anisi spiritus compositus

N

Složený anýzový líh

Je to roztok anýzové silice a chloridu amonného (NH₄Cl, *M*_r 53,49) ve směsi vody a lihu.

Obsahuje 2,8 % až 3,2 % sloučeniny NH₄Cl.

Příprava

Anisi etheroleum	2,0 g
Ammonii chloridum	3,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	40,0 g
Aqua purificata	55,0 g

Anýzová silice se rozpustí v ethanolu 96% za stálého protřepávání se přidává čištěná voda a nakonec se přidá chlorid amonný. Pokud je tekutina zakalená, protřepe se s 3 g mastku, nechá se stát několik hodin za občasného promíchání a potom se zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě žlutá tekutina s pachem po anýzu.

Při teplotě pod 5 °C se zakalí.

Zkoušky totožnosti

A. Ve skleněné misce na 10 ml se smíchá 1 ml roztoku *manganistanu draselného R* (10 g/l), 0,2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,5 ml zkoušeného přípravku. Miska se přikryje filtračním papírem, který byl navlhčen čerstvě připraveným roztokem 0,1 g *nitroprussidu sodného R* a 0,5 g *piperazinu hexahydrátu R* v 5 ml *vody R*. Papír se zbarví intenzivně modře a po několika minutách barva vybledne.

B. Vyhovuje zkoušce na amonné soli a soli těžkých bází (2.3.1).

C. 0,15 ml se zředí vodou R na 2 ml, okyselí se kyselinou dusičnou zředěnou RS a zakalený roztok se zfiltruje. K filtrátu se přidá 0,4 ml dusičnanu stříbrného RS, protřepe se a nechá se stát; vylučuje se bílá tvarohovitá sraženina, která je snadno rozpustná v 1,5 ml amoniaku 17,5 % RS (chloridy).

Zkoušky na čistotu

Index lomu (2.2.6). 1,360 až 1,362.

Relativní hustota (2.2.5). 0,943 až 0,947.

Zbytek po vyžhání. Nejvýše 0,05 %; 10,00 g se odpaří na vodní lázni do sucha, potom se žihá do konstantní hmotnosti a po ochlazení v exsikátoru se zváží.

Stanovení obsahu

1,000 g se smíchá s 30 ml vody R a 5 ml kyseliny sírové RS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 5,35 mg sloučeniny NH₄Cl.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Aqua carminativa

N

Větrová voda

Je to vodný roztok vybraných silic s přísadou ethanolu.

Příprava

Carvi etheroleum	0,1 g
Citri etheroleum	0,1 g
Citronellae etheroleum	0,1 g
Coriandri etheroleum	0,1 g
Foeniculi etheroleum	0,1 g
Menthae piperitae etheroleum	0,1 g
Ethanolum 96% (V/V)	2,4 g
Aqua purificata	997,0 g
Talcum	5,0 g

4810 *Aqua carminativa rubra*

Silice se rozpustí v ethanolu 96% a tento roztok se přidává za stálého silného protřepávání do čištěné vody a 15 min se protřepává. Asi 20 g tohoto roztoku se pečlivě rozetře s 5 g mastku a přidá se zpět k hlavnímu podílu tekutiny. Po intenzivním promíchání se nechá usadit a zfiltruje se filtrem navlhčeným čištěnou vodou.

Vlastnosti

Bezbarvá téměř čirá tekutina charakteristického příjemného pachu.

Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Zkoušený přípravek je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*) a neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze III (2.2.1).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. Zkoušený přípravek nemění barvu *papíru lakmusového červeného R* ani *papíru lakmusového modrého R*.

Cizí pach. Nemá zatuchlý nebo jiný cizí pach.

Zbytek po odpaření. 20,0 ml se odpaří na vodní lázni do sucha a potom se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Po vychladnutí v exsikátoru zbytek váží nejvýše 2 mg (0,01 %).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, nejlépe zcela naplněných, chráněna před světlem.

Aqua carminativa rubra**N**

Červená větrová voda

Je to vodný roztok silic s přísadou ethanolu, chuťově upravený prostým sirupem a obarvený.

Příprava

Aurantii amari etheroleum	0,1 g
Carvi etheroleum	0,1 g
Caryophylli etheroleum	0,1 g
Cinnamomi etheroleum	0,1 g
Foeniculi etheroleum	0,1 g
Macidis etheroleum	0,1 g
Mentae piperitae etheroleum	0,1 g
Citronellae etheroleum	0,5 g
Coriandri etheroleum	0,5 g
Citri etheroleum	1,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	126,2 g
Sirupus simplex	266,0 g
Ponceau 4R R	0,26 g

Čerň brilantní RN R	0,02 g
Aqua purificata	ad 1333,0 g
Talcum	7,0 g

Silice se rozpustí v ethanolu 96% a k tomuto roztoku se za stálého silného protřepávání přidá 72 g čištěné vody a ještě 15 min se protřepává. Asi 30 g tohoto roztoku se pečlivě rozetře se 7 g mastku a přidá se zpět k lihovodnému roztoku silic. Po intenzivním promíchání se nechá usadit a zfiltruje se filtrem navlhčeným čištěnou vodou. Potom se přidá prostý sirup a roztok barviv ve zbytku čištěné vody. Tekutina se nechá 2 h stát za občasného promíchávání. V případě větší opalescence se opakuje přidání mastku a filtrace.

Vlastnosti

Fialově červená téměř čirá tekutina charakteristického příjemného pachu a nasládlé chuti.

Zkoušky totožnosti

- A. 5 ml se smíchá s 1 ml *kyseliny octové ledové R* a 2 ml *kyseliny sírové R*; je cítit ethylacetat (ethanol).
- B. K 5 ml se přidá asi 0,2 g *resorcinolu R* a 3 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřeje se k varu; vzniká červená sraženina (*sacharosa*).

Zkoušky na čistotu

Index lomu (2.2.6). n_D^{20} je 1,356 až 1,359.

Zbytek po odpaření. 11,5 % až 14,0 %; 2,00 g se odpaří na vodní lázni do sucha a suší se 2 h v sušárně při 105 °C. Po vychladnutí v exsikátoru se zbytek zváží.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, nejlépe zcela naplněných. Chráněna před světlem.

Aqua conservans

N

Konzervační voda

Je to roztok methylparabenu ($C_8H_8O_3$, M_r 152,15) a propylparabenu ($C_{10}H_{12}O_3$, M_r 180,20). Obsahuje 0,085 % až 0,115 % celkového množství sloučenin $C_8H_8O_3$ a $C_{10}H_{12}O_3$.

Příprava

Methylparabenium	0,67 g
Propylparabenium	0,33 g
Aqua purificata	999,0 g

4812 *Aqua conservans*

Methylparaben a propylparaben se rozpustí ve vroucí čištěné vodě. Tekutina se ochladí, doplní se čištěnou vodou na 1000,0 g a zfiltruje se.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A.** 0,5 ml se krátce zahřeje na vodní lázni s 2 ml *zkoumadla Millonova R*; vznikne červené zbarvení.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Parabenů, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny, z nichž jedna polohou a velikostí odpovídá skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a druhá skvrna odpovídá polohou a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Parabenů. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného oktadecylsilanizovaného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. Použijte se zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok (a). 6,7 mg *methylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 3,3 mg *propylparabenu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 1 ml porovnávacího roztoku (a) a 1 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchají.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (1 + 30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna methylparabenu nepřevyšuje velikostí a intenzitou zhášení fluorescence skvrnu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a skvrna propylparabenu nepřevyšuje velikostí a intenzitou zhášení fluorescence skvrnu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Další skvrny nejsou přítomny.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

Chromatogramy se použijí ke zkoušce totožnosti B.

Stanovení obsahu

25,0 ml se v baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 1 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a zahřívá se 15 min na vodní lázni. Po ochlazení se přidá 25,0 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS*, 2,5 g *bromidu draselného R* a 15 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Baňka se rychle uzavře a nechá se stát 15 min v temnu za občasných promíchání. Potom se přidá 1 g *jodidu draselného R*, 10 ml *chloroformu R*, baňka se uzavře a po promíchání směsi se nechá 3 min

Argenti nitratis unguentum compositum 4813

stát v temnu. Pak se retitruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě žlutého zbarvení a po přidání 2 ml *škrobu RS* se dotitruje do odbarvení.

1 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 2,692 mg směsi $C_8H_8O_3$ a $C_{10}H_{12}O_3$ (2 + 1).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Argenti nitratis unguentum compositum

N

Složená mast s dusičnanem stříbrným

Je to hydrofobní mast s dusičnanem stříbrným a peruánským balzámem. Obsahuje 0,90 % až 1,10 % dusičnanu stříbrného ($AgNO_3$, M_r 169,87).

Příprava

Argenti nitras	1,0 g
Aqua purificata	1,0 g
Adeps lanae	3,0 g
Balsamum peruvianum	10,0 g
Vaselinum flavum	85,0 g

Roztok dusičnanu stříbrného v čištěné vodě se smíchá s tukem z ovčí vlny, potom se přimíchá žlutá vazelína a nakonec peruánský balzám.

Vlastnosti

Stejnorodá tmavě hnědá mast charakteristického pachu po peruánském balzámu.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se míchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští. Zakalený chloroformový roztok se použije ve zkoušce B (*hydrofobní mast*).
- B. Zakalený chloroformový roztok ze zkoušky A se zfiltruje. K filtrátu se přidá 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; vznikne tmavě zelené zbarvení (*cholesterol*).
- C. 10 g se povaří s 10 ml *vody R* a po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se použije také ke zkouškám D a E. K 1 ml filtrátu se přidá 10 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce na stříbro (2.3.1).

4814 Bentoniti magma

- D.** K 1 ml filtrátu ze zkoušky C se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a promíchá se. Na vychladlou tekutinu se opatrně navrství 3 ml roztoku *síranu železnatého R* (250 g/l); na styku obou tekutin vznikne tmavý prstenec (*dusičnany*).
- E.** Ke 3 ml filtrátu ze zkoušky C se přidá 0,5 ml *manganistanu draselného RS* a zahřeje se; vyvíjí se slabý pach benzaldehydu (*kyselina skořicová*).

Stanovení obsahu

2,500 g se opatrně spálí v porcelánovém kelímku. Ke zbytku, který obsahuje ještě částice uhlíku, se přidá 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zahřívá se 20 min na vodní lázni. Po vychladnutí se obsah kelímku převede celkem 50 ml *vody R* do kádinky a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,02 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *thiokyanatanu amonného 0,02 mol/l VS* odpovídá 3,397 mg AgNO₃.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

V chladnu, chráněna před světlem.

Vydávání

Předepíše-li lékař *Unguentum argenti nitrici cum balsamo peruviano* nebo *Unguentum Billrothi* nebo *Unguentum Mikulič*, vydává se *Argenti nitratis unguentum compositum*.

Bentoniti magma**N****Bentonitová magma***Synonymum*. Magma bentoniti

Je to vodná koloidní disperze bentonitu.

Příprava

Bentonitum	5,0 g
Aqua purificata	95,0 g
Acidum peraceticum 35%	0,01 g

Bentonit se po částech nasype na povrch čištěné vody teplé asi 80 °C, tekutina se promíchá, po vychladnutí se přidá kyselina peroctová a za občasného promíchání se nechá stát 24 h.

Vlastnosti

Polotuhá, po zatřepání tekoucí, zakalená neprůhledná žlutobílá až nažloutlá stejnorodá hmota.

† *Belladonnae folii extractum siccum normatum* 4815

Zkoušky na čistotu

Stejnorodost disperze. Neobsahuje pouhým okem viditelné nabobtnalé částice a klky.

Zbytek po odpaření. 10,00 g se na vodní lázni odpaří do sucha. Zbytek sušený při 105 °C do konstantní hmotnosti váží po vychladnutí v exsikátoru nad *oxidem fosforečným R* 0,42 g až 0,51 g.

Uchovávání

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

† *Belladonnae folii extractum siccum normatum*



Suchý titrovaný extrakt z listů rulíku

1999

Je to suchý titrovaný extrakt z listů rulíku. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 0,95 % až 1,05 % celkových alkaloidů, počítaných jako hyoscyamin ($C_{17}H_{23}NO_3$, $M_r 289,4$).

Příprava

Připraví se z drogy za použití *lihu R* 70% (V/V) způsobem uvedeným v článku *Extracta*.

Vlastnosti

Hnědý nebo nazelenalý hygroskopický prášek.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 1 g extraktu se smíchá s 5,0 ml *methanolu R*, protřepává se 2 min a pak se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 1,0 mg *kyseliny chlorogenové R* a 2,5 mg *rutinu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se odděleně nanese do pruhů po 20 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R*, *2-butanonu R* a *ethylacetatu R* (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší při 100 °C až 105 °C a teplá vrstva se postříká roztokem *difenylboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*. Vrstva se suší na vzduchu 30 min a pak se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího i zkoušeného roztoku je ve střední části skvrna se světlemodrou fluorescencí (kyselina chlorogenová) a v dolní části skvrna se žlutohnědou fluorescencí (rutin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je těsně nad startem skvrna se žlutohnědou fluorescencí, těsně nad ní skvrna se žlutou fluorescencí a mezi skvrnou rutinu a skvrnou kyseliny chlorogenové je skvrna se

4816 † *Belladonnae folii extractum siccum normatum*

žlutou nebo hnědou fluorescencí. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny i další skvrny.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Atropin, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Atropin. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,20 g extraktu se smíchá s 10,0 ml *kyseliny sírové 0,05 mol/l RS*, protřepává se 2 min a pak se zfiltruje. Filtrát se smíchá s 1,0 ml *amoniaku 26 % R* a protřepává se dvakrát 10 ml *etheru prostého peroxidických látek R*, je-li třeba, vrstvy se odstředí. Spojené etherové vrstvy se vysuší asi 2 g *síranu sodného bezvodého R*, pak se zfiltrují a odpaří se do sucha na vodní lázni. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml *methanolu R*.

Porovnávací roztok. 50 mg *hyoscyaminiumsulfatu R* se rozpustí v 9 ml *methanolu R*. 15 mg *skopolaminiumbromidu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*. Smíchá se 1,8 ml roztoku skopolaminiumbromidu a 8 ml roztoku hyoscyaminiumsulfatu.

Na vrstvu se odděleně nanese do pruhů po 20 μ l každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26 % R*, *vody R* a *acetonu R* (3 + 7 + 90) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení se postříká *jodobismutitanem draselným RS2* do vzniku oranžových nebo hnědých skvrn na žlutém pozadí. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou (hyoscyamin v dolní třetině, skopolamin v horní třetině chromatogramu) a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny i další méně intenzivní skvrny. Pak se vrstva postříká *dusitanem sodným RS* tak, aby byla průsvitná. Pozoruje se po 15 min. Oranžové nebo hnědé skvrny odpovídající hyoscyaminu na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku se zbarví červeno-hnědě, ne však šedomodře (atropin).

Ztráta sušením. Nejvýše 5,0 %. Proveďte se způsobem uvedeným v článku *Extracta sicca*.

Mikrobiologická čistota. Celkový počet živých aerobních mikroorganismů je nejvýše 10^4 v gramu, z toho nejvýše 10^2 hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách (2.6.12). Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella*.

Stanovení obsahu

V každém extrakčním stupni je nutné ověřit, že extrakce alkaloidů byla provedena kvantitativně. Při extrakci do organické fáze se odpaří několik mililitrů z poslední organické vrstvy do sucha, zbytek se rozpustí v *kyselině sírové 0,25 mol/ RS* a pomocí *tetrajodortuńnatanu draselného RS* se ověří nepřítomnost alkaloidů. Při extrakci do kyselé vodné fáze se nepřítomnost alkaloidů ověří v několika mililitrech poslední kyselé vodné vrstvy *tetrajodortuńnatanem draselným RS*.

3,00 g se dispergují ve směsi 5 ml *amoniaku 17,5 % RS* a 15 ml *vody R*. Směs se protřepává nejméně třikrát 40 ml směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *etheru prostého peroxidických látek R* (1 + 3) až do kvantitativní extrakce alkaloidů. Spojené organické vrstvy se zahustí destilací na vodní lázni na asi 50 ml. Výsledná tekutina se převede do dělicí nálevky s použitím *etheru prostého peroxidických látek R* jako promývací tekutiny. K této tekutině se přidá nejméně 2,1 násobek *etheru prostého peroxidických látek R*, čímž vznikne vrstva o hustotě dostatečně nižší,

než je hustota vody. Výsledný roztok se protřepává nejméně třikrát 20 ml *kyseliny sírové 0,25 mol/l RS* až do kvantitativní extrakce alkaloidů. Je-li třeba, vrstvy se oddělí odstředěním a kyselé vrstvy se převedou do druhé dělicí nálevky. Spojené kyselé vrstvy se zalkalizují *amoniakem 17,5 % R*, protřepávají se nejméně třikrát 30 ml *dichlormethanu R* až do kvantitativní extrakce alkaloidů. Organické vrstvy se spojí, přidají se 4 g *síranu sodného bezvodého R* a nechají se stát 30 min za občasného protřepání. Dichlormethanová vrstva se slije a síran sodný se promyje třikrát 10 ml *dichlormethanu R*. Spojené organické vrstvy se odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek se zahřívá 15 min v sušárně při 100 °C až 105 °C. Potom se zbytek rozpustí v několika mililitrech *dichlormethanu R*, odpaří se do sucha na vodní lázni a opět se suší 15 min v sušárně při 100 °C až 105 °C, rozpustí se v několika mililitrech *dichlormethanu R* a přidá se 20,0 ml *kyseliny sírové 0,01 mol/l VS* a dichlormethan se odpaří na vodní lázni. Přidá se *červeň methylová směsný indikátor RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,02 mol/l VS*.

Celkový obsah alkaloidů v procentech, počítáno jako hyoscyamin, se vypočte ze vzorce:

$$\frac{57,88 \cdot (20 - n)}{100 \cdot m},$$

v němž značí:

a - spotřebu *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* v mililitrech,

m - navážku zkoušené látky v gramech.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Seperandum.

Označování

Označuje se způsobem uvedeným v článku *Extracta*.

Calcii chloridi solutio

N

Roztok chloridu vápenatého

Synonymum. Solutio calcii chlorati

Je to roztok hexahydrátu chloridu vápenatého ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $M_r 219,08$). Obsahuje 48,5 % až 51,0 % $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Příprava

Calcii chloridum hexahydricum

500,0 g

Aqua purificata

500,0 g

Hexahydrát chloridu vápenatého se rozpustí v čištěné vodě, promíchá se a zfiltruje.

4818 *Calcii hydroxidi solutio***Vlastnosti**

Čirý bezbarvý roztok.

Zkoušky totožnosti

A. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

B. Vyhovuje zkouškám na vápník (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 6,0 ml se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 20,0 ml.

Hustota (2.2.5). 1,224 g/cm³ až 1,234 g/cm³.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10,0 ml čerstvě připraveného roztoku S se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS. Jestliže je roztok červený, změní se jeho zbarvení přidáním nejvýše 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS. Jestliže je roztok bezbarvý, ke vzniku červeného zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,2 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Stanovení obsahu

0,400 g se zředí 100 ml vody R a provede se chelatometrická titrace vápníku (2.5.11).
1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 21,91 mg CaCl₂ · 6H₂O.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Calcii hydroxidi solutio**N**

Roztok hydroxidu vápenatého

Synonymum. Solutio calcii hydroxydati

Je to za pokojové teploty nasycený roztok hydroxidu vápenatého (Ca(OH)₂, M_r 74,10). Obsahuje nejméně 0,15 % Ca(OH)₂.

Příprava

Calcii oxidum	10 g
Aqua purificata	q.s.

Při přípravě se použije čerstvě převařená vychladlá čištěná voda.

Rozetřený oxid vápenatý se v porcelánové misce zvolna pokropí asi 40 ml čištěné vody. Po úplném vyhašení a vychladnutí se vzniklá suspenze přelije do litrové láhve, přidá se 500 ml čištěné vody, důkladně se protřepe a nechá ustát. Potom se čirá tekutina odleje, v láhvi zbylý hydroxid

Camphorae spiritus **4819**

vápenatý se zaleje 1000 ml čištěné vody, důkladně se protřepe a láhev se dobře uzavře. V čas potřeby se čirá tekutina stáhne nebo sleje a zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina, bez pachu. Reaguje silně zásaditě a na vzduchu se na povrchu tekutiny tvoří bílý povlak uhličitanu vápenatého.

Zkoušky totožnosti

A. K 10 ml se přidá *šťavelan amonný RS*, vzniká bílá sraženina nerozpustná v *kyselině octové ledové R* a v *amoniaku zředěném RS1*, avšak snadno rozpustná v *kyselině chlorovodíkové 10% RS* (vápník).

B. 10 ml se povaří; vznikne bílý zákal (*uhličitan vápenatý*).

Stanovení obsahu

K 25,0 g se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* do odbarvení.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,705 mg Ca(OH)_2 .

Uchovávání

Nad sraženinou hydroxidu vápenatého ve zcela naplněných a dobře uzavřených obalech odolných proti alkáliím.

Camphorae spiritus**N****Kafrový líh***Synonymum.* Spiritus camphoratus

Je to lihový roztok racemického kafru ($\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$, M_r 152,24). Osahuje 9,3 % až 10,7 % $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$.

Příprava

Camphora racemica	100,0 g
Ethanolum 96%	570,0 g
Aqua purificata	330,0 g

Racemický kafr se rozpustí v ethanolu 96%, po částech se přidá čištěná voda a tekutina se zfiltruje.

Vlastnosti

Bezbarvá téměř čirá tekutina charakteristického kafrového pachu.

4820 *Camphorae spiritus***Zkoušky totožnosti**

Základní zkouška A.

Alternativní zkouška B, viz *Obecné zásady (1.2)*.

- A. Absorpční spektrum roztoku ze zkoušky Stanovení obsahu, měřené v rozsahu 240 nm až 320 nm, vykazuje maximum při 290 nm ± 2 nm.
- B. 10,0 ml se zředí 10 ml *vody R*, vyloučená látka se odfiltruje, vysuší a změří se její teplota tání v kapiláře (2.2.14); taje v rozmezí 172 °C až 180 °C.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je bezbarvý (2.2.2) a neopalizuje silněji než porovnávací suspenze I (2.2.1).

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 0,895 \text{ g/cm}^3$ až $0,902 \text{ g/cm}^3$.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 10,0 ml se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; zkoušený přípravek se nezbarví. Ke vzniku červeného zbarvení se spotřebuje nejvýše 0,60 ml *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS*, připraveného v čas potřeby zředěním *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Zbytek po odpaření. 20,00 g se odpaří na vodní lázni do sucha a 1 h se suší při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti. Zbytek váží nejvýše 10 mg (0,05 %).

Stanovení obsahu

2,000 g se zředí *methanolem R* na 50 ml. Roztok se použije také ke zkoušce totožnosti A. Změří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku v maximu při 290 nm proti *methanolu R* jako kontrolní tekutině.

Obsah kafru v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot V}{2,08 \cdot m},$$

v němž značí:

A - absorbanci roztoku,

V - konečný objem měřeného roztoku v mililitrech,

m - navážku roztoku v gramech.

Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Chloramphenicoli oculo guttae 4821

Chloramphenicoli oculo guttae

N

Chloramfenikolové oční kapky

Synonymum. Collyrium chloramphenicoli

Je to sterilní roztok chloramfenikolu ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, M_r 323,13) s izotonizačními a stabilizačními přísadami. Obsahuje 0,45 % až 0,55 % nitrofenylových látek, počítáno jako chloramfenikol.

Příprava

Chloramphenicolum (250)	0,50 g
Acidum boricum	1,50 g
Natrii tetraboras	0,30 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Tetraboritan sodný, kyselina boritá a thiomersal se rozpustí zahřátím asi v 90 g vysterilizované čištěné vody. Při teplotě roztoku asi 70 °C se přidá jemně upráškováný chloramfenikol (250) a roztok se trvale míchá a udržuje se při teplotě 70 °C do rozpuštění chloramfenikolu. Pak se roztok ochladí, doplní se do 100 g vysterilizovanou čištěnou vodou, promíchá se, provede se membránová filtrace a rozplní se do vhodných obalů v prostoru čistoty A. Sterilizace teplem se neprovádí.

Jako vhodné protimikrobní přísady lze také použít např. fenyhydrargyriumborat (0,02 g/l).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá až slabě nažloutlá kapalina.

Zkoušky totožnosti

- A. 5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml lihu 96% R a přidá se 0,5 ml kyseliny sírové R. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zejména na okraji zeleně zbarvený.
- B. K 5 ml se přidá 0,25 ml edetanu disodného 0,1 mol/l RS, 2,0 ml chloroformu R a 0,4 ml dithizonu RS, po důkladném protřepání se chloroformová vrstva zbarví oranžově hnědě, pokud je přípravek konzervován sloučeninou rtuti.
- C. Měří se absorbance roztoku zkoušeného vzorku ze zkoušky Stanovení obsahu v rozmezí 250 nm až 300 nm (2.2.25) proti vodě R. Absorpční maximum je při 278 nm.

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Z_7 (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 6,6 až 7,2.

2-Amino-1-(4-nitrofenyl)propan-1,3-diol. Do odměrné baňky na 25,0 ml se odměří 2,0 ml zkoušeného přípravku, přidá se 10 ml tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 8,0 (0,02 mol/l),

4822 *Cremor anionicus*

5 ml čerstvě připraveného roztoku naftochinonsulfonanu sodného (0,125 g *naftochinonsulfonanu sodného R* se rozpustí ve 12,5 ml *vody R* a zředí se *lihem 96% R* na 25 ml). Po 15 min se přidají 2 ml *kyseliny octové RS* a 2 ml roztoku *kyseliny askorbové R* (100 g/l) a zředí se *vodou R* na 25,0 ml. Za 5 min po přidání kyseliny octové se měří absorbance při 472 nm, která není vyšší než 0,500 (*představuje 10% rozklad chloramfenikolu*).

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

1,000 g se zředí *vodou R* na 250,0 ml. Změří se absorbance tohoto roztoku v maximu při 278 nm (2.2.25) proti *vodě R*.

Obsah nitrofenylových látek v procentech, počítáno jako chloramfenikol, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{0,8389 \cdot A}{n},$$

v němž značí:

A - naměřenou absorbanci,

n - navážku zkoušeného přípravku v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydávají.

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Cremor anionicus**N****Aniontový krém**

Je to aniontový hydrofilní krém stabilizovaný protimikrobní přísadou. Obsahuje 0,66 % až 1,10 % alkylsírání, počítáno jako cetylsíran sodný (C₁₆H₃₃NaO₄S; *M_r* 344,48), a 67,0 % až 73,0 % vody.

Příprava

Unguentum emulsificans anionicum	30,0 g
Aqua purificata	70,0 g
Methylparabenum	0,06 g
Propylparabenum	0,03 g

K emulgující aniontové masti roztavené zahřátím na vodní lázni na 70 °C se přidá stejně teplý roztok parabenů v čištěné vodě a míchá se do vychladnutí. K vychladlému krému se přimíchá čištěná voda do 100 g.

Vlastnosti

Bílý krém. Na povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva vody. Dá se do něho vmíchat neomezené množství vody. Přidání lihu, etheru nebo chloroformu poruší jeho strukturu. Je inkompatibilní s kationaktivními látkami a resorcinolem.

Zkoušky totožnosti

- A.** Na dvě podložní sklíčka se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *parafinu tekutém R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou *vodou R* a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem modři methylenové zbarví do modra, roztokem sudanu III se nezbarví (*hydrofilní krém*).
- B.** 3 g se v porcelánovém kelímku spálí a vyžihají. Zbytek se rozpustí mírným zahřátím ve 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 10 % RS* a 2 ml *vody R* a zfiltruje se. Filtrát se použije také ke zkoušce C. Ke 2 ml filtrátu se přidá *chlorid barnatý RS1*; vylučuje se bílá sraženina nerozpustná v *kyselině chlorovodíkové 10% RS (alkylsírán)*.
- C.** Barví žlutě nesvítivý plamen (*sodík*).
- D.** K 1 g se přidá 5 ml *vody R* a 0,2 ml *zkoumadla Millonova R* a asi 30 s se vaří; směs se po chvíli zbarví červeně (*parabeny*).

Stanovení obsahu

Alkylsírany. 3,000 g se v kuželové baňce se zabroušenou zátkou smíchají za mírného zahřátí s 25 ml *chloroformu R*. Po ochlazení se přidá 20 ml *vody R*, 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 0,1 ml roztoku *žlutě dimethylenové R* (1 g/l) v *chloroformu R* a za silného protřepávání se titruje *karbethopendeciniumbromidem 0,01 mol/l VS* z červeného do žlutého zbarvení chloroformové vrstvy.

1 ml *karbethopendeciniumbromidu 0,01 mol/l VS* odpovídá 3,445 mg $C_{16}H_{33}NaO_4S$.

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným ve stati Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněn před světlem a mrazem.

4824 *Cremor nonionicus***Označování**

Viz článek *Unguenta*.

V označení na obalu se uvedou názvy použitých protimikrobních konzervačních látek.

Cremor nonionicus**N****Neiontový krém**

Je to neiontový hydrofilní krém stabilizovaný protimikrobní přísadou. Obsahuje 48,5 % až 52,5 % vody.

Příprava

Unguentum emulsificans nonionicum	40,0 g
Propylenglycolum	10,0 g
Aqua purificata	50,0 g
Methylparabenum	0,1 g
Propylparabenum	0,05 g

K emulgující neiontové masti roztavené zahřátím na vodní lázni na 70 °C se přidá stejně teplý roztok parabenů ve směsi propylenglykolu a čištěné vody a míchá se do vychladnutí. K vychladlému krému se přimíchá čištěná voda do 100 g.

Vlastnosti

Bílý krém. Na povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva vody. Dá se do něho vmíchat neomezené množství vody. Přidání lihu, etheru nebo chloroformu poruší jeho strukturu. Je inkompatibilní s fenoly, tříslovinami a kamenouhelným dehtem. Inaktivuje antibiotika.

Zkoušky totožnosti

- A. Na dvě podložní sklička se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *parafínu tekutém R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou *vodou R* a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem modři methylenové zbarví do modra, roztokem *sudanu III* se nezbarví (*hydrofilní krém*).
- B. 0,2 g se protřepou s 2,5 ml *vody R*, přidá se 1 ml směsi stejných objemových dílů *thiokyanatanu amonného RS* a roztoku *dusičnanu kobaltnatého R* (100 g/l) a protřepe se s 2 ml *chloroformu R*; chloroformová vrstva se zbarví modře (*sorbimakrogol*).
- C. K 1,0 g se přidá 5 ml *vody R* a 0,2 ml *zkoumadla Millonova R* a asi 30 s se vaří; směs se po chvíli zbarví červeně (*parabeny*).

Zkouška na čistotu

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušeného přípravku.

Stanovení obsahu

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným ve stati Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněn před světlem a mrazem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.

V označení na obalu se uvedou názvy použitých protimikrobních přísad.

Cremor refrigerans**N****Chladivý krém**

Je to hydrofobní krém stabilizovaný antioxidační a protimikrobní přísadou. Obsahuje 19,0 % až 21,0 % vody.

Příprava

Cera alba	8,0 g
Cetylis palmitas	10,0 g
Helianthi oleum raffinatum	57,0 g
Natrii laurilsulfas	0,1 g
Aqua purificata	20,0 g
Ricini oleum	5,0 g
Methylparabenum	0,04 g
Propylparabenum	0,01 g
Propylis gallas	0,02 g
Geranii etheroleum	0,3 ml

Bílý vosk, cetylpalmitat, slunečnicový olej, laurylsíran sodný a ricinový olej se roztaví na vodní lázni, v roztavené směsi se rozpustí propylgallat a do roztavené asi 50 °C teplé směsi se po částech vmíchá stejně teplý roztok parabenů ve vodě. Míchá se do vychladnutí. Do vychladlého krému se vmíchá geranievá silice.

4826 *Cremor refrigerans***Vlastnosti**

Bílý nebo nejvýše bledě žlutý krém, páchnoucí po geraniové silici. Na povrchu nejsou viditelné kapky ani souvislá vrstva tekutiny. Ve vodě se nerozpouští a nedá se do něj vmíchat další množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A. Na dvě podložní sklíčka se nanese asi 2 mm silná vrstva krému. Na jednu vrstvu se kápne jedna kapka roztoku *sudanu III R* (10 g/l) v *parafínu tekutém R*, na druhou vrstvu jedna kapka roztoku *modři methylenové R* (2 g/l). Po 2 min se vrstvy opláchnou vodou a prohlédne se jejich zbarvení. Zkoušený přípravek se roztokem *sudanu III* zbarví červeně, roztokem *modři methylenové* se nezbarví (*hydrofobní krém*).
- B. Asi 1 g se smíchá s 5 ml *vody R* a zahřívá se na vodní lázni s 0,5 ml *zkoumadla Millonova R* do roztavení. Směs se po chvíli zbarví červeně (*parabeny*).
- C. Asi 1 g se zahřívá s 2 ml *lihu 96% R* na vodní lázni do roztavení, 30 s se protřepává a po ochlazení se přidá 1 ml *amoniaku 26% R*; směs se ihned zbarví červeně, zbarvení po chvíli mizí (*propylgallat*).

Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,5.

Číslo jodové (2.5.4). 70 až 80.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 20.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 134 až 142; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Stanovení obsahu

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným ve stati Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněn před světlem a mrazem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní konzervační látky.

Factor VII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus



1998

Lidský koagulační faktor VII lyofilizovaný

Je to frakce plazmatických bílkovin obsahující jednořetězcový glykoproteinový faktor VII. Může také obsahovat malá množství aktivované formy, dvouřetězcového derivátu faktoru VIIa, stejně jako koagulační faktory II, IX a X, protein C a protein S. Získává se z lidské plazmy, která vyhovuje požadavkům článku *Plasma humanum ad separationem*.

Účinnost přípravku rekonstituovaného předepsaným způsobem je nejméně 15 m.j. faktoru VII v mililitru.

Výroba

Metoda přípravy se navrhuje tak, aby se na minimum snížila aktivace jakéhokoliv koagulačního faktoru (a tím možná tvorba trombů) a aby zahrnovala postup nebo postupy, jež prokazatelně odstraňují či inaktivují známé původce infekcí; jsou-li při výrobě použity látky k inaktivaci virů, je následný čistící postup validován, aby se prokázalo, že koncentrace těchto látek byla snížena na vhodnou úroveň a že případné zbytky neovlivní bezpečnost přípravku pro nemocné.

Specifická účinnost před přidáním stabilizační přísady je nejméně 2 m.j. faktoru VII v miligramu celkové bílkoviny.

Frakce faktoru VII se rozpouští ve vhodném rozpouštědle. Mohou se přidat heparin, antitrombin a jiné pomocné látky, jakými jsou např. stabilizátory. Nepřidává se žádná protimikrobní konzervační látka. Roztok prochází filtry zadržujícími bakterie, plní se asepticky do konečných sterilních obalů a ihned se zmrazí. Poté se lyofilizuje a obaly se uzavřou ve vakuu či v atmosféře inertního plynu.

Dodržování výrobního postupu

Má se prokázat dodržování výrobního postupu z hlediska účinností faktorů II, IX a X v přípravku, vyjádřených v mezinárodních jednotkách v poměru k účinnosti faktoru VII.

Má se prokázat pravidelnost výrobního postupu z hlediska účinnosti faktoru VIIa. Účinnost faktoru VIIa se může stanovit např. použitím rekombinantního rozpustného tkáňového faktoru, který neaktivuje faktor VII, ale má funkci kofaktoru specifického pro faktor VIIa; po inkubaci směsi rekombinantního rozpustného tkáňového faktoru s fosfolipidovým zkoumadlem a po ředění zkoušeného vzorku v plazmě s nedostatkem faktoru VII se přidá chlorid vápenatý a stanoví se srážecí čas; srážecí čas je nepřímě úměrný účinnosti faktoru VIIa ve vyšetřovaném vzorku.

Vlastnosti

Bílý, nažloutlý, zelený nebo modrý prášek nebo drobná pevná hmota.

Zkoušený přípravek se rekonstruuje předepsaným způsobem bezprostředně před provedením zkoušek totožnosti, zkoušek na čistotu (kromě zkoušek rozpustnosti a na obsah vody) a před stanovením účinnosti.

4828 *Factor VII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus***Zkoušky totožnosti**

- A.** Vhodným souborem druhově specifických antisér se provedou precipitační zkoušky se zkoušeným přípravkem. Doporučuje se provést zkoušky se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám všech druhů domácích zvířat v příslušné zemi obvykle používaných k přípravě látek živočišného původu. Zkoušený přípravek prokazatelně obsahuje lidské bílkoviny a nereaguje se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám jiných živočišných druhů.
- B.** Stanovení účinnosti koagulačního faktoru VII je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,5.

Rozpustnost. Do obalu se zkoušeným přípravkem se při doporučené teplotě přidá předepsaný objem rozpouštědla. Přípravek se mírným třepáním do 10 min zcela rozpustí za vzniku čirého nebo lehce opalizujícího roztoku, který může být zbarvený.

Osmolalita (2.2.35). Nejméně 240 mosmol/kg.

Celkové bílkoviny. Je-li třeba, zředí se přesně odměřený objem rekonstituovaného přípravku roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující 15 mg bílkoviny asi ve 2 ml. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku *molybdenanu sodného R* (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové prosté dusíku R* a *vody R* (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

Voda (2.5.12). Nejvýše 3,0 %. Do obalu se zkoušeným přípravkem se přidá vhodný objem *bezvodého methanolu R*, protřepe se, nechá se stát a se známým objemem supernatantní tekutiny se provede stanovení.

Aktivované koagulační faktory. Jestliže zkoušený přípravek obsahuje heparin, stanoví se jeho množství, jak je uvedeno ve zkoušce na heparin, a heparin se neutralizuje přidáním *protaminiumsulfatu R* (10 µg protaminiumsulfatu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Zkoušený rekonstituovaný přípravek se zředí 1 : 10 a 1 : 100 *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,5*. Do vodní lázně o teplotě 37 °C se umístí řada polystyrenových zkumavek, do každé se přidá 0,1 ml *plazmy chudé na krevní destičky R* a 0,1 ml vhodného ředění *zkoumadla cefalinového R* nebo *krevních destiček náhrady R*. Inkubuje se 60 s a poté se do zkumavek ihned napipetuje 0,1 ml příslušného ředění přípravku nebo 0,1 ml tlumivého roztoku (kontrolní zkumavka). Ihned nato se do každé zkumavky přidá 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (3,7 g/l) předem ohřátého na 37 °C. V průběhu 30 min od výchozího ředění se měří čas, který uplyne mezi přidáním roztoku chloridu vápenatého a tvorbou koagula. Pro všechna ředění má být srážecí čas nejméně 150 s. Zkoušku lze hodnotit, jestliže srážecí čas v kontrolní zkumavce je v rozmezí 200 s až 350 s.

Heparin. Jestliže se během přípravy přidává heparin, stanoví se jeho množství zkouškou účinnosti heparinu v koncentrátech koagulačního faktoru (2.7.12). Zkoušený přípravek neobsahuje více heparinu, než je uvedeno v označení na obalu, a v žádném případě více než 0,5 m.j. heparinu na mezinárodní jednotku faktoru VII.

Trombin. Jestliže zkoušený přípravek obsahuje heparin, stanoví se jeho množství, jak je uvedeno ve zkoušce Heparin, a heparin se neutralizuje přidáním *protaminiumsulfatu R* (10 µg

Factor VIII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus 4829

protaminiumsulfatu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Ve dvou zkumavkách se smíchají stejné objemy rekonstituovaného přípravku a roztoku *fibrinogenu R* (3 g/l). Jedna zkumavka se uchovává 6 h při 37 °C, druhá 24 h při pokojové teplotě. Ve třetí zkumavce se smíchají stejné objemy roztoku *fibrinogenu a trombinu lidského R* (1 m.j./ml) a zkumavka se zahřívá ve vodní lázni při 37 °C. Ve zkumavkách obsahujících zkoušený přípravek nedojde ke srážení, ve zkumavce s trombinem se koagulum vytvoří do 30 s.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne nitrožilně objem odpovídající nejméně 30 m.j. faktoru VII.

Stanovení účinnosti

Provede se stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VII (2.7.10).

Stanovená účinnost je v rozmezí 80 % až 120 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je v rozmezí 80 % až 120 %.

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek faktoru VII v obalu,
- obsah bílkovin v obalu,
- název a množství všech přidaných látek, včetně heparinu, pokud se použije,
- název a objem tekutiny, která se použije k rekonstituci,
- podmínky uchovávání,
- doba použitelnosti,
- upozornění, že nelze zcela vyloučit přenos původců infekčního onemocnění při podání léčivých přípravků připravených z lidské krve nebo plazmy.

Factor VIII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus



1998

Lidský koagulační faktor VIII lyofilizovaný

Je to frakce plazmatických bílkovin obsahující glykoproteinový koagulační faktor VIII spolu s různým množstvím von Willebrandova faktoru v závislosti na metodě přípravy. Přípravuje se z lidské plazmy, která vyhovuje požadavkům článku *Plasma humanum ad separationem*.

Účinnost přípravku rekonstituovaného předepsaným způsobem je nejméně 20 m.j. faktoru VIII:C v mililitru.

4830 *Factor VIII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus***Výroba**

Metoda přípravy zahrnuje postup nebo postupy, jež prokazatelně odstraňují či inaktivují známé původce infekcí; jsou-li při výrobě použity látky k inaktivaci virů, je následný čisticí postup validován, aby se prokázalo, že koncentrace těchto látek byla snížena na vhodnou úroveň a že případné zbytky neovlivní bezpečnost přípravku pro nemocné.

Specifická účinnost před přidáním stabilizační přísady je nejméně 1 m.j. faktoru VIII:C v miligramu celkové bílkoviny.

Frakce faktoru VIII se rozpouští ve vhodném rozpouštědle. Mohou se přidat pomocné látky, jakými jsou např. stabilizátory. Nepřidává se žádná protimikrobní konzervační látka. Roztok prochází filtry zadržujícími bakterie, plní se asepticky do konečných sterilních obalů a ihned se zmrazí. Poté se lyofilizuje a obaly se uzavřou ve vakuu či v atmosféře inertního plynu.

Validační zkouška prováděná u přípravků, které deklarují přítomnost koagulační účinnosti von Willebrandova faktoru. U přípravků určených pro léčbu von Willebrandovy choroby se má prokázat, že se při výrobním postupu získá přípravek se stálým složením z hlediska von Willebrandova faktoru. Toto složení se může charakterizovat mnoha způsoby. Např. počet a relativní množství různých multimerů se můžou stanovit elektroforézou na agarosovém gelu dodecylsírany sodného (SDS) (přibližně 1% agarosa) s nebo bez Western blotové analýzy na nitrocelulose za použití normální lidské plazmy jako porovnávacího vzorku; zobrazení multimerů se může provádět za použití imunoenzymatických metod a kvantitativní hodnocení se může provádět denzitometrickou analýzou nebo jinými vhodnými metodami.

Účinnost von Willebrandova faktoru. U přípravků určených pro léčbu von Willebrandovy choroby se stanoví účinnost von Willebrandova faktoru vhodnou metodou za použití porovnávacího přípravku stejného typu, jakým je zkoušený přípravek, kalibrovaného na mezinárodní standard pro von Willebrandův faktor v plazmě. Mezi vhodné metody patří určení účinnosti ristocetinového kofaktoru a stanovení účinnosti vazby na kolagen. Příkladem vhodné metody je následující metoda pro stanovení účinnosti ristocetinového kofaktoru.

Účinnost ristocetinového kofaktoru. Zkoušený přípravek a porovnávací přípravek se vhodně zředí za použití rozpouštědla, kterým je roztok *chloridu sodného R* (9 g/l) a lidského albuminu (50 g/l). Ke každému ředění se přidá vhodné množství von Willebrandova zkoumadla obsahujícího stabilizované lidské krevní destičky a ristocetin A. Na sklíčku se vše jemně krouživým pohybem míchá 1 min. Další 1 min se směs inkubuje a výsledek se odečítá proti tmavému pozadí při bočním osvětlení. Poslední ředění, které vykazuje zřetelnou aglutinaci, označuje titer ristocetinového kofaktoru daného vzorku. Jako negativní kontrola se použije rozpouštědlo.

Stanovená účinnost je v rozmezí 60 % až 140 % účinnosti schválené pro jednotlivý výrobek.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý prášek nebo drobná pevná hmota.

Zkoušený přípravek se rekonstituuje předepsaným způsobem bezprostředně před provedením zkoušek totožnosti, zkoušek na čistotu (kromě zkoušek Rozpustnost a Voda) a před stanovením účinnosti.

Factor VIII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus **4831****Zkoušky totožnosti**

- A.** Vhodným souborem druhově specifických antisér se provedou precipitační zkoušky se zkoušeným přípravkem. Doporučuje se provést zkoušky se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám všech druhů domácích zvířat v příslušné zemi obvykle používaných k přípravě látek živočišného původu. Zkoušený přípravek prokazatelně obsahuje lidské bílkoviny a nereaguje se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám jiných živočišných druhů.
- B.** Stanovení účinnosti faktoru VIII:C a účinnosti von Willebrandova faktoru (pokud se použije) je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,5.

Rozpustnost. Do obalu se zkoušeným přípravkem se při doporučené teplotě přidá předepsaný objem rozpouštědla. Přípravek se mírným třepáním do 10 min zcela rozpustí za vzniku čirého nebo lehce opalizujícího bezbarvého nebo nažloutlého roztoku.

Osmolalita (2.2.35). Nejméně 240 mosmol/kg.

Celkové bílkoviny. Je-li třeba, zředí se přesně odměřený objem zkoušeného přípravku roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující ve 2 ml asi 15 mg bílkoviny. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku *molybdenanu sodného R* (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové prosté dusíku R* a *vody R* (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

Pro některé výrobky, zvláště pro ty bez stabilizační látky, jako je albumin, není tato metoda použitelná. Pak je nutné provést jinou validovanou metodu pro stanovení bílkoviny.

Hemaglutininy anti-A a anti-B. Přípravek se zředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby obsahoval 3 m.j. faktoru VIII:C v mililitru. Provedou se zkoušky na hemaglutininy anti-A a anti-B nepřímou metodou (2.6.20). Do ředění 1 : 64 nenastane aglutinace.

Povrchový antigen hepatitidy B. Rozpuštěný přípravek se vyzkouší vhodně citlivou metodou, jakou je enzymatické imunostanovení (2.7.1). Povrchový antigen hepatitidy B se neprokáže.

Voda (2.5.12). Nejvýše 3,0 %. Do obalu se zkoušeným přípravkem se přidá vhodný objem *bezvodého methanolu R*, protřepe se, nechá se stát a se známým objemem supernatantní tekutiny se provede stanovení.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne nitrožilně objem přípravku odpovídající nejméně 30 m.j. faktoru VIII:C.

Stanovení účinnosti

Provede se stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VIII (2.7.4).

Stanovená účinnost je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti stanovené účinnosti ($P = 0,95$) je v rozmezí 80 % až 125 %.

4832 *Factor IX coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus*

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek faktoru VIII:C, a pokud je to vhodné i von Willebrandova faktoru v obalu,
- obsah bílkovin v obalu,
- název a množství všech přidaných látek,
- název a objem tekutiny, která se použije k rekonstituci,
- podmínky uchovávání,
- doba použitelnosti,
- upozornění, že nelze zcela vyloučit přenos původců infekčního onemocnění při podání léčivých přípravků připravených z lidské krve nebo plazmy.

Factor IX coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus



1998

Lidský koagulační faktor IX lyofilizovaný

Je to frakce plazmatických bílkovin obsahující koagulační faktor IX připravovaný metodou, která účinně odděluje faktor IX od dalších faktorů protrombinového komplexu (faktory II, VII a X). Získává se z lidské plazmy, která vyhovuje požadavkům článku *Plasma humanum ad separationem*.

Účinnost přípravku rekonstituovaného předepsaným způsobem je nejméně 20 m.j. faktoru IX v mililitru.

Výroba

Metoda přípravy se navrhuje tak, aby se zajistila funkční celistvost faktoru IX, aby se na minimum snížila aktivace jakéhokoliv koagulačního faktoru (a tím možná tvorba trombů) a aby zahrnovala postup nebo postupy, jež prokazatelně odstraňují či inaktivují známé původce infekcí; jsou-li při výrobě použity látky k inaktivaci virů, je následný čistící postup validován, aby se prokázalo, že koncentrace těchto látek byla snížena na vhodnou úroveň a že případné zbytky neovlivní bezpečnost přípravku pro nemocné.

Specifická účinnost před přidáním stabilizační přísady je nejméně 50 m.j. faktoru IX v miligramu celkové bílkoviny.

Frakce faktoru IX se rozpouští ve vhodném rozpouštědle. Mohou se přidat heparin, antitrombin a jiné pomocné látky, jakými jsou např. stabilizátory. Nepřidává se žádná protimikrobní konzervační látka. Roztok prochází filtry zadržujícími bakterie, plní se asepticky do konečných sterilních obalů a ihned se zmrazí. Poté se lyofilizuje a obaly se uzavřou ve vakuu či v atmosféře inertního plynu.

Dodržování výrobního postupu

Dodržování výrobního postupu se hodnotí vhodnými analytickými postupy, které se určí během vývoje postupu a které za normálních okolností zahrnují:

- stanovení účinnosti faktoru IX,
- stanovení aktivovaných koagulačních faktorů,
- stanovení koagulačních účinností faktorů II, VII a X, které nemají vykazovat více než 5 % účinnosti faktoru IX.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě žlutý prášek nebo drobná pevná hmota.

Zkoušený přípravek se rekonstituuje předepsaným způsobem bezprostředně před provedením zkoušek totožnosti, zkoušek na čistotu (kromě zkoušek rozpustnosti a na obsah vody) a před stanovením účinnosti.

Zkoušky totožnosti

A. Vhodným souborem druhově specifických antisér se provedou precipitační zkoušky se zkoušeným přípravkem. Doporučuje se provést zkoušky se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám všech druhů domácích zvířat v příslušné zemi obvykle používaných k přípravě látek živočišného původu. Zkoušený přípravek prokazatelně obsahuje lidské bílkoviny a nereaguje se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám jiných živočišných druhů.

B. Stanovení účinnosti koagulačního faktoru IX je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,5.

Rozpustnost. Do obalu se zkoušeným přípravkem se při doporučené teplotě přidá předepsaný objem rozpouštědla. Přípravek se mírným třepáním do 10 min zcela rozpustí za vzniku čirého nebo lehce opalizujícího bezbarvého roztoku.

Osmolalita (2.2.35). Nejméně 240 mosmol/kg.

Celkové bílkoviny. Je-li třeba, zředí se přesně odměřený objem zkoušeného přípravku roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující ve 2 ml asi 15 mg bílkoviny. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku *molybdenanu sodného R* (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové prosté dusíku R* a *vody R* (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

Pro některé výrobky, zvláště pro ty bez stabilizační látky, jako je albumin, není tato metoda použitelná. Pak je nutné provést jinou validovanou metodu pro stanovení bílkoviny.

Aktivované koagulační faktory. Jestliže zkoušený přípravek obsahuje heparin, stanoví se jeho množství, jak je uvedeno ve zkoušce Heparin a heparin se zneutralizuje přidáním *protaminiumsulfatu R* (10 µg protaminiumsulfatu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Pokud je třeba, zředí se zkoušený přípravek tak, aby obsahoval 20 m.j. faktoru IX v mililitru. Přípravek se zředí 1 : 10

4834 *Factor IX coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus*

a 1 : 100 *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,5*. Do vodní lázně o teplotě 37 °C se umístí řada polystyrenových zkumavek, do každé se přidá 0,1 ml *plazmy chudé na krevní destičky R* a 0,1 ml vhodného ředění *zkoumadla cefalinového R* nebo *krevních destiček náhrady R*. Inkubuje se 60 s a poté se do zkumavek ihned napipetuje 0,1 ml příslušného ředění přípravku nebo 0,1 ml *tlumivého roztoku (kontrolní zkumavka)*. Ihned nato se do každé zkumavky přidá 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R (3,7 g/l) předem ohřátého na 37 °C*. V průběhu 30 min od výchozího ředění se měří čas, který uplyne mezi přidáním roztoku chloridu vápenatého a tvorbou koagula. Pro všechna ředění má být srážecí čas nejméně 150 s. Zkoušku lze hodnotit, jestliže srážecí čas v kontrolní zkumavce je v rozmezí 200 s až 350 s.

Heparin. Jestliže se během přípravy přidává heparin, stanoví se jeho množství zkouškou účinnosti heparinu v koncentrátech koagulačního faktoru (2.7.12). Zkoušený přípravek neobsahuje více heparinu, než je uvedeno v označení na obalu, a v žádném případě více než 0,5 m.j. heparinu na mezinárodní jednotku faktoru IX.

Voda (2.5.12). Nejvýše 3,0 %. Do obalu se zkoušeným přípravkem se přidá vhodný objem *bezvodého methanolu R*, protřepe se, nechá se stát a se známým objemem supernatantní tekutiny se provede stanovení.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne nitrožilně objem přípravku odpovídající nejméně 30 m.j. faktoru IX.

Stanovení účinnosti

Provede se stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru IX (2.7.11).

Stanovená účinnost je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je 80 % až 125 %.

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek faktoru IX v obalu,
- obsah bílkovin v obalu,
- název a množství všech přidaných látek, včetně heparinu, pokud se použije,
- název a objem tekutiny, která se použije k rekonstituci,
- podmínky uchovávání,
- doba použitelnosti,
- upozornění, že nelze zcela vyloučit přenos původců infekčního onemocnění při podání léčivých přípravků připravených z lidské krve nebo plazmy.

Frangulae corticis extractum siccum normatum 4835

Frangulae corticis extractum siccum normatum



Suchý krušínový extrakt standardizovaný

1998

Synonymum. Suchý krušínový extrakt titrovaný

Vyrábí se z drogy *Frangulae cortex*. Obsahuje 15,0 % až 30,0 % glukofrangulinů, vyjádřeno jako glukofrangulin A ($C_{27}H_{30}O_{14}$, M_r 578,5), počítáno na vysušený extrakt. Zjištěný obsah se liší od obsahu uvedeného na obalu nejvýše o ± 10 %.

Výroba

Vyrábí se z drogy a ethanolu (50% až 80% (V/V)) vhodným postupem uvedeným v článku *Extracta*.

Vlastnosti

Žlutohnědý jemný prášek.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,05 g se smíchá s 5 ml *lihu R 70%* (V/V) a zahřeje se k varu. Po ochlazení se odstředí a supernatantní roztok se ihned slije a použije se nejpozději do 30 min.

Porovnávací roztok. 20 mg *aloinu R* se rozpustí v *lihu R 70%* (V/V) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *ethylacetatu R* (13 + 17 + 100) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 5 min a pak se postříká roztokem *hydroxidu draselného R* (50 g/l) v *lihu R 50%* (V/V) a zahřívá se 15 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se okamžitě po zahřívání. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední třetině červenohnědá skvrna odpovídající *aloinu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině dvě oranžovohnědé skvrny (glukofranguliny) a v horní třetině dvě až čtyři červené skvrny (franguliny, které nejsou vždy zřetelně oddělené, a nad nimi skvrna *frangulaemodinu*).

B. Asi 25 mg se smíchá s 25 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a směs se zahřívá 15 min na vodní lázni. Po ochlazení se protřepe 20 ml *etheru R* a vodná vrstva se odstraní. Etherová vrstva se protřepe 10 ml *amoniaku zředěného RS1*; vodná vrstva se zbarví červenofialově.

Zkoušky na čistotu

Ztráta sušením. Nejvýše 5,0 %; provede se způsobem uvedeným v odstavci *Extracta sicca*, viz článek *Extracta*.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10^4 živých aerobních mikroorganismů v gramu a nejvýše 10^2 hub v gramu; stanoví se plotnovou metodou. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

4836 *Frangulae corticis extractum siccum normatum***Stanovení obsahu**

Provádí se za ochrany před světlem.

0,100 g se v předem zvážené baňce s kulatým dnem a se zabroušenou zátkou smíchá s 25,0 ml roztoku *methanolu R 70% (V/V)*, promíchá se a znovu se zváží. Zahřívá se 15 min ve vodní lázni pod zpětným chladičem při 70 °C. Po ochlazení se zváží a doplní se roztokem *methanolu R 70% (V/V)* na původní hmotnost. Zfiltruje se, 5,0 ml filtrátu se převede do dělicí nálevky, přidá se 50 ml *vody R* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Protřepe se pětkrát 20 ml *etheru petrolejového R1*. Po oddělení vrstev se vodná vrstva převede do 100ml odměrné baňky. Spojené organické vrstvy se promyjí dvakrát 15 ml *vody R*. Promývací tekutina se spojí s roztokem v odměrné baňce. Přidá se 5 ml roztoku *uhličitanu sodného R (50 g/l)* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Vrstva etheru petrolejového se odstraní. 40,0 ml vodného roztoku se převede do 200ml baňky s kulatým dnem a se zabroušenou zátkou. Přidá se 20 ml roztoku *chloridu železitého R (200 g/l)* a zahřívá se 20 min ve vodní lázni pod zpětným chladičem tak, aby hladina vody přesahovala hladinu tekutiny v baňce. Přidají se 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zahřívá se dalších 20 min za častého protřepávání až do rozpuštění sraženiny. Po ochlazení se směs převede do dělicí nálevky a protřepává se třikrát 25 ml *etheru R*, ether se vždy nejprve použije k promytí baňky. Spojené etherové výtřepky se promyjí dvakrát 15 ml *vody R*. Etherová vrstva se převede do odměrné baňky a zředí se *etherem R* na 100,0 ml. 20,0 ml tohoto roztoku se opatrně odpaří do sucha, odparek se rozpustí v 10,0 ml roztoku *octanu hořečnatého R (5 g/l)* v *methanolu R*. Měří se absorbance (2.2.25) při 515 nm za použití *methanolu R* jako kontrolní tekutiny.

Obsah glukofrangulinů v procentech, počítáno jako glukofrangulin A, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 3,06}{m},$$

v němž značí:

A - absorbanci roztoku při 515 nm,

m - hmotnost zkoušeného přípravku v gramech.

Specifická absorbance glukofrangulinu A je 204, počítáno na základě specifické absorbance aloinu.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede skutečný obsah glukofrangulinů.

Vyhovuje požadavkům článku *Extracta*.

Glyceroli suppositorium 4837

Glyceroli suppositorium

N

Glycerolový čípek

Synonymum. Suppositorium glyceroli

Je to hydrofilní čípek sodného mýdla s glycerolem ($C_3H_8O_3$, M_r 92,09).
Obsahuje 84,0 % až 87,0 % glycerolu.

Příprava

Natrii carbonas decahydricus	5,0 g
Stearinum	9,0 g
Glycerolum 85%	100,0 g
Aqua purificata	q.s.

Uhlíčitan sodný a stearin se zahřívají na vodní lázni s glycerolem až do ukončení neutralizace a odpařením nebo přidáním čištěné vody se hmotnost upraví na 100 g. Takto připravená čípkovina se vyleje do vhodných forem. Čípky se obvykle vyrábějí o hmotnosti 1,4 g a 2,35 g.

Vlastnosti

Čípek torpédovitého tvaru, bezbarvý až nažloutlý, průhledný nebo slabě opalizující, hladkého neporušeného povrchu; je hygroskopický. Rozpouští se snadno ve vodě 60 °C až 70 °C teplé a v lihu 96% 60 °C až 70 °C teplém; ve vodě 37 °C teplé se během 1 h za občasného míchání rozpustí asi 10 % čípkové hmoty.

Zkoušky totožnosti

- A.** 2 g čípkové hmoty se rozpustí v 8 ml vody R 60 °C až 70 °C teplé, přidají se 2 ml roztoku uhličitanu draselného R (100 g/l) a zahřeje se; roztok zůstane čirý. Potom se přidají 4 ml hexahydroxoantimoničnanu draselného RS a znovu se zahřeje; po chvíli se vylučuje bílá krystalická sraženina. Vylučování sraženiny se urychlí třením skleněnou tyčinkou o stěnu zkumavky (*sodík*).
- B.** 0,5 g čípkové hmoty se rozpustí v 5 ml vody R 60 °C až 70 °C teplé. Tekutina při zatřepání pění a po přidání 1 ml kyseliny chlorovodíkové R se vylučuje bílá sraženina (*mýdlo*).
- C.** 0,5 g čípkové hmoty se v kelímku zahřívá s 1 g hydrogensíranu draselného R; směs uhelnatí a vyvíjí se pronikavý pach akroleinu (*glycerol*).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1 g čípkové hmoty se rozpustí v 5 ml lihu 96% R 60 °C až 70 °C teplého.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje silněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

Zásady. K roztoku S se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS; směs se nezbarví ani slabě červeně.

4838 *Glyceroli unguentum***Zkoušky lékové formy**

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Vyhovuje zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost předepsané v článku *Rectalia*.

Stanovení obsahu

10 čípků se rozetře na stejnorodou hmotu. 2,000 g čípkové hmoty se kvantitativně vpraví do odměrné baňky na 200,0 ml, rozpustí se zahřátím ve 100 ml *vody R*, přidá se 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a po ochlazení se zředí *vodou R* na 200,0 ml. Potom se zfiltruje, přičemž se prvních 20 ml filtrátu odstraní. Do odměrné baňky na 100,0 ml se z dalšího filtrátu odměří 20,0 ml, přidá se 20 ml *vody R* a krátce se povaří. Potom se ochladí, přidá se 0,1 ml *červeně fenolové RS* a po kapkách *hydroxid sodný 0,1 mol/l VS* do fialově červeného zbarvení roztoku. Roztok se *vodou R* zředí na 100,0 ml. Z tohoto roztoku se do baňky se zabroušenou zátkou odměří 50,0 ml, přidá se 50,0 ml roztoku *jodistamu sodného R* (15 g/l), baňka se uzavře, její obsah se krouživým pohybem promíchá a nechá se 15 min stát. Pak se přidá 25,0 ml *propylenglykolu R*, 0,1 ml *červeně fenolové RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do fialově červeného zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 mg $C_3H_8O_3$.

Obsah glycerolu v čípkové hmotě v % se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{a \cdot 9,209 \cdot 2}{n},$$

v němž značí:

a - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* v mililitrech, korigovanou slepou zkouškou,

n - navážku čípkové hmoty v gramech.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, při teplotě nepřevyšující 20 °C, chráněny před mrazem.

Glyceroli unguentum**N**

Glycerolová mast

Synonymum. Unguentum glyceroli

Je to škrobový glycerogel stabilizovaný protimikrobní přísadou.

Obsahuje 74,6 % až 79,3 % glycerolu ($C_3H_8O_3$, M_r 92,09).

Příprava

Glycerolum 85%	90,0 g
Methylparabenum	0,2 g
Ethanolum 96% (V/V)	1,0 g
Tritici amyllum (125)	10,0 g
Aqua purificata	15,0 g

Přesátý pšeničný škrob se v třence promíchá s čištěnou vodou a zahřívá se na vodní lázni za stálého míchání, až směs zhoustne. Pak se přidá glycerol a roztok methylparabenu v ethanolu 96% a zahřívá se na vodní lázni za stálého míchání tak dlouho, až se utvoří stejnorodá prosvítavá mast. Doplní se odpařená voda a míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Rosolovitá prosvítavá bělavá mast, téměř bez pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,1 ml *oranže methylové RS*, 0,1 g *kyseliny borité R* a protřepe se; žluté zbarvení se změní v oranžové (*glycerol*).
- B. 0,5 ml roztoku S se zředí asi 10 ml *vody R* a přidá se 0,1 ml *jodu RS4*; vznikne tmavě modré zbarvení (*škrob*).
- C. 2 ml roztoku S se asi 30 s vaří s 0,3 ml *zkoumadla Millonova R*; vznikne červené zbarvení (*paraben*).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10 g se protřepává s 10 ml *vlažné vody R*, až vznikne rovnoměrně zakalená tekutina.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. 8 ml roztoku S se zředí 15 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; tekutina zůstane bezbarvá. Ke změně zbarvení roztoku na červené se spotřebuje nejvýše 0,20 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,00 g zkoušeného přípravku.

Stanovení obsahu

Glycerol. 0,2000 g se naváží na malou skleněnou podložku, která se s navážkou vloží do kuželové baňky na 250 ml se zabroušenou zátkou. Přidá se 50 ml *vody R*, 0,1 ml *červeně fenolové RS* a po protřepání a rozpuštění masti se po kapkách přidává *hydroxid sodný 0,1 mol/l VS* do vzniku fialově červeného zbarvení. Pak se přidá 1,50 g *jodistanu sodného R*, baňka se uzavře a její obsah se občas promíchá krouživým pohybem. 5 min po rozpuštění jodistanu sodného se přidá 1,5 ml *propylenglykolu R*, znovu se promíchá a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* ze žlutého do fialově červeného zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 mg $C_3H_8O_3$.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Označování

Viz článek *Unguenta*.
V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní konzervační látky.

4840 *Ichthammoli unguentum*

Ichthammoli unguentum

N

Ichthamolová mast

Synonymum. Unguentum ichthamoli

Je to hydrofobní mast s ichthamolem.

Obsahuje nejméně 1,05 % celkové síry (S, A_r 32,066).

Příprava

Ichthammolum	100,0 g
Aqua purificata	50,0 g
Alcoholum adipis lanae unguentum	850,0 g

Ichthamol se smíchá s horkou čištěnou vodou, po vychladnutí se doplní čištěnou vodou do 150 g a tekutina se po částech přimíchává k masti s alkoholy tuku z ovčí vlny.

Vlastnosti

Hnědočerná mast charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. Asi 5 g se smíchá s 30 ml vroucí vody R a zahřívá se v kádince na vodní lázni tak dlouho, až se vrstva rozpuštěné masti vyjasní. Po ochlazení se vodná vrstva oddělí a zbytek se použije ve zkoušce C. Vodná vrstva se zfiltruje, odpaří se na misce do sucha a odparek se rozpustí v 10 ml vody R. K jedné polovině roztoku se přidá *hydroxid sodný 1 mol/l RS* do alkalické reakce a zahřeje se; unikající páry páchnou po amoniaku a barví navlhčený *papír lakmusový červený R* modře (*amoniak*). Potom se roztok odpaří, odparek se spálí a k zuhelnatělému zbytku se přidá *kyselina chlorovodíková 10% RS*; vyvíjí se sirovodík (*síra*).
- B. Ke druhé polovině roztoku ze zkoušky A se po částech přidává *kyselina dusičná R*, dokud se vylučuje tmavá pryskyřičná hmota. Tekutina se zfiltruje a k filtrátu se přidá *chlorid barnatý RS1*; vylučuje se bílá sraženina nerozpustná v *kyselině chlorovodíkové 10% RS (sírany)*.
- C. 0,1 g zbytku ze zkoušky A se rozpustí v 5 ml *chloroformu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví sytě zeleně (*cholesterol*).

Stanovení obsahu

Celková síra. 2,500 g se v platinovém kelímku smíchá s 2 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a 1,5 g *dusičnanu draselného R*, opatrně se spálí a žihá se tak dlouho, až je obsah kelímku bílý. Po vychladnutí se tavenina digeruje horkou vodou R, tekutina se zfiltruje a kelímek se několikrát propláchne horkou vodou R. Zbytek na filtru se rovněž několikrát promyje malým množstvím horké vody R. Spojené filtráty se zředí vodou R na 200 ml, okyselí se 25 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a roztok se zahřívá k varu, až ustane vývoj oxidu uhličitého. Potom se přidá 30 ml horkého *chloridu barnatého RS1*, digeruje se na vodní lázni a nechá se stát přes noc. Potom se sraženina zachytí kvantitativním filtrem nebo ve zváženém vyžíhaném filtračním kelímku,

Immunoglobulinum humanum hepatitis B ad usum intravenosum 4841

promyje se horkou vodou R do vymizení chloridových iontů, vysuší se, vyžihá se do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zvaží.

1 g zbytku (síranu barnatého) odpovídá 137,3 mg celkové síry, jejíž obsah se vyjádří v procentech.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Immunoglobulinum humanum hepatitis B ad usum intravenosum



1998

Lidský imunoglobulin proti hepatitidě B pro intravenózní použití

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující imunoglobuliny, zvláště imunoglobulin G. Získává se z plazmy vybraných nebo též imunizovaných dárců krve, kteří mají protilátky proti povrchovému antigenu hepatitidy B. Může se přidat *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

Vyhovuje článku *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum* s výjimkou minimálního počtu dárců, minimálního obsahu celkových bílkovin a limitu pro osmolalitu.

Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním titru protilátek zkoušeného přípravku s titrem referenčního přípravku, kalibrovaného v mezinárodních jednotkách, za použití imunoanalýzy vhodné citlivosti a specifity (2.7.1).

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního referenčního přípravku imunoglobulinu proti hepatitidě B. Hodnotu účinnosti mezinárodního referenčního přípravku v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Deklarovaná účinnost je nejméně 50 m.j. v mililitru. Stanovená účinnost není menší než účinnost deklarovaná. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je nejméně 80 % a nejvýše 125 %.

Uchovávání

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

Označování

Viz článek *Immunoglobulinum humanum normale ad usum intravenosum*.

V označení na obalu se uvede minimální počet mezinárodních jednotek imunoglobulinu proti hepatitidě B v obalu.

4842 *Insulini isophani biphasici iniectio*

Insulini isophani biphasici iniectio

Dvousložková injekce s insulinem a s isofaninsulinem

1999



Dvousložková injekce s insulinem a s isofaninsulinem vyhovuje požadavkům článku Praeparata insulini iniectabilia, kromě zkoušky Insulin v supernatantu, a následujícím požadavkům a zkouškám.

Je to sterilní suspenze komplexu prasečího nebo lidského insulinu s protaminiumsulfatem nebo jiným vhodným protaminem v tlumivém roztoku insulinu téhož živočišného druhu.

Výroba

Dvousložková injekce s insulinem a s isofaninsulinem se vyrábí postupy uvedenými v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Při výrobě se smíchá v definovaném poměru Injekce s isofaninsulinem a Injekce s rozpustným insulinem. Definované poměry mají být prokázány zkušební metodou, kterou schválila oprávněná autorita, aby vyhovovaly deklaraci.

Vlastnosti

Bílá suspenze, která se stáním rozděluje na bílý sediment a bezbarvou nebo téměř bezbarvou supernatantní tekutinu; mírným protřepáním se sediment snadno resuspenduje. Při mikroskopickém pozorování jsou patrné tyčinkovité krystaly, jejichž velikost je obvykle větší než 1 μm , ale zřídka přesahuje 60 μm ; neobsahuje velké shluky.

Zkoušky totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Poloha píku insulinu na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá poloze hlavního píku na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Celkový zinek. Nejvýše 40,0 μg na 100 m.j. insulinu. Stanoví se postupem uvedeným v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Označování

V označení na obalu se k požadavkům na označování uvedeným v článku *Praeparata insulini iniectabilia* doplň:

- poměr použitého množství injekcí s rozpustným insulinem k použitému množství injekcí s isofaninsulinem při výrobě.

Insulini isophani iniectio 4843

Insulini isophani iniectio

Injekce s isofaninsulinem

Synonymum. Insulini isophani iniectabilium

1999

Injekce s isofaninsulinem vyhovuje požadavkům článku Praeparata insulini iniectabilia a následujícím požadavkům a zkouškám.

Je to sterilní suspenze prasečího, hovězího nebo lidského insulínu v komplexu s protaminiumsulfátem nebo jiným vhodným protaminem.

Výroba

Injekce s isofaninsulinem se vyrábí postupy uvedenými v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Množství protaminu v komplexu odpovídá isofanickému poměru a je ekvivalentní 0,3 mg až 0,6 mg protaminiumsulfátu na každých 100 m.j. insulínu.

Vlastnosti

Bílá suspenze, která se stáním rozděluje na bílý sediment a bezbarvou nebo téměř bezbarvou supernatantní tekutinu; mírným protřepáním se sediment snadno resuspenduje. Při mikroskopickém pozorování jsou patrné tyčinkovité krystaly, jejichž velikost je obvykle větší než 1 μm , ale zřídka přesahuje 60 μm ; neobsahuje velké shluky.

Zkoušky totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku pík insulínu odpovídá polohou hlavnímu píku na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Celkový zinek. Nejvýše 40,0 μg na 100 m.j. insulínu. Stanoví se postupem uvedeným v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Insulini zinci amorphi iniectio in suspensione

Injekce amorfního insulínu se zinkem v suspenzi

Synonymum. Insulini zinci amorphi suspensio iniectabilis

1999

Injekce amorfního insulínu se zinkem v suspenzi vyhovuje požadavkům článku Praeparata insulini iniectabilia a následujícím požadavkům a zkouškám.

Je to sterilní neutrální suspenze hovězího, prasečího nebo lidského insulínu v komplexu s vhodnou solí zinku; insulín v této formě je prakticky nerozpustný ve vodě.

4844 *Insulini zinci cristallisati iniectio in suspensione*

Vlastnosti

Bílá suspenze, která se stáním rozděluje na bílý sediment a bezbarvou nebo téměř bezbarvou supernatantní kapalinu; jemným protřepáním se sediment snadno resuspenduje. Při mikroskopickém pozorování jsou patrné částice různého tvaru, jejichž velikost zřídka přesahuje 2 μm .

Zkoušky totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá pík insulinu polohou hlavnímu píku na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Celkový zinek. 0,12 mg až 0,25 mg na 100 m.j. insulinu. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulinini iniectabilia*.

Zinek v roztoku. 20 % až 65 % celkového zinku je ve formě zinku v roztoku. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulinini iniectabilia*.

Insulini zinci cristallisati iniectio in suspensione

Injekce krystalického insulinu se zinkem v suspenzi



1999

Synonymum. Insulini zinci cristallini suspensio iniectabilis

Injekce krystalického insulinu se zinkem v suspenzi vyhovuje požadavkům článku Praeparata insulinini iniectabilia a následujícím požadavkům a zkouškám.

Je to sterilní neutrální suspenze hovězího, prasečího nebo lidského insulinu v komplexu s vhodnou zinečnatou solí; insulin v této formě je prakticky nerozpustný ve vodě.

Vlastnosti

Bílá suspenze, která se stáním rozděluje na bílý sediment a bezbarvou nebo téměř bezbarvou supernatantní tekutinu; jemným protřepáním se sediment snadno resuspenduje. Při mikroskopickém pozorování jsou patrné rombové krystaly, jejichž velikost měřená od rohu k rohu je obvykle větší než 10 μm , ale zřídka přesahuje 40 μm .

Zkoušky totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku pík insulinu odpovídá polohou hlavnímu píku na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Insulin neextrahovatelný tlumivým roztokem acetonovým. Nejméně 90 % celkového obsahu insulinu. Odstředuje se objem zkoušeného přípravku odpovídající 200 m.j. insulinu a supernatantní tekutina se odstraní. Zbytek se suspenduje v 1,65 ml vody *R*, přidá se 3,3 ml tlumivého roztoku acetonového, 3 min se míchá a pak se opět odstředuje. Supernatantní tekutina se opět odstraní a tento postup se ještě jednou opakuje. Zbytek se rozpustí vhodným způsobem, např. v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a zředí se jí na 2,0 ml. Vhodnou metodou se stanoví obsah insulinu ve zbytku (*R*) a celkový obsah insulinu (*T*) stejného objemu suspenze. Vypočítá se obsah insulinu neextrahovaného tlumivým roztokem acetonovým v procentech podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot R}{T}$$

Celkový zinek. 0,12 mg až 0,25 mg na 100 m.j. insulinu. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Zinek v roztoku. 20 % až 65 % celkového zinku je ve formě zinku v roztoku. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Insulini zinci iniectio in suspensione



Injekce insulinu se zinkem v suspenzi

1999

Synonymum. Insulini zinci suspensio iniectabilis

Injekce insulinu se zinkem v suspenzi vyhovuje požadavkům článku Praeparata insulini iniectabilia a následujícím požadavkům a zkouškám.

Je to sterilní neutrální suspenze insulinu (hovězího, prasečího nebo hovězího a prasečího nebo lidského) s vhodnou zinečnatou solí; insulin v této formě je prakticky nerozpustný ve vodě.

Výroba

Injekce se suspenzí insulinu a zinku se vyrábí postupy uvedenými v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Při výrobě se smíchá v poměru 7 : 3 Injekce krystalického insulinu se zinkem v suspenzi a Injekce amorfního insulinu se zinkem v suspenzi.

Vlastnosti

Bílá suspenze, která se stáním rozděluje na bílý sediment a bezbarvou nebo téměř bezbarvou supernatantní tekutinu; jemným protřepáním se sediment snadno resuspenduje. Při mikroskopickém pozorování jsou patrné romboické krystaly s největším rozměrem měřeným od rohu k rohu větším než 10 μm, ale zřídka přesahujícím 40 μm; značnou část částic lze pozorovat při velkém zvětšení jako částice nepravidelného tvaru o velikosti nepřevyšující 2 μm.

4846 *Iodi solutio aquosa***Zkoušky totožnosti**

Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu.

U přípravků vyrobených z jednoho druhu insulinu (hovězího, prasečího nebo humánního) poloha píku insulinu na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá poloze hlavního píku na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

U přípravků vyrobených ze směsi prasečího a hovězího insulinu polohy píků dvou insulinů na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohám hlavních píků na chromatogramu příslušného porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Insulin neextrahovaný tlumivým roztokem acetonovým. 63 % až 77 % celkového obsahu insulinu. Odstředí se objem zkoušeného přípravku odpovídající 200 m.j. insulinu a supernatantní tekutina se odstraní. Zbytek se suspenduje v 1,65 ml *vody R*, přidají se 3,3 ml *tlumivého roztoku acetonového*, 3 min se míchá a pak se opět odstředí, supernatantní tekutina se opět odstraní a tento postup se ještě jednou opakuje. Zbytek se rozpustí vhodným postupem, např. v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 2,0 ml. Stanoví se obsah insulinu ve zbytku (*R*) a stanoví se celkový obsah insulinu (*T*) stejného objemu suspenze vhodnou metodou. Vypočítá se obsah insulinu neextrahovaného tlumivým roztokem acetonovým v procentech podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot R}{T}$$

Celkový zinek. 0,12 mg až 0,25 mg na 100 m.j. insulinu. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Zinek v roztoku. 20 % až 65 % celkového zinku je ve formě zinku v roztoku. Postup stanovení je uveden v článku *Praeparata insulini iniectabilia*.

Iodi solutio aquosa**N**

Vodný roztok jodu

Synonymum. Solutio iodi aquosa

Je to roztok jodu (I, A_r 126,90) s přísadou jodidu draselného (KI, M_r 166,00).
0,90 % až 1,10 % volného jodu a 2,4 % až 2,6 % jodidu draselného.

Obsahuje

Příprava

Iodum	10,0 g
Kalii iodidum	25,0 g
Aqua purificata	965,0 g

Jodid draselný se rozpustí ve 25 ml čištěné vody a přidá se jod. Po jeho rozpuštění se roztok doplní čištěnou vodou do 1000 g a zfiltruje se.

Vlastnosti

Tmavě červenohnědá tekutina charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 ml se zředí 10 ml vody R a přidá se 1 ml škrobu RS; vznikne modré zbarvení, které zahřátím mizí a po ochlazení se opět objeví (jod).
- B. 5 ml se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se opatrně žihá tak dlouho, dokud se vyvíjejí fialové páry. Bílý zbytek se po vychladnutí rozpustí v 5 ml vody R. Roztok se použije také ve zkoušce C. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml chloridu železitého RS1, 1 ml chloroformu R a protřepe se; chloroformová vrstva se zbarví fialově (jodid).
- C. Ke 3 ml roztoku ze zkoušky B se přidá 0,2 ml hexanitrokobaltitanu sodného RS; vylučuje se žlutá sraženina (draslík).

Stanovení obsahu

Volný jod. 2,500 g se zředí 20 ml vody R a titruje se thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS do slabě žlutého zbarvení. Potom se přidá 1 ml škrobu RS a dotitruje se do odbarvení.

1 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 12,69 mg I.

Jodid draselný. 5,000 g se zředí 40 ml vody R, přidá se 5 ml kyseliny sírové zředěné RS a zvolna se titruje dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 16,60 mg KI.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nereagujících s jodem, chráněn před světlem.

† Iodi solutio ethanolica

N

Lihový roztok jodu

Synonyma. Solutio iodi spirituosa, Tinctura iodi

Je to lihový roztok jodu (I, A_r 126,90) s přísadou jodidu draselného (KI, M_r 166,00). Obsahuje 6,4 % až 6,6 % volného jodu a 2,4 % až 2,6 % jodidu draselného.

4848 † *Iodi solutio ethanolica***Příprava**

Iodum	65,0 g
Kalii iodidum	25,0 g
Aqua purificata	84,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	826,0 g

Jodid draselný se rozpustí v čištěné vodě a přidá se jod a ethanol 96 % a občasným protřepáváním se rozpustí.

Vlastnosti

Tmavě červenohnědá tekutina charakteristického pachu. Zředěn vodou vylučuje krystalky jodu.

Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 ml se zředí 10 ml *vody R* a přidá se 1 ml *škrobu RS*; vznikne modré zbarvení, které zahřátím mizí a po ochlazení se opět objeví (*jod*).
- B. 5 ml se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se opatrně žihá tak dlouho, dokud se vyvíjejí fialové páry. Bílý zbytek se po vychladnutí rozpustí v 5 ml *vody R*. Roztok se použije také ve zkoušce C. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml *chloridu železitého RS1*, 1 ml *chloroformu R* a protřepe se; chloroformová vrstva se zbarví fialově (*jodid*).
- C. Ke 3 ml filtrátu ze zkoušky B se přidá 0,2 ml *hexanitrokobaltitanu sodného RS*; vzniká žlutá sraženina (*draslík*).

Zkouška na čistotu

Kysele reagující nečistoty. K roztoku po titraci volného jodu se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* tak dlouho, dokud růžové zbarvení nevydrží nejméně 30 s. Spotřebuje se nejvýše 0,3 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

Stanovení obsahu

Volný jod. 3,500 g se zředí 20 ml *vody R* a titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě žlutého zbarvení. Potom se přidá 1,0 ml *škrobu RS* a dotitruje se do odbarvení.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,69 mg I.

Jodid draselný. 5,000 g se zředí 40 ml *vody R*, přidá se 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zvolna se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,60 mg KI.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nereagujících s jodem, chráněn před světlem.
Separandum.

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydává. Předepíše-li lékař Tinctura iodi, vydává se Iodi solutio ethanolica. Bez lékařského předpisu lze vydat pouze lihový roztok jodu zředěný ethanolem 96% v poměru 1 : 1.

Iodi solutio glycerolica

N

Glycerolový roztok jodu

Synonymum. Solutio iodi glycerolica

Je to glycerolový roztok jodu (I , A_r 126,90) s přísadou jodidu draselného (KI , M_r 166,00).

Obsahuje 0,90 % až 1,10 % volného jodu a 9,25 % až 10,75 % jodidu draselného.

Příprava

Iodum	10,0 g
Kalii iodidum	100,0 g
Aqua purificata	100,0 g
Glycerolum 85%	790,0 g

Jodid draselný se rozpustí v čištěné vodě a přidá se jod. Po jeho rozpuštění se přimíchá glycerol 85% a tekutina se zfiltruje.

Vlastnosti

Tmavě červenohnědá sirupovitá tekutina charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- 0,1 ml se zředí 10 ml vody *R* a přidá se 1 ml škrobu *RS*; vznikne modré zbarvení, které zahřátím mizí a po ochlazení se opět objeví (*jod*).
- 2 ml se opatrně zahřívají v porcelánovém kelímku tak dlouho, dokud se vyvíjejí fialové páry. Zbytek se po vychladnutí rozpustí v 5 ml vody *R* a roztok se zfiltruje. Filtrát se použije také ve zkoušce *C*. Ke 2 ml tohoto filtrátu se přidá 0,1 ml chloridu železitého *RS1*, 1 ml chloroformu *R* a protřepe se; chloroformová vrstva se zbarví fialově (*jodid*).
- Ke 3 ml filtrátu ze zkoušky *B* se přidá 0,2 ml hexanitrokobaltitanu sodného *RS*; vzniká žlutá sraženina (*draslík*).
- 0,5 ml se zředí vodou *R* na 5 ml a tekutina se odbarví asi 0,1 ml roztoku thiosíranu sodného *R* (200 g/l). K bezbarvému roztoku se přidá 0,5 ml roztoku hydroxidu sodného *R* (42 g/l) a 0,3 ml síranu měďnatého *RS*; vznikne fialově modré zbarvení (*vícemocné alkoholy*).

4850 *Jecoris aselli unguentum compositum***Stanovení obsahu**

Volný jod. 5,000 g se zředí 20 ml *vody R* a titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě žlutého zbarvení. Potom se přidá 1 ml *škrobu RS* a dotitruje se do odbarvení.

1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,69 mg I.

Jodid draselný. 1,200 g se zředí 40 ml *vody R*, přidá se 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zvolna se titruje *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,60 mg KI.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nereagujících s jodem, chráněn před světlem.

Jecoris aselli unguentum compositum**N**

Složená mast s rybím olejem

Synonymum. Unguentum jecoris aselli compositum

Je to hydrofobní mast s rybím olejem a oxidem zinečnatým (ZnO; M_r 81,38).

Obsahuje 5,9 % až 6,6 % ZnO.

Příprava

Zinci oxidi pasta	25,0 g
Jecoris aselli oleum (typus A)	25,0 g
Adeps lanae	25,0 g
Vaselinum flavum	25,0 g

Zinková pasta se smíchá postupně s tukem z ovčí vlny, žlutou vazelínou a rybím olejem typu A.

Vlastnosti

Stejnorodá lesklá světle žlutá mast charakteristického pachu po rybím oleji.

Zkoušky totožnosti

A. 1 g se smíchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušený přípravek se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).

Kalii et natrii iodidi oculoguttae 4851

- B.** 1 g se povaří s 10 ml *vody R* a po ochlazení se sleje. K 5 ml se přidá 0,1 ml *jodu RS*; vznikne modré zbarvení (*škrob*).
- C.** 1 g se vaří v baňce s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Do hrdla baňky se vloží malá nálevka a směs se vaří až do vyjasnění vrstvy masti. Potom se přidá 5 ml *vody R*, promíchá se, sleje a zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- D.** 0,5 g se rozpustí v 5 ml *chloroformu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví sytě zeleně (*cholesterol*).
- E.** 1 g se rozpustí ve 3 ml *chloroformu R* a přidají se 2 ml *chloridu antimonitého RS*; roztok se zbarví modře (*vitamin A*).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 6,8 až 7,0; měří se výluh připravený takto: 5 g se povaří s 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, tekutina se ochladí a zfiltruje.

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 1,200 g se odváží do baňky na 250 ml, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, 20 ml *vody R*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a zahřívá se, až se vrstva masti vyjasní. Potom se přidá 100 ml *vody R*, 50 mg *oranže xylenolové s dusičnanem draselným R* a tolik *hydroxidu sodného zředěného RS*, až se směs zbarví fialovorůžově. Potom se přidají 2 g *methenaminu R* a titruje se *edetanem disodným 0,05 mol/l VS* do žlutého zbarvení.

1 ml *edetanu sodného 0,05 mol/l VS* odpovídá 4,069 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Kalii et natrii iodidi oculoguttae**N**

Oční kapky s jodidem draselným a sodným

Synonymum. Collyrium kalii et natrii iodati

Je to sterilní hypertonický viskózní roztok jodidu draselného (KI, M_r 166,00) a jodidu sodného (NaI, M_r 149,89) v roztoku hydroxypropylmethylcelulosity s antioxidační a protimikrobní přísadou.

Obsahuje 2,90 % až 3,40 % jodidového iontu (I^- ; A_r 126,90).

4852 *Kalii et natrii iodidi oculoguttae***Příprava**

Hydroxypropylmethylcellulosum	0,45 g
Kalii iodidum	2,00 g
Natrii iodidum	2,00 g
Natrii thiosulfas	0,02 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

50 g vysterilizované čištěné vody se zahřeje na 80 °C až 90 °C a za neustálého míchání se přidává hydroxypropylmethylcellulosa, jejíž zdánlivá viskozita 2% roztoku je v rozmezí 3000 až 5600 mPa.s. Tekutina se nechá v uzavřené nádobě při pokojové teplotě za občasného promíchávání stát do vychladnutí. Thiosíran sodný a thiomersal se rozpustí ve 40 g vysterilizované čištěné vody, do tohoto roztoku se přidá jodid sodný a jodid draselný a zfiltruje se vhodným filtrem (5.1.1). Filtrát se přidá k 50 g roztoku hydroxypropylmethylcelulosy, doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou do 100 g a v prostoru čistoty A se rozplní do sterilních skleněných lahviček.

Vlastnosti

Čirá, nejvýše slabě opalizující bezbarvá slabě viskózní tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A. Barví plamen žlutě (*sodík*).
- B. K 1 ml se přidají 2 ml roztoku *octanu sodného R* (100 g/l) a 2 ml roztoku *hexanitrokobaltitanu sodného R* (100 g/l); vzniká žlutá sraženina (draslík).
- C. K 1 ml se přidá 5 ml *vody R*, 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*, 0,1 ml *chloridu železitého RS1* a 2 ml *chloroformu R*; po silném protřepání se chloroformová vrstva zbarví fialově (*jodidy*).
- D. 1 ml se zahřeje; vznikne vločkovitá sraženina, která se po ochlazení opět rozpustí (*ether celulosy*).
- E. Ke 2 ml se přidá 0,1 ml *jodu 0,05 mol/l RS*; roztok jodu se odbarví (*thiosírany*).
- F. 2 ml se protřepou s 1 ml *chloroformu R* a 0,2 ml *dithizonu RS*; chloroformová vrstva se zbarví hnědožlutě (*sloučeniny rtuti*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je bezbarvý (2.2.2) a neopalizuje silněji než porovnávací suspenze I (2.2.1).

Viskozita (2.2.8). 12 mPa.s až 23 mPa.s.

Hodnota pH (2.2.3) 6,0 až 7,5.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Kalii iodidi oculoguttae 4853

Stanovení obsahu

3,00 g se zředí asi 25 ml vody R, přidají se 3 ml kyseliny sírové zředěné RS a titruje se dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l odpovídá 12,69 mg jodu.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní konzervační látky.

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydávají.

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Kalii iodidi oculoguttae

N

Oční kapky s jodidem draselným

Synonymum. Collyrium kalii iodati

Je to sterilní roztok jodidu draselného (KI, M_r 166,01) s chloridem sodným (NaCl, M_r 58,44) a s protimikrobní a antioxidační přísadou.

Obsahuje 1,90 % až 2,10 % KI a 0,18 % až 0,22 % NaCl.

Příprava

Kalii iodidum	2,00 g
Natrii chloridum	0,20 g
Natrii thiosulfas	0,02 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

V 90 g vysterilizované čištěné vody se nejprve rozpustí thiomersal a thiosíran sodný a potom jodid draselný a chlorid sodný. Roztok se doplní vysterilizovanou čištěnou vodou do 100,0 g, provede se membránová filtrace (5.1.1) a v prostoru čistoty A se rozplní do sterilních skleněných lahviček.

4854 *Kalii iodidi oculoguttae***Vlastnosti**

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A.** K 1 ml se přidají 2 ml roztoku *octanu sodného R (100 g/l)* a 2 ml roztoku *hexanitrokobaltitanu sodného R (100 g/l)*; vzniká žlutá sraženina (draslík).
- B.** K 10 ml se přidají 2 ml roztoku *uhličitanu draselného R (100 g/l)* a zahřeje se; roztok zůstane čirý. Potom se přidají 4 ml *hexahydroxoantimoničnanu draselného RS* a směs se znovu zahřeje; po chvíli vzniká bílá krystalická sraženina. Vylučování sraženiny se urychlí třením skleněnou tyčinkou o stěnu zkumavky (*sodík*).
- C.** K 1 ml se přidá 5 ml *dusičnanu stříbrného RS2* a 2 ml *amoniaku zředěného RS1*. Po odfiltrování sraženiny se čirý filtrát okyslí 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*; vznikne bílá sraženina (*chloridy*).
- D.** K 1 ml se přidá 5 ml *vody R*, 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*, 0,1 ml *chloridu železitého RS1* a 2 ml *chloroformu R*; po silném protřepání se chloroformová vrstva zbarví fialově (*jodidy*).
- E.** K 5 ml se přidá 0,1 ml *jodu 0,05 mol/l RS*; roztok jodu se odbarví (*thiosířany*).
- F.** 2 ml se protřepou s 1 ml *chloroformu R* a 0,2 ml *dithizonu RS*; chloroformová vrstva se zbarví hnědožlutě (*sloučeniny rtuti*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 5,5 až 7,5.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Jodid draselný a chlorid sodný. 5,000 g se zředí 20 ml *vody R*, okyslí se 3 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda). První inflexní bod titrační křivky odpovídá spotřebě na jodid draselný, druhý inflexní bod odpovídá spotřebě na chlorid sodný.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,6 mg KI.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,844 mg NaCl.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Macrogoli unguentum 4855

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Macrogoli unguentum

N

Makrogolová mast

Synonymum. Unguentum macrogoli

Je to hydrofilní masťový základ z makrogolů.

Příprava

Macrogolum 300	500,0 g
Macrogolum 1500	500,0 g

Oba druhy makrogolu se roztaví při teplotě asi 70 °C a směs se míchá do vychladnutí. Nevznikne-li dobře roztíratelná mast vhodné konzistence (konzistence bílé vazelíny), je dovoleno měnit předepsané množství makrogolů vzájemně až o 10 %.

Vlastnosti

Stejnorodá lesklá bílá nebo velmi slabě žlutá mast, v 1 mm až 2 mm silné vrstvě prosvítavá, slabého charakteristického pachu, rozpustná ve vodě a v chloroformu, nerozpustná ve vazelíně a v mastných olejích. Je inkompatibilní s těžkými kovy, jodem, jodidy, fenoly. Inaktivuje bacitracin.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se míchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince míchá s 5 ml *vody R*. Zkoušený přípravek se rozpouští ve vodě i v chloroformu (*makrogolová mast*).
- B. K 1 g se ve zkumavce přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R*, uzavře se zátkou opatřenou zahnutou trubicí a zahřívá se do vývinu bílého dýmu, který se trubicí zavádí na dno druhé zkumavky do 1 ml *chloridu rtuňnatého RS*; po chvíli se vylučuje bílá krystalická sraženina (*makrogol*).

Zkoušky na čistotu

Viskozita (2.2.8). 16 mPa.s až 21 mPa.s; měří se 50% vodný roztok zkoušeného přípravku při 25 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 1,0.

Číslo hydroxylové (2.5.3, *Metoda A*). 198 až 253.

4856 *Methylcellulosi mucilago*

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Methylcellulosi mucilago**N**

Sliz z methylcellulosity

Synonymum. Mucilago methylcellulosi

Je to koloidní roztok methylcelulosity ve vodě s glycerolem.

Příprava

Methylcellulosum	25,0 g
Glycerolum 85%	100,0 g
Aqua purificata	ad 1000,0 g

Methylcelulosa s deklarovanou zdánlivou viskozitou 2% roztoku 450 mPa.s se rozptýlí v asi 400 ml čištěné vody a nechá se 15 min stát. Potom se přidá směs glycerolu a zbytku čištěné vody, míchá se do vzniku průhledného slizu a podle potřeby se doplní čištěnou vodou do 1000 g a znovu promíchá.

Vlastnosti

Bezbarvá nebo nažloutlá čirá nebo slabě opalizující viskózní tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A.** 2 ml se smíchají s 2 ml vody *R* a přidá se 5 ml *chloridu sodného nasyceného RS*, vznikne bílá klkatá sraženina.
- B.** Ke 2 ml se přidají 2 ml *kyseliny dusičné R* a po promíchání a ochlazení se na tekutinu opatrně navrství 2 ml roztoku *dichromanu draselného R* (50 g/l), na styku obou tekutin vznikne tmavý prstenec (*glycerol*).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, v chladnu.

Methylrosanilini chloridi solutio 0,5% 4857

Methylrosanilini chloridi solutio 0,5%

N

Roztok methylrosaniliniumchloridu 0,5%

Synonymum. Methylrosanilini chloridi solutio 0,5% aquosa

Je to roztok methylrosaniliniumchloridu ($C_{25}H_{30}ClN_3$, M_r 407,99).
Obsahuje 0,41 % až 0,53 % $C_{25}H_{30}ClN_3$.

Příprava

Methylrosanilini chloridum 0,50 g
Aqua purificata ad 100,0 g

Methylrosaniliniumchlorid se rozpustí v 90 g čištěné vody 60 °C až 70 °C teplé. Po ochlazení na pokojovou teplotu se roztok zfiltruje, filtr se promyje čištěnou vodou, kterou se roztok doplní do 100,0 g.

Vlastnosti

Tmavě fialová tekutina slabého charakteristického pachu.

Zkouška totožnosti

0,2 ml se zředí 5 ml vody R, přidá se 0,05 ml kyseliny chlorovodíkové RS a promíchá se. Fialové zbarvení roztoku se změní v modré, které po přidání dalších 0,25 ml kyseliny chlorovodíkové RS a po promíchání přejde v zelené. Po přidání dalších 5 ml kyseliny chlorovodíkové RS přejde zbarvení roztoku v hnědožluté (*methylrosaniliniumchlorid*).

Stanovení obsahu

Methylrosaniliniumchlorid. 10,00 g se v předem vysušené a zvážené váženice odpaří na vodní lázni do sucha a potom se 2 h suší při 105 °C až 110 °C. Po vychladnutí v exsikátoru se zváží a z hmotnosti odparku se vypočte obsah hledané látky.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, v chladu, chráněn před světlem.

4858 *Methylrosanilini chloridi solutio 2%*

Methylrosanilini chloridi solutio 2%

N

Roztok methylrosaniliniumchloridu 2%

Synonymum. Methylrosanilini solutio 2%

Je to roztok methylrosaniliniumchloridu ($C_{25}H_{30}ClN_3$, $M_r 407,99$) s přísadou ethanolu (C_2H_6O , $M_r 46,07$).

Obsahuje 1,70 % až 2,10 % $C_{25}H_{30}ClN_3$ a 13,4 % až 14,9 % C_2H_6O .

Příprava

Methylrosanilini chloridum	2,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	15,0 g
Aqua purificata	83,0 g

Methylrosaniliniumchlorid se rozpustí v ethanolu 96%, přidá se čištěná voda, promíchá se a zfiltruje.

Vlastnosti

Tmavě fialová tekutina charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. 0,05 ml se zředí 5 ml vody R, přidá se 0,05 ml kyseliny chlorovodíkové RS a promíchá se. Fialové zbarvení roztoku se změní v modré, které po přidání dalších 0,25 ml kyseliny chlorovodíkové RS a po promíchání přejde v zelené. Po přidání dalších 5 ml kyseliny chlorovodíkové RS přejde zbarvení roztoku na hnědožluté (*methylrosaniliniumchlorid*).
- B. 2,5 ml se smíchá s 1 ml kyseliny octové ledové RS a 2 ml kyseliny sírové R a protřepe se. Po chvíli se vyvíjí pach ethylacetátu (*ethanol*).

Stanovení obsahu

Methylrosaniliniumchlorid. 5,000 g se v předem vysušené a zvážené váženice odpaří na vodní lázni do sucha a potom se 2 h suší při 105 °C až 110 °C. Po vychladnutí v exsikátoru se zváží a z hmotnosti odparku se vypočte obsah hledané látky.

Ethanol. Proveďte se stanovení obsahu ethanolu v tekutých přípravcích (2.9.10).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, v chladu, chráněn před světlem.

Natrii tetraboratis globulus 4859

Natrii tetraboratis globulus

N

Vaginální kulička s tetraboritanem sodným

Synonymum. Globulus cum natrio tetraborico

Je to vaginální kulička z glycerogelu želatiny s tetraboritanem sodným ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$; M_r 381,37).

Obsahuje 95,0 % až 105,0 % předepsaného množství $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Příprava

Glycerogelatum gelatinae:

Gelatina	12,5 g
Aqua conservans	25,0 g
Glycerolum 85%	62,5 g

Rozdrobněná želatina se nechá 15 min nabobtnat v konzervační vodě, přidá se glycerol 85% a zahřívá se při teplotě nejvýše 65 °C do rozpuštění želatiny. Směs se doplní čištěnou vodou do 100,0 g a dobře se promíchá.

Vaginální kuličky s tetraboritanem sodným se obvykle připravují v těchto složeních:

Natrii tetraboras	0,3 g	0,6 g
Glycerogelatum gelatinae	q.s.	q.s.

V roztaveném želatinovém glycerogelu se rozpustí tetraboritan sodný, směs se promíchá a ještě za tepla se naleje do vhodné formy. Potřebné množství želatinového glycerogelu se určí podle objemu zvolené formy.

Vlastnosti

Prosvítavá nažloutlá až světle žlutá pružná kulička neporušeného hladkého povrchu.

Zkoušky totožnosti

- Množství odpovídající asi 0,1 g tetraboritanu sodného se rozpustí mírným zahřátím asi ve 2 ml vody R, přidají se 2 ml roztoku *uhličitanu draselného R* (100 g/l) a zahřeje se. Po ochlazení se přidají 4 ml *hexahydroxoantimoničnanu draselného RS* a opět se zahřeje; po chvíli vzniká bílá krystalická sraženina. Vylučování sraženiny se urychlí třením skleněnou tyčinkou o stěnu zkumavky (*sodík*).
- Množství odpovídající asi 0,2 g tetraboritanu sodného se v porcelánové misce zvlhčí 1 ml *kyseliny sírové R*, přidají se 3 ml *lihu 96% R* a směs se zapálí. Plamen, zvláště při dohořívání, je zbarven na okrajích zeleně (*kyselina boritá*).
- Asi 1,5 g se zvolna zahřívá s 0,5 g *hydrogensíranu draselného R*; směs uhelnatí a vyvíjí se pronikavý zápach akroleinu (*glycerol*).
- Při spalování je cítit pach pálicí se rohoviny (*želatina*).

4860 *Natrii tetraboratis oculo guttae***Zkoušky lékové formy**

Zkouška rozpadavosti. Provede se zkouška rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2). Hodnotí se stav po 60 min.

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Vyhovuje zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem.

Stanovení obsahu

3,000 g se rozpustí mírným zahřátím v 50 ml *vody R*. Roztok se zředí asi 50 ml *vody R* a po ochlazení se titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (skleněná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* odpovídá 9,535 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Obsah tetraboritanu sodného vyjádřený v procentech předepsaného množství a vztahžený na průměrnou hmotnost jedné kuličky se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m \cdot z \cdot 100}{n \cdot d},$$

v němž značí:

m - množství tetraboritanu sodného zjištěného v navážce v gramech,

z - průměrnou hmotnost vaginální kuličky v gramech,

n - navážku v gramech,

d - předepsané množství tetraboritanu sodného v 1 vaginální kuličce vyjádřené v gramech.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem a mrazem, při teplotě do 20 °C.

Označování

V označení na obalu se uvedou názvy použitých protimikrobních přísad.

Natrii tetraboratis oculo guttae**N****Boraxové oční kapky***Synonymum.* Collyrium boraxatum

Je to sterilní roztok kyseliny borité (H_3BO_3 , M_r 61,83) a tetraboritanu sodného ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, M_r 381,37) stabilizovaný protimikrobní přísadou.

Obsahuje 1,65 % až 1,85 % H_3BO_3 a 0,22 % až 0,28 % $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Příprava

Acidum boricum	1,750 g
Natrii tetraboras	0,250 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Kyselina boritá a tetraboritan sodný se rozpustí v roztoku 0,002 g thiomersalu v 90 g vysterilizované čištěné vody 60 °C až 70 °C teplé. Roztok se ochladí, doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou do 100,0 g, provede se membránová filtrace, rozplní se do vhodných obalů v prostoru čistoty A nebo se sterilizuje v konečném obalu párou (5.1.1), např. 20 min při 121 °C.

Jako vhodnou protimikrobní přísadu lze také použít fenyhydrargyriumborat (0,01 g/l).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

A. Barví plamen žlutě (*sodík*).

B. 5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zejména na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).

C. 2 ml se protřepou s 1 ml *chloroformu R* a 0,1 ml *dithizonu RS*; chloroformová vrstva se zbarví žlutooranžově (*sloučeniny rtuti*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,2.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Tetraboritan sodný. K 5,000 g se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l VS* ze žlutého do fialově červeného zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* odpovídá 1,907 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Kyselina boritá. Ke ztitrovanému roztoku ze stanovení tetraboritanu sodného se přidá 10 ml čerstvě připraveného roztoku *sorbitolu R* (200 g/l) předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *modři thymolové RS* do zeleného zbarvení. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Obsah volné kyseliny borité v procentech se vypočítá podle vzorce:

4862 *Natrii tetraboratis solutio glycerolica*

$$\frac{(b - 0,2a) \cdot 6,183}{10n},$$

v němž značí:

a - spotřebu kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS při stanovení tetraboritanu sodného v mililitrech,

b - spotřebu hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS při stanovení kyseliny borité v mililitrech,

n - navážku zkoušeného přípravku v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Natrii tetraboratis solutio glycerolica**N**

Glycerolový roztok tetraboritanu sodného

Je to 10% nebo 20% roztok tetraboritanu sodného ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, M_r 381,37) v glycerolu 85% ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, M_r 92,09).

V případě 10% roztoku obsahuje 9,2 % až 10,8 % $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ a 74,6 % až 79,3 % $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ a v případě 20% roztoku obsahuje 19,0 % až 21,0 % $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ a 66,3 % až 70,5 % $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

Příprava

Předepsané množství tetraboritanu sodného (10,0 g nebo 20,0 g) se zahříváním a za stálého míchání rozpustí v předepsaném množství glycerolu 85% (90,0 g nebo 80,0 g).

Vlastnosti

Čirá téměř bezbarvá sirupovitá tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A. K 0,2 ml se přidají 2 ml *hexahydroxoantimoničnanu draselného RS* a promíchá se. Během několika minut se vyloučí bílá jemně krystalická sraženina (*sodík*).
- B. K množství odpovídajícímu asi 0,2 g tetraboritanu sodného se v porcelánové misce přidá 1 ml *kyseliny sírové R*, přidají se 3 ml *lihu 96% R* a směs se zapálí. Plamen, zvláště při dohořívání, je zbarven na okrajích zeleně (*kyselina boritá*).
- C. 1 ml se smíchá s 1 ml *kyseliny dusičné R* a směs se opatrně převrství 1 ml *dichromanu draselného RS*; na styku obou vrstev postupně vznikne fialově modrá zóna (*glycerol*).

Zkouška na čistotu

Vzhled roztoku. 5,0 g se zředí *vodou R* na 25,0 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Stanovení obsahu

Tetraboritan sodný. 4,000 g roztoku 10% nebo 2,000 g roztoku 20% se zředí *vodou R* na 25 ml a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (skleněná a nasycená kalomelová elektroda). Ztitrovaná tekutina se použije ke stanovení glycerolu.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 1,907 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Glycerol. Ztitrovaná tekutina ze stanovení tetraboritanu sodného se kvantitativně převede do odměrné baňky na 100 ml, doplní se *vodou R* po značku a promíchá se. Do baňky se zabroušenou zátkou se odměří 5,0 ml (v případě 10% roztoku) nebo 10,0 ml (v případě 20% roztoku), zředí se *vodou R* na 50 ml, přidá se 0,3 ml *červeně bromkresolové RS* a tolik *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*, až se žluté zbarvení roztoku změní na fialově červené. Přidá se 1,5 g *jodistanu sodného R*, baňka se uzavře a obsah se občas promíchá. Za 5 min po rozpuštění jodistanu sodného se přidá 1,5 ml *propylenglykolu R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do fialového zbarvení s tím, že se před dotitrováním přidá ještě 0,1 ml stejného roztoku indikátoru. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 mg $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Oculoguttae viscosae isotonicae

N

Viskózní izotonické oční kapky

Synonymum. Collyrium viscosum isotonicum

Je to sterilní viskózní roztok hydroxypropylmethylcelulosy s chloridem sodným (NaCl , M_r 58,44) a protimikrobní přísadou.

Obsahuje 0,85 % až 0,95 % NaCl .

4864 *Oculoguttae viscosae isotonicae***Příprava**

Hydroxypropylmethylcellulosum	0,50 g
Natrii chloridum	0,90 g
Carbaethopendecinii bromidum	0,02 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Chlorid sodný se rozpustí v 50 g vysterilizované čištěné vody, roztok se zahřeje na 80 °C až 90 °C a za neustálého míchání se přidává hydroxypropylmethylcelulosa, jejíž zdánlivá viskozita 2% roztoku je v rozmezí 3000 až 5600 mPa.s. Tekutina se nechá v uzavřené nádobě při pokojové teplotě za občasného promíchávání stát do vychladnutí. Potom se přidá roztok karbethopendeciniumbromidu ve 20 g vysterilizované čištěné vody a doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou na 100,0 g. V uzavřené nádobě se nechá stát 8 h až 24 h při 4 °C až 8 °C a rozplní se v prostoru čistoty A do sterilních lahviček.

Vlastnosti

Čirá, nejvýše slabě opalizující bezbarvá a slabě viskózní tekutina.

Zkoušky totožnosti

- A.** Barví plamen žlutě (*sodík*).
- B.** 1 ml se zředí 4 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce a) na chloridy (2.3.1).
- C.** 1 ml se zahřeje; vznikne vločkovitá sraženina, která se po ochlazení opět rozpustí (*ethery celulosy*).
- D.** 2 ml se okyselí 1,5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, přidá se 5 ml *chloroformu R* a 0,1 ml roztoku *manganistanu draselného R* (1 g/l); po protřepání se chloroformová vrstva zbarví slabě červenofialově (*kvartérní amoniové sloučeniny*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*) a neopalizuje silněji než porovnávací suspenze I (2.2.1).

Viskozita (2.2.8). 15 mPa.s až 26 mPa.s.

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 6,5.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Chlorid sodný. 5,000 g se zředí 30 ml *vody R*, přidají se 3 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (stříbrná a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 5,844 mg NaCl.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

V chladnu, chráněny před světlem.

Pilocarpini oculo guttae 4865

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculo guttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní konzervační látky.

Vydávání

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Pilocarpini oculo guttae

N

Pilokarpinové oční kapky

Synonymum. Collyrium pilocarpinii chlorati

Je to sterilní roztok pilokarpiniumchloridu ($C_{11}H_{17}ClN_2O_2$, M_r 244,72) s izotonizační a protimikrobní přísadou.

Obsahuje 90,0 % až 110,0 % předepsaného množství $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$.

Příprava

Pilocarpini hydrochloridum	1,00 g	2,00 g
Carbaethopendecinii bromidum	0,02 g	0,02 g
Acidum boricum	1,27 g	0,85 g
Natrii tetraboras	0,03 g	0,02 g
Aqua purificata	ad 100,0 g	ad 100,0 g

Ve vysterilizované čištěné vodě prosté oxidu uhličitého se při teplotě 60 °C až 70 °C rozpustí kyselina boritá a tetraboritan sodný. Po zchladnutí se přidá pilokarpiniumchlorid a karbethopendeciniumbromid, provede se membránová filtrace (5.1.1) a rozplní se do sterilních lahviček v prostoru čistoty A. V odůvodněných případech lze k protimikrobnímu zajištění použít jinou vhodnou látku.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina. Je inkompatibilní se solemi stříbra a s alkalicky reagujícími látkami.

Zkoušky totožnosti

A. Ke 3 ml se přidá 0,1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 1 ml *chloroformu R*, 1 ml čerstvě připraveného *peroxidu vodíku zředěného R*, 0,05 ml roztoku *dichromanu draselného R* (50 g/1) a směs se důkladně protřepe; chloroformová vrstva se zbarví modrofialově (*pilokarpin*).

B. Vyhovuje zkoušce a) na chloridy (2.3.1).

4866 *Pilocarpini oculo guttae*

- C. 5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R*, přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zvláště na okraji zeleně zbarvený (kyselina boritá).
- D. 1 ml se okyselí 1,5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, přidají se 2 ml *chloroformu R* a 0,1 ml roztoku *manganistanu draselného R* (1 g/1). Po důkladném protřepání se chloroformová vrstva zbarví růžovofialově (*kvartérní amoniová sloučenina*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 4,8 až 6,1.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Do dělicí nálevky se odváží množství odpovídající asi 0,100 g pilokarpiniumchloridu, přidá se 15 ml *chloroformu R* a 1 g *hydrogenuhličitanu sodného R* a 30 s se intenzivně protřepává. Po oddělení vrstev se chloroformová vrstva zfiltruje přes vatu s vrstvou *síranu sodného bezvodého R* do titrační baňky. Vodná vrstva se stejným způsobem vytřepe ještě dvakrát s 10 ml *chloroformu R*. Nakonec se dělicí nálevka i vata promyjí 5 ml *chloroformu R*. Ke spojeným chloroformovým podílům se přidá 15 ml *kyseliny octové bezvodé R*, 0,05 ml *violeti krystalové RS* a titruje se z mikrobyrety *kyselinou chloristou 0,05 mol/l VS* do jasně modrého zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *kyseliny chloristé 0,05 mol/l VS* odpovídá 12,24 mg $C_{11}H_{17}ClN_2O_2$.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculo guttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

Vydávají se jen na lékařský předpis.

Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

Prothrombinum multiplex humanum cryodesiccatum 4867

Prothrombinum multiplex humanum cryodesiccatum

1998



Lidský protrombinový komplex lyofilizovaný

Je to frakce plazmatických bílkovin obsahující koagulační faktor IX společně s kolísajícím množstvím koagulačních faktorů II, VII a X; přítomnost a podíl těchto přídatných faktorů závisí na metodě frakcionace. Získává se z lidské plazmy, která vyhovuje požadavkům článku *Plasma humanum ad separationem*.

Účinnost přípravku rekonstituovaného předepsaným způsobem je nejméně 20 m.j. faktoru IX v mililitru.

Výroba

Metoda přípravy se navrhuje tak, aby se na minimum snížila aktivace jakéhokoliv koagulačního faktoru (a tím možná tvorba trombů) a aby zahrnovala postup nebo postupy, které prokazatelně odstraňují či inaktivují známé původce infekcí; jsou-li při výrobě použity látky k inaktivaci virů, validuje se následný čistící postup, aby se prokázalo, že koncentrace těchto látek byla snížena na vhodnou úroveň a že případné zbytky neovlivní bezpečnost přípravku pro nemocné.

Specifická účinnost před přidáním bílkovinné stabilizační přísady je nejméně 0,6 m.j. faktoru IX v miligramu celkových bílkovin.

Frakce protrombinového komplexu se rozpouští ve vhodném rozpouštědle. Mohou se přidat heparin, antitrombin a jiné pomocné látky, jakými jsou např. stabilizátory. Nepřidává se žádná protimikrobní konzervační látka. Roztok prochází filtry zadržujícími bakterie, plní se asepticky do konečných obalů a ihned se zmrazí. Poté se lyofilizuje a obaly se uzavřou ve vakuu či v atmosféře inertního plynu.

Vlastnosti

Bílý nebo slabě zbarvený prášek nebo drobná pevná, velmi hygroskopická hmota.

Zkoušený přípravek se rekonstruuje předepsaným způsobem bezprostředně před provedením zkoušek totožnosti, zkoušek na čistotu (kromě zkoušek rozpustnosti a na obsah vody) a před stanovením účinnosti.

Zkoušky totožnosti

- A. Vhodným souborem druhově specifických antisér se provedou precipitační zkoušky se zkoušeným přípravkem. Doporučuje se provést zkoušky se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám všech druhů domácích zvířat obvykle používaných v dané zemi k přípravě látek živočišného původu. Zkoušený přípravek prokazatelně obsahuje lidské bílkoviny a nereaguje se specifickými séry proti plazmatickým bílkovinám jiných živočišných druhů.
- B. Stanovení účinnosti koagulačního faktoru IX, a kde je to vhodné, i faktorů II, VII a X, je zároveň zkouškou totožnosti.

4868 *Prothrombinum multiplex humanum cryodesiccatum***Zkoušky na čistotu**

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,5.

Rozpustnost. Do obalu se zkoušeným přípravkem se při doporučené teplotě přidá předepsaný objem rozpouštědla. Přípravek se mírným třepáním do 10 min zcela rozpustí za vzniku čirého roztoku, který může být zbarven.

Osmolalita (2.2.35). Nejméně 240 mosmol/kg.

Celkové bílkoviny. Je-li třeba, zředí se přesně odměřený objem rozpuštěného přípravku roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) tak, aby se získal roztok obsahující ve 2 ml asi 15 mg bílkoviny. Ke 2,0 ml tohoto roztoku v centrifugační zkumavce s kulatým dnem se přidají 2 ml roztoku *molybdenanu sodného R* (75 g/l) a 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny sírové prosté dusíku R* a *vody R* (1 + 30). Protřepe se, 5 min se odstředí, supernatantní tekutina se sleje a převrácená zkumavka se nechá odkapat na filtrační papír. Ve zbytku se stanoví dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) a obsah bílkovin se vypočítá vynásobením výsledku faktorem 6,25.

Aktivované koagulační faktory. Jestliže zkoušený přípravek obsahuje heparin, stanoví se jeho obsah, jak je uvedeno ve zkoušce na heparin (uvedené dále), a heparin se zneutralizuje přidáním *protaminijsulfátu R* (10 µg protaminijsulfátu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Rozpuštěný zkoušený přípravek se zředí 1 : 10 a 1 : 100 *tlumivým roztokem trometamolovým o pH 7,5*. Do vodní lázně o teplotě 37 °C se umístí řada polystyrenových zkumavek, do každé se přidá 0,1 ml *plazmy chudé na krevní destičky R* a 0,1 ml vhodného ředění *zkoumadla cefalinového R* nebo *krevních destiček náhrady R*. Inkubuje se 60 s. Poté se ihned do zkumavek napipetuje po 0,1 ml příslušného ředění přípravku nebo 0,1 ml *tlumivého roztoku* (kontrolní zkumavka). Ihned nato se do každé zkumavky přidá 0,1 ml roztoku *chloridu vápenatého R* (3,7 g/l) předem ohřátého na 37 °C. V průběhu 30 min od výchozího ředění se měří čas, který uplyne mezi přidáním roztoku chloridu vápenatého a tvorbou koagula. Pro všechna ředění má být srážecí čas nejméně 150 s.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže srážecí čas v kontrolní zkumavce je v rozmezí 200 s až 350 s.

Heparin. Jestliže se během přípravy přidává heparin, stanoví se jeho množství zkouškou účinnosti heparinu v koncentracích koagulačního faktoru (2.7.12). Zkoušený přípravek neobsahuje více heparinu, než je uvedeno v označení na obalu, a v žádném případě více než 0,5 m.j. heparinu na mezinárodní jednotku faktoru IX.

Trombin. Obsahuje-li zkoušený přípravek heparin, stanoví se jeho obsah, jak je uvedeno ve zkoušce na heparin, a heparin se neutralizuje přidávkem *protaminijsulfátu R* (10 µg protaminijsulfátu neutralizuje 1 m.j. heparinu). Ve dvou zkumavkách se smíchají stejné objemy rozpuštěného přípravku a roztoku *fibrinogenu R* (3 g/l). Jedna zkumavka se uchovává 6 h při 37 °C, druhá 24 h při pokojové teplotě. Ve třetí zkumavce se smíchají stejné objemy roztoku fibrinogenu a *lidského trombinu R* (1 m.j./ml) a zkumavka se zahřívá ve vodní lázni při 37 °C. Ve zkumavkách obsahujících zkoušený přípravek nedojde ke srážení, ve zkumavce s trombinem se koagulum vytvoří do 30 s.

Voda (2.5.12). Nejvýše 3,0 %. Do obalu se zkoušeným přípravkem se přidá vhodný objem *methanolu bezvodého R*, protřepe se, nechá se stát a se známým objemem supernatantní tekutiny se provede stanovení.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka se vstříkne nitrožilně objem rozpuštěného přípravku odpovídající nejméně 30 m.j. faktoru IX.

Stanovení účinnosti

Faktor IX. Provede se stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru IX (2.7.11).

Stanovená účinnost je v rozmezí 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je v rozmezí 80 % až 125 %.

Faktor VII. Je-li deklarováno, že přípravek obsahuje faktor VII, provede se stanovení účinnosti koagulačního faktoru VII (2.7.10).

Stanovená účinnost je v rozmezí 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je v rozmezí 80 % až 125 %.

Faktory II a X. Je-li deklarováno, že přípravek obsahuje faktory II a X, provede se validované stanovení účinnosti těchto složek.

Stanovená účinnost je v rozmezí 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) stanovené účinnosti je v rozmezí 80 % až 125 %.

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek faktoru IX v obalu, a kde je to vhodné, i faktorů II, VII a X,
- kde je to vhodné, že přípravek obsahuje protein C a/nebo protein S,
- množství bílkovin v obalu,
- název a množství všech přidaných látek, včetně heparinu, pokud se použil,
- název a objem tekutiny, která se použije k rekonstituci,
- podmínky uchovávání,
- doba použitelnosti,
- upozornění, že při podání léčivých přípravků připravených z lidské krve nebo plazmy nelze zcela vyloučit přenos původců infekčního onemocnění.

Sapo kalinus

N

Draselné mýdlo

Je to směs draselných solí vyšších mastných kyselin lněného oleje. Obsahuje 44,0 % až 48,0 % vyšších mastných kyselin.

4870 *Sapo kalinus***Příprava**

Lini oleum	508,0 g
Kalii hydroxidum	q.s.
Ethanolum 96%	75,0 g
Voda prostá oxidu uhličitého R	q.s.
Aqua purificata	206,0 g

Připraví se roztok hydroxidu draselného ve vodě prosté oxidu uhličitého R tak, aby obsahoval 40,0 % sloučeniny KOH. K 230,0 g tohoto roztoku se přimíchá lněný olej, ethanol 96% a čištěná voda. Směs se za mírného míchání zahřívá při 50 °C až 55 °C do vymizení olejových kapek (asi 2 h). Poté se teplá směs rozplní do vhodných obalů a ponechá se 24 h stát.

Vlastnosti

Nažloutlá až nahnědlá měkká hladká prosvítavá hygroskopická hmota slabého charakteristického pachu. Je snadno rozpustné ve vodě a v lihu 96%, roztoky při protřepání pění.

Zkoušky totožnosti

- A. Číslo jodové (2.5.4). 90 až 110; stanoví se s 0,150 g zkoušeného přípravku ve směsi 5 ml kyseliny octové ledové R a 10 ml chloroformu R.
- B. Asi 1 g se rozpustí v 10 ml horké vody R a k ještě horkému roztoku se přidají 3 ml kyseliny chlorovodíkové RS; vznikne bílý zákal. Zahříváním na vodní lázni se tekutina vyjasní a na povrchu se oddělí olejovitá vrstva vyšších mastných kyselin.
- C. 0,5 g se rozpustí zahřátím v 5 ml vody R, přidá se 5 ml kyseliny octové zředěné RS a 2 min se třepe s 20 ml chloroformu R. Po oddělení vrstev se horní vrstva zfiltruje nebo odstředí a bez přidání 1 ml kyseliny octové zředěné RS vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Roztok S. 5,00 g se rozpustí za opatrného míchání ve 20 ml lihu 96% R, předem zneutralizovaného za použití 1 ml fenolftaleinu RS a hydroxidu sodného 0,05 mol/l RS do slabě růžového zbarvení.

Látky nerozpustné v lihu. Roztok S se zfiltruje zváženým skleněným filtrem (16). Filtrát se použije ke zkoušce Kysele nebo zásaditě reagující látky. Zbytek na filtru se promyje po částech, vždy s 10 ml horkého lihu 96% R a vysuší se v sušárně při 100 °C až 105 °C; zbytek váží nejvýše 10 mg.

Kysele nebo zásaditě reagující látky. Filtrát ze zkoušky Látky nerozpustné v lihu je buď červeně zbarven, nebo je bezbarvý. V případě, že je zbarven červeně, se 10,0 ml filtrátu odbarví přidáním nejvýše 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS, a v případě, že je bezbarvý, se 10,0 ml zbarví slabě růžově přidáním nejvýše 0,3 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

Stanovení obsahu

2,500 g se rozpustí v 50 ml vody R, přidá se 5 ml kyseliny chlorovodíkové RS a po promíchání se zahřívá na vodní lázni do vyjasnění horní vrstvy. Ještě teplá směs se kvantitativně převede do dělicí

Sennae folii extractum siccum normatum 4871

nálevky a po vychladnutí se třikrát vytřepe 10 ml *etheru petrolejového R*. Spojené petroletherové fáze se promyjí dvakrát 5 ml *vody R*, suší se protřepáním asi s 3 g *síranu sodného bezvodého R* a za 30 min se zfiltrují přes vatou do předem zvážené odpařovací misky. Po promytí dělicí nálevky a filtru dvakrát 5 ml *etheru petrolejového R* se spojené filtráty odpaří na vodní lázni do sucha. Odparek se vysuší při 105 °C do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Hmotnost zbytku přepočtená na 100 g zkoušeného přípravku udává obsah vyšších mastných kyselin.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněno před světlem.

Sennae folii extractum siccum normatum

Sennový extrakt suchý standardizovaný

Synonymum. Suchý sennový extrakt titrovaný



1998

Vyrábí se z drogy *Sennae folium*. Obsahuje 5,5 % až 8,0 % hydroxyanthracenových derivátů, vyjádřeno jako sennosid B ($C_{42}O_{20}H_{36}$, M_r 863), počítáno na vysušený extrakt. Zjištěný obsah se liší od obsahu uvedeného na obalu nejvýše o ± 10 %.

Výroba

Vyrábí se z drogy a ethanolu (50% až 80% (V/V)) vhodným postupem uvedeným v článku *Extracta*.

Vlastnosti

Nahnědlý nebo hnědý prášek.

Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

Zkoušený roztok. 0,1 g se smíchá s 5 ml směsí stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* a zahřeje se k varu. Po ochlazení se odstředí a použije se supernatantní tekutina.

Porovnávací roztok. 10 mg *sennového extraktu CRL* se rozpustí v 1 ml směsí stejných objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* (malý zbytek může zůstat nerozpuštěn). Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 μ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R*, *ethylacetatu R* a *1-propanolu R* (1 + 30 + 40 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *kyseliny dusičné R* 20% (V/V) a suší se 10 min při 120 °C. Po ochlazení se postříká roztokem *hydroxidu draselného R* (50 g/l) v *lihu R* 50% (V/V) do objevení skvrn. Na chromatogramu zkoušeného roztoku se hlavní skvrny shodují polohou, barvou a velikostí s hlavními skvrnami na chromatogramu porovnávacího roztoku. V dolní třetině chromatogramů je nápadná hnědá skvrna odpovídající sennosidu B, nad ní žlutá skvrna provázená další nápadnou hnědou skvrnou odpovídající sennosidu A. V horní polovině

4872 *Sennae folii extractum siccum normatum*

chromatogramů jsou v pořadí vzestupné hodnoty R_F : nápadný červenohnědý pruh a oranžově hnědá skvrna provázená bledě růžovým pruhem a dvěma žlutými pruhy; na čele chromatogramu je tmavě růžová skvrna, která může být provázena několika nevýraznými pruhy.

- B.** Asi 25 mg se v kuželové baňce smíchá s 50 ml vody *R* a s 2 ml kyseliny chlorovodíkové *R* a směs se zahřívá 15 min ve vodní lázni. Po ochlazení se protřepe 40 ml etheru *R*, etherová vrstva se oddělí a vysuší síranem sodným bezvodým *R*. 5 ml roztoku se odpaří do sucha a po vychladnutí se odparek smíchá s 5 ml amoniaku zředěného *RS1*; vznikne žluté nebo oranžové zbarvení. Pak se zahřívá 2 min na vodní lázni; vznikne červenofialové zbarvení.

Zkoušky na čistotu

Ztráta sušením. Nejvýše 5,0 %; provede se způsobem uvedeným v odstavci *Extracta sicca*, viz článek *Extracta*.

Mikrobiální znečištění (2.6.12). Nejvýše 10^4 živých aerobních mikroorganismů v gramu a nejvýše 10^2 hub v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

Stanovení obsahu

Provádí se za ochrany před světlem.

0,150 g se ve 100ml baňce rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. Roztok se zfiltruje a prvních 10 ml filtrátu se odstraní. 20,0 ml filtrátu se převede do 150ml dělicí nálevky, smíchá se s 0,1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné *RS* a protřepává se třikrát 15 ml etheru *R*. Etherová vrstva se odstraní, vodná vrstva se smíchá s 0,10 g hydrogenuhličitanu sodného *R* a 3 min se protřepává. Odstředí se a 10,0 ml supernatantní tekutiny se převede do 100ml baňky s kulatým dnem a se zabroušenou zátkou, přidá se 20 ml chloridu železitého *RS1* a směs se promíchá. Zahřívá se 20 min ve vodní lázni pod zpětným chladičem tak, aby hladina vody přesahovala hladinu tekutiny v baňce. Přidají se 3 ml kyseliny chlorovodíkové *R* a zahřívá se dalších 30 min za častého protřepávání až do rozpuštění sraženiny. Po ochlazení se směs převede do dělicí nálevky a protřepává se třikrát 25 ml etheru *R*, ether se vždy nejprve použije k promytí baňky. Spojené etherové výtřepky se promyjí dvakrát 15 ml vody *R*. Etherová vrstva se převede do odměrné baňky a zředí se etherem *R* na 100,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se opatrně odpaří do sucha, odparek se rozpustí v 10,0 ml roztoku octanu hořečnatého *R* (5,0 g/l) v methanolu *R*. Měří se absorbance (2.2.25) při 515 nm za použití methanolu *R* jako kontrolní tekutiny.

Obsah hydroxyanthracenových derivátů v procentech, počítáno jako sennosid B ($C_{42}O_{20}H_{36}$), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 4,167}{m},$$

v němž značí:

A - absorbančí roztoku při 515 nm,

m - hmotnost zkoušeného přípravku v gramech.

Specifická absorbance sennosidu B je 240.

Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Sirupus simplex 4873

Označování

Viz článek *Extracta*.

V označení na obalu se uvede obsah hydroxyanthracenových derivátů.

Sirupus simplex

N

Prostý sirup

Je to koncentrovaný roztok sacharosy ($C_{12}H_{22}O_{11}$, $M_r 342,30$).

Obsahuje 63 % až 65 % $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Příprava

Saccharosum 640,0 g

Aqua purificata 360,0 g

Sacharosa se za stálého míchání rozpustí v čištěné vodě zahřáté na asi 80 °C a potom se krátce povaří. Pěna se odstraní a sirup se, je-li třeba, zfiltruje ještě za horka vhodným filtrem a plní se do suchých, podle potřeby vysterilizovaných nádob až po hrdlo a nádoby se ihned uzavřou.

Vlastnosti

Hustá čirá nebo slabě opalizující bezbarvá nebo nejvýše slabě nažloutlá až slabě nahnědlá tekutina sladké chuti.

Zkouška totožnosti

Ke 2,5 ml se po částech přidává 10 ml *ethanolu R* a protřepe se, směs se zfiltruje a zředí 10 ml *vody R*. K 2 ml filtrátu se přidá asi 0,05 g *resorcinolu R*, 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a zahřívá se ve vodní lázni; tekutina se zbarví červeně (*sacharosa*).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Přípravek je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Z_5 nebo H_5 (2.2.2, *Metoda II*).

Škrobový sirup. 10 ml zkoušeného přípravku a 10 ml *vody R* se povaří s *aktivním uhlím R* do odbarvení a zfiltruje se. K 1 ml bezbarvého filtrátu okyseleného 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* se přidá 10 ml *ethanolu R*; filtrát se nezakalí ani po silném protřepání.

Redukující cukry. Ke 3 ml se přidají 2 ml *vínanu měďnatého RS*; do 5 min se tekutina zbarví nejvýše zeleně.

4874 Solutio Castellani sine fuchsino**Stanovení obsahu**

Změří se index lomu n_D^{20} (2.2.6) a z následující tabulky se odečte obsah sacharosu v procentech.

Tab. 1. Vztah koncentrace a indexu lomu vodných roztoků sacharosu při 20 °C

Sacharosa %	Index lomu n_D^{20}	Sacharosa %	Index lomu n_D^{20}
60	1,4418	66	1,4555
61	1,4441	67	1,4579
62	1,4464	68	1,4603
63	1,4486	69	1,4627
64	1,4509	70	1,4651
65	1,4532	71	1,4676

Uchovávání

Ve zcela naplněných a dobře uzavřených obalech, v chladnu a chráněn před světlem.

Solutio Castellani sine fuchsino**N**

Castellanův roztok bez fuchsínu

Synonymum. Castellani solutio sine fuchsino

Je to roztok kyseliny borité (H_3BO_3 , M_r 61,83), fenolu (C_6H_6O , M_r 94,11) a resorcinolu ($C_6H_6O_2$, M_r 110,11) ve směsi acetonu, ethanolu a čištěné vody.

Obsahuje 0,74 % až 0,86 % H_3BO_3 , 3,3 % až 3,9 % C_6H_6O a 7,74 % až 8,56 % $C_6H_6O_2$.

Příprava

Acidum boricum	0,80 g
Phenolum	3,60 g
Resorcinolum	8,00 g
Acetonum	4,00 g
Ethanolum 96% (V/V)	7,40 g
Aqua purificata	76,20 g

Fenol a resorcinol se rozpustí ve směsi acetonu a ethanolu 96%. Pak se přidá roztok kyseliny borité v čištěné vodě a tekutina se zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá téměř bezbarvá až slabě hnědožlutá nebo slabě červená tekutina fenolového pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. Ke 3 ml se přidá v porcelánové misce 10 ml *methanolu R*, promíchá se a zapálí; hoří zeleným plamenem, zvláště na okrajích (*kyselina boritá*).
- B. 5 ml se smíchá s 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Ze směsi se oddestiluje několik kapek destilátu, který má charakteristický pach po fenolu. 0,1 ml destilátu se smíchá s 0,1 ml *formaldehydu v kyselině sírové RS*; vznikne červenofialové zbarvení (*fenol*).
- C. K 0,1 ml se přidají 2 ml *vody R*, 0,1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,15 ml *chloroformu R*. Zahřátím se roztok zbarví oranžovočerveně, po přidání 0,25 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS* přejde zbarvení ve žluté (*resorcinol*).
- D. 10 ml se smíchá s 10 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* a protřepe se s 10 ml *chloroformu R*. Chloroformová vrstva se přefiltruje přes filtr se *síranem sodným bezvodým R* a použije se rovněž ke zkoušce E. Ke 3 ml chloroformového výtřepku se přidá 0,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *nitroprussidu sodného R (50 g/l)*. Po promíchání se ihned okyselí 0,5 ml *kyseliny octové ledové R*; vodná fáze se zbarví červeně (*aceton*).
- E. 5 ml chloroformového výtřepku ze zkoušky D se smíchá v baňce s 2 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,2 ml *dichromanu draselného RS*. Po promíchání a třiminutovém zahřívání na vodní lázni se vodná vrstva zbarví zeleně a vyvíjí se charakteristický pach acetaldehydu (*ethanol*).

Stanovení obsahu

Kyselina boritá. 12,00 g se zředí *vodou R* na 40 ml a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (skleněná a nasycená kalomelová elektroda; spotřeba je menší než 1,0 ml). K roztoku se přidá 8 g *sorbitolu R* a titruje se dále stejným odměrným roztokem za potenciometrické indikace bodu ekvivalence s tím, že v okolí bodu ekvivalence se odměrný roztok přidává po 0,20 ml. Spotřeba nalezená při druhé titraci se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Resorcinol. 0,400 g se zředí v kádince 5 ml *vody R* a odpaří se na vodní lázni na polovinu až třetinu výchozího objemu. Přidá se 25,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, promíchá se a titruje se *jodem 0,05 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (platinová a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 1,835 mg $C_6H_6O_2$.

Fenol. 2,000 g se zředí v odměrné baňce na 100 ml *vodou R*, doplní se jí po značku a promíchá se. K 10 ml tohoto roztoku se přidá v 250ml kuželové baňce se zabroušenou zátkou 25,0 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS*, 1,5 g *bromidu draselného R* a 20,0 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Baňka se ihned uzavře, její obsah se dobře promíchá a nechá se za občasných protřepání 15 min stát na tmavém místě. Poté se rychle přidají 2 g *jodidu draselného R*, promíchá

4876 Solutio Fraeser

se a směs se nechá stát za občasného protřepání 10 min na tmavém místě. Po přidání 2 ml škrobu RS se retitruje thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS do odbarvení.

1 ml bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS odpovídá 1,569 mg C₆H₆O.

Obsah fenolu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{[1,569 \cdot (25 - B)] - 0,855 \cdot A \cdot C}{C},$$

v němž značí:

A - obsah resorcinolu v procentech,

B - spotřebu thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS,

C - navážku vzorku v gramech.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Označování

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydává.

Solutio Fraeser**N**

Roztok Fraeserův

Synonymum. Fraeser solutio

Je to roztok kyseliny benzoové (C₇H₆O₂, *M_r* 122,12) a kyseliny salicylové (C₇H₆O₃, *M_r* 138,12) ve směsi kastrového lihu a lihového roztoku jodu.

Obsahuje 2,50 % až 2,90 % C₇H₆O₂ a 2,50 % až 2,90 % C₇H₆O₃.

Příprava

Acidum benzoicum	2,70 g
Acidum salicylicum	2,70 g
Iodi solutio ethanolica	13,50 g
Camphorae spiritus	81,10 g

Kyselina benzoová a kyselina salicylová se rozpustí v kastrovém lihu a přidá se lihový roztok jodu.

Vlastnosti

Čirá tmavě červenohnědá tekutina s pachem po kafru.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 ml se v baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 2 ml *bromové vody RS*, uzavře se a nechá se stát 15 min. Pak se zfiltruje přes *vodou R* navlhčený papírový filtr, filtrát se zředí 5 ml *vody R* a přebytek bromu se odstraní mírným varem do nažloutlého zbarvení. Po ochlazení se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS* a po kapkách se přidává *hydroxid sodný zředěný RS* do prvního žlutého zbarvení. Po přidání 0,2 ml *chloridu železitého RS1* se vylučuje světle hnědočervená křká sraženina (*kyselina benzoová*).
- B. K 0,2 ml se přidává po kapkách *chloramin T RS* do odbarvení. Po přidání 10 ml *vody R* se vylučují malé kapky s pachem po kafru (*kafr*). Po přidání 0,1 ml *chloridu železitého RS1* vznikne červenofialové zbarvení (*kyselina salicylová*).
- C. 0,2 ml se zředí 10 ml *vody R* a přidá se 0,2 ml *škrobu RS*; tekutina se zbarví fialově hnědě (*jod*).

Stanovení obsahu

Kyselina benzoová. K 5,000 g se v titrační baňce po kapkách přidává roztok *thiosíranu sodného R* (200 g/l) do odbarvení. Potom se přidá 20 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,2 ml *modři thymolové RS* do zelenožlutého zbarvení a titruje se stejným odměrným roztokem do stejného zbarvení. Ztitrovaná tekutina se uchová pro zkoušku *Kyselina salicylová*.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,21 ml $C_7H_6O_2$.

Obsah kyseliny benzoové v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\left(\frac{a}{q} - \frac{y}{1,381} \right) \cdot 1,221,$$

v němž značí:

a - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* v mililitrech,

q - navážku vzorku v gramech,

y - obsah kyseliny salicylové v procentech, zjištěný při následujícím stanovení.

Kyselina salicylová. Ztitrovaná tekutina ze stanovení kyseliny benzoové se kvantitativně převede do dělicí nálevky, přidá se 15 ml *etheru petrolejového R* a asi 30 s se opatrně protřepává. Po vyčeření se vodná vrstva oddělí, převede se do 250ml odměrné baňky a zbytek se v dělicí nálevce vytřepe ještě dvakrát 20 ml *vody R*. Vyčeřené oddělené vodné vrstvy se spojí a zředí se *vodou R* na 250,0 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *síranu amonno-železitého RS2* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml (zkoušený roztok).

Současně se odváží 55,0 mg *kyseliny salicylové CRL* do 100ml odměrné baňky, rozpustí se v 10 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml *síranu amonno-železitého RS2* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml (porovnávací roztok).

Změří se absorbance (2.2.25) obou roztoků v maximu při 525 nm proti kontrolnímu roztoku připravenému zředěním 0,2 ml *síranu amonno-železitého RS2 vodou R* na 100,0 ml.

Obsah kyseliny salicylové v procentech se vypočítá podle vzorce:

4878 *Solutio Galli-Valerio*

$$\frac{A \cdot q_s \cdot 250}{A_s \cdot q},$$

v němž značí:

A - absorbanci zkoušeného roztoku,

A_s - absorbanci porovnávacího roztoku,

q - navážku ze stanovení kyseliny benzoové v gramech,

q_s - navážku *kyseliny salicylové CRL* v gramech.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech nereagujících s jodem, chráněn před světlem.

Solutio Galli-Valerio**N**

Galli-Valeriův roztok

Je to roztok fenolu (C_6H_6O , M_r 94,11), tetraboritanu sodného ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, M_r 381,37) a formaldehydu (CH_2O , M_r 30,03) ve směsi glycerolu a vody.

Obsahuje 0,45 % až 0,55 % C_6H_6O , 1,35 % až 1,65 % $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ a 0,82 % až 1,00 % CH_2O .

Příprava

Phenolum	5,0 g
Glycerolum 85%	15,0 g
Natrii tetraboras	15,0 g
Formaldehydi solutio 35%	25,0 g
Aqua purificata	ad 1000,0 g

Tetraboritan sodný se rozpustí v 900 g čištěné vody, přidá se glycerol, roztok formaldehydu a fenol, doplní se čištěnou vodou do 1000,0 g, promíchá se a zfiltruje.

Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo nejvýše slabě načervenalá tekutina charakteristického fenolového a formaldehydového pachu.

Zkoušky totožnosti

- A.** K 1 ml se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS* a zneutralizuje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*. Potom se přidá 0,1 ml *chloridu železitého RS1*; vznikne hnědofialové zbarvení (*fenol*).
- B.** K 1 ml se přidá 1 ml *vody R*, 1 ml *síranu měďnatého RS* a 2 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*; tekutina se zbarví tmavomodře (*glycerol*).

- C. 5 ml se zahustí na porcelánové misce na vodní lázni, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zejména na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).
- D. Ke 3 ml se přidají 2 ml *dusičnanu stříbrného amoniakálního RS* a tekutina se zahřeje; vylučuje se kovové stříbro (*formaldehyd*).

Zkouška na čistotu

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 1,011 \text{ g/cm}^3$ až $1,014 \text{ g/cm}^3$.

Stanovení obsahu

Fenol. 5,000 g se ve 200ml kuželové baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 25,0 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS*, přidá se asi 1 g *bromidu draselného R* a 30 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Baňka se ihned uzavře, její obsah se dobře promíchá a nechá se 15 min stát na tmavém místě. Pak se přidají asi 2 g *jodidu draselného R* a směs se po promíchání nechá stát za stejných podmínek dalších 10 min. Uvolněný jod se titruje *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě žlutého zbarvení, poté se přidají 3 ml *škrobu RS* a dotitruje se do odbarvení.

1 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 1,569 mg $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$.

Tetraboritan sodný. 10,000 g se po přidání 0,1 ml *oranže methylové RS* titruje *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* ze žlutého do oranžově červeného zbarvení. Ztitrovaný roztok se použije ke stanovení formaldehydu.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 19,07 mg $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Formaldehyd. Ke ztitrovanému roztoku ze stanovení tetraboritanu sodného se přidá 10 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*, 20,0 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS*, mírně se zahřeje na vodní lázni a nechá se 1 h stát za občasného promíchávání. Potom se přidá 0,2 ml *modři bromthymolové RS3* a retitruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS* z modrého do žlutého zbarvení. Nalezená spotřeba se odečte od spotřeby slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l* odpovídá 15,01 mg CH_2O .

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydává.

4880 *Solutio Jarisch*

Solutio Jarisch

N

Jarischův roztok

Je to roztok kyseliny borité (H_3BO_3 , M_r 61,83) a glycerolu ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, M_r 92,09).
Obsahuje 1,85 % až 2,15 % H_3BO_3 a 3,16 % až 3,68 % $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

Příprava

Acidum boricum	20,0 g
Glycerolum 85%	40,0 g
Aqua purificata	940,0 g

Kyselina boritá se rozpustí ve vroucí čištěné vodě. Po vychladnutí se přidá glycerol 85%, doplní se čištěnou vodou do 1000,0 g a zfiltruje se. K protimikrobnímu zajištění lze použít vhodné konzervační látky, např. místo čištěné vody použít konzervační vodu (Aqua conservans).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina, která *papír lakmusový modrý R* barví červeně.

Zkoušky totožnosti

- 5 ml se zahustí na porcelánové misce na vodní lázni, zbytek se rozpustí ve 3 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R*. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zejména na okraji zeleně zbarvený (*kyselina boritá*).
- 1 ml se smíchá s 1 ml *kyseliny dusičné R* a tekutina se převrství 1 ml *dichromanu draselného RS*; na rozhraní obou vrstev vznikne fialově modrý prstenec (*glycerol*).
- 3 ml se na vodní lázni zahřejí s 1 ml *zkoumadla Millonova R*; jsou-li ve zkoušeném přípravku přítomny parabeny, vznikne červené zbarvení.

Stanovení obsahu

Kyselina boritá. 5,500 g se smíchá s roztokem 2 g *sorbitolu R* v 15 ml *vody R* předem zneutralizovaným *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,5 ml *modři thymolové RS* do zeleného zbarvení. Titruje se odměrným roztokem *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* do stejného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Glycerol. 5,000 g se v baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 50 ml *vody R*, přidá se 0,4 ml *červeně bromkresolové RS* a tekutina se zneutralizuje *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do fialového zbarvení. Potom se přidá 1,5 g *jodistanu sodného R*, baňka se uzavře a její obsah se občas promíchá. 5 min po rozpuštění jodistanu sodného se přidá 1,5 ml *propylenglykolu R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do fialového zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 mg $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvedou názvy použitých protimikrobních konzervačních látek.

Solutiones ad conservationem partium corporis



Roztoky pro uchovávání orgánů

1998

Jsou to sterilní vodné přípravky pro uchovávání, ochranu nebo promývání tělních orgánů savců určených k transplantaci.

Obsahují elektrolyty, které koncentrací přibližně odpovídají složení nitrobuněčných elektrolytů.

Mohou obsahovat cukry (např. glukosu nebo mannitol), aminokyseliny, látky tvořící komplexy s vápníkem (např. citráty nebo fosforečnany), hydrokoloidy (např. škrob nebo deriváty želatiny) a další pomocné látky, např. látky určené k izotonizaci roztoku, úpravě hodnoty pH, k zamezení rozkladu složek, které však nesnižují účinnost přípravku, nejsou příčinou toxicity nebo zvýšené lokální dráždivosti. Roztoky pro uchovávání orgánů mohou také obsahovat léčivé látky nebo tyto mohou být přidány těsně před použitím.

Před použitím se ochladí pod pokojovou teplotu, nejlépe na 2 °C až 6 °C, aby se dosáhlo snížení teploty orgánů a jejich metabolismu.

Při pozorování roztoků pro uchovávání orgánů za vhodných podmínek jsou tyto roztoky čiré a bez viditelných částic.

Mohou se připravovat také jako koncentrované roztoky, které se ředí na požadovaný objem předepsanou kapalinou těsně před použitím. Po naředění vyhovují požadavkům na roztoky pro uchovávání orgánů.

Obaly na roztoky pro uchovávání orgánů, kde je to vhodné, vyhovují požadavkům článků *Materiály používané na výrobu obalů* (3.1 a další) a *Obaly* (3.2 a další). Roztoky pro uchovávání orgánů jsou dodávány ve skleněných obalech (3.2.1) nebo v jiných, např. plastových obalech (3.2.2 a 3.2.8). Těsnost obalů je zajištěna vhodným způsobem. Uzávěry zajišťují dostatečnou přilnavost, chrání před mikrobiálním a jiným znečištěním a obvykle umožňují bez otevření odebrání buď části, nebo celého obsahu. Plasty nebo elastomery (3.2.10), z kterých jsou uzávěry vyrobeny, mají dostatečnou pevnost a pružnost, které umožňují proniknutí jehly bez uvolnění částic.

Výroba

Roztoky pro uchovávání orgánů se připravují za použití materiálů a metod zaručujících jejich sterilitu a za podmínek omezujících kontaminaci a růst mikroorganismů; podmínky jsou uvedeny v článku *Metody přípravy sterilních výrobků* (5.1.1).

Pokud není oprávněnou autoritou uvedeno jinak, k přípravě roztoků pro uchovávání orgánů se použije *Aqua pro iniectione* a nepřidávají se protimikrobní přísady.

4882 Somatropinum pro iniectioe**Zkoušky na čistotu**

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 8,0; měří se zkoušený roztok. *Zkouška se provádí za pokojové teploty.*

Osmolalita (2.2.35). 250 mosmol/kg až 380 mosmol/kg; měří se zkoušený roztok.

Hydroxymethylfurfural. Jestliže zkoušený roztok obsahuje glukosu, vyhovuje následující zkoušce: K množství zkoušeného roztoku odpovídajícímu 25 mg glukosy se přidá 5,0 ml roztoku *p-toluidinu R* (100 g/l) ve *2-propanolu R* obsahujícím 10 % (V/V) *kyseliny octové ledové R* a 1,0 ml roztoku *kyseliny barbiturové R* (5 g/l) a nechá se 2 min až 3 min stát. Absorbance tohoto roztoku (2.2.25) měřená při 550 nm není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem, obsahujícího 10 µg *hydroxymethylfurfuralu R* ve stejném objemu jako zkoušený roztok.

Kontaminace částicemi. S 50 ml zkoušeného roztoku se provede zkouška na částice pod hranici viditelnosti (2.9.19). Roztok obsahuje nejvýše 50 částic větších než 10 µm v mililitru a nejvýše 5 částic větších než 25 µm v mililitru.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 0,5 m.j. endotoxinu v mililitru.

Pyrogenní látky (2.6.8). Zkoušené roztoky, u kterých nelze provést validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky. Vstříkují se 10 ml roztoku na kilogram hmotnosti králíka, jestliže není oprávněnou autoritou uvedeno jinak.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- že roztok není určen pro injekce,
- složení roztoku vyjádřené v g/l a mmol/l,
- jmenovitý objem roztoku pro uchovávání orgánů v obalu,
- osmolalita vyjádřená v mosmol/kg,
- že nespotebovaná část právě připraveného roztoku, koncentrovaného nebo zředěného, nesmí být dále použita,
- podmínky uchovávání.

V označení na obalu koncentrovaných roztoků se uvede:

- že roztok musí být zředěn vhodnou kapalinou těsně před použitím.

Somatropinum pro iniectioe**Somatropin pro injekci**

1999

Je to lyofilizovaný sterilní přípravek obsahující bílkovinu se strukturou (191 aminokyselinových zbytků) hlavní složky růstového hormonu produkovaného lidskou hypofýzou. Obsahuje 89,0 % až 105,0 % deklarovaného obsahu somatropinu (C₉₉₀H₁₅₂₈N₂₆₂O₃₀₀S₇). Vyhovuje požadavkům článků *Parenteralia* a *Producta ab ADN recombinante*.

1 mg bezvodého somatropinu (C₉₉₀H₁₅₂₈N₂₆₂O₃₀₀S₇) odpovídá 3,0 m.j. biologické účinnosti.

Výroba

Připravuje se buď ze somatropinu, nebo z roztoku somatropinu, či metodou založenou na rekombinaci DNK (rDNK), při které je injekční přípravek připravován bez izolace pevných nebo tekutých meziproduktů. V posledním případě se při vývoji přípravku prokáže vhodnou validovanou metodou stanovení biologické účinnosti, založenou na stimulaci růstu a schválenou oprávněnou autoritou, že výrobní postup dává látku, jejíž biologická účinnost je nejméně 2,5 m.j. v miligramu. Přečištěný přípravek, k němuž se mohou přidávat tlumivé roztoky nebo stabilizační přísady, se filtruje filtrem zachycujícím bakterie, asepticky se rozplňuje do sterilních obalů ze skla třídy I (3.2.1) a lyofilizuje se. Obaly se ihned uzavřou tak, aby se vyloučila mikrobiální kontaminace a vniknutí vlhkosti.

Zkoušený přípravek vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům.

Bílkoviny hostitelské buňky. Požadavek schválí oprávněná autorita.

DNK hostitelské buňky a vektoru. Požadavek schválí oprávněná autorita.

Kde se zkoušený přípravek připravuje ze somatropinu nebo z koncentrovaného roztoku somatropinu, nemusí výrobce při následující výrobě přípravku znovu ověřovat splnění požadavků na bílkoviny hostitelské buňky, DNK hostitelské buňky a vektoru a vyhovění zkoušce totožnosti C.

Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek.

Zkoušky totožnosti

- A. Hodnotí se elektroforeogramy ze zkoušky Distribuce izoformem, viz Zkoušky na čistotu. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá hlavní zóna polohou hlavní zóně na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné bílkoviny, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C. Provede se peptidové mapování.

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušeného přípravku v *tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)* tak, aby obsahoval 2,0 mg somatropinu v mililitru. Asi 1,0 ml takto připraveného roztoku se přenesou do zkumavky z vhodného materiálu, např. polypropylenu. Připraví se čerstvý roztok *trypsinu pro peptidové mapování R (1 mg/ml)* v *tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l)* a 30 µl tohoto roztoku se přidá k roztoku zkoušené látky. Zkumavka se uzavře a vloží se na 4 h do vodní lázně 37 °C teplé. Potom se zkumavka vyjme z vodní lázně a ihned se probíhající reakce přeruší, např. zmražením. Je-li okamžitě použit automatický dávkovač, udržuje se teplota při 2 °C až 8 °C.

Porovnávací roztok. Současně se za stejných podmínek připraví porovnávací roztok s tím rozdílem, že se zkoušená látka nahradí *somatropinem CRL*.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktysilanizovaným pro chromatografii R (5 µm až 10 µm)*,

4884 *Somatropinum pro iniectione*

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:
 - mobilní fáze A - 1 ml kyseliny trifluoroctové R se zředí vodou R na 1000 ml,
 - mobilní fáze B - ke 100 ml vody R se přidá 1 ml kyseliny trifluoroctové R a zředí se acetonitrilem pro chromatografii R na 1000 ml, použije se následující gradient (je-li třeba, gradient nebo teplota kolony se nastaví tak, aby se dosáhlo požadovaného rozdělení produktů enzymatického štěpení):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 20	100 → 80	0 → 20
20 - 40	80 → 75	20 → 25
40 - 65	75 → 50	25 → 50
65 - 70	50 → 20	50 → 80
70 - 71	20 → 100	80 → 0
71 - 85	100	0

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje při 30 °C.

Kolona se nejméně 15 min ustaluje mobilní fází A. Provede se slepá zkouška za použití výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se odděleně po 100 µl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže chromatogramy jednotlivých roztoků kvalitativně odpovídají referenčnímu chromatogramu Ph. Eur. enzymaticky štěpeného somatropinu. Chromatografický profil zkoušeného roztoku odpovídá chromatogramu porovnávacího roztoku.

- D.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Příbuzné bílkoviny. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušeného přípravku v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok. Připraví se roztok somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Roztok pro rozlišení (validační směs somatropinu a deamidosomalopinu). Připraví se roztok somatropinu CRL v tlumivém roztoku trometamolovém o pH 7,5 (0,05 mol/l) tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg. Zfiltruje se přes sterilní filtr nebo se přidá azid sodný R do koncentrace 0,1 mg v mililitru roztoku a nechá se 24 h stát při pokojové teplotě.

Roztoky se uchovávají při teplotě 2 °C až 8 °C a použijí se do 24 h. Pokud se používá automatický dávkovač, je nutno jej udržovat při 2 °C až 8 °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem butylsilanizovaným pro chromatografii R (velikost částic 5 µm a velikost pórů 30 nm), která se umístí mezi pumpu a nástřikový ventil,

- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *propanolu R* a *tlumivého roztoku trometamolového o pH 7,5 (0,05 mol/l) (29 + 71)*; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje při 45 °C.

Před použitím se kolona promývá 200 ml až 500 ml 0,1% (V/V) roztoku *kyseliny trifluoroctové R* v 50% (V/V) roztoku *acetonitrilu R*. Je-li třeba, promývání se opakuje do ustálení kolony.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku. Je-li třeba, upraví se koncentrace *propanolu R* v mobilní fázi tak, aby retenční čas hlavního píku byl asi 33 min.

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení. Na chromatogramu se objeví malý pík (deamidomatropin) s relativním retenčním časem k hlavnímu píku asi 0,85. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky somatropinu a deamidomatropinu je nejméně 1,0 a hodnota faktoru symetrie píku somatropinu je 0,9 až 1,8.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 13,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Dimer a příbuzné látky s vyšší molekulovou hmotností. Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30), jak je popsána ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků s retenčním časem kratším, než je retenční čas hlavního píku, není větší než 6,0 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědel.

Distribuce izoform. Provede se izoelektrická fokusace.

Zkoušený roztok (a). Připraví se roztok zkoušeného přípravku v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Zkoušený roztok (b). K 0,1 ml zkoušeného roztoku (a) se přidá 1,9 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,025 mol/l)*.

Porovnávací roztok (a). Připraví se roztok *somatropinu CRL* v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 2,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok (b). Použije se roztok pro kalibraci izoelektrického bodu o rozmezí pH 2,5 až 6,5, připravený podle návodu výrobce.

Se zařízením se pracuje podle návodu výrobce. Izoelektrická fokusace se provádí na hotových deskách s vrstvou gelu o rozměrech 245 mm x 110 mm x 1 mm a pH v rozmezí 4,0 až 6,5. Na vrstvu gelu se nanese odděleně po 15 µl každého roztoku. Jako anodický roztok se použije roztok *kyseliny glutamové R* (14,7 g/l) v roztoku *kyseliny fosforečné R* (50 g H₃PO₄/l) a jako katodický roztok se použije roztok *β-alaninu R* (89,1 g/l). Pracovní podmínky se nastaví na 2000 V a 25 mA. Fokusace se nechá probíhat 2,5 h při konstantním napětí a příkonu nepřevyšujícím 25 W. Potom se vrstva gelu ponoří na 30 min do roztoku obsahujícího *kyselinu trichloroctovou R* (115 g/l) a *kyselinu sulfosalicylovou R* (34,5 g/l) a pak na 5 min do směsi objemových dílů *kyseliny octové R*, *ethanolu R* a *deionizované vody R* (8 + 25 + 67) (odbarvovací roztok). Vrstva gelu se zbarví ponořením na 10 min do 60 °C teplého roztoku *modři kyselé 83 R* (1,15 g/l) v odbarvovacím roztoku a potom se ponoří do odbarvovacího roztoku do odstranění nadbytku barviva.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozdělení zón na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b) odpovídá pokynům výrobce. Na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a) je viditelná hlavní zóna s izoelektrickým bodem asi 5 a kyselejší menší zóna při asi 4,8. Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) žádná zóna, kromě hlavní zóny, nepřevyšuje svou intenzitou hlavní zónu na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (b) (6,25 %).

4886 Somatropinum pro iniectione

Voda, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 3,0 %, není-li předepsáno a schváleno jinak.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 5 m.j. endotoxinu v miligramu účinné látky.

Stanovení obsahu

Provede se vylučovací chromatografie (2.2.30).

Zkoušený roztok. Připraví se roztok zkoušeného přípravku v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* tak, aby v mililitru obsahoval 1,0 mg somatropinu.

Porovnávací roztok. Obsah lahvičky *somatropinu CRL* se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* a zředí se stejným rozpouštědlem na koncentraci 1,0 mg/ml.

Roztok pro rozlišení. Lahvička *somatropinu CRL* se nechá v sušárně při 50 °C po dobu (obvykle 12 h až 24 h) dostačující k vytvoření 1 % až 5 % dimeru. Obsah lahvičky se rozpustí v *tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,025 mol/l)* a zředí se stejným rozpouštědlem na koncentraci 1,0 mg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* jakosti vhodné pro dělení globulárních bílkovin v rozmezí molekulové hmotnosti 5000 až 150 000.
- mobilní fáze, kterou je zfiltrovaná a odplyněná směs objemových dílů *2-propanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,063 mol/l)* (3 + 97); průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení. Na získaném chromatogramu je retenční čas hlavního píku asi 12 min až 17 min a relativní retenční časy píku dimeru somatropinu a proteinů s vyšší molekulovou hmotností jsou 0,90 a 0,65, vztaženo k hlavnímu píku. Rozlišení dané poměrem výšky minima nad základní linií mezi píky monomeru a dimeru k výšce dimeru je nejvýše 0,4.

Nastříkuje se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku.

Obsah somatropinu se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a na chromatogramu porovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu látky $C_{990}H_{1528}N_{262}O_{300}S_7$ v *somatropinu CRL*.

Uchovávání

Ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech, při teplotě 2 °C až 8 °C.

Separandum.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah somatropinu v obalu v miligramech,
- složení a objem kapaliny přidané pro rekonstituci,
- doba, po kterou lze rekonstituovaný roztok použít, a podmínky uchovávání po tuto dobu,
- název a množství jakýchkoliv přísad,
- teplota uchovávání,
- že se přípravek při rekonstituci nemá třepat.

Spiritus ethereus 4887

Spiritus ethereus

N

Etherový líh

Je to směs ethanolu 85% s etherem.

Příprava

Ether solvens	25,0 g
Ethanolum 85%	75,0 g

Ether prostý antioxidačních přísad se smíchá s ethanolem 85%.

Vlastnosti

Bezbarvá čirá těkavá tekutina charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 ml se smíchá s 1 ml vody R a opatrně se zahřeje na 40 °C. Potom se přidá 1 ml roztoku hydroxidu sodného 1 mol/l RS a 2 ml jodu 0,05 mol/l RS; vznikne žlutá sraženina a je cítit pach jodoformu (ethanol).
- B. Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 0,805 \text{ g/cm}^3$ až $0,809 \text{ g/cm}^3$.

Látky s cizím pachem. Filtrační papír o průměru 80 mm se navlhčí 5 ml zkoušeného přípravku a nechá se odpařit. Ihned po odpaření není cítit cizí pach.

Odparek. 5,00 g se odpaří do sucha na vodní lázni 40 °C teplé a potom se 30 min suší při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (0,02 %).

Stanovení obsahu

5,0 ml se v odměrném válci se zabroušenou zátkou protřepe s 5,0 ml roztoku octanu draselného R (330 g/l) a nechá se oddělit; objem etherové vrstvy je v rozmezí 1,85 ml až 2,65 ml.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, v chladnu, chráněn před světlem.

Označování

Hořlavina.

4888 *Spiritus saponatus*

Spiritus saponatus

N

Mýdlový líh

Je to lihový roztok draselných solí vyšších mastných kyselin slunečnicového oleje s přísadou levandulové silice.

Obsahuje nejméně 9,4 % vyšších mastných kyselin a nejméně 52,0 % ethanolu.

Příprava

Kalii hydroxidum	21,0 g
Helianthi oleum raffinatum	100,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	560,0 g
Aqua purificata	317,0 g
Lavandulae etheroleum	2,0 g

Hydroxid draselný se rozpustí ve 40 ml čištěné vody, přidá se slunečnicový olej a 100 g ethanolu 96% a v uzavřené nádobě se občas silně protřepává, až se tekutina vyjasní. Pak se přidá zbylé množství vody a roztok levandulové silice ve zbylém množství ethanolu a promíchá se. Po pěti dnech se zfiltruje.

Vlastnosti

Světle žlutá čirá tekutina charakteristického levandulového pachu. Dá se smíchat s vodou a s ethanolem 96% bez vzniku zákalu.

Zkoušky totožnosti

- A. 6 ml se zahřívá s 5 ml vody R na vodní lázni do vytěkání ethanolu. Pak se přidá 5 ml kyseliny sírové zředěné RS; na povrchu tekutiny se shromažďují olejovité kapky (mýdlo).
- B. Směs ze zkoušky A se po ochlazení zfiltruje navlhčeným filtrem. Filtrát vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

Zkoušky na čistotu

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 0,902 \text{ g/cm}^3$ až $0,907 \text{ g/cm}^3$.

Úplné zmýdelnění. 2 ml se smíchají s 10 ml vody R; vznikne čirý roztok, který při třepání silně pění.

Zásaditě reagující látky. K 5 ml se přidá 0,1 ml fenolftaleinu RS; tekutina se zbarví nejvýše slabě červeně. Přidáním nejvýše 0,3 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS se roztok odbarví.

Stanovení obsahu

Vyšší mastné kyseliny. 10,000 g se zahřívá na vodní lázni do vytěkání ethanolu. Zbytek se rozpustí ve 25 ml horké vody R, přidá se 5 ml kyseliny chlorovodíkové RS a po promíchání se zahřívá na vodní lázni do vyčefění obou vrstev. Ještě teplá směs se kvantitativně převede do dělicí

Spiritus saponis kalini 4889

nálevky a po vychladnutí se dvakrát vytřepe 25 ml *etheru petrolejového R*. Spojené petroletherové fáze se promyjí dvakrát 5 ml *vody R*, vysuší se protřepáním asi s 1 g *síranu sodného bezvodého R* a za 30 min se zfiltrují malým filtrem do předem zvážené odpařovací misky. Po promytí dělicí nálevky a filtru dvakrát 5 ml *etheru petrolejového R* se spojené petroletherové fáze odpaří na vodní lázni do sucha. Odparek se suší při 105 °C do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Hmotnost zbytku přepočtená na 100 g zkoušeného přípravku udává obsah vyšších mastných kyselin.

Ethanol. Proveďte se stanovení obsahu ethanolu v tekutých přípravcích (2.9.10). Jestliže při destilaci tekutina silně pění, přidají se 2 ml až 3 ml *kyseliny fosforečné R*.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Spiritus saponis kalini

N

Lih s draselným mýdlem

Je to lihový roztok draselných solí vyšších mastných kyselin lněného oleje s přísadou levandulové silice.

Obsahuje nejméně 32,0 % vyšších mastných kyselin a nejméně 28,0 % ethanolu.

Příprava

Kalii hydroxidum	80,0 g
Lini oleum	350,0 g
Ethanolum 96% (V/V)	300,0 g
Aqua purificata	260,0 g
Lavandulae etheroleum	10,0 g

Hydroxid draselný se rozpustí ve 120 ml čištěné vody, přidá se lněný olej a 100 g ethanolu 96% a v uzavřené nádobě se občas protřepává do úplného vyjasnění tekutiny. Pak se přidá zbylé množství vody a roztok levandulové silice ve zbylém množství ethanolu a promíchá se.

Vlastnosti

Téměř čirá žlutohnědá tekutina charakteristického levandulového pachu. Dá se smíchat s vodou a lihem 96% v jakémkoliv poměru. Po zředění vodou a po protřepání silně pění.

Zkoušky totožnosti

- A.** 2 ml se zahřívají s 5 ml *vody R* na vodní lázni do vytěkání ethanolu. Pak se přidá 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*; na povrchu tekutiny se shromažďují olejovité kapky (*mýdlo*).
- B.** Směs ze zkoušky A se po ochlazení zfiltruje navlhčeným filtrem. Filtrát vyhovuje zkoušce (b) na draslík (2.3.1).

4890 Sulfathiazoli globulus**Zkoušky na čistotu**

Hustota (2.2.5). $\rho_{20} = 0,960 \text{ g/cm}^3$ až $0,970 \text{ g/cm}^3$.

Úplné zmýdelnění. 2 ml se smíchají s 10 ml *vody R*; vzniklý roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze I (2.2.1) a při třepání silně pění.

Zásaditě reagující látky. K 5 ml se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; tekutina se zbarví slabě červeně. Přidáním nejvýše 0,30 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* se roztok odbarví.

Stanovení obsahu

Vyšší mastné kyseliny. 2,500 g se zahřívá na vodní lázni do vytěkání ethanolu. Zbytek se rozpustí ve 25 ml horké *vody R*, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* a po promíchání se zahřívá na vodní lázni do vyjasnění obou vrstev. Ještě teplá směs se kvantitativně převede do dělicí nálevky a po vychladnutí se dvakrát vytřepe 25 ml *etheru petrolejového R*. Spojené petroletherové fáze se promyjí dvakrát 5 ml *vody R*, vysuší se protřepáním asi s 1 g *síranu sodného bezvodého R* a za 30 min se zfiltrují malým filtrem do předem zvážené odpařovací misky. Po promytí dělicí nálevky a filtru dvakrát 5 ml *etheru petrolejového R* se spojené petroletherové fáze odpaří na vodní lázni do sucha. Odparek se suší při $105 \text{ }^\circ\text{C}$ do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Hmotnost zbytku přepočtená na 100 g zkoušeného přípravku udává obsah vyšších mastných kyselin.

Ethanol. Provede se stanovení obsahu ethanolu v tekutých přípravcích (2.9.10). Jestliže při destilaci tekutina silně pění, přidají se 2 ml až 3 ml *kyseliny fosforečné R*.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Sulfathiazoli globulus**N****Vaginální kulička se sulfathiazolem**

Je to hydrofobní vaginální kulička se sulfathiazolem ($\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$, $M_r 255,31$) suspendovaným v kakaovém oleji.

Obsahuje 95,0 % až 105,0 % předepsaného množství $\text{C}_9\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$ v jedné vaginální kuličce.

Příprava

Pokud není předepsáno jinak, připravuje se v tomto složení:

Sulfathiazolum	0,50 g
Cacao oleum	q.s.

Kakaový olej se nahřeje na teplotu nepřesahující $37 \text{ }^\circ\text{C}$ a přidá se sulfathiazol. Směs se promíchá a lisováním nebo vylitím do vhodné formy se z ní připraví kuličky. Potřebné množství kakaového oleje se určí podle objemu zvolené formy.

Vlastnosti

Světle žlutá kulička neporušeného hladkého povrchu s pachem po kakaovém oleji.

Zkoušky totožnosti

- A.** Množství odpovídající asi 0,05 g sulfathiazolu se zahřívá na vodní lázni s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS* do roztavení. Po protřepání a ochlazení se zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na primární aromatické aminy (2.3.1).
- B.** Množství odpovídající asi 0,05 g sulfathiazolu se zahřívá na vodní lázni s 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* do roztavení. Přidá se 5 ml *vody R*, protřepe se a ochladí. Po přidání 0,5 ml *síranu měďnatého RS* vznikne šedavě modrá nebo fialová sraženina.

Zkoušky lékové formy

Doba rozpadavosti. Provede se zkouška rozpadavosti rektálních a vaginálních přípravků (2.9.2), hodnotí se stav po 60 min.

Hmotnostní stejnoměrnost (2.9.5). Vyhovuje zkoušce na hmotnostní stejnoměrnost pevných jednodávkových lékových forem.

Mikrobiologická jakost. Vyhovuje požadavkům na 2. kategorii (5.1.4). Počet mikroorganismů se stanoví metodou sériového ředění (2.6.12).

Stanovení obsahu

Deset vaginálních kuliček se po stanovení hmotnostní stejnoměrnosti rozdrobní a důkladně prohněte na stejnorodou hmotu. Z hmoty se odváží množství odpovídající asi 0,400 g sulfathiazolu a přidá se 25 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*. Směs se na vodní lázni zahřívá do roztavení čípkového základu, poté se přidá 25 ml *vody R* a několik minut se zahřívá a míchá. Pak se ochladí na 15 °C až 20 °C a zvolna se titruje *dusitanem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) (platinová a nasycená kalomelová elektroda).

1 ml *dusitanu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 25,53 mg $C_9H_9N_3O_2S_2$.

Obsah sulfathiazolu vyjádřený v procentech deklarovaného množství se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{m \cdot z \cdot 100}{n \cdot d},$$

v němž značí:

m - množství sulfathiazolu v gramech zjištěné v navážce,

z - průměrnou hmotnost vaginální kuličky v gramech,

n - navážku vzorku v gramech,

d - deklarované množství sulfathiazolu v jedné vaginální kuličce vyjádřené v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Vaginalia*.

V dobře uzavřených obalech, v chladu a chráněna před světlem.

4892 *Sulfuris pasta 50%*

Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydává.

Je-li předepsán Sulfathiazoli globulus bez uvedení množství účinné látky, vydá se Sulfathiazoli globulus s obsahem 0,5 g sulfathiazolu v jedné vaginální kuličce.

Sulfuris pasta 50%

N

Sírová pasta 50%

Je to pasta se sírou (S, A_r 32,07) ve směsi tekutého parafinu a vazelíny.

Obsahuje 47,5 % až 52,5 % síry.

Příprava

Sulfur ad usum externum	50,0 g
Paraffinum liquidum	10,0 g
Vaselinum flavum	40,0 g

Síra pro zevní použití, tekutý parafin a 20 g žluté vazelíny poloroztavené na vodní lázni se roztěrou a poté se přimíchá zbytek žluté vazelíny. Homogenizuje se na trojválci.

Vlastnosti

Žlutá stejnorodá pasta. Ve vodě se nerozpouští ani se do ní nedá voda vmíchat.

Zkouška totožnosti

0,5 g se promíchá s 5 ml *acetonu R* a přidá se 0,5 ml *hydroxidu sodného 4 mol/l RS*; vznikne zelenomodré až modrozelené zbarvení (*síra*).

Stanovení obsahu

0,100 g se v 500ml kuželové baňce se zabroušenou zátkou protřepává s 15 ml *chloroformu R* do rozpuštění pastového základu i síry. Potom se přidá 20 ml roztoku *siřičitanu sodného R* (100 g/l), promíchá se, přidá se 30 ml *lihu 96% R*, znovu se promíchá a nechá se stát 10 min za občasného promíchání. Přidá se 10 ml *formaldehydu R* a nechá se 5 min stát za občasného promíchání. Pak se přidá 10 ml *kyseliny octové RS*, 250 ml *vody R*, 5 ml *škrobu RS* a titruje se *jodem 0,05 mol/l VS* za intenzivního protřepávání do vzniku slabě fialového zbarvení chloroformové vrstvy. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 3,207 mg síry.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

V chladnu, chráněna před světlem.

Sulfuris pasta composita

N

Složená pasta se sírou

Synonymum. Pasta sulfuris composita

Je to pasta se sírou (S, A_r 32,07) a uhličitanem draselným (K_2CO_3 , M_r 138,21) ve směsi vazelíny a draselného mýdla.

Obsahuje 19,0 % až 21,0 % síry.

Příprava

Sulfur ad usum externum	200,0 g
Kalii carbonas	100,0 g
Sapo kalinus	150,0 g
Vaselinum flavum	550,0 g

Síra pro zevní použití a uhličitan draselný se smíchají. Směs se nejprve smíchá s draselným mýdlem a potom se postupně přimíchává vazelína.

Vlastnosti

Žlutá stejnorodá pasta, vodou nesmývateľná.

Zkoušky totožnosti

- V porcelánovém kelímku se opatrně spálí asi 3 g zkoušeného přípravku. Pasta uhelnatí a zapálena hoří modrým plamenem za vzniku charakteristicky páchnoucího oxidu siřičitého (*síra*). Zbytek se použije ke zkoušce B.
- Vyžíhaný a vychladlý popel ze zkoušky A se vylouží 3 ml teplé vody R. Tekutina se zfiltruje a k filtrátu se přidají 2 ml roztoku *kyseliny vinné R* (200 g/l) a 0,2 ml roztoku *octanu sodného R* (100 g/l); po chvíli se vylučuje bílá krystalická sraženina, rozpustná ve zředěných minerálních kyselinách, roztocích hydroxidů, uhličitanů a v *amoniaku zředěném RS1*. Vylučování sraženiny se urychlí třením skleněnou tyčinkou o stěnu nádoby (*draslík*).
- 1 g se zahřeje s 5 ml vody R do rozpuštění pastového základu. Tekutina silně pění (*mýdlo*). Použije se ke zkoušce D.
- Tekutina ze zkoušky C se ochladí a zfiltruje, filtrát barví plamen fialově. Přidá-li se k filtrátu 1 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, roztok šumí unikajícím oxidem uhličitým (*uhličitaný*).

Stanovení obsahu

Síra. 0,100 g se ve 250ml kuželové baňce se zabroušenou zátkou protřepává s 5 ml *chloroformu R* do rozpuštění pastového základu. Potom se přidá 50 ml *lihu 96% R* a 12 ml roztoku *siřičitanu sodného R* (100 g/l) a míchá se do rozpuštění síry. Přidá se 10 ml *formaldehydu R* a nechá se 10 min stát. Potom se okyselí 10 ml *kyseliny octové RS*, přidá se 150 ml vody R, 3 ml *škrobu RS* a titruje se *jodem 0,05 mol/l VS* do modrého zbarvení.

1 ml *jodu 0,05 mol/l VS* odpovídá 3,207 mg síry.

4894 *Sulfuris suspensio***Uchovávání**

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Sulfuris suspensio**N**

Suspenze síry

Synonymum. Sulfuris suspensio spirituosa Hebrae

Je to suspenze síry (S, A_r 32,07) ve směsi etheru a lihu.
Obsahuje 8,4 % až 9,8 % síry.

Příprava

Sulfur ad usum externum	10,0 g
Ether solvens	50,0 g
Ethanolum 60%	50,0 g

Ether a ethanol 60% se smíchají, přidá se síra pro zevní použití a silně se protřepe. Připravuje se v čas potřeby.

Vlastnosti

Bezbarvá tekutina charakteristického pachu, obsahuje světle žlutý sediment.

Zkoušky totožnosti

- A.** Asi 1 mg sedimentu ze stanovení obsahu síry se rozpustí zahřátím ve 2 ml *pyridinu R*, přidají se 0,2 ml *hydrogenuhlčitanu sodného RS* a povaří se; roztok se zbarví modře nebo zeleně (*síra*).
- B.** Sediment zapálený za přítomnosti vzduchu hoří modrým plamenem za vzniku charakteristicky páchnoucího oxidu siřičitého, který barví navlhčený *papír lakmusový modrý R* červeně (*síra*).
- C.** 1 ml filtrátu ze stanovení obsahu síry se smíchá s 1 ml *vody R* a opatrně se zahřeje na 40 °C. Potom se přidá 1 ml roztoku *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 2 ml *jodu 0,05 mol/l RS*; vznikne žlutá sraženina a je cítit pach jodoformu (*ethanol*).

Stanovení obsahu

Síra. 100,0 g suspenze se rychle zfiltruje předem vysušeným a zváženým filtračním kelímkem S3 a čirý filtrát se uschová ke zkoušce totožnosti C a ke stanovení obsahu etheru a ethanolu. Sediment zachycený na filtru se čtyřikrát promyje 5 ml *etheru R*, vysuší se při 60 °C do konstantní hmotnosti. Z hmotnosti zbytku na filtru se vypočítá obsah síry. Vysušený sediment se použije ke zkouškám totožnosti A a B.

Tuberculini derivatum proteinosum purificatum ad usum humanum 4895

Ether a ethanol. 5,00 ml filtrátu ze stanovení obsahu síry se protřepe v odměrném válci se zabroušenou zátkou s 5,0 ml roztoku *octanu draselného R* (330 g/l) a nechá se oddělit; objem horní vrstvy je v rozmezí 2,9 ml až 3,5 ml.

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, v chladnu, chráněna před světlem.

Vydávání

Předepíše-li lékař *Spiritus Hebrae*, vydává se *Sulfuris suspensio*.

Označování

V označení na obalu se uvede:

Před použitím zatřepat. Hořlavina.

**Tuberculini derivatum proteinosum purificatum
ad usum humanum**

1999

Derivát purifikovaného proteinu tuberkulinu pro humánní použití

Je to přípravek získaný srážením ze zahřátého produktu kultivace a lýzy *Mycobacterium bovis* a/nebo *Mycobacterium tuberculosis*, který má schopnost prokázat opožděnou přecitlivělost u zvířat senzibilizovaných mikroorganismy stejného druhu.

Je to bezbarvá nebo světle žlutá tekutina; zředěný přípravek může být lyofilizovaný prášek, který po rozpuštění skýtá bezbarvý nebo bledě žlutý roztok.

Výroba**Obecná ustanovení**

Výroba je založena na systému jednotné inokulace. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodý tuberkulin PPD přiměřené účinnosti a bezpečnosti pro člověka. Šarže kalibrovaná v mezinárodních jednotkách metodou A popsanou v odstavci Stanovení účinnosti, pro niž je vzhledem k její účinnosti u člověka dostupná přiměřená klinická informace, může sloužit jako referenční přípravek.

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhledá Světová zdravotnická organizace.

Systém jednotné inokulace

Kmeny použitých mykobakterií jsou určeny vývojovými záznamy, které obsahují informace o jejich původu a následném zacházení.

4896 *Tuberculini derivatum proteinosum purificatum ad usum humanum*

Pracovní inokula použitá k inokulaci živné půdy pro výrobu koncentrované sklizně nemají mít více než čtyři subkultury z matečného inokula.

K pomnožení se mohou použít pouze ta inokula, která vyhovují následujícím požadavkům.

Totožnost. Identifikuje se druh mykobakteria v matečném i pracovním inokulu.

Bakterie a houby. Pracovní inokulum vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1) s výjimkou přítomnosti mykobakterií; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Pomnožování a sklizeň

Bakterie se pomnoží v tekuté syntetické živné půdě. Charakter růstu je typický pro příslušný kmen. Kultura se inaktivuje vhodnou metodou, jako je sterilizace v autoklávu (121 °C nejméně 30 min) nebo působení proudící páry o teplotě nejméně 100 °C nejméně 1 h, a potom se zfiltruje. Aktivní frakce filtrátu sestávající hlavně z bílkovin se izoluje precipitací a po promytí se znovu rozpustí. Přípravek neobsahuje mykobakteria. Koncentrovaná sklizeň vyhovuje zkoušce na mykobakteria (2.6.2) ještě před přidáním jakékoliv protimikrobní konzervační látky nebo jiné látky, která by mohla ovlivnit tuto zkoušku. Může se přidat fenol v koncentraci 5 g/l nebo jiná vhodná protimikrobní konzervační látka, která nevyvolá falešně pozitivní reakce, stejně tak jako vhodný stabilizátor, který zabrání adsorbci na povrch skla nebo plastu. Koncentrovaná sklizeň se může lyofilizovat. Do přípravků, které se mají lyofilizovat, se fenol nepřidává.

Pro přípravu konečné várky se může použít pouze ta koncentrovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li třeba, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství. Pokud se při přípravě použil fenol, jeho koncentrace je nejvýše 5 g/l (2.5.15).

Senzibilizace. Provede se zkouška popsaná v odstavci Zkoušky na čistotu.

Sterilita (2.6.1). Koncentrovaná sklizeň, rekonstituovaná, je-li třeba, vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Účinnost. Provede se zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti.

Konečná várka tuberkulinu PPD

Po rekonstituci, je-li třeba, se koncentrovaná sklizeň asepticky zředí.

Pro přípravu šarže se může použít pouze konečná várka, která vyhovuje následujícímu požadavku.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Konečná várka se asepticky rozplní do sterilních obalů, které se pak uzavřou, aby se předešlo kontaminaci. Mohou se lyofilizovat.

K použití může být uvolněna pouze taková šarže, která vyhovuje všem požadavkům dále uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti.

U šarže se mohou vypustit následující zkoušky, pokud byly provedeny v jednotlivých stupních přípravy: Živé bakterie a Senzibilizace u koncentrované sklizně, Toxicita u koncentrované sklizně nebo konečné várky, Protimikrobní konzervační látka u konečné várky tuberkulinu.

Zkouška totožnosti

Zdravým bílým nebo světle zbarveným morčatům specificky senzibilizovaným (např. jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti) se intradermálně vstříknou zvyšující se dávky zkoušeného přípravku. V místě podání vznikne reakce přecházející z erytému až k nekróze. U nesenzibilizovaných morčat podobné injekce nevyvolají žádnou reakci. Stanovení účinnosti je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Koncentrovaná forma zkoušeného přípravku (účinnost $\geq 100\ 000$ m.j./ml) vyhovuje všem předepsaným zkouškám uvedeným dále; zředěný přípravek vyhovuje stanovením hodnoty pH, obsahu protimikrobní konzervační látky a zkoušce na sterilitu.

Hodnota pH (2.2.3). Hodnota pH tekuté formy a lyofilizované formy po rekonstituci podle návodu je 6,5 až 7,5.

Toxicita. Množství zkoušeného přípravku odpovídající 50 000 m.j. se vstříkne podkožně každému ze dvou zdravých morčat hmotnosti 250 g až 350 g, která nebyla podrobena žádnému ošetření, jež by mohlo ovlivnit zkoušku. Zvířata se pozorují 7 dní. Neobjeví se žádný nežádoucí účinek.

Senzibilizace. Použijí se tři morčata, která nebyla podrobena žádnému léčení, jež by mohlo ovlivnit tuto zkoušku. V pětidenních intervalech se třikrát intradermálně vstříkne každému morčeti asi 500 m.j. zkoušeného přípravku v objemu 0,1 ml. Za dva až tři týdny po třetím podání se intradermálně vstříkne stejná dávka stejným morčatům a kontrolní skupině tří morčat stejné hmotnosti, kterým nebyl dříve podán žádný tuberkulin. Za 24 h až 72 h nejsou reakce u těchto dvou skupin zvířat významně odlišné.

Protimikrobní konzervační látka (2.5.15). Kde je to vhodné, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a není vyšší než 115 % deklarovaného množství. Pokud se při přípravě použil fenol, jeho koncentrace nepřesahuje 5 g/l (2.5.15).

Živá mykobakteria (2.6.2). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost živých mykobakterií.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti

Použije se metoda A, nebo jestliže přípravek obsahuje 1 m.j. až 2 m.j., metoda B.

Metoda A

Účinnost se stanoví porovnáním reakcí vyvolaných intradermálním podáním stoupajících dávek zkoušeného přípravku senzibilizovaným morčatům s reakcemi vyvolanými známými koncentracemi referenčního přípravku.

4898 *Tuberculini derivatum proteinosum purificatum ad usum humanum*

V minerálním oleji s emulgátorem nebo bez něho se připraví suspenze obsahující vhodné množství (0,1 mg až 0,4 mg/ml) tepelně inaktivovaných sušených mykobakterií, přičemž se použije kmen mykobakterií stejného druhu jako ve zkoušeném přípravku. Senzibilizuje se nejméně šest světle zbarvených morčat vážících nejméně 300 g intramuskulárním nebo intradermálním podáním každému celkově asi 0,5 ml suspenze rozdělené, je-li to nutné, i do několika míst. Zkouška se provede po období potřebném k optimální senzibilizaci, tj. obvykle za 4 týdny až 8 týdnů. Boky morčat se depilují tak, aby se mohly podat nejméně tři injekce na každou stranu, ale nejvýše dvanáct injekcí jednomu zvířeti. Připraví se ředění zkoušeného přípravku a referenčního přípravku v tlumivém izotonickém roztoku fosforečnanovém s chloridem sodným (pH 6,5 až 7,5), který obsahuje 50 mg *polysorbátu 80 R*. Jestliže zkoušený přípravek je lyofilizovaný a neobsahuje stabilizátor, rozpustí se ve výše uvedeném tlumivém roztoku. Použijí se nejméně tři rozdílné dávky referenčního přípravku a nejméně tři rozdílné dávky zkoušeného přípravku. Nejvyšší dávka u obou přípravků je asi desetinasobkem nejnižší dávky. Vyberou se takové dávky, aby reakce po podání měly průměr nejméně 8 mm a nejvýše 25 mm. U jakékoliv zkoušky se pořadí podávaných koncentrací přípravku vybírá náhodně podle latinského čtverce. Každá dávka se vstříkne intradermálně v konstantním objemu 0,1 ml nebo 0,2 ml. Průměry lézí se měří za 24 h až 48 h a výsledky zkoušky se vypočítají obvyklými statistickými metodami za předpokladu, že průměry lézí jsou přímo úměrné logaritmu koncentrace přípravku.

Stanovená hodnota účinnosti je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) je nejméně 64 % a nejvýše 156 % deklarované účinnosti.

Metoda B

Účinnost se stanoví porovnáním reakcí vyvolaných intradermálním podáním zkoušeného přípravku senzibilizovaným morčatům s reakcemi vyvolanými známými koncentracemi referenčního přípravku.

V minerálním oleji s emulgátorem nebo bez něho se připraví suspenze obsahující vhodné množství (0,1 mg až 0,4 mg) tepelně inaktivovaných sušených mykobakterií, přičemž se použije kmen mykobakterií stejného druhu jako ve zkoušeném přípravku. Senzibilizuje se nejméně šest světle zbarvených morčat vážících nejméně 300 g intramuskulárním nebo intradermálním podáním každému celkově asi 0,5 ml suspenze rozdělené, je-li to nutné, i do několika míst. Zkouška se provede po období potřebném k optimální senzibilizaci, tj. obvykle za 4 týdny až 8 týdnů. Boky morčat se depilují tak, aby se mohly podat nejméně tři injekce na každou stranu, ale nejvýše dvanáct injekcí jednomu zvířeti. Připraví se ředění referenčního přípravku v tlumivém izotonickém roztoku fosforečnanovém s chloridem sodným (pH 6,5 až 7,5) obsahujícím 50 mg/l *polysorbátu 80 R*. Použijí se nejméně tři rozdílné dávky referenčního přípravku tak, aby nejvyšší dávka byla asi desetinasobkem dávky nejnižší a aby střední dávka byla stejná jako dávka zkoušeného přípravku. U jakékoliv zkoušky se pořadí podávaných koncentrací vybírá náhodně podle latinského čtverce. Zkoušený přípravek a každé ředění referenčního přípravku se vstříkne intradermálně v konstantním objemu 0,1 ml nebo 0,2 ml. Průměry lézí se měří za 24 h až 48 h a výsledky zkoušky se vypočítají obvyklými statistickými metodami za předpokladu, že průměry lézí jsou přímo úměrné logaritmu koncentrace přípravku. (Tento dávkový vztah platí pro tuto zkoušku a ne nezbytně pro jiné testovací systémy.)

Stanovená hodnota účinnosti je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) je nejméně 64 % a nejvýše 156 % deklarované účinnosti.

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Tuberculinum pristinum ad usum humanum 4899

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek v obalu,
- druh mykobakteria použitého při přípravě přípravku,
- název a množství protimikrobních konzervačních a jiných látek přidanych k přípravku,
- doba použitelnosti,
- u lyofilizovaných přípravků údaj, že se přípravek má rekonstituovat za použití roztoku, který dodává výrobce,
- kde je to vhodné, že se tuberkulin PPD nepodává v koncentrované formě, ale zředěný tak, aby v jedné dávce bylo podáno nejvýše 100 m.j.

Jestliže balení neobsahuje v příbalové informaci upozornění, že inhalace koncentrovaného tuberkulinu PPD může vyvolat toxickou reakci, uvede se toto upozornění na obalu společně s upozorněním o opatrnosti při zacházení s lyofilizátem.

Tuberculinum pristinum ad usum humanum



Starý tuberkulin pro humánní použití

1999

Je to zahřátím koncentrovaný filtrát obsahující rozpustné produkty kultivace a lýzy jednoho nebo více kmenů *Mycobacterium bovis* a/nebo *Mycobacterium tuberculosis*, jež jsou schopny vyvolat pozdní přecitlivělost u živočicha senzibilizovaného stejnými druhy mikroorganismů.

V koncentrované formě to je průhledná viskózní žlutá nebo hnědá tekutina.

Výroba

Obecná ustanovení

Výroba je založena na systému jednotné inokulace. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodý starý tuberkulin přiměřené účinnosti a bezpečnosti pro člověka. Šarže kalibrovaná v mezinárodních jednotkách metodou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti, pro niž je vzhledem k její účinnosti u člověka dostupná přiměřená klinická informace, může sloužit jako referenční přípravek.

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace.

Systém jednotné inokulace

Kmeny použitých mykobakterií jsou určeny vývojovými záznamy, které obsahují informace o jejich původu a následném zacházení.

Pracovní inokula použitá k inokulaci živné půdy pro výrobu koncentrované sklizně nemají mít více než čtyři subkultury z matečného inokula.

K pomnožení se mohou použít pouze ta inokula, která vyhovují následujícím požadavkům.

Totožnost. Identifikuje se druh mykobakteria v matečném i pracovním inokulu.

4900 *Tuberculinum pristinum ad usum humanum*

Bakterie a houby. Pracovní inokulum vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1) s výjimkou přítomnosti mykobakterií; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Pomnožování a sklizeň

Bakterie rostou v tekuté živné půdě, kterou může být bujón s glycerolem nebo syntetická živná půda. Charakter růstu je typický pro příslušný kmen. Kultura se inaktivuje vhodnou metodou, jako je sterilizace v autoklávu (121 °C nejméně 30 min) nebo proudící párou nejméně 1 h při nejméně 100 °C. Tekutá kultura, ze které mikroorganismy mohou nebo nemusí být odstraněny filtrací, se koncentruje odpařením obvykle na desetinu původního objemu. Přípravek neobsahuje živá mykobakteria. Koncentrovaná sklizeň vyhovuje zkoušce na mykobakteria (2.6.2) ještě před přidáním jakékoliv protimikrobní konzervační látky nebo jiné látky, která by mohla ovlivnit tuto zkoušku. Může se přidat fenol v koncentraci 5 g/l nebo jiná vhodná protimikrobní konzervační látka, která nevyvolá falešně pozitivní reakce.

Pro přípravu konečné várky se může použít pouze koncentrovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům.

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 8,0.

Glycerol. Pokud je to vhodné, stanoví se jeho obsah v koncentrované sklizni. Jeho množství je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li třeba, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství. Jestliže se při přípravě použil fenol, jeho koncentrace je nejvýše 5 g/l (2.5.15).

Senzibilizace. Provede se zkouška popsaná v odstavci Zkoušky na čistotu.

Sterilita (2.6.1). Koncentrovaná sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Účinnost. Provede se zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti.

Konečná várka tuberkulinu

Konečnaná sklizeň se asepticky zředí.

Pro přípravu šarže se může použít pouze konečná várka, která vyhovuje následujícím požadavkům.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Konečná várka se asepticky rozplní do sterilních obalů, které se pak uzavřou, aby se předešlo kontaminaci.

K použití může být uvolněna pouze taková šarže, která vyhovuje všem požadavkům dále uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti.

U šarže se mohou vypustit následující zkoušky, pokud byly provedeny v jednotlivých stupních přípravy: Živé bakterie a Senzibilizace u koncentrované sklizně, Toxicita u koncentrované sklizně nebo konečné várky a Protimikrobní konzervační látka u konečné várky.

Zkouška totožnosti

Zdravým bílým nebo světle zbarveným morčatům specificky senzibilizovaným (např. jak je popsáno v odstavci Stanovení účinnosti) se intradermálně vstříknou zvyšující se dávky zkoušeného

přípravku. V místě podání vznikne reakce přecházející z erytému až k nekróze. U nesenzibilizovaných morčat podobné injekce nevyvolávají žádnou reakci. Stanovení účinnosti je zároveň zkouškou totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Zkoušený přípravek v koncentrované formě (účinnosti $\geq 100\,000$ m.j./ml) vyhovuje všem dále předepsaným zkouškám; zředěný přípravek vyhovuje zkouškám na obsah protimikrobní konzervační látky a sterilitu.

Toxicita. Množství odpovídající 50 000 m.j. se vstříkne podkožně každému ze dvou zdravých morčat hmotnosti 250 g až 350 g, která nebyla podrobena žádnému léčení, jež by mohlo ovlivnit tuto zkoušku. Zvířata se pozorují 7 dní. Neobjeví se žádný nežádoucí účinek.

Senzibilizace. Použijí se tři morčata, která nebyla podrobena žádnému léčení, jež by mohlo ovlivnit tuto zkoušku. V pětidenních intervalech se třikrát intradermálně vstříkne každému morčeti asi 500 m.j. zkoušeného přípravku v objemu 0,1 ml. Za dva až tři týdny po třetím podání se intradermálně vstříkne stejná dávka stejným morčatům a kontrolní skupině tři morčat stejné hmotnosti, kterým nebyl dříve podán žádný tuberkulin. Za 24 h až 72 h nejsou reakce u těchto zvířat podstatně odlišné.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li třeba, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a není vyšší než 115 % deklarovaného množství. Pokud se při přípravě použil fenol, nepřesahuje jeho koncentrace 5 g/l (2.5.15).

Živá mykobakteria (2.6.2). Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost živých mykobakterií.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním reakcí vyvolaných intradermálním podáním stoupajících dávek zkoušeného přípravku senzibilizovaným morčatům s reakcemi vyvolanými známými koncentracemi referenčního přípravku.

V minerálním oleji s emulgátorem nebo bez něho se připraví suspenze obsahující vhodné množství (0,1 až 0,4 mg/ml) tepelně inaktivovaných sušených mykobakterií, přičemž se použije kmen mykobakterií stejného druhu jako ve zkoušeném přípravku. Senzibilizuje se nejméně šest světle zbarvených morčat vážících nejméně 300 g intramuskulárním nebo intradermálním podáním každému celkově asi 0,5 ml suspenze rozdělené, je-li třeba, i do několika míst. Zkouška se provede po období potřebném k optimální senzibilizaci, což obvykle bývá za 4 týdny až 8 týdnů po senzibilizaci. Boky zvířat se depilují tak, aby se mohly podat nejméně tři injekce na každou stranu, ale nejvýše dvanáct injekcí jednomu zvířeti. Připraví se nejméně tři různé dávky referenčního přípravku a nejméně tři různé dávky zkoušeného přípravku. Nejvyšší dávka u obou přípravků je asi desetinásobkem nejnižší dávky. Vyberou se takové dávky, aby reakce po podání měly průměr nejméně 8 mm a nejvýše 25 mm. U jakékoliv zkoušky se pořadí podávaných koncentrací vybírá náhodně podle latinského čtverce. Každá dávka se vstříkne intradermálně v konstantním objemu 0,1 ml nebo 0,2 ml. Průměry lézí se měří za 24 h až 48 h a výsledky zkoušky se vypočítají obvyklými statistickými metodami za předpokladu, že průměry lézí jsou přímo úměrné logaritmu koncentrace přípravku.

4902 *Unguentum constituens pro antibioticis*

Stanovená hodnota účinnosti je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ($P = 0,95$) je nejméně 64 % a nejvýše 156 % deklarované účinnosti.

Uchovávání

Uchovává se chráněn před světlem.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet mezinárodních jednotek v mililitru,
- druh mykobakteria použitého k přípravě přípravku,
- název a množství protimikrobních konzervačních a jiných látek přidanych k přípravku,
- doba použitelnosti,
- je-li to vhodné, že se nepodává starý tuberkulin v koncentrované formě, ale zředěný tak, aby v jedné dávce bylo nejvýše 100 m.j.

Unguentum constituens pro antibioticis**N****Masťový základ pro antibiotika**

Je to masťový základ emulgující vodu.

Příprava

Adeps lanae	10,0 g
Paraffinum liquidum	10,0 g
Vaselinum flavum	80,0 g

Tuk z ovčí vlny, tekutý parafin a žlutá vazelína se roztaví a promíchají. Tavenina se za tepla zfiltruje přes hydrofilní gázu a sterilizuje se v proudu horkého vzduchu (5.1.1) 90 min při 140 °C.

Vlastnosti

Měkká žlutá stejnorodá masť slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- 1 g masti se míchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená masť se ve vodě nerozpouští, v chloroformu se téměř rozpustí. Zakalený chloroformový roztok se použije ve zkoušce C (*hydrofobní masť*).
- Do 5 g se po částech vmíchá 5 g *vody R*; vznikne stejnorodá emulze (*emulgující masť*).
- K zakalenému chloroformovému roztoku ze zkoušky A se přidá 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; vznikne sytě zelené zbarvení (*cholesterol*).

D. 2 g se promíchají s 0,2 g síry R a silně se zahřejí; uvolňuje se pach sirovodíku (*tekutý parafin*).

Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 37 °C až 50 °C.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 3,0. Navážka se rozpustí ve 20 ml *chloroformu R* a teprve potom se přidá 30 ml *kyseliny octové bezvodé R*.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

V chladnu a chráněn před světlem.

Vydávání

Po otevření obalu se masťový základ spotřebuje do 48 h. Použije se jen k přípravě mastí s bacitracinem, erythromycinem, oxytetracyklinem a tetracyklinem.

Unguentum emulsificans anionicum

N

Emulgující aniontová mast

Je to mast emulgující vodu s aniontovým emulgátorem. Obsahuje 2,2 % až 3,2 % alkylsírání, počítáno jako cetylsíran sodný ($C_{16}H_{33}NaO_4S$, M_r 344,48).

Příprava

Alcohol cetylstearylicus emulsificans A	300,0 g
Paraffinum liquidum	200,0 g
Vaselinum album	500,0 g

Emulgující cetylstearylalkohol typu A, tekutý parafin a bílá vazelína se roztaví a míchají se do vychladnutí.

Vlastnosti

Prosvítavá bílá mast slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat voda.

Zkoušky totožnosti

A. 1 g masti se míchá v kádince s 5,0 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5,0 g *vody R*. Zkoušená mast se rozpustí v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).

4904 *Unguentum emulsificans nonionicum*

B. 1 g se v porcelánovém kelímku spálí a vyžihá. Zbytek se rozpustí mírným zahřátím ve 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS* a 2 ml *vody R* a zfiltruje se. Filtrát se použije také ke zkoušce C. Ke 2 ml filtrátu se přidá *chlorid barnatý RS1*; vylučuje se bílá sraženina nerozpustná v *kyselině chlorovodíkové (alkylsírán)*.

C. Barví žlutě nesvítivý plamen (*sodík*).

Zkoušky na čistotu

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Nejvýše 3. 2,000 g se odváží do skládaného filtru, vloží se do Soxhletova extrakčního přístroje a vyluhuje se 1 h asi 30 ml až 50 ml *etheru R*. Z výluhu se ether oddestiluje a zbytek se použije ke stanovení.

Číslo hydroxylové (2.5.3). 55 až 70.

Stanovení obsahu

2,000 g se v kuželové baňce se zabroušenou zátkou smíchají za mírného zahřátí s 25,0 ml *chloroformu R*. Po ochlazení se přidá 20,0 ml *vody R*, 5 ml *kyseliny sírové zředěné R*, 0,1 ml roztoku *žlutě dimethylové R* (1 g/l) v *chloroformu R* a za silného protřepávání se titruje *karbethopendeciniumbromidem 0,01 mol/l VS* z červeného do žlutého zbarvení chloroformové vrstvy.

1 ml *karbethopendeciniumbromidu 0,01 mol/l VS* odpovídá 3,445 mg $C_{16}H_{33}NaO_4S$.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Unguentum emulsificans nonionicum**N****Emulgující neiontová mast**

Je to mast emulgující vodu s neiontovým emulgátorem.

Příprava

Polysorbatum 60	100,0 g
Alcohol cetylstearylicus	300,0 g
Paraffinum liquidum	100,0 g
Vaselinum album	500,0 g

Polysorbát 60, cetylstearylalkohol, tekutý parafin a bílá vazelína se roztaví a míchají se do vychladnutí.

Vlastnosti

Bílá mast slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat voda.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g masti se míchá v kádince s 5 g *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 g *vody R*. Zkoušená mast se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B.** 3 g se v porcelánové misce roztaví, přidá se 7 ml *vody R* teplé 70 °C a míchá se do vychladnutí; vznikne krém. Po přimíchání dalších 15 ml *vody R*; vznikne stejnorodá emulze typu o/v (*emulgující mast*).
- C.** 0,1 g se rozpustí ve 2 ml *chloroformu R* a protřepe se s 2 ml směsí stejných objemových dílů *thiokyanatanu amonného RS* a roztoku *dusičnanu kobaltnatého R* (100 g/l); chloroformová vrstva se zbarví modře (*sorbimakrogol*).

Zkoušky na čistotu

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené masti.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Unguentum molle

N

Měkká mast

Je to mast emulgující vodu.

Příprava

Adeps lanae	32,5 g
Paraffinum liquidum	7,5 g
Vaselinum flavum	50,0 g
Aqua purificata	10,0 g

Tuk z ovčí vlny, tekutý parafin a žlutá vazelína se roztaví a promísí se na vodní lázni, přidá se čištěná voda předem zahřátá na 70 °C a míchá se do vychladnutí. Potom se přimíchá voda do 100,0 g a po 12 h se znovu promísí.

4906 *Unguentum ophthalmicum simplex*

Vlastnosti

Měkká světle žlutá stejnorodá mast slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g masti se míchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se ve vodě nerozpouští, v chloroformu se téměř rozpustí. Zakalený chloroformový roztok se použije ve zkoušce C (*hydrofobní mast*).
- B. Do 5 g se po částech vmíchá 5 g *vody R*; vznikne stejnorodá emulze (*emulgující mast*).
- C. K zakalenému chloroformovému roztoku ze zkoušky A se přidá 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; vznikne sytě zelené zbarvení (*cholesterol*).
- D. 2 g se promíchají s 0,2 g *síry R* a silně se zahřejí; uvolňuje se pach sirovodíku (*tekutý parafin*).

Zkouška na čistotu

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 3,0. Navážka se rozpustí ve 20 ml *chloroformu R* a teprve potom se přidá 30 ml *kyseliny octové bezvodé R*.

Uchovávání

Viz článek *Unguentum*.

V chladnu a chráněna před světlem.

Vydávání

Před použitím nebo výdejem se promísí.

Unguentum ophthalmicum simplex**N**

Prostá oční mast

Synonymum. Oculentum simplex

Je to sterilní masťový základ pro oční masti, emulgující vodu.

Příprava

Adeps lanae	10,0 g
Paraffinum liquidum	10,0 g
Vaselinum album	80,0 g

Tuk z ovčí vlny, tekutý parafin a bílá vazelína se roztaví a promíchají. Tavenina se za tepla zfiltruje přes tři vrstvy hydrofilní gázy, rozplní se do vhodných obalů a sterilizuje se suchým teplem 2 h při 160 °C (5.1.1). Polovychladlá vysterilizovaná mast se v prostorách čistoty A promíchá a rozplní se do vhodných obalů.

Vlastnosti

Měkká světle žlutá stejnorodá mast slabého charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se smíchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpouští v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B. Do 5 g se po částech vmíchá 5 ml *vody R*; vznikne stejnorodá emulzní mast (*emulgující mast*).
- C. Asi 0,5 g se rozpustí v 5 ml *chloroformu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; roztok se zbarví sytě zeleně (*cholesterol*).

Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 37 °C až 50 °C. Zkoušená mast se naplní do otevřených skleněných kapilár, které se nechají stát 24 h při teplotě nepřevyšující 10 °C nebo 2 h při 0 °C.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 3,0.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.
Chráněna před světlem.

Unguentum simplex

N

Prostá mast

Je to hydrofobní mast.

Příprava

Propylis gallas	0,01 g
Ethanol 96% (V/V)	1,0 ml
Adeps suillus	90,0 g
Alcohol cetylicus	5,0 g
Cera alba	5,0 g

4908 *Unguentum Whitfield*

Ve vodní lázni při 70 °C se roztaví vepřové sádlo a za stálého míchání se po kapkách přidává propylgallat rozpuštěný v ethanolu 96%, potom se přidá cetylalkohol a bílý vosk a po jejich roztavení se směs míchá do vychladnutí.

Vlastnosti

Bílá nebo nažloutle bílá stejnorodá mast.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g se smíchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpustí v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B.** Asi 10 g se roztaví na vodní lázni ve skleněné misce o průměru asi 6 cm s kulatým dnem. Tavenina se nechá vychladnout při 10 °C. Na rozdíl od vepřového sádla má ztuhlá hmota hladký povrch bez paprskovitého vrásnění a je uprostřed bez prohloubeniny.
- C.** 1 g se zahřívá s 2 ml *lihu 96% R* na vodní lázni do roztavení. Teplá směs se protřepává 30 s a po ochlazení se přidá 1 ml *amoniaku 26% R*; vznikne slabě červené zbarvení (*propylgallat*).

Zkoušky na čistotu

Barva, vlhkost, nečistoty. 10 g se roztaví ve zkumavce na vodní lázni. Vzniklá tavenina není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž3 (2.2.2, *Metoda II*) a neopalizuje silněji než porovnávací suspenze III (2.2.1).

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,5.

Číslo jodové (2.5.4). 44 až 58.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 10.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 175 až 185; stanoví se s 2,00 g zkoušené masti.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Unguentum Whitfield**N**

Whitfieldova mast

Synonymum. Whitfield unguentum

Je to hydrofobní mast s kyselinou salicylovou ($C_7H_6O_3$, M_r 138,12) a kyselinou benzoovou ($C_7H_6O_2$, M_r 122,12).

Obsahuje 4,62 % až 5,38 % $C_7H_6O_3$ a 11,4 % až 12,6 % $C_7H_6O_2$.

Příprava

Acidum salicylicum (90)	5,0 g
Acidum benzoicum (90)	12,0 g
Adeps lanae	83,0 g

Ke směsi kyseliny salicylové a kyseliny benzoové se po částech za stálého roztírání přidává tuk z ovčí vlny roztavený na vodní lázni a míchá se do úplného vychladnutí.

Vlastnosti

Žlutá měkká stejnorodá mast charakteristického pachu.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g se míchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince míchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se ve vodě nerozpouští, rozpouští se v chloroformu (*hydrofobní mast*). Chloroformový roztok se použije také ve zkoušce B.
- B.** K chloroformovému roztoku ze zkoušky A se přidá 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a opatrně se promíchá; vznikne tmavě zelené zbarvení (*cholesterol*).
- C.** 5 g se rozpustí v dělicí nálevce ve 20 ml *benzinu lékařského R* a vytřepe se směsí 20 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R*. Vodná vrstva se zfiltruje a použije se také ve zkoušce D. K 5 ml filtrátu se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS* a zneutralizuje se *hydroxidem sodným zředěným RS* do prvního žlutého zbarvení. Přidá se 5 ml *vody R* a 0,1 ml *chloridu železitého RS1*; roztok se zbarví červenofialově (*kyselina salicylová*) a současně se v roztoku vytvoří hnědočervená klkatá sraženina (*kyselina benzoová*).
- D.** 5,0 ml filtrátu ze zkoušky C se v baňce se zabroušenou zátkou smíchá s 5 ml *bromové vody RS*, uzavře se a nechá se stát 15 min. Zfiltruje se a přebytek bromu se odstraní mírným povařením filtrátu do odbarvení. Po ochlazení se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS* a po kapkách se přidává *hydroxid sodný zředěný RS* do prvního žlutého zbarvení. Po přidání 0,2 ml *chloridu železitého RS1* se vylučuje světle hnědočervená sraženina (*kyselina benzoová*).

Stanovení obsahu

Kyselina benzoová. 1,500 g se rozpustí v dělicí nálevce ve 20 ml *etheru R*, přidá se 20 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na 0,2 ml *modři thymolové RS* do žlutozeleného zbarvení a titruje se v dělicí nálevce týmž odměrným roztokem do stejného zbarvení. Ztitrovaná tekutina se dále použije ke stanovení kyseliny salicylové.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Obsah kyseliny benzoové v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\left(\frac{a}{n} - \frac{y}{1,381} \right) \cdot 1,221,$$

v němž značí:

a - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/ VS* v mililitrech,

n - navážku zkoušeného přípravku v gramech,

y - obsah kyseliny salicylové v procentech.

4910 *Vaccinum actinobacillosis inactivatum ad suem*

Kyselina salicylová. Ke ztitrované tekutině z předchozí zkoušky se přidá 30 ml roztoku *chloridu sodného R* (100 g/l) a promíchá se. Po vyčeření se vodná vrstva oddělí a zbytek v dělicí nálevce se dvakrát promyje 30 ml *chloridu sodného R* (100 g/l). Vyčeřené oddělené vodné vrstvy se spojí a zředí se *vodou R* na 250,0 ml. Roztok se zfiltruje a k 10,0 ml čírého filtrátu ve 100ml odměrné baňce se přidá 0,2 ml roztoku síranu amonno-železitého (připraví se rozpuštěním 10 g *síranu amonno-železitého R* v 70 ml *vody R* a 20 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*). Poté se připravená směs zředí *vodou R* na 100,0 ml a měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 525 nm proti kontrolnímu roztoku, kterým je roztok připravený zředěním 0,2 ml roztoku síranu amonno-železitého *vodou R* na 100,0 ml.

Současně se 30,0 mg *kyseliny salicylové CRL* rozpustí ve 100ml odměrné baňce v 10 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se ve 100ml odměrné baňce přidá 0,20 ml roztoku síranu amonno-železitého, zředí se *vodou R* na 100,0 ml a měří se absorbance způsobem popsáním v předchozím odstavci.

Obsah *kyseliny salicylové* v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot n_s \cdot 250}{A_s \cdot n}$$

v němž značí:

A - absorbanci roztoku zkoušeného přípravku,

A_s - absorbanci porovnávacího roztoku,

n - navážku zkoušeného přípravku ze stanovení *kyseliny benzoové* v gramech,

n_s - navážku *kyseliny salicylové CRL* v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

V chladnu a chráněna před světlem.

Vaccinum actinobacillosis inactivatum ad suem

Inaktivovaná vakcína proti pleuropneumonii prasat
(*Actinobacillus pleuropneumoniae*)



1999

Je to tekutý přípravek obsahující jednu nebo více následujících složek: jeden nebo více vhodných inaktivovaných kmenů *Actinobacillus pleuropneumoniae*; toxinů, proteinů nebo polysacharidů odvozených z vhodných kmenů *A. pleuropneumoniae* ošetřených tak, aby byly neškodné; frakcí toxinů odvozených z vhodných kmenů *A. pleuropneumoniae*, a je-li třeba, ošetřených tak, aby byly neškodné.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Inokulum se kultivuje ve vhodné živné půdě, každý kmen odděleně. Při pomnožování se kontrolují vhodnými metodami některé parametry, jako růstová křivka, obsah bílkovin a množství příslušných antigenů; nalezené hodnoty jsou v rozmezí

schváleném pro jednotlivý výrobek. U sklizeného materiálu se vhodnými metodami ověří čistota a totožnost. Po skončení kultivace se bakteriální suspenze jednotlivých kmenů odděleně shromáždí a vhodnou metodou se inaktivují. Mohou se detoxikovat, purifikovat a koncentrovat. Vakcína může obsahovat adjuvans.

Výběr složení vakcíny

Výběr kmenů závisí na epidemiologické situaci. Vakcína prokazatelně vyhovuje ve zkouškách bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) provedených na prasatech. K prokázání bezpečnosti a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost

- A.** Vakcína se všemi doporučenými způsoby podá každé kategorii zvířat, pro kterou je určena. Použitá zvířata nemají protilátky proti sérotypu *A. pleuropneumoniae* nebo jeho toxinům obsaženým ve vakcíně. Nejméně deseti zvířatům se doporučeným způsobem každému podá dvojnásobná dávka vakcíny. Každému zvířeti se doporučeným způsobem v intervalu podle návodu k použití podá další jedna dávka vakcíny. Zvířata se pozorují 14 dní po poslední vakcinaci. Rektální teplota se zaznamenává den před vakcinací, v den vakcinace, 2 h, 4 h a 6 h po podání vakcíny a ještě další 2 dny. Nezjistí se žádné nadměrné místní ani systémové reakce. Průměrná teplota se zvýší nejvýše o 1,5 °C a u žádného zvířete nepřesáhne zvýšení teploty 2 °C. Pokud je vakcína určena pro březí prasnice, potom se ve zkoušce u této kategorie zvířat prodlužuje pozorovací doba do porodu a zaznamenávají se všechny vlivy na březost a potomstvo.
- B.** Zvířata používaná ve zkoušce imunogenity se rovněž použijí k hodnocení bezpečnosti. Rektální teplota se zaznamenává den před vakcinací, v den vakcinace, 2 h, 4 h a 6 h po podání vakcíny a ještě další 2 dny. Nezjistí se žádné nadměrné místní ani systémové reakce. Průměrná teplota se zvýší nejvýše o 1,5 °C a u žádného zvířete nepřesáhne zvýšení teploty 2 °C. Místo vpichu se vyšetří na místní postvakcinační reakce. Mikroskopické vyšetření se provede po porážce. Nezjistí se žádné nadměrné místní ani systémové reakce.
- C.** Zvířata použitá k terénnímu ověření se rovněž využijí k hodnocení bezpečnosti. Zkouška se provede na všech kategoriích zvířat, pro které je vakcína určena. Použijí se nejméně tři skupiny zvířat, v každé je nejméně dvacet kusů a stejné množství skupin po deseti kontrolních zvířatech. Místo vpichu se vyšetří na místní postvakcinační reakce. Rektální teplota se zaznamenává den před vakcinací, v den vakcinace a po celou dobu vzestupu teploty, pokud byl porovnán při zkouškách A a B a ještě další 2 dny po vakcinaci. Nezjistí se žádné nadměrné místní ani systémové reakce. Průměrná teplota se zvýší nejvýše o 1,5 °C a u žádného zvířete nepřesáhne zvýšení teploty 2 °C.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti se může použít k průkazu imunogenity vakcíny.

Zkoušení šarže

Zkouška účinnosti šarže. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti se neprovádí při běžném zkoušení šarží vakcíny, ale dělá se při jedné nebo více příležitostech, podle rozhodnutí nebo souhlasu oprávněné autority. Pokud zkouška není provedena, dělá se jiná vhodná validovaná

4912 *Vaccinum actinobacillosis inactivatum ad suem*

zkouška, jejíž kritéria pro přijetí jsou v souladu s šarží vakcíny, která vykázala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít, když byla dostatečně statisticky zhodnocena její korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Pěti sérologicky negativním myším o hmotnosti 18 g až 20 g se subkutánně vstříkne vhodná dávka. Pokud je podle návodu vyžadována revakcinace, může se provést, jestliže bylo prokázáno, že to vytvoří vhodně citlivý zkušební systém. Před vakcinací a v daném období mezi 14 až 21 dny po poslední injekci se každému zvířeti odebere krev a připraví se vzorky séra. U jednotlivých sér se stanoví titr specifických protilátek proti všem deklarovaným antigenním složkám; používají se vhodné validované zkoušky - např. ELISA (2.7.1). Vakcína vyhovuje, jestliže hladiny protilátek nejsou prokazatelně nižší než hladiny protilátek získané se šarží, která vykázala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška šarže na bakteriální endotoxiny. Zkouška na bakteriální endotoxiny (2.6.14) se provádí z šarže, nebo kde charakter adjuvantu brání provedení odpovídající zkoušky, provede se zkouška z konečné várky antigenu nebo směsi antigenů před přidáním adjuvantní látky.

Vakcína může obsahovat nejvýše 10^6 m.j. endotoxinu v dávce, pokud není u vyššího množství endotoxinu prokázána bezpečnost.

Zkouška totožnosti

Když se vakcína vstříkne zdravým sérologicky negativním zvířatům, vyvolá tvorbu specifických protilátek proti antigenním složkám *A. pleuropneumoniae* uvedeným v označení na obalu.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Užívají se dvě prasata nejnižšího stáří předepsaného pro vakcinaci, která nemají protilátky proti sérotypům *A. pleuropneumoniae* nebo jejich toxinům obsaženým ve vakcíně. Každému prasati se podají předepsaným způsobem dvě dávky vakcíny. Zvířata se pozorují 14 dní. Rektální teplota se zaznamenává den před vakcinací, v den vakcinace, 2 h, 4 h a 8 h po podání vakcíny a potom ještě další 2 dny. Nejistí se žádné nadměrné místní ani systémové změny. Může se objevit dočasné zvýšení teploty nepřevyšující 2 °C.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Čelenční kmen pro zkoušku účinnosti je volen tak, aby zajistil čelenž všech A_p toxinů¹⁾ vytvářených sérotypy uvedenými ve složení vakcíny. Může být nezbytné provést více než jednu zkoušku s různými čelenčními kmeny.

Nejméně sedm prasat nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, která nemají protilátky proti *A. pleuropneumoniae* a A_p toxinům, se vakcinuje podle doporučeného schématu. Nejméně sedm nevakcinovaných prasat stejného stáří se použije jako kontrola. Za tři týdny po poslední vakcinaci se všechna prasata čelenžují intranazálně nebo intratracheálně nebo aerosolem ve vhodném

¹⁾ Názvosloví toxinů *A. pleuropneumoniae* popsal J. Frey a kol., *Journal of General Microbiology*, 1993, 139, 1723 - 1728.

množství sérotypem *A. pleuropneumoniae*. Zvířata se pozorují 7 dní. K zamezení zbytečného týrání se zvláště nemocná kontrolní zvířata porazí a považují se za uhynulá v důsledku nemoci. Na konci doby pozorování se usmrtí všechna přežívající zvířata. Provede se pitva všech zvířat. Plíce, tracheobronchiální mizní uzliny a mandle se vyšetřují na přítomnost *A. pleuropneumoniae*. Hodnotí se rozsah poškození plic při pitvě. Každému ze sedmi plicních laloků se přidělí nejvyšší možný stupeň poškození z pětičlenné stupnice²⁾ hodnocení. Každé místo v laloku vykazující pneumonii nebo pleuritidu se ohodnotí číslem z pětičlenné stupnice, součet těchto hodnot dává skóre pro jeden lalok (nejvyšší možné skóre pro celé plíce je 35). Celkové skóre se počítá odděleně pro vakcinovaná a kontrolní zvířata (jestliže je ve skupině sedm prasat, maximální skóre celé skupiny je 245).

Vakcína vyhovuje zkoušce, pokud vakcinovaná zvířata ve srovnání s kontrolními vykazují nižší úmrtnost; nižší výskyt typických klinických příznaků (dušnost, kašel a zvracení); menší rozsah typického poškození plic; menší počet reizolací *A. pleuropneumoniae* z plic, tracheobronchiálních mizních uzlin a mandlí. Kde je to možné, hodnotí se incidence statisticky, u skupiny vakcinovaných zvířat je významně nižší.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvedou:

- antigeny obsažené ve vakcíně,
- sérotypy *A. pleuropneumoniae*, proti kterým vakcína chrání.

Vaccinum adenoviro-sis caninae inactivatum



Inaktivovaná vakcína proti adenoviróze psů

1999

Je to suspenze jednoho nebo více vhodných kmenů psího adenoviru 1 (virus infekční hepatitidy psů) anebo psího adenoviru 2. Je inaktivovaná způsobem, který uchová odpovídající imunogenitu.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Ke zkoušce inaktivace se použije množství viru, které odpovídá nejméně deseti dávkám vakcíny. Provedou se dvě pasáže v buněčných kulturách takového typu, jaký byl použit při výrobě, nebo v buněčných kulturách s prokazatelně nejméně stejnou citlivostí. Nejistí se žádný živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans.

²⁾ Systém hodnocení plicních nálezů podrobně popsali P. C. T Hannan, B. S. Bhogal a J. P. Fish, *Research in Veterinary Science*, 1982, 33, 76 - 88

4914 *Vaccinum adenovirosis caninae inactivatum***Složení vakcíny**

Vakcína prokazatelně vyhovuje z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7). K prokázání bezpečnosti a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provádí pro každý doporučený způsob podání na zvířatech nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci. Použije se šarže vakcíny, u které byla zjištěna nejvyšší účinnost.

Pro každou zkoušku se použije nejméně deset psů, kteří nemají protilátky proti psímu adenoviru 1 nebo 2. Každému psovi se podají dvě vakcinační dávky. Jestliže doporučené schéma požaduje další dávku, podá se jedna dávka v doporučeném intervalu. Zvířata se pozorují 14 dnů od poslední vakcinace. Psi zůstanou v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí.

Je-li vakcína určena pro březí samice, vakcinují se zvířata v předepsaném stupni březosti nebo v různých stupních březosti podle doporučené tabulky. Pozorování se prodlouží až do prvního dne po porodu. Zvířata zůstanou v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí. Nejistí se nežádoucí účinky na březost ani na potomstvo.

Imunogenita. U vakcíny určené k ochraně proti hepatitidě je vhodná pro průkaz imunogenity zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti. Jestliže je vakcína určena k ochraně proti respiračním příznakům, je pro průkaz imunogenity nezbytná další zkouška v této indikaci.

Zkoušení šarže

Zkouška účinnosti šarže. Zkouška se neprovádí při běžné kontrole šarží vakcíny, dělá se u určené vakcíny při jedné nebo více příležitostech, podle rozhodnutí nebo po dohodě s oprávněnou autoritou. Pokud zkouška není provedena, dělá se jiná vhodná validovaná zkouška, jejíž kritéria pro přijetí jsou v souladu s šarží vakcíny, která vykazala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška totožnosti

Po podání vakcíny vnímavým zvířatům se vytváří specifické protilátky proti typu nebo typům psího adenoviru, které jsou uvedeny v označení na obalu.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Dvěma psům nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, kteří nemají neutralizační protilátky proti psímu adenoviru, se doporučeným způsobem podají dvě dávky vakcíny. Zvířata se pozorují 14 dnů. Psi zůstanou v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí.

Inaktivace. Proveďte se zkouška na zbytky infekčního psího adenoviru. Deset dávek vakcíny se naočkuje na vnímavou buněčnou kulturu, za 6 až 8 dnů se provede pasáž. Kultura se udržuje 14 dnů. Nejistí se živý virus. Jestliže vakcína obsahuje adjuvans, oddělí se adjuvans od tekuté fáze způsobem, který neinaktivuje živý virus nebo jinak nebrání jeho zjištění.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v odstavci *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Použije se sedm psů nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, kteří nemají protilátky proti psímu adenoviru. Doporučeným způsobem a podle doporučeného schématu se vakcinuje pět zvířat. Dvě zvířata slouží jako kontrolní. Za 21 dnů se každému ze sedmi zvířat vstříkne intravenózně takové množství virulentního kmene psího adenoviru, které je schopné u vnímavých psů způsobit úhyn nebo typické příznaky onemocnění. Zvířata se pozorují dalších 21 dnů. Aby se předešlo zbytečnému utrpení, jsou psi s typickými příznaky infekce psím adenovirem šetrným způsobem utraceni. Zkouška je neplatná a opakuje se, pokud jedno nebo obě kontrolní zvířata neuhynou nebo nevykazují typické příznaky vážné infekce psím adenovirem. Vakcína vyhovuje, pokud se vakcinovaná zvířata nacházejí v dobrém zdravotním stavu.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede typ nebo typy psího adenoviru obsaženého ve vakcíně.

Vaccinum clostridii chauvoei ad usum veterinarium¹⁾



RR99

Vakcína proti *Clostridium chauvoei* pro veterinární použití

Synonymum. Očkovací látka proti *Clostridium chauvoei* pro veterinární použití

Připravuje se z kultury jednoho či více vhodných kmenů *Clostridium chauvoei* v tekuté živné půdě. Celá kultura se inaktivuje tak, aby se odstranila toxicita, ale imunogenita zůstala zachována. K inaktivované kultuře se může přidat vhodné adjuvans.

Zkouška totožnosti

Přípravek chrání vnímavá zvířata proti infekci *Clostridium chauvoei*.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Použijí se dvě zdravá a vnímavá zvířata toho druhu, pro který je přípravek určen. Každému z nich se na jedno místo vstříkne doporučeným způsobem dvojnásobek nejvyšší dávky uvedené v označení. Zvířata se pozorují 7 dní. Neprojeví se žádná výrazná místní ani systémová reakce.

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

¹⁾ Pharmeuropa 10, 2, 317 (1998). Závazné od 1. 1. 1999.

4916 *Vaccinum encephalitis ixodibus advectae inactivatum***Stanovení účinnosti**

Nejméně deseti zdravým morčatům o hmotnosti 350 g až 450 g se podkožně vstříkne množství nepřesahující nejnižší dávku uvedenou v označení jako první dávka. Po 28 dnech se těmito zvířatům vstříkne množství nepřesahující nejmenší dávku uvedenou v označení jako druhá dávka. Za 14 dní po revakcinaci se vakcinovaným i pěti nevakcinovaným kontrolním morčatům nitrosvalově vstříkne vhodné množství virulentní kultury nebo suspenze spór *Cl. chauvoei*, aktivovaných, je-li třeba, aktivačním agens, jako je chlorid vápenatý. Přípravek vyhovuje, pokud během pěti dnů nejvýše 10 % z vakcinovaných morčat uhynie na infekci *Cl. chauvoei* a naopak všechna kontrolní zvířata uhynou na infekci *Cl. chauvoei* do 48 h po čelenži virulentní kulturou nebo 72 h po čelenži suspenzí spór. Uhynie-li více než 10 %, ale méně než 20 % vakcinovaných morčat, zkouška se opakuje. Přípravek vyhovuje, jestliže v druhé zkoušce uhynie nejvýše 10 % morčat z vakcinované skupiny a všechna kontrolní zvířata uhynou do 48 h po čelenži virulentní kulturou nebo do 72 h po čelenži suspenzí spór. Aby se předešlo zbytečnému utrpení v důsledku virulentní čelenže, utratí se umírající zvířata a považují se za uhynulá na infekci *Cl. chauvoei*.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede, že se přípravek před použitím roztřepe.

Vaccinum encephalitis ixodibus advectae inactivatum

1999

Inaktivovaná vakcína proti klíšťové encefalitidě

Je to tekutý přípravek připravený z vhodného kmene viru klíšťové encefalidity pomnoženého v kulturách kuřecích embryonálních buněk nebo v jiných vhodných buněčných kulturách a inaktivovaného vhodnou validovanou metodou.

Výroba

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodou vakcínu srovnatelnou s vakcínou, jejíž klinická účinnost a bezpečnost pro člověka byly prokázány. Není-li předepsáno a schváleno jinak, pasáž viru v konečné šarži není vyšší než pasáž viru ve vakcíně použité pro klinické zkoušení.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že pokud bude přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Substrát pro pomnožení viru

Virus se pomnožuje v kuřecích embryonálních buňkách připravených z vajec pocházejících z chovu kuřat prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) nebo v jiné vhodné buněčné kultuře (5.2.3).

Virová inokula

Použitý kmen viru je specifikován vývojovými záznamy, které obsahují informace o jeho původu a následném zacházení. Virové inokulum se uchovává při teplotě nižší než $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pouze virové inokulum vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro pomnožování viru.

Zkouška totožnosti. V každém virovém inokulu se vakcinační kmen viru klíšťové encefalidity prokáže vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), nejlépe za použití monoklonálních protilátek.

Koncentrace viru. Pro zajištění pravidelnosti výroby se stanoví koncentrace viru v každém virovém inokulu titrací na vhodné buněčné kultuře.

Cizí agens (2.6.16). Každé virové inokulum vyhovuje požadavkům na cizí agens ve vakcínách pro humánní použití; zkoušky na buněčných kulturách se provedou jen na lidských a opičích buňkách. K neutralizaci vakcinačního viru se přednostně použijí monoklonální protilátky.

Pomnožování a sklizeň viru

Všechny práce s buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek v prostředí, kde se nepracuje s jinými buňkami. Sérum a trypsin použité při přípravě buněčných suspenzí jsou prokazatelně prosty cizích agens. Média pro buněčné kultury mohou obsahovat indikátor pH, jako je červeň fenolová, a schválená antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Nejméně 500 ml buněčné kultury použité při výrobě vakcíny se ponechá neinfikovaných (kontrolní buňky).

Pouze jednotlivá sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu inaktivované sklizně.

Zkouška totožnosti. Obsah viru klíšťové encefalidity v jednotlivé sklizni se prokáže vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), přednostně použitím monoklonálních protilátek nebo neutralizací viru v buněčné kultuře.

Bakterie a houby (2.6.1). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Mykoplazmata (2.6.7). Jednotlivá sklizeň vyhovuje ve zkoušce na mykoplazmata; na každou půdu se použije 1 ml.

Kontrolní buňky. Kontrolní buňky vyhovují ve zkoušce na cizí antigeny (2.6.16). Vyrábí-li se vakcína pomocí systému buněčných bank, vyhovují kontrolní buňky ve zkoušce totožnosti.

Koncentrace viru. K prokázání pravidelnosti výroby se stanoví virová koncentrace titrací na vhodné buněčné kultuře.

Inaktivace

Aby se zabránilo interferenci, odstraní se virové agregáty bezprostředně před inaktivačním procesem. Virová suspenze se inaktivuje validovanou metodou; metoda má být prokazatelně trvale

4918 *Vaccinum encefalitis ixodibus advectae inactivatum*

schopná inaktivovat virus klíšťové encefalidity bez zničení antigenní a imunologické aktivity. Součástí validační studie je inaktivační křivka, znázorňující koncentraci zbytkového živého viru měřenou nejméně třikrát. Použije-li se k inaktivaci formaldehyd, ověří se přítomnost zbytků volného formaldehydu na konci inaktivačního procesu.

Pouze inaktivovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

Reziduální infekční virus. Množství inaktivované sklizně, odpovídající nejméně deseti lidským dávkám vakcíny, se inokuluje na buňky primárních kuřecích fibroblastů nebo na jiné buňky prokazatelně nejméně stejně citlivé k viru klíšťové encefalidity, a to nejméně v množství 3 cm² buněčné kultury na 1 ml inokula. Inkubuje se 14 dnů při 37 °C ± 1 °C.

Na konci inkubačního období není patrný cytopatický efekt. Odebere se kultivační médium a inokuluje se po 0,03 ml intracerebrálně nejméně deseti myším starým asi 4 týdny. Myši se pozorují 14 dní. Neprojeví se u nich známky infekce virem klíšťové encefalidity.

Purifikace

Několik inaktivovaných jednotlivých sklizní se spojí před koncentrací a purifikací vhodnými metodami, nejlépe kontinuálním odstředováním v sacharosovém gradientu.

Pouze purifikovaná, inaktivovaná sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít k přípravě konečné várky vakcíny.

Sterilita (2.6.1). Purifikovaná inaktivovaná sklizeň vyhovuje ve zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Specifická účinnost. Obsah antigenu v purifikované inaktivované sklizni se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Vhodnou metodou se stanoví celkový obsah bílkovin. Specifická účinnost, stanovená jako obsah antigenu v jednotce hmotnosti bílkovin, je v rozmezí schváleném pro přípravek.

Konečná várka vakcíny

Konečná várka vakcíny se připraví z jedné nebo více purifikovaných inaktivovaných sklizní.

Pouze konečná várka vakcíny vyhovující následujícím požadavkům se může použít k výrobě šarže.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vakcíny vyhovuje ve zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Pouze šarže, která odpovídá všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti, se může uvolnit k použití. Jestliže zkoušky na volný formaldehyd, bovinní sérumalbumin (je-li použit), pyrogenní látky a stanovení účinnosti byly provedeny s vyhovujícím výsledkem na konečné várce vakcíny, mohou se u šarže vypustit.

Zkouška totožnosti

Vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) se prokáže, že vakcína obsahuje virus klíšťové encefalidity. Použijí se monoklonální protilátky nebo zkouška imunogenity na myších popsáná v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkoušky na čistotu

Hliník. Je-li jako adjuvans použit hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý, vakcína vyhovuje zkoušce uvedené v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Volný formaldehyd (2.4.18). Nejvýše 0,1 g/l.

Bovinní sérumalbumin. Použije-li se při přípravě vakcíny bovinní sérumalbumin, obsahuje vakcína nejvýše 50 ng v jedné lidské dávce. Stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Sterilita (2.6.1). Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vakcína vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne nitrožilně jedna lidská dávka.

Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním dávky nezbytné k ochraně myši před působením letální dávky viru klíšťové encefalitis podané intraperitoneálně s množstvím referenčního přípravku vakcíny proti klíšťové encefalitis k vytvoření stejné ochrany. Pro toto porovnání je nutné použít schválený referenční přípravek viru klíšťové encefalitis a pro členěň vhodný virus klíšťové encefalitis ze schváleného kmene.

Následující postup je uveden jako příklad metody vhodné pro danou vakcínu.

Výběr a rozdělení zkoušených zvířat. Použijí se zdravé myši o hmotnosti 11 g až 17 g pocházející z jednoho chovu. Myši se rozdělí nejméně do šesti skupin o vhodném počtu pro zajištění validity zkoušky a pro titraci členěň suspenze se použijí nejméně čtyři skupiny myši po deseti jedincích. Použijí se myši téhož pohlaví nebo se samci a samice rovnoměrně rozdělí do skupin.

Stanovení účinnosti vakcíny. Připraví se nejméně tři vhodná ředění zkoušené vakcíny a referenčního přípravku; pro splnění validačních požadavků jsou obvykle nezbytná čtyři až pět ředění. Připraví se ředění tak, aby nejvíce koncentrovaná suspenze ochránila více než 50 % zvířat a nejméně koncentrovaná suspenze méně než 50 %. Jednotlivá ředění pro různé skupiny myši se aplikují subkutánně po 0,2 ml každému zvířeti ve skupině. Po sedmi dnech se injekce opakují za použití stejné řady ředění. Čtrnáct dní po druhé injekci se připraví suspenze členěňního viru obsahující dávku nejméně 100 LD₅₀ v 0,2 ml. Každé vakcinované myši se intraperitoneálně vstříkne 0,2 ml suspenze. Pro ověření členěňní dávky se připraví série nejméně tří ředění členěňní virové suspenze v nejvýše stonásobných ředěních. Myši se rozdělí na pět skupin po deseti myších. Každé skupině se přidělí jedno ředění (jedné skupině členěňní dávka) a každé myši se intraperitoneálně aplikuje 0,2 ml příslušného ředění. Myši se pozorují 21 dní po členěňi a počítají se myši uhynulé mezi 7. a 21. dnem po členěňi.

Výpočty. Výsledky se počítají obvyklými statistickými metodami pro kvantální odpověď (např. 5.3 *Statistická analýza výsledků biologických zkoušek*).

Validační kritéria. Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- koncentrace členěňního viru je nejméně 100 LD₅₀,
- pro zkoušenou i srovnávací vakcínu leží ochranná dávka (PD₅₀) mezi nejvyšší a nejnižší podanou dávkou,
- statistická analýza nevykazuje signifikantní odchylku od linearity nebo rovnoběžnosti,
- interval spolehlivosti (P = 0,95) je nejméně 33 % a nejvýše 300 % stanovené účinnosti.

Požadavky na účinnost. K výpočtu průměrné účinnosti se použijí výsledky všech platných zkoušek a jejich intervaly spolehlivosti. Při výpočtu váženého průměru se jako váha použije

4920 *Vaccinum febris flavae vivum*

převrácená hodnota druhé mocniny směrodatné odchylky. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže stanovená účinnost není menší než účinnost schválená oprávněnou autoritou na základě údajů o účinnosti v klinických zkouškách.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- kmen viru použitého pro přípravu,
- typ buněk použitých pro výrobu vakcíny.

Vaccinum febris flavae vivum

Živá vakcína proti žluté zimnici



1999

Je to lyofilizovaný přípravek kmene 17D viru žluté zimnice (*Flavivirus hominis*) pomnoženého na kuřecích embryích. Vakcína se rekonstruuje bezprostředně před použitím předepsaným způsobem na čirou tekutinu.

Výroba

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodou živou vakcínu proti žluté zimnici s přijatelnou imunogenitou a bezpečností pro člověka.

Výrobní metoda se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9) s následující úpravou zkoušky na morčatech: každému morčeti se vstříkne deset lidských dávek a pozorují se 21 dní.

Referenční přípravek. Ve zkoušce na neurotropismus se použije jako referenční přípravek taková šarže vakcíny, která byla s uspokojivými výsledky použita u člověka.

Substrát pro pomnožení viru

Virus pro přípravu matečného a pracovního inokula a všech šarží vakcíny se pomnožuje v tkáních kuřecích embryí z chovu kuřat prostého specifikovaných patogenů (5.2.2).

Inokula

Kmen 17D je určen podle původních záznamů, které obsahují informaci o původu kmene a následné manipulaci s ním. Inokula viru se připravují ve velkých množstvích a uchovávají se při teplotě pod -60°C . Matečné a pracovní inokulum neobsahují žádnou lidskou bílkovinu ani přidané sérum.

Není-li jinak vysvětleno a schváleno, virus v konečné vakcíně je na úrovni 204. až 239. pasáže z původně izolovaného kmene 17D. Pracovní inokulum je pouze jedinou pasáží z matečného inokula. Pracovní inokulum se použije bez zprostředkující pasáže jako inokulum pro infikování tkání použitých k výrobě šarže vakcíny, aby bylo zajištěno, že vakcína byla vyrobena pouze jedinou pasáží z matečného inokula, které vyhovělo všem zkouškám na bezpečnost.

Pouze virové inokulum, které vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k pomnožení viru.

Zkoušky totožnosti. V matečném a pracovním inokulu se virus žluté zimnice prokáže neutralizací sérem v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

Cizí agens (2.6.16). Každé pracovní inokulum vyhovuje následujícím zkouškám:

Bakterie a houby - sterilita

Mykoplazmata

Mykobakterie

Ptačí viry

Zkouška na dospělých myších (pouze intraperitoneální inokulace)

Zkouška na morčatech

Zkouška na opicích. Každé matečné a pracovní inokulum vyhovuje následujícím zkouškám na opicích na virémii (viscerotropismus), imunogenitu a neurotropismus.

Používají se opice druhu *Macaca* citlivé na virus žluté zimnice, které v době podání virové kultury nejsou prokazatelně imunní vůči žluté zimnici. Jsou zdravé a nebyly dříve intracerebrálně nebo intraspinálně očkovány. Mimo to nebyly očkovány jinými způsoby neurotrofními viry nebo antigeny příbuznými viru žluté zimnice. Pro každou zkoušku se použije nejméně deset opic.

Použije se zkušební dávka 0,25 ml obsahující množství odpovídající nejméně 5000 myších LD₅₀ a nejvýše 50 000 myších LD₅₀, stanovená titrací infekčního viru a za použití stanoveného vztahu mezi koncentrací viru a myší LD₅₀ (viz Stanovení účinnosti). Zkušební dávka se pod anestézií vstříkne každé opici do frontálního laloku a opice se pozorují nejméně 30 dní.

Virémie (Viscerotropismus). Viscerotropismus je určen množstvím viru obsaženého v séru. Druhý, čtvrtý a šestý den po inokulaci se každé zkoušené opici odebere krev a z každého vzorku se připraví sérum. Z každého séra se připraví ředění 1 : 10, 1 : 100 a 1 : 1000 a každé ředění se naočkuje do skupiny nejméně šesti nádob s buněčnou kulturou používanou ke stanovení virové koncentrace. Inokulum vyhovuje zkoušce, jestliže žádné sérum neobsahuje více než ekvivalent 500 myších LD₅₀ v 0,03 ml a nejvýše jedno sérum obsahuje více než ekvivalent 100 myších LD₅₀ v 0,03 ml.

Imunogenita. Za 30 dní od podání zkušební dávky se každé opici odebere krev a z každého vzorku se připraví sérum. Inokulum vyhovuje zkoušce, jestliže se nejméně 90 % zkoušených opic ukáže jako imunních, což se stanoví vyšetřením jejich séra v dále popsané zkoušce na neutralizaci viru žluté zimnice.

Ukázalo se, že malé ředění séra (např. 1 : 10) může obsahovat nespecifické inhibitory, které ovlivňují tuto zkoušku; takové sérum se upraví, aby se inhibitory odstranily. Alespoň ředění séra 1 : 10, 1 : 40 a 1 : 160 od každé opice se smíchají se stejným objemem kultury vakcinačního viru 17D na ředění, které poskytne nevhodnější počet plaků při použité titrační metodě. Směsi séra s virem se 1 h inkubují ve vodní lázni při 37 °C a pak se ochladí ve vodě s ledem; po 0,2 ml směsi séra s virem se dá na čtyři misky s buněčnou kulturou a postupuje se jako při stanovení koncentrace viru. Podobně se naočkuje deset misek stejným množstvím virové kultury smíchané se stejným objemem zředěného 1 : 10 séra, o němž se ví, že neobsahuje žádné neutralizující protilátky proti viru žluté zimnice. Na konci pozorovací doby se porovná průměrný počet plaků na miskách obsahujících virovou kulturu a neimunní sérum s průměrným počtem plaků na miskách obsahujících virovou kulturu a jednotlivá

4922 *Vaccinum febris flavae vivum*

ředění každého opičího séra. Nejvýše 10 % zkoušených opic má sérum, které při ředění 1 : 10 nestačí snížit počet plaků o 50 %.

Neurotropismus. Neurotropismus se stanoví z klinického pozorování encefalidity, z výskytu klinických manifestací a histologických lézí při srovnání s deseti zvířaty očkovanými srovnávacím přípravkem. Virové inokulum není přijatelné, jestliže počet a trvání febrilních reakcí nebo klinických známek encefalidity a patologické nálezy svědčí o změnách vlastnosti viru.

Klinické hodnocení. Opice se po 30 dní denně vyšetřují personálem dobře obeznámeným s klinickými příznaky encefalidity u primátů (je-li třeba, opice se vyjmou z klecí a vyšetří se na příznaky motorické slabosti nebo křečí). Virové inokulum není přijatelné, jestliže opice po očkování vykazují známky encefalidity, jako je paralýza nebo neschopnost stát po stimulaci, nebo je mortalita vyšší než u referenčního přípravku. Tyto a jiné příznaky encefalidity, jako jsou parézy, nekoordinace, letargie, třes nebo křeče, jsou převedeny do číselných hodnot, aby se síla příznaků mohla vyjádřit postupnou řadou. Každý den se každá opice ohodnotí počtem bodů na základě stupnice:

stupeň 1 - zhrublá srst, nechut' k jídlu,

stupeň 2 - vysoko položený hlas, neaktivní, pomalu se pohybující,

stupeň 3 - rozechvění, třes, nekoordinace, únava končetin,

stupeň 4 - neschopnost vstát, paralýza končetin nebo smrt (mrtvé opice se denně ohodnotí 4 body ode dne úmrtí až do 30. dne).

Klinické hodnocení jednotlivé opice odpovídá průměru denního bodování: klinické hodnocení inokula je součtem bodů jednotlivých opic. Inokulum není přijatelné, jestliže průměr klinického hodnocení u skupin opic naočkovaných tímto inokulem je signifikantně vyšší ($P = 0,95$) než u skupiny opic naočkovaných referenčním přípravkem. Při posuzování přijatelnosti inokula se bere ohled i na jednotlivá zvířata s neobvykle prudkými příznaky.

Histologické hodnocení. Vyšetřuje se těchto pět oblastí mozku:

blok I - corpus striatum v překřížení zrakových nervů,

blok II - thalamus v úrovni mamilárních tělísek,

blok III - mesencephalon v oblasti colliculus superior,

blok IV - most a mozeček v oblasti oliva superior,

blok V - prodloužená mícha a mozeček v oblasti nucleus olivaris acc medialis.

Krční a bederní ztluštění páteřní míchy se každé rozdělí do šesti bloků: 15 μ m řezy z tkáně zalité v parafínu se barví gallocyaninem. Numerické hodnocení každého řezu míchy a struktur v každém řezu mozku je uvedeno níže. Léze jsou hodnoceny následovně:

Stupeň 1 - minimální - 1 až 3 malé ohniskové zánětlivé infiltráty. Degenerace nebo ztráta několika neuronů.

Stupeň 2 - střední - 4 nebo více ohniskových zánětlivých infiltrátů. Degenerace nebo ztráta neuronů postihující nejvýše jednu třetinu buněk.

Stupeň 3 - těžký - střední ohniska nebo difúzní zánětlivé infiltráty. Degenerace nebo ztráta dvou třetin neuronů.

Stupeň 4 - záplava - různé, ale často prudké zánětlivé reakce. Degenerace nebo ztráta více než 90 % neuronů.

Bylo zjištěno, že inokulace vakcíny proti žluté zimnici do opičího mozku způsobuje léze v různých anatomických útvarech centrální nervové soustavy o různé frekvenci a síle (I. S. Levenbook et al., *Journal of Biological Standardization*, 1987, 15, 305-313). Na základě těchto dvou indikátorů se anatomické struktury mohou podle histologického hodnocení zařadit do tří skupin - cílová, chráněná a výběrová. Cílové zóny vykazují silné specifické léze u většiny opic bez ohledu na stupeň neurovirulence inokula. Chráněné zóny vykazují minimální specifické léze u menšiny zvířat. Výběrové zóny vykazují velmi signifikantní nárůst výskytu výrazných specifických lézí v závislosti na stupni neurovi-

rulence inokula. Výběrové a cílové zóny pro opice *Macaca cynomolgus* a *Macaca rhesus* jsou uvedeny v tabulce.

Druh opice	Výběrová zóna	Cílová zóna
<i>Macaca cynomolgus</i>	globus pallidus putamen nuclei medioventrales nuclei laterales	substantia nigra
<i>Macaca rhesus</i>	nucleus caudatus globus pallidus putamen nuclei medioventrales nuclei laterales krční ztlustění lumbální ztlustění	substantia nigra krční ztlustění lumbální ztlustění

Bodové hodnocení výběrové a cílové zóny se použije pro konečné hodnocení inokula. Pro hodnocení jednotlivých opic se sečtou počty reakcí v cílové zóně v každém řezu odděleně podle počtu zkoumaných oblastí. Podobně se vypočítá samostatné hodnocení pro výběrové zóny.

Průměr bodů pro zkoušenou skupinu se vypočítá dvěma způsoby: 1) dělením celkového počtu výběrových zón počtem opic; 2) dělením celkového počtu cílových a výběrových zón počtem opic. Tato dvě hodnocení je možno použít při rozhodování o vhodnosti inokula. Inokulum není možno použít, jestliže počet lézí je signifikantně vyšší ($P = 0,95$) než u skupiny opic inokulovaných referenčním přípravkem.

Pomnožování a sklizeň viru

Všechny práce s kuřecími embryi se provádějí za aseptických podmínek v prostředí, kde se ve stejnou dobu nepracuje s jiným infekčním agens ani s jinými buňkami. Dvě procenta, ale nejméně dvacet embryí a nejvýše padesát embryí se ponechá jako neinfikovaná kontrola embryí. Po inokulaci a inkubaci v kontrolované teplotě se sklízí jen živá a typická embrya. Stáří embrya v době sklizně viru se odhadne z původního vložení vajec do inkubátoru a mělo by být nejvýše 12 dní. Po homogenizaci a vyčeření odstředěním se výtazek z embryonální dřeně zkouší, jak je popsáno dále, a do dalšího zpracování se uchovává při $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo nižší teplotě. Virové sklizně, které vyhoví předepsaným zkouškám, se mohou smíchat. K virové suspenzi se v žádném stupni v průběhu výroby nepřidává žádná lidská bílkovina. Pokud se přidávají stabilizátory, pak prokazatelně nemají na člověka žádné antigenní ani senzibilizující působení.

Pouze jednotlivá sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě konečné várky vakcíny.

Zkouška totožnosti. Jednotlivá sklizeň obsahuje viry, které se prokážou jako virus žluté zimnice v buněčné kultuře neutralizací specifickými protilátkami.

Cizí agens (2.6.16). Jednotlivá sklizeň vyhovuje ve zkouškách na cizí antigeny.

Kontrolní vejce (2.6.16). Kontrolní vejce vyhovují ve zkouškách na cizí antigeny.

Koncentrace viru. Aby se mohlo vypočítat ředění pro konečnou várku vakcíny, zkouší se každá jednotlivá sklizeň způsobem popsaným v odstavci Stanovení účinnosti.

4924 *Vaccinum febris flavae vivum***Konečná várka vakcíny**

Jednotlivé sklizně, které vyhověly výše předepsaným zkouškám, se spojí a znovu čeří. Provede se stanovení bílkovinného dusíku. Může se přidat vhodný stabilizátor a spojené sklizně se vhodně zředí.

Pouze taková konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě šarže.

Bakterie a houby. Provede se zkouška na sterilitu (2.6.1), na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Obsah bílkovinného dusíku. Obsah bílkovinného dusíku před přidáním stabilizátoru je nejvýše 0,25 mg v lidské dávce.

Šarže

Konečná várka vakcíny se asepticky rozplní do sterilních zabezpečených obalů a lyofilizuje se na obsah vlhkosti, která je prokazatelně vhodná pro stabilitu vakcíny. Potom se obaly uzavřou tak, aby se předešlo kontaminaci a vniknutí vlhkosti.

Pouze šarže, která vyhovuje z hlediska tepelné stability a všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení obsahu, se může uvolnit k použití. Pokud byla zkouška na ovalbumin provedena s uspokojivými výsledky v konečné várce vakcíny, může se u šarže vypustit.

Tepelná stabilita. Vzorky šarže lyofilizované vakcíny se inkubují v suchém stavu 14 dní při 37 °C. V inkubované i neinkubované vakcíně se souběžně stanoví koncentrace viru, jak je uvedeno v odstavci Stanovení účinnosti. Rozdíl v koncentraci viru mezi inkubovanou a neinkubovanou vakcínou nepřesáhne 1,0 log₁₀ a koncentrace viru v lidské dávce inkubované vakcíny je nejméně počet jednotek tvořících plaky (PFU), odpovídající 1 x 10³ myších LD₅₀.

Zkouška totožnosti

Když se vakcína rekonstituje podle návodu a smíchá se specifickými protilátkami proti viru žluté zimnice, dojde k signifikantnímu snížení její schopnosti infikovat vnímavé buněčné kultury.

Zkoušky na čistotu

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Ovalbumin. Nejvýše 5 µg ovalbuminu v lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 5 m.j. bakteriálního endotoxinu v lidské dávce.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %.

Stanovení účinnosti

Infekční virus se titruje v buněčných kulturách. K validaci každého stanovení se použije vhodný virový referenční přípravek.

Koncentrace viru je nejméně ekvivalent v PFU 1 x 10³ myších LD₅₀ v lidské dávce. Vztah mezi myší LD₅₀ a PFU si stanoví každá laboratoř a schválí jej oprávněná autorita.

Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum 4925

Ke stanovení myši LD₅₀ se může použít dále uvedená metoda nebo jiný vhodný postup.

Navržená metoda ke stanovení myši LD₅₀.

Myši LD₅₀. Je to statisticky vypočítané množství virové suspenze, u něhož se očekává vyvolání fatální specifické encefalitidy u 50 % myši vysoce vnímavého kmene, 4 až 6 týdnů starých, po intracerebrální inokulaci.

Připraví se vhodné sériové ředění rekonstituované vakcíny v rozpouštědle pro virus žluté zimnice, jako je např. roztok *bovinního albuminu R* (7,5 g/l) v *tlumivém roztoku fosforečnanovém s chloridem sodným o pH 7,4* nebo jiné rozpouštědlo, které prokazatelně odpovídá udržení infekčnosti viru.

Myším vysoce vnímavého kmene, 4 až 6 týdnů starým, se intracerebrálně vstříkne při anestezii 0,03 ml ředění vakcíny. Pro každé ředění se použije skupina o nejméně šesti myších; série ředění se zvolí tak, aby zasahovala od 0 % do 100 % myši mortality. Myši se naočkují ihned po přípravě ředění a pozorují se 21 dní. Všechny úhyny se zaznamenávají. Do výpočtu se zahrnují jenom přežívající myši a úhyny způsobené typickou infekcí žlutou zimnicí. Myši paralyzované dvacátý první den pozorování se počítají jako přežívající.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- kmen viru použitý v přípravku,
- že je vakcína připravena z kuřecích embryí,
- minimální koncentrace viru,
- varování před stykem s dezinfekčními prostředky,
- doba, do které se má vakcína po rekonstituci použít.

Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum

Konjugovaná vakcína proti hemofilům typu b



1999

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek obsahující polysacharid získaný z vhodného kmene *Haemophilus influenzae* typ b, kovalentně vázaný na bílkovinný nosič. Polysacharid polyribosylribitolfosfat, označovaný jako PRP, je lineární kopolymer složený z opakujících se jednotek 3-β-D-ribofuranosyl-(1→1)-ribitol-5-fosfátu [(C₁₀H₁₉O₁₂P)_n] s definovanou molekulovou hmotností. Bílkovinný nosič, je-li konjugován s PRP, je schopen navodit na B-lymfocytech závislou imunitní odpověď na tento polysacharid.

Vakcína vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum*.

4926 *Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum***Výroba****Všeobecná ustanovení**

Výrobní proces má prokazatelně poskytovat stále stejné vakcíny, které jsou dostatečně imunogenní a neškodné. Výroba PRP a nosiče je založena na systému jednotné inokulace.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Stabilita šarže a odpovídajících meziproductů se hodnotí jednou nebo více vybranými zkouškami. Tyto zkoušky mohou zahrnovat stanovení velikosti molekul, stanovení volného PRP v konjugátu a stanovení imunogenity u myši. Na základě výsledků stabilitních zkoušek se vytyčí pro tyto zkoušky požadavky na propuštění, aby se zajistilo, že vakcína bude na konci doby platnosti ještě uspokojivá.

Bakteriální inokula

Barvením podle Grama a inokulací na vhodné půdy se prokáže, že matečné inokulum *H.influenzae* typu b neobsahuje kontaminující látky. Několik zorných polí se při velkém zvětšení vyšetří tak, aby bylo prohlédnuto nejméně 10 000 mikroorganismů.

Polysacharid *H. influenzae* typu b (PRP)

H.influenzae typu b se pěstuje v tekuté půdě, která neobsahuje vysokomolekulární polysacharidy; jestliže některá složka půdy obsahuje krevní substance, postup se validuje, aby se dokázalo, že po purifikačních krocích nejsou tyto substance dále detekovatelné. Bakteriální čistota kultury se prokazuje vhodnými metodami. Kultura může být inaktivovaná. PRP je separován z tekuté kultury a purifikován vhodnou metodou. Těkavé látky včetně vody se v purifikovaném polysacharidu stanoví vhodnou metodou, jako je termogravimetrie (2.2.34); výsledek se použije k přepočtu výsledků jiných zkoušek na vysušenou látku, jak je popsáno dále.

Pouze PRP, který vyhoví následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konjugátu.

Totožnost. PRP se dokáže imunochemickou metodou (2.7.1) nebo jinou vhodnou metodou.

Distribuce molekulové velikosti. Procento PRP vymývané před danou hodnotou K_D nebo v rozsahu hodnot K_D se stanoví vylučovací chromatografií (2.2.30). Přijatelná hodnota je stanovena pro jednotlivé přípravky a každá šarže PRP prokazatelně vyhovuje této hodnotě. Pro informaci jsou v tabulce uvedeny limity pro schvalované výrobky za použití uvedených stacionárních fází. Kde je to vhodné, stanoví se distribuce velikosti molekul po chemické modifikaci polysacharidu.

Validované stanovení stupně polymerizace nebo váženého průměru hmotností molekul a disperze molekulových hmotností se mohou použít místo stanovení distribuce molekulové velikosti.

Ribosa (2.5.31). Nejméně 32 %, počítáno na vysušenou látku.

Fosfor (2.5.18). 6,8 % až 9,0 %, počítáno na vysušenou látku.

Bílkoviny (2.5.16). Nejvýše 1,0 %, počítáno na vysušenou látku. K detekci 1 % bílkoviny se použije dostatečné množství PRP.

Nukleová kyselina (2.5.17). Nejvýše 1,0 %, počítáno na vysušenou látku.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 25 m.j. endotoxinu v mikrogramu PRP.

Zbytkové látky. Kde je to vhodné, provádějí se zkoušky na stanovení zbytkových látek použitých při inaktivaci a purifikaci. Přijatelná hodnota pro každou látku je stanovena pro jednotlivý přípravek a každá šarže PRP prokazatelně vyhovuje limitu. Jestliže validační studie prokázaly odstranění zbytkových látek, zkouška u PRP se může vypustit.

Bílkovinný nosič

Bílkovinný nosič je vybrán tak, aby po konjugaci s PRP byl schopen indukovat imunitní odpověď závislou na T-lymfocytech. Povolené nosiče a konjugační metody jsou uvedeny v tabulce 1.

Bílkovinný nosič je produkován v kultuře vhodných mikroorganismů, ověřené na bakteriální čistotu. Kultura může být inaktivovaná; bílkovinný nosič je purifikován vhodnou metodou. Pouze bílkovinný nosič, který vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k výrobě konjugátu.

Totožnost. Zkouška totožnosti se provede vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

4928 *Vaccinum haemophilii stirpe b conjugatum***Tab. 1.** Charakteristiky přípravku a specifikace pro PRP a bílkovinný nosič u běžně schválených přípravků

Nosič			Haemofilový polysacharid		Konjugace	
Typ	Čistota	Množství na dávku	Typ PRP	Množství na dávku	Metoda spojování	Postup
Difterický toxoid	> 1500 Lf na mg dusíku	18 µg	Polysacharid (redukována velikost) K_D : 0,6 - 0,7 použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i>	25 µg	Aktivace PRP bromkyanem	Aktivovaný difterický toxoid (D-AH ⁺), bromkyanem aktivovaný PRP, konjugovaná vakcína
Tetanický toxoid	> 1500 Lf na mg dusíku	20 µg	Polysacharid $\geq 50\%$ $\leq K_D$: 0,30 použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i>	10 µg	Zprostředkovatně karbodiimidem	ADH - aktivovaný PRP (PRP-cov.-AH) + konc. tetanický protein + EDAC-konjugovaná vakcína
CRM 197 difterická bílkovina	> 90 % difterické bílkoviny	25 µg	Polysacharid (redukována velikost) $D_p = 15 - 35$ nebo $10 - 35$	10 µg	Reduktivní aminace (jednostupňová metoda) nebo N-hydro-xysukcinimidová aktivace	Přímé navázání oligosacharidu na CRM 197 (aktivované trihydridokyanoboritanem)
Komplex bílkovin vnější membrány meningokoka skupiny B (OMP)	Bílkoviny vnější membrány; $\leq 8\%$ lipopolysacharidu	250 µg	Polysacharid (redukována velikost) $K_D > 0,6$ použije se <i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i> nebo $M_w > 50 \cdot 10^3$	15 µg	Thioetherová vazba	PRP aktivovaný CDI PRP-IM + BuA2 + BrAc = PRP-BuA2-BrAc + thioaktivovaný OMP konjugovaná vakcína

Vysvětlivky:

- ADH - dihydrazid kyseliny adipové
 BrAc - bromacetylchlorid
 BuA2 - butan-1,4-diamid
 CDI - karbonyldiimidazol
 Dp - stupeň polymerizace
 EDAC - 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)karbodiimid
 M_w - vážený průměr molekulové hmotnosti
 IM - imidazolium

Sterilita (2.6.1). Na každou půdu se inokuluje 10 ml nebo ekvivalent 100 dávek, podle toho, co je méně.

Difterický toxoid. Difterický toxoid se vyrábí tak, jak je popsáno v článku *Vaccinum diphtheriae adsorbatum* a vyhovuje požadavkům předepsaným pro várku purifikovaného toxoidu.

Tetanický toxoid. Tetanický toxoid se vyrábí tak, jak je popsáno v článku *Vaccinum tetanicum adsorbatum* a vyhovuje požadavkům předepsaným pro várku purifikovaného toxoidu vyjma antigenní čistoty; nejméně 1500 Lf na miligram bílkovinného dusíku.

Difterický protein CRM 197. Obsahuje nejméně 90 % difterického CRM 197 proteinu, stanoveného vhodnou metodou. Provádějí se vhodné zkoušky buď pro validaci, nebo běžně, aby se prokázalo, že přípravek není toxický.

OMP (komplex bílkovin vnější membrány meningokoka skupiny B). OMP vyhovuje následujícím požadavkům pro lipopolysacharidy a pyrogenní látky.

Lipopolysacharidy. Nejvýše 8 % lipopolysacharidů, stanoveny vhodnou metodou.

Pyrogenní látky (2.6.8). Každému králíkovi se na kilogram živé hmotnosti vstříkne 0,25 µg OMP.

Várka konjugátu

PRP je chemicky modifikován k umožnění konjugace: obvykle je částečně depolymerizován před nebo během tohoto procesu. Před konjugací mohou být do bílkovinného nosiče nebo PRP zavedeny reaktivní funkční skupiny nebo vazebné můstky (spacery). Konjugát se získá kovalentní vazbou PRP a nosiče. Kde je to vhodné, nezreagované funkční skupiny se schopností potenciálně reagovat se blokují vhodnými krycími činidly.

Pouze várka konjugátu, která vyhovuje následujícím předpisům, se může použít k přípravě konečné várky vakcíny. Pro každou zkoušku a každou částečnou složku jsou stanoveny limity přijatelnosti a každá šarže konjugátu prokazatelně vyhoví těmto limitům. Limity jsou uvedeny v tabulce 2. Pro lyofilizovanou vakcínu mohou být některé ze zkoušek provedeny spíše v konečné šarži než ve várce konjugátu, neboť lyofilizační postup může ovlivnit zkoušenou složku.

PRP. Obsah PRP se určí ze stanovení fosforu (2.5.18) nebo ze stanovení ribosy (2.5.31) nebo některou imunochemickou metodou (2.7.1).

Bílkoviny. Obsah bílkovin se stanoví vhodnou imunochemickou metodou např. (2.5.16).

Poměr PRP k bílkovinám. Poměr se stanoví výpočtem.

Distribuce velikosti molekul. Distribuce velikosti molekul se stanoví vylučovací chromatografií (2.2.30).

Volný PRP. Nenavázaný PRP se stanoví po odstranění z konjugátu, například vylučovací chromatografií nebo hydrofobní chromatografií, ultrafiltrací nebo jinou validovanou metodou.

Volný bílkovinný nosič. Stanoví se vhodnou metodou (která může zahrnovat odvození obsahu výpočtem z výsledků ostatních zkoušek). Množství odpovídá rozmezí stanovenému pro jednotlivý přípravek.

Nezreagované funkční skupiny. Žádné nezreagované funkční skupiny nelze ve várce konjugátu detegovat, jestliže postup validace neprokázal, že nezreagované funkční skupiny detegovatelné v tomto stadiu se odstraní při následujících výrobních krocích (např. vzhledem ke krátkému poločas).

4930 *Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum*

Zbytkové látky. Odstranění zbytků látek, jako jsou kyanid, EDAC (ethydimethylaminopropylar-bodiimid) a fenol, se prokáže vhodnými zkouškami nebo validací výrobního postupu.

Sterilita (2.6.1). Provede se zkouška, při níž se na každou půdu použije 10 ml nebo ekvivalent 100 dávek, podle toho, co je méně.

Tab. 2. Požadavky na várku konjugátu pro běžně schválené přípravky

Zkouška	Bílkovinný nosič			
	Difterický toxoid	Tetanický toxoid	CRM 197	OMP
Volný PRP	< 37 %	< 20 %	< 25 %	< 15 %
Volná bílkovina	< 4 %	< 1 %, je-li prováděno	< 1 % nebo < 2 %, záleží na použité metodě spojení	neprovádí se
Poměr PRP k bílkovinám:	1,25 - 1,8	0,3 - 0,55	0,3 - 0,7	0,05 - 0,1
Molekulová velikost (K_D)				
<i>agarosa síťovaná pro chromatografii R</i>	95 % < 0,75	60 % < 0,2	50 % 0,3 - 0,6	85 % < 0,3
<i>agarosa síťovaná pro chromatografii R1</i>	0,6 - 0,7	85 % < 0,5		

Konečná várka vakcíny

K várce konjugátu se před ředěním na konečnou koncentraci vhodným rozpouštědlem může přidat adjuvans, protimikrobní konzervační látka a stabilizátor. Pouze konečná várka, která vyhovuje následujícím požadavkům, může být použita pro přípravu konečné šarže.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li to vhodné, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu, při níž se na každou půdu použije 10 ml.

Šarže

Pouze šarže, která vyhovuje každému z dále uvedených požadavků na Totožnost, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti, může být uvolněna pro použití.

Provedení zkoušky na protimikrobní konzervační látky a u tekutých vakcín stanovení účinnosti v konečné várce vakcíny umožňují vynechat tyto zkoušky v šarži.

Hodnota pH (2.2.3). pH vakcíny, je-li třeba, rekonstituované, je v rozmezí schváleném pro přípravek.

Zkouška totožnosti

Totožnost vakcíny je prokázána vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) pro PRP nebo stanovení účinnosti slouží také jako zkouška totožnosti.

Zkoušky na čistotu

Obsah PRP. Nejméně 80 % deklarovaného množství PRP se stanoví buď jako obsah ribosy (2.5.31), nebo fosforu (2.5.18), nebo vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Hliník. Je-li jako adsorbent použit hydroxid hlinitý, vakcína vyhovuje ve zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Protimikrobní konzervační látky. Kde je to vhodné, stanoví se množství protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Obsahuje nejnižší prokazatelné účinné množství a nejvýše 115 % množství uvedeného na obalu.

Voda (2.5.12). U lyofilizovaných vakcín je obsah vody nejvýše 3 %.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Pyrogenní látky (2.6.8). Vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky. Na 1 kg hmotnosti králíka se vstříkne nitrožilně následující množství: 1 µg PRP v případě vakcíny s difterickým toxoidem nebo CRM 197 difterickým proteinem jako nosičem; 0,1 µg PRP v případě vakcíny s tetanickým toxoidem jako nosičem; 0,025 µg PRP v případě vakcíny s OMP jako nosičem.

Stanovení účinnosti

Pokud není předepsáno a schváleno jinak, provede se vhodná zkouška imunogenity na myších k průkazu schopnosti indukovat imunitní odpověď závislou na T-lymfocytech. Následující text se uvádí jako příklad zkoušky, která se může používat po validaci.

Použijí se dvě skupiny zdravých myší 6 až 8 týdnů starých z jednoho chovu, nejméně po 8 zvířatech. Myším jedné skupiny se vstříkne ve dnech 0 a 14 podkožně vhodné množství vakcíny. Druhá skupina zůstává jako kontrolní. Ve 21. den se zvířata vykrvácejí. Séra kontrolní skupiny se smíchají. Provede se zkouška na PRP-protilátky v jednotlivých sérech imunizované skupiny a ve směsném vzorku kontrolní skupiny. Použije se vhodná imunochemická metoda, např. ELISA pro IgG (2.7.1). Nejméně polovina očkovaných myší vykazuje sérokonverzi, tj. titr protilátek je nejméně 4x vyšší než ve směsném kontrolním séru.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- počet mikrogramů PRP v lidské dávce,
- typ a nominální množství bílkovinného nosiče v jedné lidské dávce.

4932 *Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum*

Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum



Inaktivovaná vakcína proti hepatitidě A adsorbovaná

1998

Je to tekutý přípravek z vhodného kmene viru hepatitidy A pomnoženého v buněčných kulturách, inaktivovaného validovanou metodou a adsorbovaného na minerální nosič. Vakcína je opalescentní suspenze.

Vakcína vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum*.

Výroba

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace a na systému buněčné banky. Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodou vakcínu, která vyhovuje požadavkům na imunogenitu, neškodnost a stabilitu.

Výrobní metoda se validuje, aby se prokázalo, že přípravek, bude-li zkoušen, vyhoví zkoušce neškodnosti pro imunní séra a humánní vakcíny (2.6.9).

Pokud není doloženo a schváleno jinak, virus v konečném přípravku neprojde více pasážemi z matečného inokula než virus použitý k přípravě vakcíny, která vyhověla v klinických studiích z hlediska neškodnosti a účinnosti.

Referenční přípravek. Část šarže, která byla prokazatelně nejméně tak imunogenní jako šarže, jež v klinické studii na mladých zdravých dospělých vykazovala nejméně 95% sérokonverzi, odpovídající hladině neutralizačních protilátek považované za ochrannou po úplné primární imunizaci, se používá jako referenční přípravek. Jako ochranná hladina protilátek se uznává 0,02 m.j./ml, stanoveno metodou ELISA.

Substrát pro pomnožování viru

Virus se pomnožuje v linii lidských diploidních buněk (5.2.3) nebo v kontinuální linii buněk schválené oprávněnou autoritou.

Inokula

Kmen viru hepatitidy A, který se používá k přípravě matečného inokula, se identifikuje vývojovými záznamy, které obsahují informace o původu kmene a o následné manipulaci s ním.

Pouze inokulum, které odpovídá následujícím požadavkům, se může použít pro pomnožování viru.

Zkouška totožnosti. Každé matečné a pracovní inokulum viru se identifikuje jako virus hepatitidy A pomocí specifických protilátek.

Koncentrace viru. Ke sledování pravidelnosti výroby se stanoví koncentrace viru v každém matečném a pracovním inokulu.

Cizí agens. Matečná a pracovní inokula vyhovují požadavkům na inokula pro virové vakcíny (2.6.16). Jestliže byla pro izolaci virového kmene použita kultura primárních opičích buněk, provedou se navíc opatření, aby se zajistilo, že kmen není kontaminován opičími viry, jako jsou virus opičí imunodeficiency a filoviry.

Pomnožování viru a sklizeň

Veškeré činnosti s buněčnou bankou a následnými buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek v prostorách, kde nejsou zpracovávány jiné buňky. Při přípravě média pro kultivaci buněk se používá schválené sérum živočišného (nikoli lidského) původu. Sérum a trypsin používané při přípravě buněčné suspenze a médií jsou prokazatelně prosty cizích agens. Médium pro kultivaci buněk může obsahovat indikátor pH, jako je fenolová červeň, a schválená antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Nejméně 500 ml buněčných kultur použitých pro výrobu vakcíny se ponechá jako neinfikované buněčné kultury (kontrolní buňky). Několikanásobné sklizně z téže buněčné produkční kultury se mohou spojit a považovat za jednotlivou sklizeň.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít k přípravě vakcíny. Jestliže stanovení poměru virové koncentrace k obsahu antigenu provedené na vhodném počtu sklizní prokazuje pravidelnost výroby, může se tato zkouška následně vypustit při běžné kontrole.

Zkouška totožnosti. Zkouška na obsah antigenu slouží také jako zkouška totožnosti jednotlivé sklizně.

Bakterie a houby (2.6.1). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Mykoplazmata (2.6.7). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na mykoplazmata; na každou půdu se použije 1 ml.

Kontrolní buňky. Kontrolní buňky z kultur produkčních buněk vyhovují zkoušce totožnosti a požadavkům na cizí agens (2.6.16).

Obsah antigenu. Stanoví se obsah antigenu hepatitidy A vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) ke sledování pravidelnosti výroby; obsah je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

Poměr koncentrace viru k obsahu antigenu. Stálost poměru koncentrace infekčního viru, stanoveného vhodnou metodou na buněčné kultuře, k obsahu antigenu je stanoven validací na vhodném počtu jednotlivých sklizní.

Purifikace a purifikovaná sklizeň

Sklizeň, která může být spojením několika jednotlivých sklizní, se purifikuje validovanými metodami. Jsou-li pro pomnožení viru použity kontinuální buněčné linie, purifikační proces prokazatelně zahrnuje také snížení hladiny DNK hostitelských buněk.

Pouze purifikovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, může být použita k přípravě inaktivované sklizně.

Koncentrace viru. Koncentrace infekčního viru v purifikované sklizni se stanoví na vhodné tkáňové kultuře ke sledování pravidelnosti výroby a jako počáteční bod pro sledování inaktivační křivky.

Poměr antigenu k celkové bílkovině. Stanoví se obsah antigenu viru hepatitidy A vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Stanoví se obsah celkové bílkoviny validovanou metodou. Poměr obsahu antigenu viru hepatitidy A k obsahu celkové bílkoviny je v rozmezí schváleném pro jednotlivý přípravek.

4934 *Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum*

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v ekvivalentu jedné lidské dávky, stanoveno vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Jestliže to dovolí výrobní proces, lze použít jiné vhodné bílkovinné markery k průkazu účinné purifikace.

Zbytková DNK hostitelských buněk. Je-li pro pomnožení viru použita kontinuální buněčná linie, obsah zbytkové DNK hostitelských buněk, stanovený vhodnou imunochemickou metodou, jak je popsáno v článku *Producta ab ADN recombinante*, je nejvýše 100 pg v ekvivalentu jedné lidské dávky.

Zbytky chemikálií. Pokud se při purifikačních postupech používají chemické látky, provedou se na purifikované sklizni (nebo na inaktivované sklizni) zkoušky na tyto látky, pokud validace postupu neprokáže úplné odstranění. Koncentrace nepřesahuje rozmezí schválené pro jednotlivý přípravek.

Inaktivace a inaktivovaná sklizeň

Několik purifikovaných sklizní se před inaktivací může spojit. K zamezení interference v inaktivačním procesu se předchází tvorbě virových agregátů nebo se virové agregáty odstraňují bezprostředně před nebo během inaktivačního postupu. Virová suspenze se inaktivuje validovanou metodou; metoda je prokazatelně schopna stejnoměrně inaktivovat virus hepatitidy A bez poškození antigenní a imunogenní aktivity; součástí validační studie je inaktivační křivka, reprezentující koncentraci zbytkového živého viru, měřenou nejméně třikrát (např. ve dni 0, 1 a 2 inaktivačního postupu). Při použití formaldehydu k inaktivaci se zbytky volného formaldehydu stanoví na konci inaktivačního procesu.

Pouze inaktivovaná sklizeň, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

Inaktivace. Proveďte se pomnožovací zkouška na přítomnost zbytků infekčního viru hepatitidy A inokulací určitého množství inaktivované sklizně. Toto množství odpovídá 5 % šarže, ale nejvýše 1500 dávek vakcíny. Inokuluje se do buněčných kultur téhož typu, který byl použit pro přípravu vakcíny, a inkubace probíhá 28 dní. Po dvou pasážích se provede zkouška vhodné citlivosti na přítomnost zbytkového infekčního viru. Ve vzorcích odebraných na konci inaktivace se nenaleznou známky pomnožení viru hepatitidy A. Jako pozitivní kontrola se souběžně použije infekční virus k prokázání vnímavosti buněk a nepřítomnosti interference.

Sterilita (2.6.1). Inaktivovaná virová sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Jestliže se v konečném výrobku nemůže provést validní test na bakteriální endotoxiny, např. pro přítomnost adjuvans, provede se zkouška v inaktivované sklizni. Obsahuje nejvýše 2 m.j. endotoxinu v ekvivalentu jedné lidské dávky.

Obsah antigenu. Vhodnou imunochemickou metodou se stanoví obsah antigenu viru hepatitidy A (2.7.1).

Zbytky chemikálií. Viz odstavec Purifikace a purifikovaná sklizeň.

Konečná várka vakcíny

Konečná várka vakcíny se připraví z jedné nebo více inaktivovaných sklizní. Mohou se přidat schválená adjuvans, stabilizátory a protimikrobní konzervační látky.

Pouze taková konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě šarže.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vakcíny vyhovuje ve zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Protimikrobní konzervační látky. Při jejich použití se stanoví množství protimikrobních konzervačních látek vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Stanovené množství je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

Šarže

Konečná várka vakcíny se asepticky rozplní do sterilních obalů. Obaly se potom uzavřou tak, aby se předešlo kontaminaci.

Pouze šarže, která vyhovuje všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti, se může uvolnit k použití. Za předpokladu, že zkouška na volný formaldehyd (přichází-li v úvahu) a stanovení obsahu protimikrobních konzervačních látek (přichází-li v úvahu) a stanovení účinnosti byly provedeny v konečné várce vakcín s vyhovujícími výsledky, lze je u šarže vypustit.

Zkouška totožnosti

Obsah antigenu viru hepatitidy A ve vakcíně se prokáže vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) za použití specifických protilátek nebo zkouškou imunogenity na myších, popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkoušky na čistotu

Hliník. Jestliže byl použit jako adsorbent hydratovaný fosforečnan hlinitý nebo hydroxid hlinitý, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Volný formaldehyd. Při použití formaldehydu k inaktivaci vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Protimikrobní konzervační látky. Při jejich použití se stanoví jejich množství vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Množství není nižší než nejnižší prokazatelně účinné množství a vyšší než 115 % množství uvedeného v označení.

Sterilita (2.6.1). Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti

Účinnost vakcíny se stanoví buď porovnáním množství nezbytného k vytvoření specifických protilátek u myši s množstvím referenčního přípravku potřebným k vyvolání téhož účinku, nebo se provede validované stanovení obsahu antigenu *in vitro*.

Dále uvedená zkouška na myších je příkladem metody, která byla shledána vhodnou pro danou vakcínu; mohou se použít i jiné validované metody.

Výběr a rozdělení zkoušených zvířat. Použijí se zdravé myši z jednoho chovu, staré 5 týdnů a prokazatelně vhodného kmene. Používají se zvířata téhož pohlaví. Zvířata se rozdělí do nejméně sedmi stejných skupin o počtech vhodných pro požadavky zkoušky.

4936 *Vaccinum hepatitis viralis anatis vivum*

Stanovení účinnosti zkoušené vakcíny. K ředění se použije roztok *chloridu sodného R* (9 g/l) obsahující hliníkové adjuvans použité pro vakcínu. Připraví se nejméně tři ředění zkoušené vakcíny a referenčního přípravku. Každému zvířeti ve skupině se subkutánně vstříkne nejvýše 1,0 ml ředění určeného pro skupinu. Kontrolní skupině neočkovaných zvířat se subkutánně vstříkne stejné množství výše uvedeného roztoku k ředění. Po 28 až 32 dnech se zvířatům podá anestezie, vykrvácejí se a jednotlivá séra se zpracují odděleně. V jednotlivých sérech se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) stanoví obsah specifických protilátek proti hepatitidě A (2.7.1).

Výpočet. Výpočet se provede obvyklými statistickými metodami pro zkoušky s kvantitativní odpovědí (např. 5.3 *Statistické hodnocení výsledků biologických zkoušek, sekce 4*).

Podle rozložení reakčních hladin naměřených ve všech sérech nevakcinované skupiny se stanoví maximální reakční hladina, kterou lze nalézt u nevakcinovaných zvířat pro tuto zvláštní zkoušku. Odpověď ve vakcinovaných skupinách, která přesahuje tuto hladinu, je definována jako sérokonverze.

Provede se vhodná transformace na procentové vyjádření zvířat vykazujících sérokonverzi v každé skupině (např. probitová transformace) a provede se analýza dat podle rovnoběžného modelu log dávky - odpověď. Stanoví se účinnost zkoušeného přípravku ve vztahu k referenčnímu přípravku.

Validační podmínky. Zkoušku lze hodnotit jestliže:

- pro zkoušenou i referenční vakcínu leží ED₅₀ mezi nejnižší a nejvyšší dávkou podanou zvířatům,
- statistická analýza nevykazuje signifikantní odchylku od linearitu nebo rovnoběžnosti,
- předpokládané limity odhadované relativní účinnosti leží mezi 33 % a 300 % stanovené účinnosti.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede biologický původ buněk a adjuvans použité pro přípravu vakcíny.

Vaccinum hepatitis viralis anatis vivum

Živá vakcína proti infekčnímu zánětu jater kachen



1999

Je to přípravek z vhodného kmene viru 1 infekčního zánětu jater kachen.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Kmen viru užívaného k výrobě se pomnožuje v alantoidní dutině kuřecích embryí pocházejících z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) nebo ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4). Virová suspenze se sklídí, smíchá se s vhodným stabilizujícím roztokem a může se lyofilizovat.

Výběr vakcinačního kmene

Vakcinační kmen je prokazatelně postačující z hlediska bezpečnosti (5.2.6) nevratnosti virulence a imunogenity (5.2.7) pro ptáky, kterým je určen. K důkazu bezpečnosti a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provede všemi zamýšlenými způsoby podání. Pro každou zkoušku se použije nejméně dvacet vnímavých jednodenních kachňat, která nemají protilátky proti viru 1 infekčního zánětu jater kachen. Každému kachněti se podá nejméně desetinasobek nejvyššího možného titru viru, který může být obsažen v jedné dávce vakcíny. Zvířata se pozorují 21 dní. Vakcinační virus je vyhovující, jestliže žádné kachně nevykazuje nápadné příznaky onemocnění ani neuhyne z příčin, jež bylo možné přisoudit vakcinačnímu viru.

Návratnost virulence. Každému z pěti jednodenních domácích kachňat, která nemají protilátky proti viru 1 infekčního zánětu jater kachen, se oronazálně podá takové množství vakcinačního viru, které je v nejvyšší míře možné získat nazpět níže popsanou pasáží. Za 2 až 4 dny se z každého kachněte odeberou vzorky jater a připraví se směsný vzorek. Každému z dalších pěti sérologicky negativních domácích kachňat stejného stáří se oronazálně podá 1 ml směsné suspenze jater. Tento postup se opakuje pětkrát. V každé pasáži se ověřuje přítomnost viru. Jestliže se v některé úrovni pasáže virus nezjistí, provede se druhá série pasáží. Kachňata poslední pasáže se pozorují 21 dní. Vakcinační virus je vyhovující, jestliže není zjištěn náznak vzestupu virulence v nejvyšší pasáži ve srovnání s nepasážovaným virem. Pokud virus není zjištěn v jedné sérii pasáží, vakcinační virus je vyhovující, jestliže není zjištěn náznak vzestupu virulence v nejvyšší pasáži, ve které byl virus získán nazpět. Pokud se objeví náznak návratu virulence během pasáží, vydá se pro užití vakcíny doporučení varující před přenosem vakcinačního viru na vnímavá kachňata.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity.

Zkoušení šarže

Jestliže zkouška na viry ptačí leukózy a zkoušky na cizí viry užívající buněčné kultury a užívající oplozená vejce vykázaly vyhovující výsledky s reprezentativní šarží vakcíny, mohou se při běžné kontrole jiných šarží vakcíny připravených ze stejného inokula tyto zkoušky se souhlasem oprávněné autority vypustit.

Zkouška totožnosti

Vakcína, je-li třeba, ředěná a neutralizovaná monospecifickým sérem, již neinfikuje buněčné kultury ani alantoidní dutiny kuřecích embryí pocházejících z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2), do nichž byla naočkována.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Použije se nejméně deset jednodenních domácích kachňat bez protilátek proti viru 1 infekčního zánětu jater kachen. Každému kachněti se předepsaným způsobem podá deset dávek vakcíny a pozorují se 21 dní. Zkoušku lze hodnotit, jestliže během pozorovací doby neuhynou více než dvě kachňata z důvodů, které nejsou způsobeny vakcínou. Vakcína vyhovuje, jestliže žádné kachně nevykazuje nadměrné klinické příznaky onemocnění a není zaznamenán úhyn, jež by bylo možno připsat vakcíně.

4938 *Vaccinum hepatitis viralis anatis vivum*

Bakterie a houby. Vakcína i rozpouštědlo vyhovují zkoušce na sterilitu podle článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7). Vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Viry ptačí leukózy (2.6.4). Vakcína, je-li třeba, ředěná a neutralizovaná monospecifickým sérem, vyhovuje zkoušce na viry ptačí leukózy.

Cizí viry při použití buněčných kultur (2.6.5). Vakcína, je-li třeba, ředěná a neutralizovaná monospecifickým sérem, vyhovuje zkoušce na cizí viry při použití buněčných kultur.

Cizí antigeny při použití kuřat (2.6.6). Vakcína vyhovuje zkoušce na cizí antigeny při použití kuřat. Rovněž se provede se sérem vakcinovaných kuřat zkouška pomocí fluorescenční protilátky nebo enzymově imunisorbentové stanovení (ELISA) na virus ptačí retikuloendoteliózy.

Cizí viry na kuřecích embryích (2.6.3). Vakcína, je-li třeba, ředěná a neutralizovaná monospecifickým sérem, vyhovuje zkoušce na cizí viry na kuřecích embryích.

Titru viru. Titrace vakcín se provádí očkováním do alantoidního vaku devíti- až jedenáctidenních kuřecích embryí nebo na vhodné buněčné kultury. Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které je jako nejmenší možné uvedeno v návodu.

Stanovení účinnosti

a) Pasivní imunizace vakcinací chovných kachen. Použije se nejméně deset nesoucích chovných kachen domácích stejného původu, které nemají protilátky proti viru I infekčního zánětu jater kachen. Nejméně pět kachen se vakcinuje podle návodu k použití. Nejméně pět kachen slouží jako kontrola. Namátkově se odebere nejméně dvacet čerstvě vylíhlých kachňat od nevakcinovaných kachen. Všechna kachňata se oronazálně čelenžují v sedmi dnech stáří dostatečným množstvím virulentního viru I infekčního zánětu jater kachen. Kachňata se pozorují 14 dní po čelenži. Zkoušku lze hodnotit, jestliže uhynie nejméně 90 % potomstva nevakcinovaných kachen. Vakcína vyhovuje, jestliže nejméně 80 % procent čelenžovaného potomstva vakcinovaných kachen přežívá a nemá příznaky onemocnění.

b) Aktivní imunizace domácích kachňat. Použije se nejméně třicet domácích kachňat stejného původu, která nemají protilátky proti viru I infekčního zánětu jater kachen. Vakcinuje se nejméně dvacet kachňat podle návodu k použití. Nejméně deset kachňat slouží jako kontrola. Za 5 dní po vakcinaci se čelenžují všechna kachňata oronazálně dostatečným množstvím virulentního viru I infekčního zánětu jater kachen. Kachňata se pozorují 14 dní po čelenži. Zkoušku lze hodnotit, jestliže uhynie nejméně 90 % kontrolních kachňat. Vakcína vyhovuje, jestliže nejméně 80 % vakcinovaných kachňat přežívá a nemá příznaky onemocnění.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Pokud se u vakcinačního viru objeví náznak návratu virulence, v návodu k použití se uvede takové opatření, které zabrání šíření virulentního viru na nevakcinovaná kachňata.

Vaccinum influenzae equi inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti chřipce koní

1998



Je to přípravek z jednoho nebo více vhodných kmenů virů chřipky koní, inaktivovaných takovým způsobem, aby se zachovala imunogenní účinnost. Vhodné jsou kmeny, které obsahují hemaglutinin a neuraminidázu.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Každý kmen viru se pomnoží odděleně v kuřecích embryích pocházejících ze zdravého chovu nebo ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4). Virové suspenze se mohou purifikovat a koncentrovat. Obsah antigenu ve vakcíně se zakládá na obsahu hemaglutininu, jehož obsah ve virové suspenzi se stanovuje způsobem popsaným v odstavci Mezioperační zkoušky. Množství hemaglutininu u každého kmene není menší než množství ve vakcíně, která vykazala vyhovující výsledek ve zkoušce účinnosti.

Zkouška na zbytkovou infekčnost viru chřipky se provede buď metodou A, nebo metodou B, podle toho, která z nich je citlivější. Množství použitého inaktivovaného viru odpovídá nejméně deseti dávkám vakcíny.

- A.** Vakcína se očkuje na vhodné buňky. Po osmidenní inkubaci se provede přeočkování. Inkubuje se dalších 6 až 8 dnů. Odebere se 0,1 ml supernatantu a hemaglutinační zkouškou se ověřuje přítomnost živého viru. Jestliže byla zjištěna hemaglutinace, provede se další pasáž na buněčné kultuře a zkouška hemaglutinace. Nesmí být zjištěna hemaglutinace.
- B.** Do alantoidní dutiny každého z deseti kuřecích embryí se očkuje 0,2 ml vakcíny. Inkubuje se 3 až 4 dny při 33 °C až 37 °C. Zkoušku lze hodnotit, pokud přežije nejméně osm z deseti embryí. Z každého živého embrya se odebere 0,5 ml alantoidní tekutiny a vytvoří se směs. Do dalších deseti kuřecích embryí se očkuje po 0,2 ml směsné alantoidní tekutiny a inkubují se 3 až 4 dny při 33 °C až 37 °C. Zkoušku lze hodnotit, pokud přežije nejméně osm z deseti embryí. Z každého živého embrya se odebere 0,1 ml alantoidní tekutiny a každý jednotlivý odběr se vyšetří na živý virus hemaglutinační zkouškou. Jestliže byla zjištěna hemaglutinace u některého vzorku alantoidní tekutiny, provede se další pasáž této alantoidní tekutiny na kuřecích embryích a zkouška hemaglutinace. Nesmí být zjištěna hemaglutinace. Vakcína může obsahovat vhodné adjuvans.

Výběr složení vakcíny

Výběr kmenů použitých k přípravě vakcíny vychází z epidemiologické situace.

O.I.E. (Mezinárodní úřad pro nákazy zvířat) pravidelně kontroluje epidemiologické údaje, a je-li třeba, doporučuje nové odpovídající kmeny, které převažují při epidemiologických zjištěních. Tyto kmeny jsou použity v souladu se směrnicí a v působnosti států, které podepsaly Úmluvu o vypracování Evropského lékopisu.

Vakcína prokazatelně odpovídá z hlediska bezpečnosti a imunogenity na koních. Pokud je o nějakém plemenu koní známo, že je zvláště citlivé na tuto vakcínu, jsou do zkoušek bezpečnosti

4940 *Vaccinum influenzae equi inactivatum*

zahrnuti také koně z tohoto plemene. K prokázání bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provádí všemi doporučenými způsoby na takové kategorii zvířat, pro kterou je vakcína určena.

Nejméně deseti zvířatům se předepsaným způsobem vstříknou dvě dávky vakcíny. Po čtrnácti dnech se každému zvířeti podá jedna dávka vakcíny. Zvířata se pozorují dalších čtrnáct dnů. Během osmadvacetidenního zkoušení se nezjistí žádné nadměrné místní nebo systémové reakce. Je-li vakcína určena pro březí klisny, jsou klisny vakcinovány během náležitého trimestru nebo trimestrů březosti a období pozorování se prodlouží až do doby porodu. Nezjistí se žádný vliv na březost ani na potomstvo.

Imunogenita. Zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity kmenů obsažených ve vakcíně.

Čelenž s virulentním kmenem se provede nejméně proti jednomu z kmenů obsažených ve vakcíně. Imunogenita ostatních kmenů obsažených ve vakcíně se může prokázat na základě sérologické odpovědi vyvolané po vakcinaci koní. Oprávnění k ochraně proti těmto kmenům může být založeno na publikovaných údajích o vztahu mezi titrem protilátek a ochranou proti kmenům antigenně příbuzným.

Je-li použita sérologie, provádí se zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti, ale místo virulentní čelenže se za dva týdny po poslední vakcinaci odeberou vzorky krve a vhodnými imunochemickými metodami (2.7.1), jako jsou jednoduchá radiální hemolýza nebo hemaglutinačně inhibiční test - jak je uvedeno dále -, se stanoví u každého séra titer protilátek. K validaci zkoušky se používá referenční sérum. Podmínky pro přijetí závisí na kmenu a jsou založeny na dosažitelných údajích; pro kmen viru A/equi-2 jsou zpravidla vakcíny dostačující, jestliže titer protilátek každého séra (při vyšetření jednoduchou radiální hemolýzou) není menší než 85 mm². Jestliže se použije hemaglutinačně inhibiční test, nemá být titer nižší než 64 (před smícháním se suspenzí antigenu a erytrocytů).

Požadavky na výrobek vyjadřují druh prokázané imunogenity (chráněnost proti čelenži nebo tvorba protilátek).

Jednoduchá radiální hemolýza. Sérum se 30 min zahřívá na 56 °C. Zkouší se každé sérum s použitím antigenu nebo antigenů připravených z kmenů použitých při výrobě vakcíny. Smíchá se 1 ml suspenze objemových dílů ovčích erytrocytů v tlumivém roztoku barbitalovém (1 objemový díl erytrocytů do 10 objemových dílů finální suspenze) s 1 ml vhodného ředění kmene viru chřipky v tlumivém roztoku barbitalovém. Směs se inkubuje 30 min při 4 °C. Ke 2 ml směsi viru a erytrocytů se přidá 1 ml roztoku *chloridu chromitého (hexahydrát)* R (3 g/l), promíchá se a nechá se 10 min stát. Sensibilizované erytrocyty se zahřejí na 47 °C ve vodní lázni. Smíchá se 15 ml roztoku *agarosy* R (10 g/l) v tlumivém roztoku barbitalovém, 0,7 ml suspenze sensibilizovaných erytrocytů a vhodné množství ředěného morčecího komplementu v tlumivém roztoku barbitalovém při 47 °C. Směs se vyleje do Petriho misek a doplní se agar. Do vrstvy agaru se vykrojí jamky a do každé jamky se odpipetuje 5 µl neředěného zkoušeného nebo kontrolního séra. Misky se inkubují 18 h při 37 °C. Měří se průměr zóny hemolýzy a vypočítá se její plocha, která vyjadřuje titer protilátek ve čtverečních milimetrech.

Hemaglutinačně inhibiční test. Sérum se 30 min inaktivuje při 56 °C. K jednomu objemovému dílu každého séra se doplní tři objemové díly *tlumivého roztoku fosforečnanového s chloridem sodným o pH 7,4* a čtyři objemové díly suspenze *kaolinu lehkého* R (250 g/l) ve stejném tlumivém roztoku. Každá směs se třepe 10 min, odstředí se, oddělí se supernatant, který se smíchá s koncentrovanou suspenzí kuřecích erytrocytů. Inkubuje se 60 min při 37 °C a odstředí se. Dosáhne se tak ředění séra 1 : 8. Ke zkoušení sér se použije antigen připravený z kmenů použitých

k výrobě vakcíny. Z každého zředěného séra se připraví řada dvojnásobných ředění. K 0,025 ml každého ředění séra se přidá 0,025 ml suspenze antigenu ošetřeného *etherem R* a obsahující čtyři hemaglutinační jednotky. Směs se nechá 30 min stát a přidá se 0,05 ml suspenze kuřecích erytrocytů obsahující 2×10^7 erytrocytů v 1 ml. Nechá se 1 h stát a zaznamená se poslední ředění séra, ve kterém ještě došlo k úplné inhibici hemaglutinace.

Mezioperační zkoušky

Obsah hemaglutininu v suspenzi inaktivovaného viru po purifikaci a koncentraci, kde je to možné, se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), jako je jednoduchá radiální imunodifuze, s použitím vhodných referenčních přípravků hemaglutininu. Obsah se pohybuje v rozmezí limitů, u nichž se prokázalo, že dovolují přípravu vyhovující vakcíny. U vakcín vyráběných na kuřecích embryích se ke kontrole výroby stanovuje u sklizeného viru obsah bakteriálních endotoxinů.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytné provádět při běžném zkoušení jednotlivých šarží vakcíny. Provádí se s danou vakcínou jednou nebo vícekrát podle dohody nebo rozhodnutí oprávněné autority. Pokud se tato zkouška neprovádí, použije se vhodná platná náhradní metoda. Podmínkou jejího použití je porovnání s šarží vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Mohou se použít následující zkoušky.

Zkouška účinnosti šarže. Každému z pěti morčat prostých specifických protilátek se podkožně podá jedna dávka vakcíny. Za 21 dnů se odeberou vzorky krve a oddělí se sérum. Provedou se zkoušky se sérem na přítomnost specifických protilátek vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), např. jednoduchou radiální hemolýzou nebo inhibicí hemaglutinace s použitím referenčního séra k validaci zkoušky. Titr protilátek není významně nižší než titr získaný od morčat, kterým byla podána referenční vakcína s prokazatelně dostatečnou účinností na koních.

Zkouška totožnosti

Vakcína u vnímavých zvířat podněcuje tvorbu specifických protilátek.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Nejméně dvěma koňům se vstříkne doporučeným způsobem dvojnásobek vakcinační dávky. Každému zvířeti se po 14 dnech podá další jedna dávka. Zvířata se pozorují dalších 10 dnů; zůstanou v dobrém zdravotním stavu a neprojevují se nadměrné místní ani systémové reakce.

Inaktivace. Do alantoidní dutiny deseti kuřecích embryí se naočkuje po 0,2 ml vakcíny a embrya se inkubují 3 až 4 dny při teplotě 33 °C až 37 °C. Zkoušku lze hodnotit, pokud přežije nejméně osm z deseti embryí. Z každého embrya, které přežilo, se odebere 0,5 ml alantoidní tekutiny a připraví se směsný vzorek. Dalším deseti kuřecím embryím se naočkuje po 0,2 ml směsi alantoidní tekutiny a inkubují se 3 až 4 dny při 33 °C až 37 °C. Zkoušku lze hodnotit, pokud přežije nejméně osm z deseti embryí. Z každého embrya, které přežilo, se odebere 0,1 ml alantoidní tekutiny a každý vzorek se hemaglutinační zkouškou vyšetří na přítomnost živého viru. Jestliže se u některého vzorku zjistí pozitivní hemaglutinace, provede se s tímto vzorkem další pasáž na kuřecím embryu a zkouška hemaglutinace. Nejistí se hemaglutinace.

4942 *Vaccinum leucosis felinae inactivatum*

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Stanovení účinnosti se provede čelenží s kmenem, proti němuž podle označení má vakcína zajistit ochranu. Pokud je to možné, použije se čerstvý izolát.

Použije se deset koní, ve stáří nejméně 6 měsíců, bez specifických protilátek proti viru chřipky koní. Každému zvířeti se odebere krev a jednotlivě se přezkouší na protilátky proti viru chřipky koní, aby se ověřila séronegativita. Šest zvířat se vakcinuje podle doporučeného schématu. Za 7 dnů po první vakcinaci se u každého zvířete provede druhý odběr krve a zkouška na protilátky proti chřipce koní k anamnestickému určení sérologické odpovědi. Sérologicky pozitivní kusy jsou v tomto stadiu vyřazeny z pokusu. Nejméně za dva týdny po poslední vakcinaci se deseti zvířatům podá aerosolem virus chřipky koní v množství, které u vnímavých zvířat vyvolá charakteristické příznaky onemocnění - např. horečku, výtok z nosu a kašel. Zvířata se pozorují 14 dnů. Denně se od každého zvířete provádějí výtěry z nosu k izolaci viru. Vakcinovaná zvířata mají lehké příznaky, zatímco kontrolní zvířata mají charakteristické příznaky onemocnění. Průměrný počet dnů, ve kterých je virus vylučován, jakož i titer viru jsou významně nižší u vakcinovaných zvířat než u zvířat kontrolních.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- stáří, ve kterém by se měla zvířata vakcinovat,
- interval mezi první a druhou vakcinací,
- požadovaná revakcinace,
- kmeny viru, které jsou ve vakcíně obsaženy.

Vaccinum leucosis felinae inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti leukémii koček



1999

Je to přípravek, který obsahuje imunogeny z vhodného kmene viru leukémie koček.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Imunogeny obsahují buď vhodný kmen leukémie koček, inaktivovaný tak, aby byla zachována dostatečná imunogenita, nebo frakci viru s odpovídajícími vlastnostmi. Imunogenní frakce mohou být vytvářeny technologií rekombinace DNK.

Pokud je vakcína vyráběna technologií rekombinace DNK, vyhovuje článku *Producta ab ADN recombinante*.

Zkouška inaktivace, pokud je to možné, se provádí s množstvím inaktivovaného viru, které odpovídá nejméně dvaceti pěti dávkám vakcíny. Dělalji se dvě pasáže na stejném typu buněčné kultury, který byl použit k výrobě vakcíny, nebo na buněčných kulturách, které jsou prokazatelně nejméně stejně citlivé. Nejistí se žádný živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans.

Výběr složení vakcíny

Výběr kmenů viru leukémie koček a/nebo antigenů obsažených ve vakcíně se provádí tak, aby se zajistila bezpečnost (5.2.6) (včetně bezpečnosti březích zvířat - pokud se má vakcína u těchto zvířat používat) a imunogenita (5.2.7) vakcíny. K průkazu bezpečnosti a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provede všemi zamýšlenými způsoby podání. Používají se zvířata bez protilátek proti antigenu gp 70 viru leukémie koček a bez projevů virémie nebo antigenémie v době zkoušky. Nepřítomnost protilátek a antigenu se prokazuje metodou ELISA.

A. Nejméně deset koček nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci se vakcinuje předepsaným způsobem. Pět koček slouží jako kontrola. Den před vakcinací a v době vakcinace, 4 h a 8 h po vakcinaci a jednou denně následující čtyři dny se zaznamenává rektální teplota každé kočky. Zvířata se pozorují nejméně 4 týdny po poslední vakcinaci. Během zkoušky se neprojeví žádné nadměrné místní ani systémové reakce. Za 1, 2 a 4 týdny po poslední vakcinaci se zvířata podrobí vhodným zkouškám na imunosupresní účinky. Vakcína vyhovuje, pokud není zjištěn významný rozdíl mezi vakcinovanými a kontrolními zvířaty.

B. Nejméně deseti kočkám nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci se zamýšleným způsobem podají dvě dávky vakcíny. Na konci období v čase uvedeném návodem k použití se každému zvířeti podá ještě jedna dávka vakcíny. Pokud to návod k použití doporučuje, podá se po určité době třetí injekce. Zvířata se pozorují 14 dní po poslední vakcinaci. Vakcína vyhovuje, neobjeví-li se během zkoušky žádné nadměrné místní nebo systémové reakce.

C. Pokud vakcína není kontraindikována pro březí samice, podá se nejméně deseti kočkám v různém stupni březosti po dvou dávkách vakcíny. Zvířata se pozorují až do porodu a zaznamenávají se jakékoliv vlivy na březost a potomstvo. Vakcína vyhovuje, neobjeví-li se během zkoušky žádné nadměrné místní nebo systémové reakce.

Imunogenita. K průkazu imunogenity vakcíny je vhodná zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti.

Mezioperační zkoušky

Během výroby se provádějí vhodné imunochemické zkoušky pro hodnocení kvality a čistoty virových antigenů použitých k přípravě vakcíny. Zjištěné hodnoty jsou v mezích schválených pro jednotlivé vakcíny.

Zkoušení šarže

Účinnost. Zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti se neprovádí při běžném zkoušení šarží vakcíny. Dělá se u jednotlivé vakcíny při jedné nebo více příležitostech podle rozhodnutí nebo schválení kompetentní autority. Pokud se zkouška neprovede, použije se jiná vhodná valido-

4944 *Vaccinum leucosis felinae inactivatum*

vaná metoda, jejíž kritéria pro přijetí jsou založena na porovnání s šarží vakcíny, která vyhověla v předepsaném stanovení účinnosti.

Bakteriální endotoxiny. U vakcín vyráběných technologií rekombinace DNK na bakteriálních hostitelských buňkách - např. *Escherichia coli* - se zkouška na bakteriální endotoxiny (2.6.14) provádí u každé šarže. Tam, kde charakter adjuvans brání provedení spolehlivé zkoušky, provede se zkouška u antigenu před přidáním adjuvans. Zjištěná hodnota odpovídá limitu pro jednotlivé vakcíny, který je prokazatelně bezpečný pro kočky.

Zkouška totožnosti

Podání vakcíny zdravým, sérologicky negativním kočkám povzbuzuje tvorbu specifických protilátek proti antigenu nebo antigenům, které jsou uvedeny v označení.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Použijí se dvě kočky nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, které nemají protilátky proti viru leukémie koček. Každému zvířeti se doporučeným způsobem podají dvě dávky vakcíny. Zvířata se pozorují čtrnáct dní. Vakcína vyhovuje, jestliže se neobjeví žádné nadměrné místní nebo systémové reakce.

Inaktivace. Jestliže vakcína obsahuje inaktivovaný virus, provede se zkouška na zbytky živého viru leukémie koček dvěma pasážemi na vnímavých buněčných kulturách. Nejistí se žádný virus. Jestliže vakcína obsahuje adjuvans, je-li to možné, oddělí se adjuvans od tekutiny způsobem, který neinaktivuje živý virus nebo jinak nebrání jeho zjištění.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Použije se nejméně dvacet pět vnímavých koček nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, bez protilátek proti antigenům viru leukémie koček a proti kočičímu onkogennímu membránovému antigenu (anti-FOCMA protilátky) a v době zkoušky bez virémie nebo antigenémie. Nejméně patnáct koček je vakcinováno doporučeným způsobem v souladu s návodem k použití. Nejméně deset zvířat slouží jako kontrola. Zvířata se pozorují nejméně 14 dní po poslední vakcinaci. Intraperitoneálně nebo oronazálně se jednou nebo několikrát podá množství virulentního kmene viru leukémie koček postačující k vyvolání trvalé virémie nebo antigenémie nejméně u 80 % vnímavých zvířat. Pro čelenž se použije epidemiologicky závažný kmen sestávající převážně z viru typu A. Zvířata se pozorují 15 týdnů a počínaje třetím týdnem se zkoušejí každý týden na virémii a antigenémii (p27 protein) vhodnými metodami, jako jsou imunofluorescence cirkulujících leukocytů nebo ELISA. Kočky se považují za trvale infikované, jestliže vykazují pozitivní virémii nebo antigenémii po tři po sobě jdoucí týdny nebo v pěti případech mezi třetím až patnáctým týdnem. Zkoušku lze hodnotit, jestli je trvale infikováno nejméně 80 % kontrolních koček. Vakcína vyhovuje, jestliže nejméně 80 % vakcinovaných koček nevykazuje trvalou infekci.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede antigen nebo antigeny obsažené ve vakcíně.

Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti Aujeszského nemoci prasat

1998



Je to suspenze vhodného kmene viru Aujeszského nemoci inaktivovaného bez ovlivnění imunogenních vlastností nebo suspenze inaktivované frakce viru mající odpovídající imunogenní vlastnosti.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Virový kmen se pomnoží ve vhodné buněčné kultuře (5.2.4). Virová suspenze se sklídí a inaktivuje; mohou se připravit částice virů, které se purifikují a koncentrují.

Zkouška na inaktivaci se provádí na dvou pasážích buněčné kultury stejného typu, jaký byl použit při výrobě vakcíny, nebo na buňkách, které prokazatelně jsou nejméně stejně citlivé. Množství inaktivovaného viru používaného ve zkoušce odpovídá nejméně dvaceti pěti dávkám vakcíny. Nezjistí se živý virus.

Může se přidat vhodné adjuvans a protimikrobní konzervační látky. Vakcína může být lyofilizovaná.

Výběr složení vakcíny

Vakcína prokazatelně odpovídá z hlediska bezpečnosti a imunogenity. K důkazu bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost

- A.** Zkouška se provádí u všech kategorií zvířat, pro které je vakcína určena (prasnice, výkrmová prasata). Použitá zvířata nemají protilátky proti viru Aujeszského nemoci nebo jeho frakci. Dvě dávky vakcíny se předepsaným způsobem podají každému z deseti zvířat. Po 14 dnech se každému zvířeti vstříkne jedna dávka vakcíny a zvířata se pozorují dalších 14 dnů. V průběhu 28 dnů zkoušky nevzniknou žádné abnormální místní či systémové reakce. Jestliže je vakcína určena březím prasnicím, prodlužuje se pozorovací doba zkoušky pro tuto kategorii zvířat až do porodu. Nezaznamená se žádný vliv na březost a potomstvo.
- B.** Zvířata použitá ve zkoušce imunogenity jsou také použita k hodnocení bezpečnosti. U každého vakcinovaného zvířete se měří rektální teplota v době vakcinace, za 6 h, 24 h a 48 h po ní. U žádného zvířete není vzestup teploty vyšší než 1,5 °C a počet zvířat, která mají teplotu vyšší než 41 °C, nepřesahuje 10 % ze skupiny. Nezjistí se žádné jiné systémové reakce (např.

4946 *Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem inactivatum*

anorexie). Při porážce se místo podání vyšetří na místní reakce. Nevzniknou významné místní reakce, jež by bylo možno přisoudit vakcíně.

C. Zvířata používaná na terénní zkoušky se také používají k hodnocení bezpečnosti. Zkouška se provádí u všech kategorií zvířat, pro které je vakcína určena (prasnice, výkrmová prasata). Vytvoří se nejméně tři skupiny o nejméně dvaceti zvířatech s odpovídajícími kontrolními skupinami o nejméně deseti zvířatech. Rektální teplota se měří všem zvířatům v době vakcinace, za 6 h, 24 h a 48 h po vakcinaci. U žádného zvířete není vzestup teploty vyšší než 1,5 °C a počet zvířat, která mají teplotu vyšší než 41 °C, nepřesahuje 25 % ze skupiny. Při porážce se místo podání vyšetří na místní reakce. Nevzniknou významné místní reakce, jež by bylo možno přisoudit vakcíně.

Imunogenita. Použije se nejméně deset výkrmových prasat ve stáří doporučeném k vakcinaci, prostých protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo frakcím viru. Tělesná hmotnost žádného prasete se neliší od průměru skupiny o více než 20 %. Každé prase se očkuje podle doporučeného schématu a doporučeným způsobem. Pět podobných prasat se ponechá jako kontrola. Na konci výkrmového období (80 kg až 90 kg) se každé prase zváží a provede se čelenž intranazálním podáním vhodného množství virulentního kmene viru Aujeszkého nemoci (čelenžní materiál obsahuje nejméně 10^6 CCID₅₀ virulentního kmene, který neprodělal více než tři pasáže a je podáván nejméně ve 4 ml vyhovujícího rozpouštědla). Titr čelenžního viru se stanoví z výtěrů nosní dutiny každého zvířete odebíraných denně, počínaje dnem před čelenží, až do doby, kdy virus už není zjištěn. Každé zvíře se váží 7 dní po čelenži nebo v době úhynu, jestliže k němu dojde dříve, a dosažený denní průměr se vypočítá v procentech. Pro každou skupinu (vakcinovanou i kontrolní) se vypočítá průměr z denních průměrných přírůstků. Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže:

- vakcinovaná prasata přežijí a rozdíl mezi denními průměrnými přírůstky v obou skupinách je nejméně 1,5 %,
- geometrické průměry titrů a délka vylučování čelenžního viru jsou u vakcinovaných zvířat významně nižší než u kontrol.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže všechna kontrolní prasata mají příznaky onemocnění Aujeszkého nemoci a průměr jejich denních přírůstků je méně než -0,5.

Jestliže je vakcína určena pro prasnice k pasivní ochraně selat, může se vhodnost kmene pro tento účel prokázat následující metodou. Osm prasnic bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci se vakcinuje podle doporučeného schématu a doporučeným způsobem; čtyři prasnice se ponechají jako kontrola. Selata od těchto prasnic se ve stáří 6 až 10 dní čelenžují vhodným množstvím virulentního kmene viru Aujeszkého nemoci. Selata se pozorují 21 dní. Vakcína je vyhovující, jestliže u selat od vakcinovaných prasnic je nejméně 80% ochrana před úhynem v porovnání s kontrolní skupinou. Zkoušku lze hodnotit, jestliže průměrný počet selat na jeden vrh pro každou skupinu je nejméně šest selat.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytné provádět při běžném zkoušení šarží vakcíny. Provádí se jednou nebo vícekrát podle dohody nebo rozhodnutí oprávněné autority. Pokud se tato zkouška neprovádí, použije se vhodná platná náhradní metoda. Podmínkou jejího přijetí je porovnání s šarží vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška totožnosti

U zvířat bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci zkoušený přípravek povzbudí tvorbu specifických protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci použité pro výrobu vakcíny.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Nejméně dvěma selatům v minimálním stáří pro vakcinaci se vstříknou dvě dávky vakcíny předepsaným způsobem. Zvířata jsou bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Zvířata se pozorují 14 dní a potom se každému vstříkne jedna dávka vakcíny. Pozorují se dalších 14 dní. V průběhu 28 dní zkoušky se nezjistí nadměrné místní nebo systémové reakce.

Inaktivace. Pokud možno, provede se vhodná zkouška na zbylý infekční virus Aujeszkého nemoci s použitím dvou pasáží na stejné buněčné kultuře, jaká byla použita při přípravě vakcíny, nebo na buňkách, které prokazatelně jsou nejméně stejně citlivé. Jinak se vstříkne po jedné dávce vakcíny podkožně pěti králíkům, kteří se pozorují 14 dní po podání. Nezjistí se výskyt nadměrných reakcí (zejména místní vyrážka). Jestliže vakcinační virus není patogenní pro králíky, provede se zkouška na dvou ovcích.

Cizí viry. U selat použitých pro zkoušku bezpečnosti se provede zkouška na protilátky. Vakcína nepodporuje tvorbu protilátek proti jinému viru než proti viru Aujeszkého nemoci, proti virům patogenním pro prasata nebo proti virům, které by mohly překážet diagnóze infekčních onemocnění prasat (včetně virů ze skupiny pestivirů).

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Použije se nejméně pět prasat o hmotnosti 15 kg až 35 kg prostých protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Živá hmotnost žádného prasete ve skupině se neliší o více než 25 % průměrné hmotnosti. Každému praseti se podá předepsaným způsobem jedna dávka vakcíny. Pět podobných prasat se použije jako kontrola. Za tři týdny se prasata jednotlivě zváží a provede se intranazálně čelenž vhodným množstvím virulentního kmene viru Aujeszkého nemoci. Každé zvíře se zváží 7 dní po čelenži nebo v době úhynu, jestliže k němu dochází dříve, a vypočítá se průměrný denní přírůstek v procentech. Pro každou skupinu (vakcinovanou i kontrolní) se vypočítá průměr průměrných denních přírůstků. Vakcína vyhovuje, jestliže vakcinovaná prasata přežijí a rozdíly mezi průměry denních přírůstků v obou skupinách jsou nejméně 1,1. Zkoušku lze hodnotit pouze v případě, jestliže všechna kontrolní prasata mají příznaky Aujeszkého nemoci a průměr jejich denních přírůstků dosahuje méně než -0,5.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

4948 *Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem vivum cryodesiccatum ad usum parenterale*

V označení na obalu se uvede:

- zda je vakcinační kmen patogenní pro králíky,
- zda je vakcína z celého viru nebo subjednotková.

Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem vivum cryodesiccatum ad usum parenterale

1998

Lyofilizovaná živá vakcína proti Aujeszkého nemoci prasat pro parenterální podání

Je to přípravek z oslabeného kmene viru Aujeszkého nemoci. Může se podávat po smíchání s adjuvans.

Výroba

Výroba vakcíny odpovídá článku Vaccina ad usum veterinarium.

Virový kmen se pěstuje ve vhodné buněčné kultuře (5.2.4) nebo na kuřecích embryích z chovů prostých specifikovaných patogenů (5.2.2). Virová suspenze se sklídí, smíchá s vhodnou stabilizující tekutinou a lyofilizuje se.

Výběr vakcinačního kmene

K přípravě vakcíny se může použít pouze takový virový kmen, který prokazatelně odpovídá následující charakteristice: bezpečný; přenosný včetně přechodu přes placentu a přenosný semenem; nevratně oslabený a imunogenní. Kmen může mít genetické markery. K průkazu bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky:

Bezpečnost

- A.** Deseti selatům ve stáří 3 až 4 týdny, která nemají protilátky proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci, se každému podá doporučeným způsobem množství viru, které odpovídá deseti dávkám vakcíny. Deset selat z téhož zdroje a stejného stáří, která nemají protilátky proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci, se ponechá jako kontrola. Zvířata se pozorují po dobu 21 dní. Zvířata zůstávají zdravá a křivka hmotnosti vakcinovaných selat se neliší od křivky selat kontrolních.
- B.** U zvířat použitých ve zkoušce na imunogenitu se také hodnotí bezpečnost kmene. Rektální teplota se u každého vakcinovaného zvířete měří v době vakcinace, za 6 h, 24 h a 48 h. U žádného zvířete není vzestup teploty vyšší než 1,5 °C a počet zvířat, která mají teplotu vyšší než 41 °C, nepřesahuje 10 % ze skupiny. Nejistí se žádné systémové reakce (např. anorexie). Při porážce se vyšetří místo podání. Nejistí se nadměrné místní reakce, jež by bylo možno přisoudit vakcíně.
- C.** Zvířata používaná na terénní zkoušky se také používají k hodnocení bezpečnosti. Zkouška se provádí u všech kategorií zvířat, pro které je vakcína určena (prasnice, výkrmová prasata).

Vytvoří se nejméně tři skupiny o nejméně dvaceti zvířatech s odpovídajícími kontrolními skupinami o nejméně deseti zvířatech. Rektální teplota se měří všem zvířatům v době vakcinace, za 6 h, 24 h a 48 h po vakcinaci. U žádného zvířete není vzestup teploty vyšší než 1,5 °C a počet zvířat, která mají teplotu vyšší než 41 °C, nepřesahuje 25 % ze skupiny. Při porážce se vyšetří místo podání. Nezjistí se nadměrné místní reakce, jež by bylo možno přisoudit vakcíně.

- D.** Deseti selatům ve stáří 3 až 5 dní, která jsou prostá protilátek viru proti Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci, se každému intranazálně podá množství viru, které odpovídá deseti dávkám vakcíny. Zvířata se pozorují 21 dní. Žádné sele neuhyne ani se neprojeví neurologické poruchy, jež by se mohly přisoudit vakcinačnímu viru.
- E.** Pěti selatům ve stáří 3 až 5 dnů se každému intracerebrálně vstříkne 10⁴⁻⁵ CCID vakcinačního viru. Žádné sele neuhyne ani se u žádného neobjeví neurologické poruchy.
- F.** Pět dní po sobě se deseti selatům ve stáří 3 až 4 týdny, bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci, denně podávají injekčně 2 mg prednisolonu na kilogram tělesné hmotnosti. Třetí den se každému selati doporučeným způsobem podá takové množství viru, které odpovídá jedné dávce vakcíny. Protimikrobní látky se mohou podat, aby se předešlo nespecifickým příznakům. Zvířata se pozorují 21 dní po podání viru. Selata zůstávají zdravá.
- G.** Použije se patnáct březích prasnic bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Pěti prasnicím ve 4. až 5. týdnu březosti se doporučeným způsobem každé podá množství viru, které odpovídá deseti dávkám vakcíny. Dalším pěti prasnicím se stejným způsobem podá stejné množství viru v 10. až 11. týdnu březosti. Dalších pět březích prasnic se použije jako kontrola. Počet narozených selat od vakcinovaných prasnic, jakékoliv abnormality u selat ani délka březosti se významně neliší od prasnic kontrolních. U selat narozených od vakcinovaných prasnic se provedou zkoušky na sérologickou odezvu proti viru Aujeszkého nemoci a na izolaci virového antigenu z jater a plic zvířat vykazujících úchyly od normy a od čtvrtiny zdravých selat. Nezjistí se antigen viru Aujeszkého nemoci a u selat vyšetřených před napitím kolostra ani protilátky viru Aujeszkého nemoci.

Vylučování viru. Použije se osmnáct selat ve stáří 3 až 4 týdny bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Čtrnácti selatům se doporučeným způsobem na doporučené místo podá po jedné dávce vakcíny a zbývající čtyři selata slouží jako kontaktní kontroly. Ze sekretu dutiny ústní a nosní jednotlivých zvířat se provedou vhodné, citlivé zkoušky na virus v nazálním a orálním sekretu takto: nazální a orální výtěry se odebírají denně od jednoho dne před vakcinací až deset dnů po ní. Vakcína je přijatelná, jestliže se z odebraných sekretů neizoluje virus.

Infekčnost. Zkouška se provede čtyřikrát nezávisle na sobě. Pokaždé se použijí čtyři selata ve stáří 3 až 4 týdny, bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Každému selati se doporučeným způsobem podá množství viru odpovídající jedné dávce vakcíny. Jeden den po podání vakcíny se k vakcinovaným selatům dají dvě selata nevakcinovaná, stejného stáří a bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Za pět týdnů se všechna zvířata testují na přítomnost protilátek proti viru Aujeszkého nemoci. Protilátky proti viru Aujeszkého nemoci se nezjistí v žádné skupině kontaktních kontrol. U všech naočkovanych selat se protilátky prokážou.

Nevratnost virulence. Dvěma selatům ve stáří 3 až 5 dní, která nemají protilátky proti viru Aujeszkého nemoci ani jeho frakci, se každému intranazálně podá množství viru, které odpovídá jedné dávce vakcíny. Za tři až pět dnů se odeberou od každého selete vzorky mozku, plic, tonzil a místních lymfatických uzlin a vzorky se smíchají. Jeden mililitr smíchané orgánové suspenze se podá intranazálně dalším dvěma selatům stejného stáří a vnímavosti. Tento postup se opakuje nejméně čtyřikrát,

4950 *Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem vivum cryodesiccatum ad usum parenterale*

naposledy na nejméně pěti selatech. Přítomnost viru se ověřuje v každé pasáži přímým nebo nepřímým způsobem. Jestliže virus zmizí, provede se druhá série pasází. Selata nehynou a ani nevykazují neurologické poruchy, jež by se mohly přičíst vakcinačnímu viru. V porovnání s nepasážívaným virem nejsou známky zvýšení virulence.

Imunogenita. Použije se nejméně deset výkrmových prasat ve stáří doporučeném k vakcinaci, prostých protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci. Tělesná hmotnost se u prasat neliší od průměrné hmotnosti skupiny o více než 20 %. Každé prase se vakcinuje podle doporučeného schématu a doporučeným způsobem. Pět podobných prasat se použije jako kontrola. Na konci výkrmového období (80 kg až 90 kg) se prasata zváží a provede se čelenž intranazálním podáním vhodného množství virulentního kmene viru Aujeszkého nemoci. Pro čelenž je vhodných nejméně 10^6 CCID virulentního kmene, který prodělal nejméně tři pasáže a je podáván v nejméně 4 ml rozpouštědla. Titr čelenžního viru se stanoví z výtěrů nosní dutiny jednotlivých zvířat odebíraných denně od jednoho dne před čelenží až do doby, kdy virus už není zjišťován. Každé zvíře se 7 dní po čelenží nebo v době úhynu, jestliže k němu dojde dříve, zváží a vypočítá se denní průměrný přírůstek v procentech. Pro každou skupinu (vakcinovanou i kontrolu) se vypočítá průměr z denních průměrných přírůstků. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže:

- všechna vakcinovaná prasata přežijí a rozdíl mezi průměry denních přírůstků obou skupin je nejméně 1,5,
- geometrické průměry titrů a doba vylučování čelenžního viru jsou významně nižší u vakcinovaných zvířat než u kontrolních.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže všechna kontrolní prasata vykazují příznaky onemocnění Aujeszkého nemoci a průměr jejich denních přírůstků je méně než $-0,5$.

Jestliže je vakcína určena k použití u prasnic k pasivní ochraně selat, může se vhodnost kmene pro tento účel prokázat následující metodou. Osm prasnic prostých protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci se vakcinuje podle doporučeného schématu a doporučeným způsobem; čtyři prasnice se použijí jako kontrola. Selata od těchto prasnic se čelenžují vhodným množstvím virulentního viru Aujeszkého nemoci ve věku 6 až 10 dní a pozorují se 21 dní. Vakcína je uspokojivá, jestliže selata od vakcinovaných prasnic jsou v porovnání s kontrolní skupinou nejméně z 80 % chráněna proti mortalitě. Zkoušku lze hodnotit, jestliže průměrný počet selat na jeden vrh pro každou skupinu je nejméně šest selat.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nezbytné provádět při běžném zkoušení jednotlivých šarží vakcíny. Provádí se jednou nebo vícekrát podle dohody nebo rozhodnutí oprávněné autority. Pokud se tato zkouška neprovádí, použije se vhodná platná náhradní metoda. Podmínkou jejího použití je porovnání s šarží vakcíny, která dala vyhovující výsledek ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška totožnosti

U zvířat bez protilátek proti viru Aujeszkého nemoci nebo jeho frakci zkoušený přípravek povzbudí tvorbu specifických neutralizujících protilátek.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Deset dávek vakcíny se podá ve vhodném objemu doporučeným způsobem každému z nejméně dvou selat minimálního stáří předepsaného pro vakcinaci, která jsou prostá protilátek proti viru Aujeszského nemoci nebo jeho frakci. Zvířata se pozorují 14 dní. Ne zjistí se abnormální místní nebo systémové reakce.

Cizí viry. Vakcína se neutralizuje monospecifickým sérem nebo monoklonálními protilátkami a naočkuje se na buněčnou kulturu, vnímavou k virům patogenním pro prasata a k pestivirům. Kultury se udržují 14 dní a v průběhu této doby se provede nejméně jedna pasáž. Nevyvíjí se cytopatický efekt; buňky nevykazují přítomnost haemadsorpčního agens. Provede se specifická zkouška na pestiviry.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7). Vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Titr viru. Rekonstituovaná vakcína se titruje na stejném substrátu, jaký byl použit k výrobě (buněčná kultura nebo alantoidní dutina kuřecích embryí). Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá minimálnímu titru viru, jenž je uveden v označení.

Stanovení účinnosti

Použije se nejméně pět prasat o hmotnosti 15 kg až 35 kg, prostých protilátek proti viru Aujeszského nemoci nebo jeho frakci. Hmotnost žádného prasete se neliší o více než 25 % od průměrné hmotnosti skupiny. Každému praseti se podá doporučeným způsobem jedna dávka vakcíny. Pět podobných prasat se použije jako kontrola. Za tři týdny se prasata jednotlivě zváží a u každého prasete se provede intranazálně čelenž vhodným množstvím virulentního kmene viru Aujeszského nemoci. Každé zvíře se zváží 7 dní po čelenži nebo v době úhynu, jestliže k němu dojde dříve, a vypočítá se průměrný denní přírůstek v procentech. Pro každou skupinu (vakcinovanou i kontrolní) se vypočítá průměr denních průměrných přírůstků. Vakcína vyhovuje, jestliže vakcinovaná prasata přežijí a rozdíl mezi průměry denních přírůstků ve skupinách není menší než 1,6. Zkoušku lze hodnotit, jestliže všechna kontrolní prasata mají příznaky onemocnění Aujeszského nemocí a průměr jejich denních přírůstků je méně než -0,5.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- substrát použitý k výrobě vakcíny (buněčná kultura nebo kuřecí embrya),
- minimální titr viru.

4952 *Vaccinum morbi Carrei vivum cryodesiccatum ad canem*

Vaccinum morbi Carrei vivum cryodesiccatum ad canem



1999

Živá vakcína proti psince lyofilizovaná

Je to přípravek z kmene viru psinky, který je oslaben pro psy.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Oslabený kmen se pomnoží ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4) nebo v kuřecích embryích získaných z chovů prostých specifikovaných patogenů (5.2.2). Suspenze viru se sklídí, titruje a může se smíchat s vhodným stabilizačním roztokem. Vakcína se potom lyofilizuje.

Výběr vakcinačního kmene

Vakcinační kmen je prokazatelně uspokojivý z hlediska bezpečnosti (5.2.6), nepřítomnosti vzestupu virulence a imunogenity (5.2.7). K průkazu bezpečnosti, nepřítomnosti vzestupu virulence a imunogenity se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provádí pro každý doporučený způsob podání. Použije se pět vnímavých štěňat nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, která jsou prostá protilátek proti viru psinky. Každému zvířeti se doporučeným způsobem podá nejméně takové množství viru, které odpovídá desetinásobku nejvyššího titru, který se může očekávat v jedné dávce vakcíny. Štěňata se pozorují 42 dní; zůstávají v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí.

Je-li vakcína určena pro březí samice, podá se virus pěti zvířatům v předepsaném stupni březosti nebo v rozpětí stupně březosti podle doporučené tabulky. Pozorování se prodlouží až do prvního dne po porodu. Zvířata zůstanou v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí. Nezaznamenají se nežádoucí účinky na březost a potomstvo.

Vzestup virulence. Dvěma štěňatům ve stáří 5 až 7 týdnů bez protilátek proti viru psinky se doporučeným způsobem podá virus psinky v množství, které odpovídá jedné dávce vakcíny. Za 5 až 10 dní se zvířata utratí, odebere se sliznice dutiny nosní, mandle, brzlík, slezina, plíce s příslušnými mízními uzlinami a vytvoří se směsný vzorek.

Dalším dvěma štěňatům stejného stáří a vnímavosti se podá intranazálně 1 ml směsi orgánové suspenze. Tato operace se provede nejméně pětkrát. V každé pasáži se ověřuje přítomnost viru přímými nebo nepřímými prostředky. Pokud se virus ztratí, provede se druhá série pasáží. Štěňatům se podá virus z nejvyšší znovu zachycené pasáže. Zvířata se pozorují 42 dní a jakékoliv reakce se porovnají s těmi, které byly zjištěny ve výše popsané zkoušce bezpečnosti. V porovnání s nepasážovaným virem se nezjistí náznak vzestupu virulence.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti se může použít k průkazu imunogenity virového kmene.

Zkoušení šarže

Pokud je stanovení účinnosti provedeno s vyhovujícími výsledky na reprezentativní šarži vakcíny, může se tato zkouška při běžné kontrole jiných šarží připravených z téhož inokula vypustit.

Zkouška totožnosti

Vakcína rekonstituovaná podle pokynů v označení a smíchaná s monospecifickým psinkovým antisérem nevyvolá již cytopatický efekt ve vnímavých buněčných kulturách.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Dvěma vnímavým štěňatům nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci prostým psinkovým protilátek se každému vstříkne deset dávek vakcíny doporučeným způsobem. Zvířata se pozorují 14 dní. Zvířata zůstávají zdravá bez nadměrných místních či systémových reakcí.

Cizí viry. Vakcína se smíchá s vhodným monospecifickým psinkovým sérem a očkuje se na buněčné kultury, které jsou vnímavé k patogenním virům pro psy. Za 6 až 8 dní se provede pasáž, kultury se udržují 14 dní. Nevytvorí se cytopatogenní efekt a buňky nevykazují žádné známky přítomnosti hemadarbčních agens.

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7). Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Titř viru. Titř rekonstituované vakcíny se stanoví na vhodných buněčných kulturách. Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně množství viru odpovídající minimálnímu titř uvedenému v označení.

Stanovení účinnosti

Použije se sedm vnímavých štěňat, 8 až 16 týdnů starých, která nemají protilátky proti viru psinky. Pět zvířat se naočkuje podle návodu k použití a dvě zvířata se ponechají jako kontrola. Všechna zvířata se pozorují 21 dní. Po uplynutí této doby se všem zvířatům intravenózně vstříkne takové množství viru, které je schopné vyvolat u vnímavých psů úhyn nebo onemocnění s typickými příznaky. Zvířata se pozorují dalších 21 dní. Zvířata s typickými příznaky psinky se šetrně utratí, aby se zabránilo zbytečnému utrpení. Zkouška není hodnotitelná a opakuje se, jestliže jedno nebo více kontrolních zvířat neuhyne na psinku nebo nemá typické příznaky vážné infekce. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže vakcinovaná zvířata zůstanou v dobrém zdravotním stavu.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

4954 *Vaccinum morbi partus diminutionis MCMLXXVI inactivatum ad pullum*

Vaccinum morbi partus diminutionis MCMLXXVI inactivatum ad pullum



Inaktivovaná vakcína proti syndromu poklesu snášky '76

Je to emulze nebo suspenze vhodného kmene viru '76 syndromu poklesu snášky (hemaglutinující ptačí adenovirus), který byl inaktivován způsobem zachovávajícím imunogenní aktivitu.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Vakcinační kmen se pomnoží na kuřecích nebo kachních embryích pocházejících ze zdravého chovu nebo ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4).

Zkouška inaktivace se provede na kachních embryích z chovu prostého syndromu poklesu snášky '76 nebo na kuřecích embryích z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) nebo ve vhodných buněčných kulturách, které jsou nejcitlivější na vakcinační kmen. Použité množství viru odpovídá nejméně deseti dávkám vakcíny. Nejistí se živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans.

Výběr složení vakcíny

Vakcína prokazatelně odpovídá z hlediska bezpečnosti a imunogenity. K průkazu účinnosti se může použít následující zkouška (5.2.7).

Imunogenita. Zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nutné provádět při běžném zkoušení šarží vakcíny. Provádí se u uvedené vakcíny v jednom nebo více případech podle rozhodnutí nebo dohody s odpovědnou autoritou. Pokud se tato zkouška nedělá, použije se jiná schválená metoda. Podmínky pro přijetí jsou založeny na porovnání s šarží vakcíny, která vykazala vyhovující výsledky ve stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít, jestliže bylo dosaženo uspokojivé korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška účinnosti šarže. Kuřata ve stáří nejméně 14 až 28 dnů z chovu prostého specifikovaných patogenů se vakcinují jednou dávkou jedním z doporučených způsobů. Za čtyři týdny se odebere krev každému kusu včetně pěti nevakcinovaných kontrol stejného stáří, pocházejících ze stejného chovu. Stanoví se protilátková odpověď každého séra hemaglutinačně inhibiční zkouškou při použití čtyř hemaglutinačních jednotek antigenu a ptačích erytrocytů. Zkoušku lze hodnotit, jestliže u nevakcinovaných ptáků nejsou v séru zjištěny specifické protilátky. Vakcína vyhovuje, pokud střední hodnota titru vakcinované skupiny není nižší než hodnoty titru nalezené předtím u šarží vakcíny, která vykazala vyhovující výsledky ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška totožnosti

U kuřat, která nemají protilátky proti viru syndromu poklesu snášky '76, podporuje vakcína tvorbu specifických protilátek.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Každému z deseti kuřat ve stáří 14 až 28 dní z chovu prostého specifikovaných patogenů se doporučeným způsobem podá dvojnásobná vakcinační dávka. Ptáci se pozorují 21 dnů. Nežijí se žádné abnormální místní nebo systémové reakce.

Inaktivace

A. U vakcín připravovaných na ptačích embryích se provede zkouška na kachních embryích z chovu prostého viru syndromu poklesu snášky '76, nebo je-li známo, že kuřecí embrya jsou citlivější, pak na kuřecích embryích z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2). Dvě pětiny dávky se očkují do alantoidní dutiny deseti kuřecích embryí ve stáří 10 až 14 dnů, prostých mateřských protilátek proti viru syndromu poklesu snášky '76. Kuřecí embrya se inkubují a pozorují 8 dnů. Spojí se alantoidní tekutiny z živých embryí a odděleně z mrtvých embryí. Vyloučí se ta embrya, která uhynula v důsledku nespecifických příčin do 24 h po injekci.

Do alantoidní dutiny deseti embryí ve stáří 10 až 14 dnů prostých mateřských protilátek proti viru syndromu poklesu snášky '76 se očkuje 0,2 ml spojené alantoidní tekutiny z živých embryí a do dalších deseti obdobných embryí se očkuje 0,2 ml spojené alantoidní tekutiny z uhynulých embryí; inkubuje se 8 dnů. Alantoidní tekutina každého embrya se vyšetří na hemaglutinační aktivitu s použitím ptačích erytrocytů.

Pokud více než 20 % embryí uhyne v jedné z obou částí zkoušky, ta část se opakuje. Vakcína vyhovuje, pokud ve zkoušce nejsou zjištěny stopy hemaglutinační aktivity a pokud v opakované zkoušce neuhyne z nespecifických důvodů více než 20 % embryí. K prevenci bakteriální infekce z vnějšku se ve zkoušce mohou použít antibiotika.

B. U vakcíny adaptované na pomnožení v buněčných kulturách se očkuje deset dávek na vhodnou buněčnou kulturu. Pokud vakcína obsahuje olejové adjuvans, odstraní se toto vhodným způsobem. Kultury se inkubují 7 dnů při $38\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Provede se pasáž s jinou sadou buněčných kultur a inkubuje se 7 dnů při $38\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Kultury se pravidelně vyšetřují a na konci inkubační doby se vyšetří supernatantní tekutina na přítomnost hemaglutinující aktivity. Vakcína vyhovuje zkoušce, pokud buněčné kultury nejeví známky infekce a pokud supernatantní tekutina nevykazuje hemaglutinační aktivitu.

Cizí agens. Použijí se kuřata ze zkoušky bezpečnosti. Každému kuřeti se za 21 dnů po podání dvojitě dávky vakcíny podá stejným způsobem jedna dávka vakcíny. Za dva týdny se z každého kuřete připraví vzorky séra a provedou se zkoušky na protilátky metodou předepsanou pro chovy kuřat prostých specifikovaných patogenů proti původcům následujících onemocnění: infekční encephalomyelitida drůbeže, infekční leukóza drůbeže, infekční bronchitida drůbeže, infekční burzitida, infekční laryngotracheitida drůbeže, influenza A, Markova choroba, Newcastleská choroba a u vakcín vyráběných na kachních embryích též chlamydióza (reakce vazby komplementu, nebo precipitační zkouška v agarovém gelu), infekční hepatitida kachen - virus 1 a 2 (zkouška na fluorescenční protilátky nebo sérum neutralizační zkouška) a parvoviróza housat - Derzsyho choroba (sérum neutralizační zkouška). Vakcína nepodporuje tvorbu protilátek proti původcům těchto onemocnění.

4956 *Vaccinum morbillorum vivum*

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Dvě skupiny třiceti slepic z chovu prostého specifikovaných patogenů se vakcinují ve stáří doporučeném pro vakcinaci. Dále se vytvoří dvě kontrolní skupiny, jedna o počtu deseti kusů, druhá o počtu třiceti kusů stejného stáří a původu jako zvířata vakcinovaná. Vedou se individuální záznamy produkce vajec od začátku snášky až po dobu 4 týdnů po čelenži.

Skupina třiceti vakcinovaných a deseti kontrolních ptáků se ve stáří 30 týdnů čelenžuje takovou dávkou viru syndromu poklesu snášky '76, která způsobí výrazný pokles produkce vajec nebo jejich kvality. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže u vakcinovaných ptáků nedojde k výraznému poklesu produkce vajec nebo jejich kvality. Zkoušku lze hodnotit, jestliže u kontrolních ptáků došlo k význačnému poklesu v produkci vajec nebo v jejich kvalitě.

Těsně před koncem snášky se čelenžuje druhá vakcinovaná skupina a skupina třiceti kontrolních ptáků. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže u vakcinovaných ptáků nedojde k výraznému poklesu produkce vajec nebo jejich kvality. Zkoušku lze hodnotit, jestliže u kontrolních ptáků došlo k význačnému poklesu v produkci vajec nebo v jejich kvalitě.

Se vzorky séra, které byly získány v době vakcinace, čtyři týdny po vakcinaci a právě před čelenží, se provedou sérologické zkoušky. Zkoušku nelze hodnotit, pokud u některého ze vzorků z kontrolní skupiny byly zjištěny protilátky proti viru syndromu poklesu snášky '76.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení se uvede, zda je vakcinační kmen adaptován na kuřecí nebo kachní embrya nebo zda je adaptován na buněčnou kulturu.

Vaccinum morbillorum vivum**Živá vakcína proti spalničkám**

1999

Je to lyofilizovaný přípravek z vhodného oslabeného kmene spalničkového viru. Vakcína se rekonstituuje podle návodu bezprostředně před použitím. Vznikne čirá tekutina, jež může být zbarvena přítomným indikátorem pH.

Výroba

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace viru, a je-li virus pomnožován v lidských diploidních buňkách, na systému buněčné banky. Výrobní postup prokazatelně poskytuje

stále stejnou živou spalničkovou vakcínu přiměřené imunogenity a bezpečnosti pro člověka. Pokud není určeno a schváleno jinak, virus v konečném přípravku neprošel od matečného inokula více pasážemi, než bylo použito k přípravě vakcíny, jejíž bezpečnost a účinnost byla prokázána v klinické studii; ani se schválenými výjimkami počet pasáží nad úroveň použitou pro klinické studie nepřesahuje počet pěti.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Substrát pro pomnožení viru

Virus se pomnožuje v lidských diploidních buňkách (5.2.3) nebo v kulturách buněk z kuřecích embryí pocházejících z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2).

Virové inokulum

Kmen použitého spalničkového viru je určen podle vývojových záznamů, které obsahují informaci o jeho původu a o následném zacházení s ním. Aby se předešlo nadměrnému používání opic ve zkoušce na neurovirulenci, připraví se virové inokulum ve velkém množství a uchovává se lyofilizované při teplotách nižších než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, nebo pokud není lyofilizované, nižších než $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pouze virové inokulum vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro pomnožování viru.

Zkouška totožnosti. V matečných a pracovních inokulech se prokáže spalničkový virus séroneutralizační zkouškou v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v matečných a pracovních inokulech se stanoví pro zajištění stále stejné výroby.

Cizí agens (2.6.16). Pracovní inokulum vyhovuje požadavkům na inokula.

Neurovirulence (2.6.18). Pracovní inokulum vyhovuje zkoušce na neurovirulenci živých virových vakcín. Pro zkoušku jsou vhodné opice *Macaca* a *Cercopithecus* citlivé na spalničkový virus.

Pomnožování a sklizeň viru

Všechny práce s buněčnou bankou a s následnými buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek a v prostředí, kde se nepracuje s jinými buňkami. Do růstových médií se může přidat vhodné zvířecí sérum (nikoliv lidské), ale konečné médium pro udržení buněčného růstu při pomnožování viru neobsahuje žádné zvířecí sérum. Sérum a trypsin používané při přípravě buněčných suspenzí a médií jsou prokazatelně prosté cizích agens. Médium pro buněčné kultury může obsahovat indikátor pH, jako je červeně fenolová, a vhodná antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Je výhodnější mít při výrobě substrát bez antibiotik. Nejméně 500 ml výrobních buněčných kultur se ponechá neinfikovaných (kontrolní buňky). Sklizeň virových suspenzí probíhají v době vhodné pro použitý kmen viru.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

Zkouška totožnosti. Jednotlivá sklizeň obsahuje viry, které se dokážou jako virus spalniček séroneutralizační zkouškou v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

4958 *Vaccinum morbillorum vivum*

Koncentrace viru. Koncentrace viru v jednotlivé sklizni se stanoví ke sledování stejnorodosti výroby a k výpočtu ředění pro konečnou várku vakcíny. Postupuje se tak, jak je předepsáno v odstavci Stanovení účinnosti.

Cizí agens (2.6.16). Jednotlivá sklizeň vyhovuje ve zkoušce na nepřítomnost cizích antigenů.

Kontrolní buňky. Jestliže byly použity lidské diploidní buňky, vyhovují kontrolní buňky zkoušce totožnosti a zkouškám na cizí antigeny (2.6.16).

Konečná várka vakcíny

Virové sklizně, které vyhověly výše uvedeným zkouškám, se spojí a vyčeří, aby se odstranily buňky. Může se přidat vhodný stabilizátor a spojené sklizně se příslušně naředí.

Pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícímu požadavku, se může použít k přípravě šarže.

Bakterie a houby. Konečná várka vakcíny vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1); na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Minimální koncentrace viru pro propuštění přípravku se určí tak, aby se pomocí stabilitních údajů zajistilo, že na konci doby použitelnosti bude ve vakcíně nejméně koncentrace uvedená v označení.

Pouze šarže, která vyhovuje požadavkům na minimální virovou koncentraci pro propuštění, následujícímu požadavku na teplotní stabilitu a všem požadavkům uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti a Zkoušky na čistotu, se může uvolnit k použití. Pokud byla zkouška na bovinní sérumalbumin provedena s vyhovujícím výsledkem v konečné várce vakcíny, může se u šarže vypustit.

Teplotní stabilita. Vzorky šarže lyofilizované vakcíny se v suchém stavu 7 dní inkubují při 37 °C. Souběžně se stanoví koncentrace viru ve vzorku inkubované a neinkubované vakcíny, uchovávané při 5 °C ± 3 °C, způsobem popsaným v odstavci Stanovení účinnosti. Koncentrace viru v inkubované vakcíně je nejvýše o 1 log₁₀ nižší než koncentrace viru v neinkubované vakcíně.

Zkouška totožnosti

Když se vakcína, rekonstituovaná podle údajů v označení, smíchá se specifickými spalničkovými protilátkami, není již schopna infikovat vnímavé buněčné kultury.

Zkoušky na čistotu

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v jednotlivé lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %.

Stanovení účinnosti

Infekční virus vakcíny se stanoví nejméně trojmo, přičemž se použije nejméně pěti buněčných kultur pro každé sériové ředění po 0,5 log₁₀, nebo jinou metodou o stejné přesnosti.

K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru je rovna nejméně koncentraci uvedené v označení; minimální koncentrace viru uvedená v označení je nejméně $1 \cdot 10^3$ CCID₅₀ v lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu virové koncentrace je nižší než $\pm 0,3$.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- kmen viru použitý pro přípravu vakcíny,
- typ a původ buněk použitých pro přípravu vakcíny,
- minimální koncentrace viru,
- varování před stykem s dezinfekčními prostředky,
- doba, do které je třeba vakcínu po rekonstituci použít.

Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum



1999

Živá vakcína proti spalničkám, příušnicím a zarděnkám

Je to lyofilizovaný přípravek z vhodných oslabených kmenů virů spalniček, příušnic a zarděnek.

Vakcína se rekonstruuje podle návrhu bezprostředně před použitím; vznikne čirá tekutina, jež může být zbarvena přítomným indikátorem pH.

Výroba

Tři složky vakcíny se připravují, jak je popsáno v člancích *Vaccinum morbillorum vivum*, *Vaccinum parotitidis vivum* a *Vaccinum rubellae vivum*, a vyhovují požadavkům v nich předepsaným.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Konečná várka vakcíny

Virové sklizně jednotlivých složek se spojí a vyčeří, aby se odstranily buňky. Může se přidat vhodný stabilizátor a spojené sklizně se příslušně naředí. Vhodná množství spojených sklizní jednotlivých složek se smíchají.

Pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícímu požadavku, se může použít pro přípravu šarže.

4960 *Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum*

Bakterie a houby. Provede se zkouška na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml (2.6.1).

Šarže

Pro každou složku se minimální koncentrace viru pro propuštění přípravku určí tak, aby se pomocí stabilitních údajů zajistilo, že na konci doby použitelnosti bude ve vakcíně nejméně koncentrace uvedená v označení.

Pouze šarže, která vyhovuje následujícím požadavkům na minimální koncentraci viru každé složky pro propuštění, následujícímu požadavku na tepelnou stabilitu a všem požadavkům uvedeným v odstavcích Zkoušky totožnosti a Zkoušky na čistotu, se může uvolnit k použití. Pokud byly zkoušky na bovinní sérumalbumin a případně ovalbumin provedeny s vyhovujícími výsledky v konečné várce vakcíny, mohou se u šarže vypustit.

Tepelná stabilita. Vzorky šarže lyofilizované vakcíny se v suchém stavu 7 dní inkubují při 37 °C. Souběžně se stanoví koncentrace viru ve vzorku inkubované a neinkubované vakcíny, uchovávané při 5 °C ± 3 °C, způsobem popsaným v odstavci Stanovení účinnosti. Koncentrace viru každé složky v inkubované vakcíně je nejvýše o 1 log₁₀ nižší než koncentrace viru v neinkubované vakcíně.

Zkoušky totožnosti

Když se vakcína rekonstituovaná podle údajů v označení smíchá se specifickými protilátkami proti viru spalniček, příušnic a zarděnek, není již schopná infikovat buněčné kultury vnímavé k těmto virům. Když se vakcína rekonstituovaná podle údajů v označení smíchá s množstvím specifických protilátek postačujícím k neutralizaci dvou virových složek, třetí virová složka infikuje vnímavou buněčnou kulturu.

Zkoušky na čistotu

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v jednotlivé lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Ovalbumin. Je-li příušnicová složka připravena na kuřecích embryích, obsahuje vakcína nejvýše 1 µg ovalbuminu v jednotlivé lidské dávce. Stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %.

Stanovení účinnosti

A. Přípravek se smíchá s postačujícím množstvím specifických protilátek proti viru příušnic. Infekční virus spalniček se stanoví nejméně trojnásobně, přičemž se použije nejméně pět buněčných kultur pro každé sériové ředění po 0,5 log₁₀, nebo jinou metodou o stejné přesnosti. K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru spalniček je rovna nejméně koncentraci uvedené v označení; minimální koncentrace viru spalniček uvedená v označení je nejméně 1 x 10³ CCID₅₀ v jednotlivé lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu virové koncentrace je nižší než ±0,3.

- B.** Přípravek se smíchá s postačujícím množstvím specifických protilátek proti viru spalniček. Infekční virus příušnic se stanoví nejméně trojmo, přičemž se použije nejméně pět buněčných kultur pro každé sériové ředění po $0,5 \log_{10}$, nebo jinou metodou o stejné přesnosti. K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru příušnic je rovna nejméně koncentraci uvedené v označení; minimální koncentrace viru příušnic uvedená v označení je nejméně 5×10^3 CCID₅₀ v jednotlivé lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu virové koncentrace je nižší než $\pm 0,3$.
- C.** Přípravek se smíchá s postačujícím množstvím specifických protilátek proti viru příušnic. Infekční virus zarděnek se stanoví nejméně trojmo, přičemž se použije nejméně pět buněčných kultur pro každé sériové ředění po $0,5 \log_{10}$, nebo jinou metodou o stejné přesnosti. K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru zarděnek není nižší než množství uvedené v označení; minimální koncentrace viru zarděnek uvedená v označení je nejméně 1×10^3 CCID₅₀ v jednotlivé lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu virové koncentrace je nižší než $\pm 0,3$.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- zda byla při přípravě vakcíny použita kuřecí embrya,
- kmeny virů použité k přípravě vakcíny,
- typ a původ buněk použitých k přípravě vakcíny,
- minimální koncentrace každé virové složky,
- varování před stykem s dezinfekčními prostředky,
- doba, do které je třeba vakcínu po rekonstituci použít,
- že se vakcína nepodává těhotným ženám a že ženy po vakcinaci nemají po dobu 2 měsíců otěhotnět.

Vaccinum panleucopeniae felinae inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti panleukopenii koček



1999

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek z viru panleukopenie koček nebo viru psí parvovirozy inaktivovaného vhodnou metodou.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Virus se pomnožuje ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4). Virus se může purifikovat a koncentrovat.

4962 *Vaccinum panleucopeniae felinae inactivatum*

Zkouška na rezidua infekčního viru panleukopenie koček se provádí validovanou metodou na množství inaktivovaného viru odpovídajícím nejméně 100 dávkám vakcíny např. takto: vakcína se naočkuje na vhodnou ne zcela narostlou buněčnou kulturu; po 8denní inkubaci se trypsinizací připraví subkultura. Po další 8denní inkubaci se kultury vyšetří na rezidua živých parvovirů imunofluorescenční zkouškou. Imunofluorescenční zkouška se může doplnit hemaglutinační zkouškou nebo jinými vhodnými zkouškami v supernatantu buněčných kultur. Nejistí se žádný živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans a může se lyofilizovat.

Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.5.7) pro kočky. Imunogenita se může prokázat následující zkouškou.

Imunogenita. Použije se deset vnímavých koček ve stáří 8 až 12 týdnů. Každé kočce se odebere vzorek krve a individuálně se vyšetří na protilátky proti viru panleukopenie koček a parvovirozy psů k určení vnímavosti. Pět koček se očkuje podle doporučeného plánu. Osmý a čtvrtý den před čelenží se stanoví počet leukocytů, vypočítají se průměrné hodnoty ze dvou měření, které slouží jako výchozí hodnota. Dvacátý až dvacátý druhý den po poslední vakcinaci se každá kočka čelenžuje intraperitoneálně suspenzí patogenního viru panleukopenie koček. Kočky se pozorují 14 dní. Čtvrtý, šestý, osmý a desátý den po čelenží se provede stanovení leukocytů. Zkoušku lze hodnotit, pokud u všech kontrolních koček alespoň při jednom vyšetření dojde ke snížení počtu leukocytů nejméně o 75 % v porovnání s výchozí hodnotou. Tato zvířata mohou uhynout na panleukopenii. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže pět vakcinovaných koček zůstává v dobrém zdravotním stavu a nemá příznaky leukopenie, tj. snížení počtu leukocytů nepřekročí v žádném ze čtyř odběrů 50 % výchozí hodnoty.

Zkoušení šarže

Zkouška účinnosti šarže. Pro běžné zkoušení šarží vakcíny se může jako náhrada zkoušky A nebo B popsané v odstavci Stanovení účinnosti používat zkouška, která je založena na tvorbě hemaglutinačně-inhibičních protilátek u morčat, pokud je dokázána uspokojivá kolerace se zkouškou imunogenity.

Zkouška totožnosti

Po podání kočkám podporuje vakcína tvorbu protilátek proti parvoviru, který je ve vakcíně obsažen.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Dvěma kočkám nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci a bez protilátek proti viru panleukopenie koček nebo psímu parvoviru se doporučeným způsobem každé podají dvě vakcinační dávky. Zvířata se pozorují 14 dní. Nacházejí se v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu, předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Provede se zkouška A nebo B.

- A.** Použijí se čtyři vnímavé kočky 8 až 12 týdnů staré. Každé kočce se odebere vzorek krve a vyšetří se individuálně na protilátky proti viru panleukopenie koček a psímu parvoviru, aby se stanovila vnímavost. Každé ze dvou koček se podá doporučeným způsobem jedna dávka vakcíny. Za 21 dní se odebere každé kočce krev a připraví se jednotlivé vzorky séra. Séra se 30 min inaktivují zahřátím na 56 °C. K jednomu objemovému dílu každého séra se přidá devět objemových dílů suspenze *kaolinu lehkého R* (200 g/l) v *tlumivém roztoku fosforečnanovém s chloridem sodným o pH 7,4*. Každá směs se míchá 20 min. Po odstředění se odebere supernatantní tekutina a smíchá se s jedním objemem koncentrované suspenze prasečích erytrocytů. Nechá se 60 min inkubovat při 4 °C a poté se odstředí. Ředění získaného séra je 1 : 10. Od každého séra se připraví řada dvojnásobných ředění. Ke každému z těchto ředění o objemu 0,025 ml se přidá 0,025 ml suspenze antigenu psí parvovirozy nebo antigenu viru panleukopenie koček obsahující čtyři hemaglutinační jednotky. Nechá se 30 min inkubovat při 37 °C a poté se přidá 0,05 ml suspenze prasečích erytrocytů o koncentraci $30 \cdot 10^6$ buněk v mililitru. Inkubuje se 90 min při 4 °C a pak se zaznamená poslední ředění séra, kde ještě došlo k úplné inhibici hemaglutinace. Vakcína vyhovuje, jestliže v sérech obou vakcinovaných koček byl zaznamenán titr nejméně 1 : 20. Zkoušku lze hodnotit, jestliže obě kontrolní kočky nevytvoří protilátky proti psímu parvoviru nebo viru panleukopenie koček.
- B.** Dvě zdravé vnímavé kočky, stáří 8 až 12 týdnů, u kterých byl naměřen titr protilátek v 0,1 ml séra při stanovení níže popsanou metodou nižší než 4 ND₅₀ (padesátiprocentní neutralizační dávka) se vakcinují podle doporučeného schématu. Za 14 dní po vakcinaci se vyšetří sérum každého zvířete následujícím postupem. Séra se 30 min zahřívají na 56 °C a pak se připraví sériová ředění v médiu vhodném pro kočičí buňky. Ke každému ředění se přidá stejný objem virové suspenze, obsahující takové množství viru, které, je-li ve vhodné směsi séra a viru očkováno na buněčnou kulturu, obsahuje přibližně 10⁴ CCID₅₀. Směsi se inkubují 1 h při 37 °C a každá se očkuje v odpovídajícím objemu na čtyři buněčné kultury. Buněčné kultury se inkubují 7 dní při 37 °C a po následné druhé pasáži dalších 7 dní. Kultury se vyšetřují na přítomnost specifických cytopatických efektů a vypočítá se titr protilátek. Vakcína vyhovuje, jestliže průměrný titr je nejméně 32 ND₅₀ v 0,1 ml séra. Jestliže u jedné kočky nedojde k protilátkové odpovědi, zkouška se opakuje na dalších dvou kočkách a výsledek se vypočítá jako průměrná hodnota všech titrů naměřených u všech tří koček, u kterých došlo k protilátkové odpovědi.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

4964 *Vaccinum panleucopeniae felinae infectivae vivum*

Vaccinum panleucopeniae felinae infectivae vivum

Živá vakcína proti panleukopenii koček

1999



Je to přípravek z vhodného kmene viru panleukopenie koček.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Virus se pomnožuje ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4). Virová suspenze se sklídí a může se purifikovat a koncentrovat. Potom se smíchá s vhodným stabilizujícím roztokem. Vakcína se může lyofilizovat.

Výběr vakcinačního kmene

Pouze virový kmen prokazatelně uspokojivý z hlediska bezpečnosti (včetně bezpečnosti pro březí zvířata, pokud toto použití není kontraindikováno nebo je-li virus vylučován ve výkalech), imunogenity a nepřítomnosti vzestupu virulence se může použít k přípravě vakcíny. K důkazu bezpečnosti (5.2.6.) a imunogenity (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Zkouška se provádí pro každý doporučený způsob podání. Použije se pět koček nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, které jsou prosty specifických hemaglutinačně-inhibičních protilátek proti viru panleukopenie koček. V cirkulující krvi se stanoví počet leukocytů 8 dní a 4 dny před podáním vakcinačního kmene a z obou měření se vypočítají průměry, které slouží jako počáteční hodnoty. Každé kočce se doporučeným způsobem podá takové množství viru, které odpovídá nejméně desetinásobku nejvyššího titru viru, jenž se může očekávat v šarži vakcíny a na nejnižší úrovni oslabení. Zvířata se pozorují 21 dní. Čtvrtý, šestý, osmý a desátý den po očkování se stanoví počty leukocytů. Kmen vyhovuje zkoušce, jestliže se kočky nacházejí v dobrém zdravotním stavu bez nadměrných místních nebo systémových reakcí a jestliže u žádného vzorku krve vyšetřovaných zvířat neklesne počet leukocytů pod 50 % počátečních hodnot.

Vzestup virulence. Použijí se dvě kočky nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, prosté specifických hemaglutinačně-inhibičních protilátek proti viru panleukopenie koček. Každé kočce se doporučeným způsobem podá takové množství viru, které v nejvyšší míře zajistí znovuzískání viru pro následující pasáže. Od druhého do desátého dne po podání viru se sbírají výkaly od jednotlivých zvířat a zjišťuje se přítomnost viru. Výkaly obsahující viry se smíchají. Dalším dvěma kočkám stejného stáří a vnímavosti se oronazální cestou podá 1 ml suspenze směsi výkalů. Tento postup se opakuje ještě čtyřikrát. V každé pasáži se ověřuje přítomnost viru. Pokud virus není nalezen, provede se další série pasáží. Jestliže virus není nalezen v jedné z pasáží druhé série, vakcinační kmen vyhovuje zkoušce. Vakcinační kmen vyhovuje zkoušce, jestliže žádná kočka neuhyne ani nevykazuje příznaky, jež by bylo možno přisoudit vakcíně, a jestliže není pozorován náznak vzestupu virulence porovnáním s původním vakcinačním virem. V úvahu se vezmou zejména počty bílých krvinek, výsledky histologického vyšetření brzlíku a titr vylučovaného viru.

Imunogenita. Zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity virového kmene.

Zkoušení šarže

Pokud bylo stanovení účinnosti provedeno s uspokojivými výsledky na reprezentativní šarži vakcíny, může být tato zkouška vypuštěna z rutinní kontroly jiných šarží vakcíny připravených z téhož inokula, dá-li k tomu souhlas oprávněná autorita.

Zkouška totožnosti

Vakcinační virus se pomnoží ve vnímavé buněčné linii v substrátu vhodném ke zkoušce fluorescenčními protilátkami nebo k provedení peroxidázového testu. Připraví se vhodné kontroly. Část buněk se zkouší monoklonálními protilátkami specifickými pro virus panleukopenie koček a část buněk monoklonálními protilátkami specifickými pro psí parvovirus. V buňkách naočkovaných vakcínou se zjistí virus panleukopenie koček, psí parvovirus se nezjistí.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Dvěma zdravým kočkám nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, které jsou prosté protilátek proti viru panleukopenie koček, se každé podá deset dávek předepsaným způsobem. Zvířata se pozorují 14 dní. Kočky se nacházejí v dobrém zdravotním stavu a nezjistí se nadměrné místní nebo systémové reakce.

Cizí viry. Vakcína se neutralizuje vhodným monospecifickým sérem proti viru panleukopenie koček a očkuje se na vhodné buněčné kultury. Proveďte se nejméně jedna pasáž a kultury se uchovávají 14 dní. Kultury se pak vyšetří na cytopatogenní efekt a provedou se zkoušky na hemadsorpci. Nezjistí se žádné známky kontaminace v buněčných kulturách.

Bakterie a houby. Vakcína, je-li třeba, rekonstituovaná, vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7). Vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Titr viru. Vakcína se rekonstruuje, je-li třeba, a titruje se ve vhodných buněčných kulturách. Jedna dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá minimálnímu titru uvedenému v označení.

Stanovení účinnosti

Použije se deset vnímavých koček ve stáří 8 až 12 týdnů. Každému zvířeti se odebere krev a individuálně se zjišťují protilátky proti viru panleukopenie koček k určení vnímavosti. Pět koček se vakcinuje podle doporučeného schématu. Osmý a čtvrtý den před čelenzí se stanoví počet leukocytů, vypočítají se průměrné hodnoty ze dvou měření, které slouží jako počáteční hodnota. Za 20 až 22 dní po poslední vakcinaci se každá kočka čelenžuje intraperitoneálně suspenzí patogenního viru panleukopenie koček. Kočky se pozorují 14 dní. Čtvrtý, šestý, osmý a desátý den po čelenzí se provede stanovení počtu leukocytů. Zkoušku lze hodnotit, jestliže u všech pěti kontrolních koček alespoň při jednom vyšetření dojde ke snížení počtu leukocytů nejméně o 75 % v porovnání s počáteční hodnotou. Tato zvířata mohou uhynout na panleukopenii. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže se pět vakcinovaných koček nachází ve výborném zdravotním stavu a nevykazuje žádné příznaky leukopenie; tj. snížení počtu leukocytů nepřekročí v žádném ze čtyř odběrů 50 % počáteční hodnoty.

4966 *Vaccinum parainfluenzae viri bovini vivum cryodesiccatum*

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení se uvede, že se vakcína nepoužívá u březích koček (pokud v takových podmínkách není prokázána její bezpečnost).

Vaccinum parainfluenzae viri bovini vivum cryodesiccatum



1998

Živá vakcína proti parainfluenze skotu lyofilizovaná

Je to přípravek z vhodného kmene viru bovinní parainfluenzy typu 3.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Vakcinační kmen se pěstuje ve vhodné buněčné kultuře (5.2.4). Suspenze viru se sklídí, smíchá s vhodnou stabilizující tekutinou a lyofilizuje se.

Výběr vakcinačního kmene

K přípravě vakcíny se může použít pouze takový kmen viru, který vyhovuje z hledisek nezvratnosti virulence, bezpečnosti a imunogenity. K průkazu bezpečnosti (5.2.6.) a účinnosti (5.2.7.) se mohou použít následující zkoušky.

Nevratnost virulence. Dvěma vnímavým telatům bez protilátek proti bovinní parainfluenze typu 3 se intranazálně podá optimální množství viru, které bude schopné reizolace v následujících pasážích.

Od 3. do 7. dne od podání viru se oběma telatům denně provádí nosní výtěr, ten se vloží do vhodného média (jehož objem nepřesahuje 5 ml), které se používá při očkování buněčných kultur k ověření přítomnosti viru. Dvěma jiným telatům stejného stáří a citlivosti se podá asi 1 ml suspenze z nosního výtěru, která podle výsledků titrace na tkáňových kulturách obsahuje maximální množství viru. Stejný postup se opakuje na telatech v pěti pasážích. U žádného telete se nezjistí klinické známky příznačné pro vakcinační virus. Ve srovnání s původním vakcinačním virem se nezjistí vzestup virulence. Výpočet se provádí na základě titru vylučovaného viru z nosních výtěrů.

Bezpečnost. Zkouška se provádí všemi doporučenými způsoby podání. Používají se telata nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci bez protilátek proti viru bovinní parainfluenzy typu 3 nebo ve zdůvodněných případech telata, u kterých byla prokázána velmi nízká úroveň těchto protilátek. Pěti telatům se podá nejméně desetinásobek množství nejvyššího titru viru, který lze předpokládat u šarže vakcíny. Zvířata se pozorují 21 dnů. U všech zvířat se měří rektální teplota

Vaccinum parainfluenzae viri bovini vivum cryodesiccatum 4967

den před vakcinací, v den vakcinace a čtyři dny po vakcinaci. Nezjistí se abnormální vliv na tělesnou teplotu ani žádné abnormální místní nebo systémové reakce.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity vakcinačního kmene.

Zkoušení šarže

Jestliže byla zkouška účinnosti provedena s vyhovujícími výsledky u reprezentativní šarže vakcíny, pak tato zkouška se souhlasem oprávněné autority může být výrobcem vynechána při provádění pravidelné kontroly dalších šarží připravených z téhož inokula.

Zkouška totožnosti

Na vhodných buněčných kulturách s monospecifickým sérem se provede zkouška imunofluorescence.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Každému ze dvou telat nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, která jsou prostá protilátek na virus bovinní parainfluenzy typu 3, nebo ve zdůvodněných případech telatům, u kterých byla prokázána velmi nízká úroveň těchto protilátek, se předepsaným způsobem podá deset dávek vakcíny. Zvířata se pozorují 21 dnů. Nezjistí se abnormální místní ani systémové reakce.

Cizí viry. Vakcína se neutralizuje monospecifickým sérem proti viru bovinní parainfluenzy typu 3 a naočkuje se na buněčné kultury vnímavé k virům patogenním pro skot. Kultury se udržují 14 dnů, v průběhu této doby se provede nejméně jedna pasáž. Nevyvolává cytopatický efekt, buňky nevykazují přítomnost hemadsorpčního agens. Provede se specifická zkouška na pestiviry.

Bakteriální a houbová kontaminace. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7.). Vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Titř viru. Vakcína se titruje na vhodných buněčných kulturách. Dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá minimálnímu deklarovanému titru.

Stanovení účinnosti

Použije se nejméně deset telat nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, která nemají protilátky proti viru bovinní parainfluenzy typu 3. Telata s nízkou hladinou protilátek se mohou použít, jestliže je prokázáno, že v těchto podmínkách se dosáhnou hodnotitelné výsledky. Séra se získávají ze zvířat před vakcinací, sedmý a čtrnáctý den po vakcinaci a bezprostředně před čelenží. Vakcinuje se nejméně pět telat podle návodu k použití. Pět telat slouží jako kontroly. Zvířata se pozorují 21 dnů, potom se každému kusu vpraví do dýchacích cest vhodné množství virulentního viru bovinní parainfluenzy typu 3 v nízké pasáži. V průběhu čtrnácti dnů po čelenži se u zvířat sledují klinické příznaky, zejména respirační, vylučování viru (nosní výtěry, tracheobronchiální výplachy).

Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže u vakcinovaných zvířat ve srovnání s kontrolními dochází:
a) k průkaznému snížení průměru titru a doby vylučování viru,

4968 *Vaccinum parotitidis vivum*

b) k významnému snížení celkových a místních příznaků (pokud čelenžní virus tyto příznaky vyvolává).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže ověřením na protilátky viru bovinní parainfluenzy typu 3 v séru bylo zjištěno, že v průběhu zkoušení nedošlo k přidružené infekci, nebo jestliže více než dvě z pěti kontrolních zvířat vylučují čelenžní virus při vyšetření nosních výtěrů nebo tracheobronchiálních výplachů.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Vaccinum parotitidis vivum

Živá vakcína proti příušnicím



1999

Je to lyofilizovaný přípravek z vhodného oslabeného kmene viru příušnic (*Paramyxovirus parotitidis*). Vakcína se rekonstruuje podle návodu bezprostředně před použitím. Vznikne čirá tekutina, jež může být zbarvena přítomným indikátorem pH.

Výroba

Výroba vakcíny je založena na systému jednotné inokulace, a je-li virus pomnožován v lidských diploidních buňkách, na systému buněčné banky. Výrobní postup prokazatelně poskytuje stále stejnou živou vakcínu přiměřené imunogenity a neškodnosti pro člověka. Pokud není určeno a schváleno jinak, virus v konečném přípravku neprošel od matečného inokula více pasážemi, než bylo použito u vakcíny, jejíž bezpečnost a účinnost byla prokázána v klinické studii.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Substrát pro pomnožení viru

Virus se pomnožuje v lidských diploidních buňkách (5.2.3) nebo v kulturách buněk kuřecích embryí nebo v amniotické dutině kuřecích embryí pocházejících z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2).

Virové inokulum

Kmen použitého viru příušnic je určen podle vývojových záznamů, které obsahují informaci o jeho původu a následném zacházení. Aby se předešlo nadměrnému používání opic ve zkoušce na neurovirulenci, připraví se virové inokulum ve velkém množství a uchovává se lyofilizované při teplotách nižších než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, nebo pokud není lyofilizováno, nižších než $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Pouze virové inokulum vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro pomnožování viru.

Zkouška totožnosti. V matečných i pracovních inokulech se prokáže virus příušnic séroneutralizační zkouškou v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v matečných i v pracovních inokulech se stanoví k zajištění stále stejné výroby.

Cizí agens (2.6.16). Pracovní inokulum vyhovuje požadavkům na inokula.

Neurovirulence (2.6.18). Pracovní inokulum vyhovuje zkoušce na neurovirulenci živých virových vakcín. Pro zkoušku jsou vhodné opice *Macaca* a *Cercopithecus*.

Pomnožování a sklizeň viru

Všechny práce s buněčnou bankou a s následnými buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek a v prostředí, kde se nepracuje s jinými buňkami. Do růstových médií se může použít vhodné zvířecí sérum (nikoliv lidské). Sérum a trypsin používané při přípravě buněčných suspenzí a médií jsou prokazatelně prosté cizích agens. Médium pro buněčné kultury může obsahovat indikátor pH, jako je červeně fenolová, a vhodná antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Je výhodnější mít při výrobě substrát bez antibiotik. Nejméně 500 ml výrobních buněčných kultur se ponechává neinfikovaných (kontrolní buňky). Pokud je virus pomnožován v kuřecích embryích, ponechávají se 2 % (nejméně dvacet vajec) neinfikovaná. Sklizně virových suspenzí probíhají v době vhodné pro použití kmen viru.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

Zkouška totožnosti. Jednotlivá sklizeň obsahuje viry, které se prokážou jako virus příušnic séroneutralizační zkouškou v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v jednotlivé sklizni se stanoví ke sledování stejnorodosti výroby a k výpočtu ředění pro konečnou várku vakcíny. Postupuje se tak, jak je předepsáno v odstavci Stanovení účinnosti.

Cizí antigeny (2.6.16). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkouškám na cizí antigeny.

Kontrolní buňky nebo vejce. Jestliže byly použity lidské diploidní buňky, vyhovují kontrolní buňky zkoušce totožnosti; kontrolní buňky a kontrolní vejce vyhovují zkouškám na cizí antigeny (2.6.16).

Konečná várka vakcíny

Jednotlivé sklizně, které vyhověly výše uvedeným zkouškám, se spojí a vyčeří, aby se odstranily buňky. Může se přidat vhodný stabilizátor a spojené sklizně se příslušně naředí.

Pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícímu požadavku, se může použít k přípravě šarže.

Bakterie a houby. Konečná várka vakcíny vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1); na každou živnou půdu se použije 10 ml.

4970 *Vaccinum parotitidis vivum***Šarže**

Minimální koncentrace viru pro propuštění přípravku se určí tak, aby se pomocí stabilitních údajů zajistilo, že na konci doby použitelnosti bude ve vakcíně nejméně koncentrace uvedená v označení.

Pouze šarže, která vyhovuje požadavkům na minimální koncentraci pro propuštění, následujícímu požadavku na teplotní stabilitu a všem požadavkům uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti a Zkoušky na čistotu, se může uvolnit k použití. Pokud byly zkoušky na bovinní sérumalbumin a případně též ovalbumin provedeny s vyhovujícími výsledky v konečné várce vakcíny, mohou se u šarže vypustit.

Teplotní stabilita. Vzorky šarže lyofilizované vakcíny se v suchém stavu 7 dní inkubují při 37 °C. Souběžně se stanoví koncentrace viru ve vzorku inkubované a neinkubované vakcíny, uchovávané při 5 °C ± 3 °C, způsobem popsaným v odstavci Stanovení účinnosti. Koncentrace viru v inkubované vakcíně je nejvýše o 1 log₁₀ nižší než koncentrace viru v neinkubované vakcíně.

Zkouška totožnosti

Když se vakcína, rekonstituovaná podle údajů v označení, smíchá se specifickými parotitickými protilátkami, není již schopna infikovat vnímavé buněčné kultury.

Zkoušky na čistotu

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v jednotlivé lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Ovalbumin. Je-li vakcína připravena na kuřecích embryích, obsahuje nejvýše 1 µg ovalbuminu v jednotlivé lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %.

Stanovení účinnosti

Infekční virus vakcíny se stanoví nejméně trojmo, přičemž se použije nejméně pěti buněčných kultur pro každé o 0,5 log₁₀ sériové ředění, nebo jinou metodou o stejné přesnosti.

K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru je rovna nejméně koncentraci uvedené v označení; minimální koncentrace viru v označení je nejméně 5 · 10³ CCID₅₀ v lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu virové koncentrace je nižší než ±0,3.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení se uvede:

- kmen viru použitý k přípravě vakcíny,

Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum 4971

- zda byla vakcína připravena na kuřecích embryích nebo typ a původ buněk použitých k přípravě vakcíny,
- minimální koncentrace viru,
- varování před stykem s dezinfekčními prostředky,
- doba, do které je třeba vakcínu po rekonstituci použít.

Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum



1999

Adsorbovaná vakcína proti dávivému kašli z antigenních složek

Je to přípravek složený z individuálně vyrobených a purifikovaných antigenních složek *Bordetella pertussis* adsorbovaných na minerální nosič, jako je např. hydroxid hlinitý nebo fosforečnan hlinitý.

Vakcína obsahuje buď pertusový toxoid, nebo pertusovému toxinu podobný protein prostý toxických vlastností, produkováný geneticky modifikovanou formou příslušného genu. Pertusový toxoid se připravuje z pertusového toxinu metodou, která jej učiní neškodným při zachování odpovídajících imunogenních vlastností a zabrání zpětné přeměně na toxin. Vakcína může též obsahovat filamentózní hemaglutinin, pertaktin (69 kD bílkovina zevní membrány) a jiné definované složky *B. pertussis*, jako jsou fimbriální-2 a fimbriální-3 antigeny. Poslední dva antigeny se mohou společně purifikovat. Antigenní složení a vlastnosti jsou založeny na průkazu ochrany a nepřítomnosti nežádoucích reakcí u populace, pro kterou je vakcína určena.

Výroba

Výrobní metoda má prokazatelně poskytovat stejnorodé vakcíny srovnatelné s vakcínou, která byla klinicky ověřena na účinnost a bezpečnost.

Jestliže se k výrobě použije geneticky modifikovaná forma *B. pertussis*, má být dodržování výrobního postupu a genetická stabilita v souladu s požadavky článku *Producta ab ADN recombinante*.

Referenční vakcína. Použije se šarže vakcíny s klinicky ověřenou účinností nebo reprezentativní šarže. Při výrobě reprezentativní šarže je nutné, aby byl přísně dodržen výrobní proces, který byl použit při výrobě klinicky zkoušené šarže. Referenční vakcína se přednostně stabilizuje metodou, u níž bylo prokázáno, že významně neovlivňuje postup stanovení účinnosti, při němž se porovnává stabilizovaná a nestabilizovaná šarže.

Charakteristika složek

Při vývoji vakcíny se má výrobní proces validovat tak, aby se prokázalo, že se stále stejným způsobem získávají jednotlivé složky, které odpovídají následujícím požadavkům; prokáže-li se stálost výroby, není třeba běžně provádět zkoušení každé výrobní šarže.

Adenylát cykláza. Nejvýše 500 ng v množství odpovídajícím jedné dávce hotové vakcíny; stanoví se imunoblotovou analýzou nebo jinou vhodnou metodou.

4972 *Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum*

Tracheální cytotoxin. Nejvýše 2 pmol v množství odpovídajícím jedné dávce hotové vakcíny; stanoví se vhodnou metodou, jako je např. biologické stanovení nebo kapalinová chromatografie (2.2.29).

Nepřítomnost zbytkového dermonekrotického toxinu. Třem neodstaveným myším se každé intradermálně vstříkne 0,1 ml obsahující množství složek nebo antigenních frakcí odpovídající jedné lidské dávce vakcíny. Zvířata se pozorují 48 h. Nejistí se dermonekrotická reakce.

Specifické vlastnosti. Složky vakcíny jsou zkoušeny jednou nebo více metodami, uvedenými dále, aby se prokázala jejich totožnost a specifické vlastnosti (účinnost na množství jednotek bílkoviny) v porovnání s referenčními přípravky.

Pertusový toxin. Zkouší se in vitro metodou shlukování ovariálních buněk čínského křečka (CHO) a hemaglutinací; in vivo metodami stimulace lymfocytózy, senzibilizace na histamin a metodou sekrece insulínu. Toxin má ADP-ribosyl transferázovou účinnost při použití transduci-nu jako akceptoru.

Filamentózní hemaglutinin. Hemaglutinace a inhibice specifickými protilátkami.

Pertaktin, fimbriální-2 a fimbriální-3 antigeny. Reakce se specifickými protilátkami.

Pertusový toxoid. Toxoid vyvolává u zvířat tvorbu protilátek, schopných inhibovat všechny vlastnosti pertusového toxinu.

Purifikované složky

Příprava každé složky je založena na systému jednotné inokulace. Kultury matečného inokula, ze kterých je toxin připravován, jsou uchovávány tak, aby se zajistila jejich toxinogenita. Je-li třeba, toxinogenita se obnovuje cíleným výběrem.

Žádná živná půda použitá při jakémkoliv stupni výroby neobsahuje lidskou krev ani výrobky z lidské krve. Pouze půdy použité pro přípravu matečného inokula nebo inokula mohou obsahovat zvířecí krev nebo přípravky ze zvířecí krve.

Pertusový toxin, kde je to vhodné, filamentózní hemaglutinin a pertaktin se purifikují a po vhodné charakterizaci detoxikují vhodnými chemickými látkami takovou metodou, která vylučuje zpětnou přeměnu toxoidu na toxin, a to zejména při uchovávání nebo působení tepla. Ostatní složky, jako jsou fimbriální-2 a fimbriální-3 antigeny, se purifikují buď samostatně, nebo ve směsi a zkoušením se prokáže, že neobsahují toxické látky. Postup purifikace se validuje, aby se prokázalo dostatečné očištění od látek použitých při kultivaci nebo purifikaci.

Obsah bakteriálních endotoxinů (2.6.14) se stanoví jako ukazatel čistícího postupu a aby se limitovalo množství endotoxinů v hotovém přípravku. Limity určené pro jednotlivé složky jsou takové, aby vakcína obsahovala nejvýše 100 m.j. v jedné lidské dávce.

Čistota složek se před detoxikací stanoví vhodnou metodou, jako je např. elektroforéza v polyakrylamidovém gelu (PAGE) nebo kapalinová chromatografie. Charakteristiku subjednotek vakcíny je možno provést metodou SDS-PAGE nebo imunoblotovou analýzou se specifickými monoklonálními nebo polyklonálními protilátkami. Pro každý jednotlivý přípravek se stanoví požadavky.

K přípravě konečné várky vakcíny se mohou použít pouze purifikované složky, které vyhovují následujícím požadavkům.

Sterilita (2.6.1). Proveďte se zkouška na sterilitu; na každou živnou půdu se použije množství purifikované složky odpovídající nejméně 100 dávкам.

Nepřítomnost zbytkového pertusového toxinu. Tato zkouška není nutná u přípravků získaných genetickou modifikací. Nejméně pěti myším citlivým na histamin a o hmotnosti 18 g až 26 g se

Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum 4973

každé intravenózně vstříkne množství odpovídající jedné lidské dávce nebo intraperitoneálně dvěma lidským dávkám naředěné tlumivým roztokem fosforečnanovým s chloridem sodným a želatinou (2 g/l) na nejvýše 0,5 ml. Druhé skupině kontrolních myší se vstříkne ředící roztok. Za 5 dní se intraperitoneálně vstříknou 2 mg histaminové báze v objemu nepřevyšujícím 0,5 ml a zvířata se pozorují 24 h. Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže neuhyne žádná myš.

Používaný kmen myší se ve vhodných intervalech zkouší na citlivost k histaminu tímto postupem: podávají se trojnásobná ředění referenčního pertusového toxinu v tlumivém roztoku fosforečnanovém s chloridem sodným a želatinou (2 g/l) a čelenžují se histaminem, jak je uvedeno výše; kmen je vhodný, jestliže minimálně 50 % myší je senzibilizováno 50 ng pertusového toxinu a žádná z kontrolních myší, kterým byl podán pouze ředící roztok a byly čelenžovány histaminem, nevykazuje známky přecitlivělosti.

Místo zkoušky na myších lze použít validovanou zkoušku shlukování ovariálních buněk čínské křečka (CHO).

Zbytky detoxikačních činidel a jiné látky. Stanoví se obsahy zbytků detoxikačních činidel a jiných látek a prokáže se, že jsou nižší než schválený limit, přičemž validace procesu má potvrdit přijatelné snížení.

Obsah antigenu. Obsah antigenu se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) a bílkovinový dusík mineralizací kyselinou sírovou (2.5.9) nebo jiným vhodným postupem. Poměr obsahu antigenu k množství bílkovinového dusíku je v rozmezí předepsaném pro přípravek.

Konečná várka vakcíny

Vakcína se připravuje adsorpcí vhodných množství purifikovaných složek buď jednotlivě, nebo společně na hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý. Může se přidat vhodná protimikrobní konzervační látka.

Pro přípravu šarže se může použít pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům.

Protimikrobní konzervační látka. Nejméně 85 % a nejvýše 115 % zamýšleného množství. Je-li to vhodné, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou.

Sterilita (2.6.1). Provede se zkouška na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Pouze šarže, která vyhovuje všem požadavkům uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti, se může uvolnit k použití. Zkoušky na nepřítomnost zbytkového pertusového toxinu, stálost toxoidu, stanovení protimikrobní konzervační látky, zkouška na volný formaldehyd a stanovení účinnosti se mohou u šarže vypustit v případě, že tyto zkoušky byly provedeny u konečné várky vakcíny s vyhovujícím výsledkem.

Zkouška totožnosti

Vakcína se podrobí vhodné desorpci, např. tímto postupem: ve zkoušené vakcíně se rozpustí *citronan sodný R* na koncentraci 10 g/l, inkubuje se asi 16 h při 37 °C, poté se odstředí, až vznikne čirý supernatant. Ten se zkouší vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) a reaguje se specifickými antiséry proti jednotlivým složkám uvedeným v označení na obalu.

4974 *Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum***Zkoušky na čistotu**

Nepřítomnost zbytkového pertusového toxinu. Tato zkouška není nutná u přípravku získaného genetickou modifikací. Nejméně pěti myším citlivým na histamin (viz Výroba) se každé intraperitoneálně vstříknou dvě lidské dávky. Druhé skupině kontrolních myší se podá ředící roztok. Za 5 dní se intraperitoneálně vstříknou 2 mg histaminové báze v objemu nepřevyšujícím 0,5 ml a zvířata se pozorují 24 h. Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže myši ze zkušební skupiny nevykazují citlivost na histamin.

Stálost toxoidu. Zkouška není nutná u přípravku získaného genetickou modifikací. Provede se zkouška na zbytkový pertusový toxin výše popsaným způsobem a použije se vakcína inkubovaná 4 týdny při teplotě 37 °C a současně se podává vzorek uchovávaný při 2 °C až 8 °C. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže ani v jedné z obou skupin nedojde k úhynu na přecitlivělost na histamin.

Protimikrobní konzervační látka. Nejméně nejnižší prokazatelně účinné množství, nejvýše 115 % deklarovaného množství. Pokud je třeba, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou.

Hliník. Je-li použit hydroxid hlinitý nebo hydratovaný fosforečnan hlinitý jako adsorbent, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Volný formaldehyd. Byl-li při výrobě vakcíny použit formaldehyd, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti

Schopnost vakcíny indukovat tvorbu specifických protilátek se porovnává se stejnou schopností referenčního přípravku v souběžné zkoušce; protilátky se stanovují vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), např. enzymově imunisorbentovým stanovením (ELISA). Zkouška na myších, která je dále uvedena, používá tříbodový model; po validaci při běžném zkoušení se může použít metoda jednoho ředění.

Požadavky. Schopnost indukovat tvorbu protilátek není významně ($P = 0,95$) nižší proti referenční vakcíně.

Následující modelová zkouška je příkladem metody, která byla shledána uspokojivou.

Výběr a rozdělení zkušebních zvířat. Použijí se zdravé myši (např. CD1 kmen) z jednoho chovu, 4 až 8 týdnů staré, a rozdělí se do šesti skupin ve vhodném počtu podle požadavků zkoušky. Použijí se tři ředění zkoušené vakcíny a tři ředění referenčního přípravku a ke každému ředění se určí jedna skupina zvířat. Každé myši se intraperitoneálně nebo subkutánně vstříkne 0,5 ml ředění určeného pro jeho skupinu.

Příprava vzorků sér. Za 4 až 5 týdnů po vakcinaci se myši jednotlivě vykrvácejí v narkóze. Séra se skladují při -20 °C do vyšetření na obsah protilátek.

Stanovení protilátek. Obsah specifických protilátek v jednotlivých sérech proti všem složkám vakcíny se stanoví validovanou metodou, jako je např. dále uvedené stanovení ELISA.

ELISA. Na povrch mikrotitrační destičky (z polyvinylchloridu nebo polystyrenu) se naváže specifický antigen v koncentraci 100 ng na jamku. Po opláchnutí se nenavázaná místa blokují inkubací s roztokem bovinního sérového albuminu a potom se opět opláchnou. Na destičkách se připraví dvojnásobné ředění sér myší imunizovaných zkoušenou a referenční vakcínou, inkubují se 1 h při 22 °C

až 25 °C a poté se jamky promyjí. Do každé jamky se přidá vhodný roztok antivyššího IgG konjugovaného s enzymem a destička se inkubuje 1 h při 22 °C až 25 °C. Po jejím promytí se přidá substrát, ze kterého vázaný enzym uvolňuje chromofor, jehož množství se stanoví změřením absorbance (2.2.25). Podmínky zkoušky se uspořádají tak, aby naměřené absorbance měly lineární průběh v závislosti na obsahu protilátek a jejich hodnoty absorbance byly v rozmezí 0,1 až 2,0.

Ve zkoušce se použije referenční antisérum o známé účinnosti, které slouží jako základ pro výpočet hladin protilátek ve zkoušených sérech. Ve zkoušce je též zařazeno standardizované kontrolní sérum.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- naměřená hodnota kontrolního séra se liší o méně než dvojnásobek směrodatné odchylky od nominální hodnoty,
- interval spolehlivosti naměřené účinnosti je v rozmezí 50 % až 200 %.

Výpočet. Vypočítají se titry protilátek v sérech myši imunizovaných referenční a zkoušenou vakcínou a ze získaných hodnot se obvyklými statistickými metodami vypočítá účinnost zkoušené vakcíny ve vztahu k referenční vakcíně.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- názvy a množství jednotlivých složek obsažených ve vakcíně,
- kde bylo použito, uvede se, že vakcína obsahuje pertusovému toxinu podobný protein, který byl vyroben genetickou modifikací,
- název a množství nosiče,
- že vakcína se před použitím roztřepe,
- že vakcína nesmí zmrznout.

Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti poliomyelitidě



1999

Je to tekutý přípravek z vhodných kmenů poliomyelitického viru typu 1, typu 2 a typu 3, pomnožených ve vhodných buněčných kulturách a inaktivovaných validovanou metodou. Je to čirá tekutina, která vzhledem k přítomnosti indikátoru pH může být zbarvena.

Vyhovuje článku *Vaccina ad usum humanum*.

Výroba

Výrobní metoda prokazatelně poskytuje stejnorodou vakcínu přijatelné bezpečnosti a imunogenity pro člověka.

4976 *Vaccinum poliomyelitidis inactivatum*

Výroba je založena na systému jednotné inokulace. Pro buněčné linie se používá systém buněčné banky. Použijí-li se při výrobě primární, sekundární nebo terciární opičí buňky, vyhovuje výroba dále uvedeným předpisům.

Není-li stanoveno a schváleno jinak, není virus ve vakcíně ve vyšší pasáži od matečného inokula než virus ve vakcíně, která v klinických studiích byla uspokojivá z hlediska neškodnosti a účinnosti.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li výrobek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Substrát pro pomnožení viru

Virus se pomnožuje v lidských diploidních buňkách (5.2.3), v kontinuálních buněčných liniích (5.2.3) nebo v primárních, sekundárních nebo terciárních buňkách opičích ledvin.

Primární, sekundární nebo terciární buňky opičích ledvin. Na primární, sekundární nebo terciární buňky opičích ledvin se použijí následující zvláštní požadavky na substrát pro pomnožení viru.

Opice používané pro přípravu kultur opičích ledvinných buněk pro výrobu a kontrolu vakcíny. Zvířata jsou druhu schváleného oprávněnou autoritou, v dobrém zdravotním stavu, a není-li stanoveno a schváleno jinak, nebyla předtím použita k žádným pokusům. Buňky ledvin používané při výrobě a kontrole vakcíny se získají ze sledovaných uzavřených kolonií opic narozených v zajetí, ne z opic odchycených v přírodě. Jestliže je inokulum připraveno z viru, který byl pasážován v buňkách pocházejících z divokých opic, musí být schváleno odpovědnou autoritou a bezpečnost vakcíny doložena historickými záznamy.

Sledované uzavřené chovy opic. Opice jsou ustájeny ve skupinách v klecích. Nepřítomnosti cizích agens se dosáhne použitím zvířat chovaných v uzavřených chovech, které jsou podrobeny stálému a systematickému veterinárnímu a laboratornímu vyšetřování na přítomnost infekčních agens. Dodavatele zvířat schvaluje oprávněná autorita. Po dobu nejméně šestinedělní karantény před zařazením do chovů a během pobytu v chovech se každá opice v pravidelných intervalech sérologicky vyšetřuje.

Opice jsou prokazatelně tuberkulin - negativní a nemají protilátky proti viru SV40 a viru opičí imunodeficiencie. Jsou-li k výrobě vakcíny použity opice rodu *Macaca*, nemají prokazatelně protilátky proti herpesviru B (cerkopitecidní herpesvirus 1). Aby se předešlo nebezpečí, vyplývajícímu ze zacházení s herpesvirem B, použije se jako ukazatel nepřítomnosti protilátek proti herpesviru B lidský herpesvirus 1.

Opice, ze kterých jsou ledviny získávány, se pečlivě vyšetřují na nepřítomnost tuberkulózy a infekce herpesvirem B (cerkopitecidní herpesvirus 1). Vykazuje-li některá opice patologické léze závažné pro použití ledvin k přípravě inokula nebo vakcíny, nemohou se použít ani ostatní opice ze skupiny, neboť by nebyla zajištěna bezpečnost přípravku.

Všechny operace popsané v této části se provádějí mimo výrobní prostory vakcín.

Buňky opičích ledvin pro výrobu vakcíny. Pro přípravu buněčné kultury se použijí ledviny bez patologických lézí. Každá skupina buněčných kultur připravených z jedné opice tvoří samostatnou výrobní buněčnou kulturu, která poskytuje samostatnou jednotlivou sklizeň.

Primární buňky opičích ledvin vyhovují zkoušce na mykobakterie (3.6.2); buňky se před provedením zkoušky rozruší.

Použijí-li se sekundární nebo terciární buňky, má se vhodnými validovanými zkouškami prokázat, že buněčné kultury na úrovni pasáže použité k výrobě jsou bez tumorogenity.

Inokula

Každý ze tří kmenů polioviru je určen vývojovými záznamy, které obsahují informace o původu viru a následném zacházení s ním.

Pouze pracovní inokulum odpovídající následujícím požadavkům se může použít pro pomnožení viru.

Totožnost. Každé pracovní inokulum se identifikuje jako lidský poliovirus 1, 2 nebo 3 zkouškou neutralizace viru v buněčné kultuře použitím specifických protilátek.

Koncentrace viru. Stanoví se virová koncentrace každého pracovního inokula, aby se určilo množství viru, jež se použije k inokulaci výrobních buněčných kultur.

Cizí agens. Pracovní inokulum vyhovuje požadavkům na inokula pro virové vakcíny (2.6.16).

Pokud se k izolaci kmene použily primární, sekundární nebo terciární buňky, provedou se navíc opatření, která zajistí, aby kmen nebyl kontaminován takovými opičími viry, jako je virus opičí imunodeficiency, SV40, filoviry a herpesvirus B (cerkopitecidní herpesvirus 1). Pracovní inokulum připravené v primárních, sekundárních nebo terciárních buňkách vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci *Pomnožování viru a sklizeň* pro jednotlivé sklizně připravené v těchto buňkách.

Pomnožování a sklizeň

Všechny práce s buněčnou bankou a následnými buněčnými kulturami se provádějí v aseptických podmínkách v prostoru, kde se nepracuje s jinými buňkami. Do kultivačních médií se může použít schválené živočišné (ne lidské) sérum. Sérum a trypsin použité pro přípravu buněčných suspenzí a médií prokazatelně neobsahují cizí agens. Média pro buněčné kultury mohou obsahovat indikátor pH, např. fenolovou červeň, a schválená antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Nejméně 500 ml buněčných kultur použitých pro výrobu vakcíny se ponechá neinfikovaných (kontrolní buňky); použijí-li se kontinuální linie pěstované ve fermentoru, jako kontrolní buňky se použije 200×10^6 buněk; použijí-li se primární, sekundární nebo terciární buňky, odpovídá vzorek buněk nejméně 500 ml buněčné suspenze v koncentraci použité pro výrobu vakcíny.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro přípravu vakcíny.

Zkoušky na totožnost a bakteriální a houbovou sterilitu se mohou provést v purifikované spojené monovalentní sklizni. Po prokázání pravidelnosti výroby na úrovni jednotlivých sklizní se může koncentrace viru stanovit až ve spojené purifikované monovalentní sklizni.

Kontrolní buňky. Kontrolní buňky k výrobní buněčné kultuře vyhovují ve zkoušce totožnosti (při použití buněčné banky) a požadavkům na cizí agens (2.6.16); při použití primárních, sekundárních nebo terciárních buněk opičích ledvin se zkoušky provádějí podle odstavců *Zkoušky na kulturách buněk králičích ledvin* a *Zkoušky na kulturách buněk ledvin opic rodu Cercopithecus*.

Zkoušky na kulturách buněk králičích ledvin. Zkouší se vzorek nejméně 10 ml směsné supernatantní tekutiny kontrolních kultur na nepřítomnost herpesviru B (cerkopitecidní herpesvirus 1) a jiných virů v kulturách buněk králičích ledvin. Ředění supernatantu v živném médiu není větší než 1 : 4 a plocha vrstvy buněk je nejméně 3 cm² na mililitr inokula. Jako neinfikované kultury se uchovávají jedna nebo více lahvíček každé šarže buněk se stejným médiem. Kultury se inkubují při 37 °C a sledují se nejméně 2 týdny. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je pro nespecifické náhodné jevy vyřazeno méně než 20 % sledovaných buněk.

Zkoušky na kulturách buněk ledvin opic rodu Cercopithecus. Zkouší se vzorek nejméně 10 ml směsné supernatantní tekutiny z kontrolních kultur pro nepřítomnost SV40 a jiných cizích agens

4978 *Vaccinum poliomyelitidis inactivatum*

inokulací na buněčné kultury připravené z ledvin opice rodu *Cercopithecus* nebo jiných buněk prokazatelně stejně citlivých na virus SV40 metodou popsanou v odstavci *Zkoušky na kulturách buněk králičích ledvin*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je pro nespecifické náhodné jevy vyraženo méně než 20 % sledovaných buněk.

Zkouška totožnosti. Neutralizací specifickými protilátkami se na vhodné tkáňové kultuře prokáže, že jednotlivá sklizeň obsahuje poliovirus typu 1, 2 nebo 3.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v jednotlivé sklizni se stanoví titrací infekčního viru v buněčných kulturách.

Bakterie a houby. Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1); na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Mykoplazmata (2.6.7). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkoušce na mykoplazmata; použije se 10 ml.

Zkouška na buňkách králičích ledvin. Použijí-li se pro výrobu vakcíny primární, sekundární nebo terciární buňky opičích ledvin, zkouší se nejméně 10 ml z jednotlivé sklizně na nepřítomnost herpesviru B (cerkopitecidní herpesvirus 1) a jiných virů na buňkách králičích ledvin, jak je popsáno pro kontrolní buňky.

Zkouška na ledvinných buňkách opic rodu *Cercopithecus*. Použijí-li se pro výrobu vakcíny primární, sekundární nebo terciární buňky opičích ledvin, zkouší se nejméně 10 ml jednotlivé sklizně na nepřítomnost viru SV40 a jiných cizích agens. Vzorek se neutralizuje antisérem o vysokém titru protilátek proti danému typu polioviru. Vzorek se zkouší na ledvinných buňkách opic rodu *Cercopithecus* nebo na buňkách prokazatelně vnímavých k viru SV40. Kultury se inkubují při 37 °C a prohlížejí se po dobu 14 dní. Na konci této doby se provede subkultura z tekutiny na tentýž buněčný systém a pozoruje se primární kultura i subkultura dalších 14 dní.

Purifikace a purifikovaná monovalentní sklizeň

Několik jednotlivých sklizní téhož typu se může spojit a koncentrovat. Monovalentní sklizeň nebo spojená monovalentní sklizeň se čistí validovanou metodou. Je-li pro výrobu použita kontinuální buněčná linie, vykazuje purifikační metoda prokazatelný pokles obsahu DNK z buněčného substrátu na méně než 100 pg v jedné lidské dávce.

Pouze purifikovaná monovalentní sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro přípravu inaktivované monovalentní sklizně.

Totožnost. Virus se prokáže neutralizací viru v buněčných kulturách specifickými protilátkami nebo určením D-antigenu.

Koncentrace viru. Koncentrace viru se stanoví titrací infekčního viru.

Specifická účinnost. Poměr koncentrace viru nebo obsahu D-antigenu, stanoveného vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), k celkovému obsahu bílkovin (specifická účinnost) purifikované monovalentní sklizně je v rozmezí schváleném pro daný přípravek.

Inaktivace a inaktivovaná monovalentní sklizeň

Před inaktivací se smísí několik purifikovaných monovalentních sklizní stejného typu. Přítomnost virových agregátů může způsobit neúčinnost inaktivace; proto se tekutina před inaktivací nebo v průběhu inaktivace filtruje. Inaktivace se provádí ve vhodné době: nejlépe do 24 h po filtraci a v každém případě nejpozději do 72 h po filtraci. Virová suspenze se inaktivuje validovanou meto-

dou, která prokazatelně inaktivuje virus bez poškození imunogenity. Validací studie zahrnuje inaktivační křivku nejméně o čtyřech bodech: v čase 0, 24 h, 48 h a 96 h. Křivka vykazuje pokles koncentrace živého viru v čase. Použije-li se k inaktivaci formaldehyd, stanoví se na konci inaktivace jeho zbytek.

Pouze inaktivovaná monovalentní sklizeň, která vyhoví následujícím požadavkům, se může použít k přípravě trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní nebo konečné várky vakcíny.

Zkouška účinnosti inaktivace. Po inaktivaci formaldehydu disiřičitanem sodným se ověří nepřítomnost zbylého živého viru inokulací na vhodné buněčné kultury. K inokulaci se použijí dva vzorky o nejméně 500 ml z každé inaktivované monovalentní sklizně, odpovídající nejméně 1500 lidským dávkám. Jeden vzorek se odebere nejpozději ve 3/4 inaktivační doby a druhý na konci inaktivace. Vzorek se inokuluje tak, aby jeho naředění médiem nebylo větší než 1 : 4 a plocha vrstvy buněk byla nejméně 3 cm² na mililitr inokula. Jedna nebo více lahví s tímž médiem se ponechá jako kontrolní neinfikované buňky. Buněčné kultury se pozorují nejméně 3 týdny. Z každé lahve se provedou nejméně dvě pasáže, jedna na konci pozorovacího období a jedna týden před koncem pozorovacího období. Pro tyto pasáže se použije supernatant z buněčných kultur a inokuluje se stejně jako počáteční vzorek. Tyto subkultury se pozorují 2 týdny. Na buňkách se nepozorují známky pomnožení polioviru. Na konci pozorovacího období se provede zkouška citlivosti buněčných kultur inokulací živého polioviru stejného typu, jaký byl obsažen v inaktivované monovalentní sklizni.

Sterilita (2.6.1). Inaktivovaná monovalentní sklizeň vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Obsah D-antigenu. Obsah D-antigenu stanovený vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) je v rozmezí schváleném pro daný přípravek.

Konečná várka vakcíny

Konečná várka vakcíny se připraví přímo z inaktivovaných monovalentních sklizní lidského polioviru 1, 2 a 3 nebo z trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní. Při použití trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní se zkouška inaktivace provádí v této směsi místo v konečné várce vakcíny. Může se přidat stabilizátor a protimikrobní konzervační látka.

Pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě šarže.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vakcíny vyhovuje ve zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li použita, stanoví se její množství vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Její obsah je v rozmezí 85 % až 115 % zamýšleného množství.

Inaktivace. Před přidáním protimikrobní konzervační látky se odebere vzorek nejméně 1500 ml, nebo při odběru z purifikované a koncentrované vakcíny ekvivalent 1500 dávek pro zkoušku na zbylý živý poliovirus. Zkouška se provádí v buněčné kultuře podle popisu pro inaktivovanou monovalentní sklizeň. Je-li konečná várka vakcíny připravena z trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní, provádí se zkouška inaktivace přednostně ve směsi než v konečné várce vakcíny.

4980 *Vaccinum poliomyelitidis inactivatum***Šarže**

Pouze šarže vyhovující všem požadavkům uvedeným dále v odstavcích Zkouška totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti se může uvolnit k použití. Jsou-li zkoušky na obsah volného formaldehydu a protimikrobní konzervační látky a stanovení *in vivo* provedeny s vyhovujícím výsledkem v konečné várce vakcíny, mohou být u šarže vynechány. Je-li zkouška na obsah bovinního sérumalbuminu provedena s vyhovujícím výsledkem v trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní nebo v konečné várce vakcíny, může být u šarže vynechána.

Zkouška totožnosti

Vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) se prokáže přítomnost polioviru typu 1, 2 a 3 ve vakcíně a enzymově imunisorbentovým stanovením (ELISA) se určí D-antigen.

Zkoušky na čistotu

Volný formaldehyd. Použije-li se k inaktivaci formaldehyd, vyhovuje vakcína zkoušce předepsané v článku *Vaccina ad usum humanum*.

Protimikrobní konzervační látka. Je-li použita, stanoví se její množství vhodnou chemickou nebo fyzikálně-chemickou metodou. Její obsah je nejméně minimální prokazatelně účinné množství a nejvýše 115 % udávaného množství.

Obsah bílkovinného dusíku (Lowryho metoda). Nejvýše 10 µg bílkovinného dusíku v jedné lidské dávce.

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v jedné lidské dávce, stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Sterilita (2.6.1). Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 5 m.j. v jedné lidské dávce.

Stanovení účinnosti

Obsah D-antigenů. Vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1) se stanoví obsah D-antigenů pro poliovirus 1, 2 a 3 jako ukazatel pravidelnosti výroby. Používá se referenční přípravek kalibrovaný v D-antigenních jednotkách Ph. Eur. Pro každý typ je naměřený obsah, vyjádřený v D-jednotkách antigenů uvedených v označení na obalu, v limitu pro daný přípravek.

Inaktivovaná vakcína proti poliomyelitidě BRP je kalibrovaná v jednotkách Ph. Eur. a určená pro použití při stanovení obsahu D-antigenů. Jednotky Ph. Eur. odpovídají mezinárodním jednotkám.

Zkouška *in vivo*. Účinnost *in vivo* se stanoví jednou z následujících metod.

Zkouška na kuřatech a morčatech. Připraví se série nejméně tří ředění zkoušené vakcíny ve vhodném tlumivém roztoku s chloridem sodným. 0,5 ml ředění se vstříkne nitrosvalově skupině 3 týdny starých kuřat nebo skupině morčat o hmotnosti 250 g až 350 g. Pro každé ředění se použije zvláštní skupina zvířat. Pátý nebo šestý den po injekci se zvířata vykrvácejí a oddělí se séra. Séra v ředění 1 : 4 se zkoušejí na přítomnost neutralizačních protilátek proti lidskému polioviru 1, 2 a 3. Směs 100 CCID₅₀ viru a ředěného séra se inkubuje 4 h 30 min až 6 h při 37 °C a po dobu 12 h až 18 h se ponechá při teplotě 5 °C ± 3 °C. Směsi se inokulují na buněčné kultury a za 7 dní po inokulaci se zjišťuje přítomnost nezneutralizovaného viru. Pro každou skupinu zvířat se zaznamená počet sér

Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium 4981

majících neutralizační protilátky a spočítá se ředění vakcíny dávající protilátkovou odpověď u 50 % zvířat. Souběžně se s vhodným referenčním přípravkem provede kontrolní zkouška.

Vakcína vyhovuje v této zkoušce, jestliže ředění 1 : 100 nebo vyšší vyvolá protilátkovou odpověď pro každý typ viru u více než 50 % zvířat.

Zkouška na potkanech. Vhodná metoda *in vivo* na stanovení imunogenity je založena na nitrosvalovém podání tří ředění zkoušené a porovnávací vakcíny. Pro každé ředění se použijí skupiny o nejméně deseti potkanech. Rozmezí ředění se zvolí tak, aby všechna zvířata vykazovala detegovatelnou protilátkovou odpověď. Stanoví se neutralizační titr a vypočítá se aritmetický průměr pro každý typ viru. Účinnost se stanoví porovnáním regresních křivek zkoušené vakcíny a porovnávací vakcíny. Pro žádný ze tří typů polioviru není účinnost významně nižší než u porovnávacího přípravku.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

V označení na obalu se uvede:

- nominální množství viru každého typu (1, 2 a 3), vyjádřené v jednotkách Evropského lékopisu pro D-antigen, které je obsaženo v jedné lidské dávce,
- typy polioviru obsažené ve vakcíně,
- buněčný substrát použitý k přípravě vakcíny.

Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium



Inaktivovaná vakcína proti vzteklině pro veterinární použití

1998

Je to tekutý nebo lyofilizovaný přípravek z fixního viru vztekliny inaktivovaného vhodnou metodou.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Připravuje se z viru pomnoženého buď ve vhodné buněčné linii, nebo v kulturách primárních buněk ze zdravých zvířat (5.2.4). Virová suspenze se sklídí jednou nebo vícekrát během 28 dnů od naočkování. Opakované sklizně z jedné kultury produkčních buněk se mohou smíchat a považují se za jednu sklizeň. Virus vztekliny se inaktivuje vhodnou metodou.

Inaktivace. Zkouška na zbylý živý virus vztekliny se provede naočkováním inaktivovaného viru do stejného typu buněčné kultury, který byl použit k výrobě vakcíny, nebo do prokazatelně nejméně stejně citlivé buněčné kultury. Množství inaktivovaného viru použitého ve zkoušce odpovídá nejméně dvaceti pěti dávkám vakcíny. Po inkubaci 4 dny se subkultura buněk trypsinuje, za další 4 dny se kultura zkouší na zbytky viru vztekliny imunofluorescencí. Nejistí se živý virus.

Obsah antigenu. Obsah glykoproteinu viru vztekliny se stanoví vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1). Obsah je ve schváleném rozmezí pro jednotlivý přípravek.

4982 *Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium*

Vakcína může obsahovat jedno nebo více adjuvancií.

Výběr složení vakcíny

Vakcína je z hlediska imunogenity prokazatelně postačující pro všechny druhy, pro které je doporučena. Vhodnost vakcíny pro masožravce (kočky a psi) se z hlediska imunogenity prokáže přímou čelenží. Jestliže se čelenž provedla u koček a psů, pro ostatní druhy se provede stanovení úrovně hladiny protilátek po vakcinaci nejméně u dvaceti zvířat podle doporučeného schématu. Vakcína je vyhovující, když po době označené jako ochranná doba je střední hodnota hladiny protilátek proti viru vztekliny v séru zvířat nejméně 0,5 m.j./ml a jestliže nejvýše 10 % zvířat má protilátkovou úroveň nižší než 0,1 m.j./ml.

K průkazu imunogenity u koček a psů se může užít dále popsaná zkouška.

Imunogenita. Použije se nejméně třicet pět vnímavých zvířat nejnižšího stáří doporučeného k vakcinaci. Od každého zvířete se odebere krev a ke stanovení vnímavosti se individuálně stanoví protilátky proti viru vztekliny. Každému zvířeti (nejmenší počet je dvacet pět) se podá doporučeným způsobem jedna dávka vakcíny. Nejméně deset zvířat slouží jako kontroly. Všechna zvířata se pozorují po dobu odpovídající délkou době deklarované imunity. Žádné zvíře nemá příznaky vztekliny. Poslední den deklarovaného období trvání imunity, nebo později, se všechna zvířata intramuskulárně čelenžují kmenem virulentního viru vztekliny, který je schválen oprávněnou autoritou. Zvířata se pozorují 90 dnů. Úhyny, které nejsou zapříčiněny vzteklinou, se vyřadí. Zkoušku lze hodnotit, jestliže počet takových úhynů nesníží stav vakcinovaných zvířat na méně než dvacet pět. Zkoušku lze hodnotit, když nejméně osm kontrolních zvířat (nebo statisticky odpovídající počet, pokud bylo čelenžováno více než deset kontrol) vykazuje příznaky vztekliny a fluorescenční protilátkovou zkouškou nebo jinou vhodnou metodou je dokázána přítomnost viru vztekliny v mozku. Vakcína vyhovuje, jestliže nejvýše dvě zvířata z dvaceti pěti vakcinovaných (nebo statisticky odpovídající počet, bylo-li čelenžováno více než dvacet pět vakcinovaných zvířat) má příznaky vztekliny.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nutné provádět při běžném zkoušení šarží vakcíny. Zkouška se u uvedené vakcíny provádí jednou nebo vícekrát podle rozhodnutí a dohody s oprávněnou autoritou. Pokud se tato zkouška nedělá, použije se jiná vhodná schválená metoda. Podmínky pro přijetí jsou přiloženy spolu s hodnocením šarže vakcíny o dosažení odpovídajících výsledků ve výše popsané zkoušce imunogenity nebo ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Pokud je zjištěna uspokojivá korelace se zkouškou popsanou v odstavci Imunogenita nebo v odstavci Stanovení účinnosti, může se použít následující zkouška.

Zkouška účinnosti šarže. Použije se pět myší hmotnosti 18 g až 20 g. Každá myš se vakcinuje subkutánně nebo intramuskulárně jednou pětinou doporučeného objemu dávky. Čtrnáct dnů po vakcinaci se odebere krev, séra se jednotlivě zkouší na protilátky proti vzteklině rychlou fluorescenčně inhibiční zkouškou, která je popsána v článku *Immunoglobulinum humanum rabicum*. Množství protilátek není nižší než množství protilátek, které bylo vytvořeno vakcínou vyhovující z hlediska imunogenity, jak je popsáno výše, nebo ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Obsah antigenu. Množství glykoproteinu viru vztekliny v dávce, určené vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), není významně nižší než množství glykoproteinu šarže, která byla

vyhovující z hlediska imunogenity, jak je popsáno výše, nebo ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška totožnosti

Když je vakcína podána zvířatům, podporuje tvorbu neutralizujících specifických protilátek.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Je-li vakcína určena pro více než jeden druh včetně toho, který patří do řádu Carnivora, provede se zkouška na psech. V ostatních případech se použije jeden z druhů, pro který je vakcína určena. Každému ze dvou séronegativních zvířat se předepsaným způsobem vstříknou dvě vakcinační dávky. Zvířata se pozorují 14 dnů. Neobjeví se výrazné místní ani systémové reakce.

Inaktivace. Provede se zkouška, kde se použije společný obsah pěti nádob.

U vakcín, které neobsahují adjuvans, se provedou vhodné pomnožovací zkoušky na zbytky infekčního viru vztekliny. Použije se stejný druh buněčné kultury, který byl použit při výrobě vakcíny, nebo buněčná kultura, která je prokazatelně nejméně stejně citlivá. Nejistí se žádný živý virus.

U vakcín, které obsahují adjuvans, se nejméně deseti myším hmotnosti 11 g až 13 g intracerebrálně vstříkne po 0,03 ml směsi nejméně pěti nejmenších uváděných dávek. K vyloučení vzájemného rušení různých protimikrobních konzervačních látek nebo adjuvancií mohou být vakcíny před aplikací ředěny nejvýše desetkrát. V tomto případě, nebo jestliže vakcinační kmen je patogenní pouze pro sající myši, provede se zkouška na myších ve stáří 1 až 4 dny. Zvířata se pozorují 21 dnů. Jestliže více než dvě zvířata uhynou během prvních 48 h, zkouška se opakuje. Od třetího do jedenadvacátého dne po vakcinaci zvířata nemají příznaky vztekliny a imunofluorescenční zkouška provedená z jejich mozků nevykazuje známky přítomnosti viru vztekliny.

Sterilita. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním dávky nezbytné k ochraně myši proti klinickým účinkům dále uvedené dávky viru vztekliny, podané intracerebrálně s dávkou referenčního přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách potřebnou k dosažení stejné ochrany. Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v udaném množství mezinárodního standardu. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhlašuje Světová zdravotnická organizace.

Vakcína proti vzteklině (inaktivovaná) pro veterinární použití BRP se kalibruje v mezinárodních jednotkách proti mezinárodnímu standardu.

Zkouška dále popsaná užívá model rovnoběžnosti přímek z nejméně tří bodů zkoušené vakcíny a referenčního přípravku. Jestliže má analytik zkušenosti s touto metodou pro danou vakcínu, je možné provést zjednodušenou zkoušku s jedním ředěním zkoušené vakcíny. Tato zkouška umožňuje zjistit, že vakcína má významně vyšší účinnost, než je předepsané minimum, nedá však úplnou informaci o platnosti jednotlivých stanovení účinnosti. Umožňuje však výrazné omezení počtů zvířat potřebných pro zkoušku a měla by být každou laboratoří zvažována v souladu s opatřeními Evropské konvence na ochranu obratlovců užívaných pro výzkumné a jiné vědecké účely.

4984 *Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium*

Výběr a rozřídění pokusných zvířat. Ve zkoušce se použijí zdravé myši samičky ve stáří 4 týdnů stejného původu. Myši se rozdělí do deseti skupin, v každé skupině je nejméně deset zvířat.

Příprava čelenžní suspenze. Virus vztekliny kmen CVS se očkuje intracerebrálně skupině myši. Zvířata, u kterých se objeví příznaky vztekliny, se před uhynutím utratí, odeberou se jim mozky a ve vhodné tekutině se připraví homogenní suspenze mozkové tkáně. Odstředěním se odstraní hrubé částičky tkáně, supernatant se užívá jako čelenžní suspenze. Malá množství suspenze se rozplní do ampulí, uzavřou se a skladují se při teplotě nižší než $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Jedna ampule suspenze se rozmrazí a připraví se sériové ředění ve vhodné tekutině. Skupinám myši se přidělí patřičná ředění. Každé myši se vstříkne intracerebrálně 0,03 ml příslušného ředění podle rozdělení do skupin. Zvířata se pozorují čtrnáct dnů a zaznamenávají se počty zvířat v jednotlivých skupinách, u kterých došlo mezi 5. až 14. dnem k vývoji příznaků vztekliny. Vypočítá se ID_{50} neředěné suspenze.

Stanovení účinnosti zkoušené vakcíny. Připraví se nejméně tři sériová ředění zkoušené vakcíny a tři obdobná ředění referenčního přípravku. Ředění se připraví tak, aby ve skupině, která obsahuje největší množství vakcíny, bylo možno očekávat ochranu u více než 50 % zvířat, jimž byla podána, a ve skupině, která obsahuje nejmenší množství vakcíny, bylo možno očekávat ochranu u méně než 50 % očkovaných zvířat. Pro jednotlivá ředění se připraví skupiny myši a intraperitoneálně se každé myši podá po 0,5 ml příslušného ředění. Po čtrnácti dnech se připraví suspenze čelenžního viru na základě předběžné titrace tak, aby obsahovala asi 50 ID_{50} v objemu 0,03 ml. Každá vakcinovaná myš se intracerebrálně očkuje 0,03 ml této suspenze. Kromě toho se připraví tři vhodná sériová ředění čelenžní suspenze. Vytvoří se čtyři skupiny po deseti nevakcinovaných myších. Každé myši ze tří skupin se intracerebrálně podá 0,03 ml příslušného ředění suspenze: ve čtvrté skupině po 0,03 ml čelenžní suspenze.

Zvířata všech skupin se pozorují 14 dnů. Zkoušku lze hodnotit, jestliže neuhynou více než dvě myši v kterékoliv skupině v průběhu prvních 4 dnů po čelenži. V období pátého až čtrnáctého dne po čelenži se v jednotlivých skupinách zaznamenávají počty zvířat vykazujících příznaky vztekliny.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže:

- 50% ochranná dávka zkoušeného i referenčního přípravku se nachází mezi největší a nejmenší dávkou vakcíny podanou myším,
- titrace čelenžní suspenze prokazuje, že dávka 0,03 ml suspenze obsahuje nejméně 10 ID_{50} ,
- interval spolehlivosti ($P = 0,95$) je v rozmezí 25 % až 400 % stanovené účinnosti,
- statistický rozbor ukazuje signifikantní vzestup a žádné významné odchylky od linearitity a rovnoběžnosti přímek závislosti odpovědi na dávce.

Vakcína vyhovuje, jestliže v nejmenší předepsané dávce je nejméně 1 m.j.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvede:

- typ buněčné kultury použité k přípravě vakcíny a druh původu,
- nejmenší počet mezinárodních jednotek v dávce,
- nejkratší doba, po kterou vakcína zaručuje ochranu.

Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suilae inactivatum 4985

Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suilae inactivatum


1999

Inaktivovaná vakcína proti atrofické rinitidě (sípavce) prasat

Je to přípravek obsahující dermonekrotický toxin *Pasteurella multocida* (přestože si udržuje patřičnou imunogenní účinnost, je upraven jako neškodný) nebo geneticky upravenou formu exotoxinu odpovídající imunogenní účinnosti bez toxických vlastností. Vakcína může rovněž obsahovat buňky nebo antigenní součásti jednoho či více vhodných kmenů *Pasteurella multocida* a *Bordetella bronchiseptica*. Vakcína se podává chovným prasatům k ochraně jejich potomstva.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium* a tam, kde je to vhodné, viz článek *Producta ab ADN recombinante*. Bakteriální kmeny používané k výrobě se kultivují odděleně na vhodných živných půdách. Toxiny a buňky jsou upraveny tak, aby byly bezpečné.

Detoxikace. Zkouška na detoxikaci dermonekrotického exotoxinu *P. multocida* se provádí bezprostředně po detoxikaci. Koncentrace detoxikovaného exotoxinu použitého ve zkoušce není menší než jeho koncentrace ve vakcíně. Suspenze vyhovuje zkoušce, jestliže není zjištěn žádný dermonekrotický toxin. Zkouška na detoxikaci se nepožaduje v případě, že vakcína je připravena z bílkoviny podobné toxinu a prosté toxických vlastností; připravuje se expresí modifikované formy odpovídajícího genu.

Obsah antigenů. Obsah dermonekrotického exotoxinu *P. multocida* v detoxikované suspenzi nebo toxinu podobné bílkovině ve sklizni se určí vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), např. ELISA, a zjištěné hodnoty se použijí při sestavování vakcíny. Obsah jiných antigenů uvedených ve složení se také určí (2.7.1).

Vakcína může obsahovat vhodné adjuvans.

Výběr složení vakcíny

Kmeny použité k přípravě vakcíny prokazatelně vyhovují z hlediska tvorby dermonekrotického toxinu a jiných antigenů vyvolávajících imunitní protektivní odpověď. Vakcína prokazatelně vyhovuje z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7).

Výroba antigenů. Výroba antigenů označovaných za protektivní se ověřuje vhodnými biologickými nebo imunochemickými metodami (2.7.1). Provádí se u antigenů získaných z každého vakcinačního kmene za stejných podmínek, jaké jsou při výrobě vakcíny.

Následující zkoušky se mohou použít při průkazu bezpečnosti a imunogenity.

Bezpečnost. Provádí se pro každý způsob podání uvedený v návodu.

Použijí se prasnice nebo prasničky nejnižšího stáří doporučeného pro vakcinaci, které nemají protilátky proti složkám obsaženým ve vakcíně, pocházejí z chovu nebo chovů prostých příznaků atrofické rinitidy a proti atrofické rinitidě nebyly vakcinovány. Pokud je vakcína určena pro březí prasnice nebo prasničky, provede se zkouška na březích zvířatech vakcinací v doporučeném stupni březosti a podle doporučeného schématu.

Nejméně dvaceti zvířatům se doporučeným způsobem podá po dvou dávkách vakcíny. Stejným způsobem se každému zvířeti po uplynutí patřičného intervalu podá jedna dávka vakcíny podle

4986 *Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suilae inactivatum*

návodu. Zvířata se pozorují do prvního dne po porodu. Neobjeví se žádné nadměrné místní ani systémové reakce ani se nezjistí nežádoucí účinky na březost a potomstvo.

Imunogenita. Pro průkaz imunogenity je vhodná zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkoušení šarže

Účinnost. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti se neprovádí při běžném zkoušení šarží vakcíny. Dělá se u dané vakcíny při jedné nebo více příležitostech podle rozhodnutí nebo po dohodě s oprávněnou autoritou. Pokud se tato zkouška nedělá, provede se jiná vhodná validovaná metoda. Podmínky pro její přijetí jsou založeny na porovnání s šarží vakcíny, která vyhověla zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít, pokud existuje odpovídající korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Použije se nejméně pět prasat nejméně tři týdny starých, která nemají protilátky proti složkám vakcíny. Každé zvíře se vakcinuje doporučeným způsobem a podle doporučeného schématu. Nejméně dvě prasata stejného původu slouží ve stejných podmínkách jako kontrola.

Jestliže charakter antigenů umožňuje získávat reprodukovatelné výsledky, může se provést zkouška na laboratorních zvířatech. Aby bylo stanovení platné, je nutné je provést na několika skupinách zvířat, z nichž každá dostane jiné množství vakcíny. S každým množstvím vakcíny se provede následující zkouška. Vakcinuje se nejméně pět zvířat vhodným množstvím vakcíny. Jako nevakcinovaná kontrola slouží nejméně dvě zvířata stejného druhu a původu. Pokud návod k použití předepisuje revakcinaci, provede se podle doporučeného schématu na laboratorních zvířatech po prokázání, že to poskytne zkušební systém vhodné citlivosti.

V daném intervalu v rozmezí 14 až 21 dní po posledním podání se každému zvířeti odebere krev a připraví se vzorky séra. Ke stanovení protilátkové odpovědi na jednotlivé antigeny uvedené ve složení vakcíny se použije validovaná zkouška, např. ELISA.

Zkoušku nelze hodnotit a opakuje se, pokud byl u kontrolních zvířat zjištěn významný titer protilátek.

Vakcína vyhovuje, jestliže protilátková odpověď u vakcinovaných zvířat není významně nižší než protilátková odpověď na šarži vakcíny, která vyhověla ve zkoušce nebo ve zkouškách (co je vhodné) popsáných v odstavci Stanovení účinnosti.

Pokud nejsou dostupná sérologicky negativní zvířata na antigeny uvedené ve složení přípravku, mohou se k výše uvedené zkoušce použít zvířata sérologicky pozitivní. Po dobu zkoušky se séropozitivními zvířaty bude vyžadována zvláštní péče na validaci zkušebního systému, aby se zajistila dostatečná citlivost a specifikovala se přijatelná kritéria pro přijetí, zamítnutí nebo opakování zkoušky. Bude nezbytné vzít v úvahu rozmezí titru protilátek před vakcinací a v návaznosti na to stanovit přijatelné minimum vzestupu titru protilátek po vakcinaci.

Bakteriální endotoxiny. Zkouška na bakteriální endotoxiny (2.6.14) se provádí u šarže, nebo kde charakter adjuvans brání provedení odpovídající zkoušky, dělá se zkouška z konečného množství antigenu nebo směsi antigenů bezprostředně před přidáním adjuvans. Vakcína může obsahovat nejvýše 10^6 m.j. endotoxinu v dávce, pokud pro jednotlivou vakcínu není prokázána bezpečnost vyššího množství endotoxinu.

Zkouška totožnosti

U zvířat bez specifických protilátek proti antigenům uvedeným ve složení přípravku podporuje vakcína tvorbu protilátek proti těmto antigenům.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Použijí se dvě prasata, která nemají protilátky proti *P. multocida* a přednostně proti *B. bronchiseptica*. Každému prasati se doporučeným způsobem podá dvojitá dávka vakcíny. Zvířata se pozorují 14 dní a pak se každému prasati podá ještě jedna dávka vakcíny. Zvířata se pozorují dalších 14 dní. Zkouška není platná a opakuje se, jestliže v průběhu pozorovací doby uhynie zvíře z důvodů, které nelze přičíst vakcíně. Nejistí se žádné nadměrné místní ani systémové reakce.

Sterilita (2.6.1). Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Použijí se prasata, která nemají protilátky proti složkám vakcíny a pocházejí z chovu nebo chovů bez příznaků atrofické rinitidy ani nebyla proti atrofické rinitidě vakcinována.

a) Vakcíny obsahující dermonekrotický endotoxin *P. multocida* (s buňkami nebo bez buněk *P. multocida*).

Použije se nejméně dvanáct chovných prasat. Nejméně šest namátkově vybraných březích nebo nebřezích prasnic se vakcinuje způsobem a podle schématu v označení na obalu. Nejméně šest nevakcinovaných zvířat chovaných ve stejných podmínkách se použije jako kontrolní. Všem selatům od vakcinovaných i nevakcinovaných chovných prasat se od narození zajistí krmení pouze od vlastních matek.

Z mláďat se vytvoří dvě členžní skupiny, v každé je nejméně třicet selat - z každého vrhu se vyberou nejméně tři selata. Dva po sobě jdoucí dny před členžní může být sliznice nosní dutiny selat ošetřena nakapáním 0,5 ml roztoku kyseliny octové (10 g/l C₂H₄O₂) v izotonickém tlumivém roztoku chloridu sodného o pH 7,2.

Všechna selata se ve stáří deseti dní intranazálně členžují dostatečným množstvím toxinného kmene *P. multocida*.

Ve stáří 42 dní se selata obou skupin usmrtí a provede se pitva - příčný řez rypáku v úrovni premoláru 1. Vyšetří se dorzální a ventrální nosní skořepiny a nosní přepážka na výskyt atrofie a deformace. Zjištěný výsledek se hodnotí podle následující stupnice:

Skořepiny

- 0 bez atrofie
- 1 nepatrná atrofie
- 2 mírná atrofie
- 3 pokročilá atrofie
- 4 velmi pokročilá atrofie s téměř úplným vymizením skořepin

Čtyři body jsou nejvyšší počet pro jednotlivou skořepinu, šestnáct bodů je nejvyšší počet pro jedno zvíře (dvě dorzální a dvě ventrální skořepiny).

Nosní přepážka

- 0 bez úchytky
- 1 velmi nepatrná úchylka
- 2 úchylka přepážky

Nejvyšší výsledný počet bodů pro skořepiny a nosní přepážku u jednoho zvířete je osmáct bodů.

4988 *Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suillae inactivatum*

Zkouška není platná a opakuje se, jestliže nejméně osmdesát procent potomstva z každého vrhu nevakcinovaných chovných prasat má výsledný počet nižší než deset bodů. Vakcína vyhovuje, jestliže ve skupině vakcinovaných prasat je významné snížení ($P = 0,95$) výsledného počtu bodů v porovnání se skupinou nevakcinovanou.

b) Vakcíny obsahující *P. multocida* dermonekrotický exotoxin (s buňkami nebo bez buněk *P. multocida*) a buňky anebo antigenní složky *B. bronchiseptica*.

Použije se nejméně dvacet čtyři chovných prasat. Nejméně dvanáct namátkově vybraných březích nebo nebřezích prasat se vakcinuje způsobem a podle schématu v označení na obalu. Nejméně dvanáct nevakcinovaných prasat chovaných ve stejných podmínkách se použije jako kontrola. Všem selatům od vakcinovaných chovných prasat se od narození zajistí krmení pouze od vlastních matek.

Použije se nejméně šest prasat ve skupině. Z jejich mláďat se vytvoří dvě čelenžní skupiny z vakcinovaných zvířat a dvě skupiny z nevakcinovaných zvířat. Skupinu tvoří nejméně třicet namátkově vybraných selat. Z každého vrhu se vyberou nejméně tři selata. Dva po sobě jdoucí dny před čelenží může být sliznice dutiny nosní ošetřena nakapáním 0,5 ml roztoku kyseliny octové (10 g/l $C_2H_4O_2$) v izotonickém tlumivém roztoku chloridu sodného o pH 7,2.

Nejméně šest selat z vakcinované skupiny a šest selat kontrolních se ve stáří 10 dní intranazálně čelenžuje dostatečným množstvím toxinogenního kmene *P. multocida*.

Dalších nejméně šest selat vakcinované skupiny a šest selat kontrolních se ve stáří 7 dní intranazálně čelenžuje dostatečným množstvím mikroba *B. bronchiseptica* a ve stáří 10 dní se intranazálně čelenžuje dostatečným množstvím toxinogenního kmene *P. multocida*.

Ve stáří 42 dní se selata všech čtyř skupin usmrtí a provede se pitva - příčný řez rypáku v úrovni premoláru 1. Vyšetří se dorzální a ventrální nosní skořepiny a nosní přepážka na výskyt atrofie a deformace. Zjištěný výsledek se hodnotí podle výše uvedené stupnice.

Zkouška není platná a opakuje se, jestliže nejméně 80 % potomstva z každého vrhu nevakcinovaných chovných prasat má výsledný počet nižší než deset bodů.

Vakcína vyhovuje, jestliže ve skupině vakcinovaných prasat je významné snížení ($P = 0,95$) výsledného počtu bodů v porovnání se skupinou nevakcinovanou.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvedou protektivní antigeny obsažené ve vakcíně.

Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae inactivatum 4989

Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae inactivatum

1998



Inaktivovaná vakcína proti virové rinotracheitidě koček

Je to přípravek z vhodného kmene viru rinotracheitidy koček (kočičí herpesvirus typ 1), inaktivovaného způsobem zachovávajícím odpovídající imunogenní vlastnosti, nebo z inaktivované frakce tohoto viru odpovídajících imunogenních vlastností.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. K pomnožení vakcinačního kmene se použije vhodná buněčná kultura. Virová suspenze se sklídí a inaktivuje.

Zkouška na inaktivaci se provádí dvěma pasážemi na buněčných kulturách stejného typu, jaký byl použit k přípravě vakcíny, nebo na buněčných kulturách nejméně stejné citlivosti. Ve zkoušce se použije množství viru odpovídající nejméně dvaceti pěti dávkám vakcíny. Nejistí se živý virus.

Virus může být štěpen, částice se mohou purifikovat a koncentrovat. K vakcíně se může přidat adjuvans a může být lyofilizována.

Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně postačující z hlediska bezpečnosti a imunogenity na kočkách. Při průkazu účinnosti (5.2.7) se může použít následující zkouška.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti provedená s vakcínou, která byla připravena z nejvíce oslabeného viru, k němuž se dospělo během výroby, je vhodná k průkazu imunogenity kmene.

Zkoušení šarže

Zkoušku popsanou v odstavci Stanovení účinnosti není nutné provádět při běžném zkoušení jednotlivých šarží vakcíny. Provádí se u dané vakcíny v jednom nebo více případech na základě dohody nebo rozhodnutí oprávněné autority. Pokud se tato zkouška nedělá, je možné ji nahradit jinou ověřenou zkouškou. Podmínky pro uznání jsou odvozeny od šarže vakcíny, která vyhověla ve stanovení účinnosti. Následující zkouška se může použít, pokud byla zjištěna uspokojivá korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.

Zkouška účinnosti šarže

Použije se skupina patnácti séronegativních myši. Každé myši se podá polovina vakcinační dávky, za 7 dnů se vakcinace opakuje. Za 21 dnů po první injekci se odeberou vzorky krve a stanoví se úroveň protilátek proti viru rinotracheitidy koček vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1), např. imunofluorescenční technikou; používají se směsné vzorky séra ze tří myši. Úroveň protilátek není významně nižší než úroveň protilátek šarže vakcíny, která vyhověla ve zkoušce popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

4990 *Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae inactivatum*

Zkouška totožnosti

Podání vakcíny vnímavým zvířatům podněcuje tvorbu specifických sérových protilátek proti viru rinotracheitidy koček nebo proti frakci viru použité k přípravě vakcíny.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Dvěma kočkám ve stáří 8 až 12 týdnů se doporučeným způsobem podá dvojnásobek vakcinační dávky. Zvířata se pozorují 14 dnů. Zůstávají v dobrém zdravotním stavu, nezjistí se nadměrné místní ani systémové reakce.

Inaktivace. Provede se zkouška na zbytky infekčního viru rinotracheitidy koček. Použije se deset dávek vakcíny ve dvou pasážích na buněčných kulturách stejného typu, jaký se použil k přípravě vakcíny, nebo na jiných vhodně citlivých buněčných kulturách. Nezjistí se živý virus. Jestliže vakcína obsahuje adjuvans, které brání provedení zkoušky, je-li to možné, oddělí se adjuvans z tekutiny postupem, který neinaktivuje nebo jinak nebrání zjištění živého viru.

Sterilita. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Stanovení účinnosti

Použijí se kočky ve stáří 8 až 12 týdnů bez protilátek proti viru rinotracheitidy koček nebo proti frakci tohoto viru. Vakcinuje se deset koček podle návodu k použití a dalších deset koček se použije jako kontrola. Za čtyři týdny po poslední vakcinaci se každé kočce podá intranazálně množství virulentního viru rinotracheitidy koček, které u vnímavých zvířat postačuje k vyvolání typických příznaků onemocnění, jako jsou horečka, výtok z nosu a kašel. Zvířata se pozorují 14 dnů. Od 2. do 14. dne po čelenži se denně odebírají nosní výplachy ke zkouškám na vylučování viru. Denně se zapisuje tělesná teplota a příznaky onemocnění - používá se bodový systém, jak je uvedeno dále. Pokud je některý z příznaků pozorován vícekrát než jednou, zapíše se body pouze jednou. Vakcína vyhovuje, jestliže body vakcinovaných zvířat jsou významně nižší než u kontrol.

Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum cryodesiccatum 4991

Příznaky	Body
úhyn	10
depresivní stav	2
teplota:	
39,5 °C až 40 °C	1
40,0 °C	2
≥ 37,0 °C	3
zánět jazyka	3
výtok z nosu - lehký	1
výtok z nosu - hojný	2
kašel	2
kýchání	1
záchvaty kýchání	2
výtok z očí - lehký	1
výtok z očí - vážný	2
zánět spojivek	2
ztráta hmotnosti větší než 5,0 %	5
vylučování viru (celkový počet dnů):	
≤ 4 dny	1
5 až 7 dnů	2
> 7 dnů	3

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum cryodesiccatum



1998

Živá vakcína proti virové rinotracheitidě koček lyofilizovaná

Je to přípravek z vhodného kmene viru rinotracheitidy koček (kočičí herpesvirus typ 1).

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. K pomnožení vakcinačního kmene se použije vhodná buněčná kultura (5.2.4). Virová suspenze se sklídí, smíchá se s vhodným stabilizačním roztokem a směs se potom lyofilizuje.

4992 *Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum cryodesiccatum***Výběr vakcinačního kmene**

K přípravě vakcíny se může použít jen takový virový kmen, který prokazatelně postačuje z hlediska bezpečnosti, nevratnosti virulence a imunogenity. Není-li vakcína kontraindikována pro březí matky, prokáže se bezpečnost pro tento účel. K průkazu bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

Bezpečnost. Deseti kočkám nejnižšího stáří uvedeného pro vakcinaci, které nemají protilátky proti viru rinotracheitidy koček, se doporučeným způsobem každé podá desetkrát větší množství viru, než je nejvyšší předpokládaný titr viru u šarže vakcíny. Kočky se pozorují 21 dnů. Zůstávají v dobrém zdravotním stavu a nezjistí se nadměrné místní nebo systémové reakce.

Nevratnost virulence. Dvěma kočkám bez protilátek proti viru rinotracheitidy koček se doporučeným způsobem podá množství viru, které bude optimální pro reizolaci viru u následujících pasáží (např. desetinásobek nejnižšího deklarovaného titru). Druhý až čtvrtý den po očkování se zvířata utratí, odebere se nosní hlen, tonzily, místně příslušné mízní uzliny a trachea. Vzorky se smíchají, homogenizují se v 10 ml tlumivého roztoku s chloridem sodným a směs se nechá usadit. Dvěma dalším kočkám se intranazálně očkuje 1 ml supernatantu. Tento postup se opakuje nejméně pětkrát. V každé pasáži se ověřuje přítomnost viru. Jestliže virus není zachycen, provede se druhá série pasáží. Zvířata v poslední pasáži se pozorují 21 dnů, porovnávají se reakce, které byly získány v předcházející zkoušce bezpečnosti. Porovnáním s původním virem se nezjistí známky vzestupu virulence u sledovaného viru.

Imunogenita. Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity kmene.

Zkoušení šarže

Pokud bylo stanovení účinnosti provedeno s vyhovujícím výsledkem na reprezentativní šarži vakcíny, může být tato zkouška při běžné kontrole jiných šarží vakcíny připravených z téhož inokula vypuštěna, pokud k tomu dá souhlas oprávněná autorita.

Zkouška totožnosti

Rekonstituovaná vakcína po neutralizaci monospecifickým sérem již neinfikuje citlivé buněčné kultury, do nichž je naočkována.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Deset dávek vakcíny ve vhodném objemu se předepsaným způsobem podá dvěma kočkám ve stáří 8 až 12 týdnů, které nemají protilátky proti viru rinotracheitidy koček. Zvířata se pozorují 14 dnů. Zůstávají v dobrém zdravotním stavu a nezjistí se nadměrné místní nebo systémové reakce.

Bakteriální a houbová kontaminace. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7). Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Cizí viry. Vakcína se neutralizuje monospecifickým sérem a naočkuje se na vhodnou buněčnou kulturu. Udrží se 14 dnů, v průběhu této doby se provede nejméně jedna pasáž. Nevvolává

Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum cryodesiccatum 4993

cytopatický efekt, buňky nevykazují přítomnost hemadsorpčního agens nebo jiné příznaky virové kontaminace.

Titř viru. Rekonstituovaná vakcína se titruje v citlivých buněčných kulturách při teplotě příznivé pro replikaci viru. Dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá minimálnímu deklarovanému titru.

Stanovení účinnosti

Použijí se kočky ve stáří 8 až 12 týdnů bez protilátek proti viru rinotracheitidy koček. Vakcinuje se deset koček podle návodu k použití a dalších deset koček se použije jako kontrola. Za čtyři týdny po poslední vakcinaci se každé kočce podá intranazálně množství virulentního viru rinotracheitidy koček, které u vnímavých zvířat postačuje k vyvolání typických příznaků onemocnění, jako jsou horečka, výtok z nosu a kašel. Zvířata se pozorují 14 dnů. Od 2. do 14. dne po čelení se denně odebírají nosní výplachy ke zkouškám na vylučování viru. Denně se zapisuje tělesná teplota a příznaky onemocnění - používá se bodový systém, jak je uvedeno dále. Pokud je některý z příznaků pozorován vícekrát než jednou, zapíše se body pouze jednou. Vakcína vyhovuje, jestliže body vakcinovaných zvířat jsou významně nižší než u kontrol.

Příznaky	Body
úhyn	10
depresivní stav	2
teplota:	
39,5 °C až 40 °C	1
≥ 40,0 °C	2
≤ 37,0 °C	3
zánět jazyka	3
výtok z nosu – lehký	1
výtok z nosu – hojný	2
kašel	2
kýchání	1
záchvaty kýchání	2
výtok z očí – lehký	1
výtok z očí – vážný	2
zánět spojivek	2
ztráta hmotnosti větší než 5,0 %	5
vylučování viru (celkový počet dnů):	
≤ 4 dny	1
5 až 7 dnů	2
> 7 dnů	3

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

4994 *Vaccinum rubellae vivum*

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Vaccinum rubellae vivum

Živá vakcína proti zarděnkám



1999

Je to lyofilizovaná suspenze vhodného oslabeného kmene zarděnkového viru. Vakcína se rekonstituuje podle návodu bezprostředně před použitím. Vznikne čirá tekutina, jež může být zbarvena přítomným indikátorem pH.

Výroba

Výroba je založena na systému jednotné inokulace a buněčné banky. Výrobní postup prokazatelně poskytuje stále stejnou živou vakcínu přiměřené imunogenity a bezpečnosti pro člověka. Pokud není určeno a schváleno jinak, virus v konečném přípravku neprošel od matečného inokula více pasážemi, než bylo použito u vakcíny, jejíž bezpečnost a účinnost byla prokázána v klinické studii.

Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, že bude-li přípravek zkoušen, vyhoví zkoušce na neškodnost imunních sér a vakcín pro humánní použití (2.6.9).

Substrát pro pomnožení viru

Virus se pomnožuje v lidských diploidních buňkách (5.2.3).

Výchozí kultura viru

Kmen použitého zarděnkového viru je určen podle vývojových záznamů, které obsahují informace o jeho původu a následném zacházení. Aby se předešlo nadměrnému používání opic ve zkoušce na neurovirulenci, připraví se virové inokulum ve velkém množství a uchovává se lyofilizované při teplotách nižších než $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ nebo při teplotách nižších než $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, pokud lyofilizováno není. Pouze virové inokulum vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro pomnožení viru.

Zkouška totožnosti. V matečném a pracovním inokulu se zarděnkový virus prokáže séroneutralizační zkouškou v buněčné kultuře za použití specifických protilátek.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v matečném a pracovním inokulu se stanoví pro zajištění stále stejné výroby.

Cizí antigeny (2.6.16). Pracovní inokulum vyhovuje požadavkům na inokula.

Neurovirulence (2.6.18). Pracovní inokulum vyhovuje zkoušce na neurovirulenci živých virových vakcín. Pro zkoušku jsou vhodné opice *Macaca* a *Cercopithecus*.

Pomnožování viru a sklizeň

Všechny práce s buněčnou bankou a s následujícími buněčnými kulturami se provádějí za aseptických podmínek v prostředí, kde se nepracuje s jinými buňkami. Do růstových médií se může použít

vhodné zvířecí (nikoliv lidské) sérum, ale konečné médium pro udržování růstu buněk při pomnožování viru neobsahuje žádné zvířecí sérum. Sérum a trypsin, používané při přípravě buněčných suspenzí a médií, jsou prokazatelně prosty cizích agens. Médium pro buněčné kultury může obsahovat indikátor pH, jako je fenolová červen, a vhodná antibiotika v nejnižší účinné koncentraci. Je výhodnější mít při výrobě substrát bez antibiotik. Nejméně 500 ml výrobních buněčných kultur se ponechá neinfikovaných (kontrolní buňky). V průběhu pomnožování viru se kontroluje teplota inkubace a za 28 dní od naočkování nebo dříve se odebrá virus, a to najednou nebo opakovaně. Opakované odběry z jedné buněčné kultury se mohou spojit a považovat za jednotlivou sklizeň viru.

Pouze jednotlivá sklizeň viru, která vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít pro přípravu konečné várky vakcíny.

Zkouška totožnosti. Jednotlivá sklizeň obsahuje viry, které se prokážou jako zarděnkový virus v buněčné kultuře neutralizací specifickými protilátkami.

Koncentrace viru. Koncentrace viru v jednotlivé sklizni se stanoví ke sledování stejnorodosti výroby a k výpočtu ředění pro konečnou várku vakcíny. Postupuje se tak, jak je předepsáno v odstavci Stanovení účinnosti.

Cizí antigeny (2.6.16). Jednotlivá sklizeň vyhovuje zkouškám na nepřítomnost cizích antigenů.

Kontrolní buňky. Kontrolní buňky z přípravy buněčné kultury, z níž se získává virus, vyhovují zkoušce totožnosti a požadavkům na nepřítomnost cizích antigenů (2.6.16).

Konečná várka vakcíny

Jednotlivé sklizně, které vyhověly výše uvedeným zkouškám, se spojí a vyčeří, aby se odstranily buňky. Může se přidat vhodný stabilizátor a spojené sklizně se příslušně naředí.

Pouze ta konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícímu požadavku, se může použít k přípravě šarže.

Bakterie a houby. Konečná várka vakcíny vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1); na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Šarže

Minimální koncentrace viru pro propuštění přípravku se určí tak, aby se pomocí stabilitních údajů zajistilo, že na konci doby použitelnosti bude ve vakcíně nejméně koncentrace uvedená v označení.

Pouze šarže, která vyhovuje požadavkům na minimální virovou koncentraci pro propuštění, následujícímu požadavku na teplotní stabilitu a všem požadavkům uvedeným v odstavcích Zkouška totožnosti a Zkoušky na čistotu, se může uvolnit k použití. Pokud byla zkouška na bovinní sérumalbumin provedena s vyhovujícím výsledkem v konečné várce vakcíny, může se tato zkouška u šarže vypustit.

Teplotní stabilita. Vzorky šarže lyofilizované vakcíny se v suchém stavu 7 dní inkubují při 37 °C. Souběžně se stanoví koncentrace viru ve vzorku inkubované a neinkubované vakcíny, uchovávané při 5 °C ± 3 °C, způsobem popsaným v odstavci Stanovení účinnosti. Koncentrace viru v inkubované vakcíně je nejméně o 1 log₁₀ nižší než koncentrace viru v neinkubované vakcíně.

4996 *Vaccinum rubellae vivum***Zkouška totožnosti**

Když se vakcína rekonstituovaná podle údajů v označení smíchá se specifickými zarděnkovými protilátkami, není již schopna infikovat vnímavé buněčné kultury.

Zkoušky na čistotu

Bakterie a houby. Rekonstituovaná vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu (2.6.1).

Bovinní sérumalbumin. Nejvýše 50 ng v jednotlivé lidské dávce; stanoví se vhodnou imunochemickou metodou (2.7.1).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 3,0 %.

Stanovení účinnosti

Infekční virus se stanoví nejméně trojmo, přičemž se použije nejméně pěti buněčných kultur pro každé 0,5 log₁₀ sériové ředění, nebo jinou metodou se stejnou přesností. K validaci každé zkoušky se použije vhodný referenční virový přípravek. Stanovená koncentrace viru je rovna nejméně koncentraci uvedené v označení; minimální koncentrace viru uvedená v označení je nejméně 1 · 10³ CCID₅₀ v lidské dávce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže interval spolehlivosti ($P = 0,95$) logaritmu koncentrace viru je nižší než ±0,3.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

V označení na obalu se uvede:

- kmen viru použitý k přípravě vakcíny,
- typ a původ buněk použitých k přípravě vakcíny,
- minimální koncentrace viru,
- varování před stykem s dezinfekčními prostředky,
- doba, do které je třeba vakcínu po rekonstituci použít,
- že vakcína se nesmí podat těhotným ženám a že žena nesmí 2 měsíce po očkování otěhotnět.

Vaccinum staphylococcicum

N

Vakcína proti stafylokokům

Synonymum. Očkovací látka proti stafylokokům

Je to sterilní roztok detoxikovaných nativních stafylokokových toxinů a exofermentů. Přípravuje se formaldehydovou detoxikací toxinů vytvořených při růstu kultury mikroba *Staphylococcus aureus*.

Výroba

Várka toxoidů

Výchozí kultury, které vytvářejí stafylokokové toxiny pro výrobu toxoidů, se připravují definovaným systémem jednotné inokulace, který zachovává jejich toxinogenitu a v případě potřeby ji obnovuje cíleným výběrem. Jeden nebo více kmenů *Staphylococcus aureus* známého původu a udržování se kultivuje na celofánu na vhodné pevné půdě. Zvlášť se kultivuje kmen produkující převážně α -toxin a zvlášť kmen produkující β - a δ -toxin. Na konci kultivace se zkouší čistota každé kultury a kontaminované kultury se vyřadí. Toxiny se oddělí od bakteriální masy. Kontroluje se DHM toxinů α , β a δ . DHM (dosis haemolytica minima) je nejmenší množství toxinu, které ještě hemolyzuje 1% suspenzi příslušných zvířecích erytrocytů. Toxiny se detoxikují formaldehydem a teplem. Jednotlivé sklizně se mohou pro přípravu várky toxoidu spojit.

K přípravě konečné várky vakcíny se použijí pouze várky α -toxoidu a várky β -toxoidů a δ -toxoidů, které vyhovují následujícím požadavkům.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Nepřítomnost α -toxinu. Do zkumavek se naředí po 0,5 ml zkoušený toxoid geometrickou řadou, počínaje koncentrovaným toxoidem až do ředění 1 : 4, pomocí roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) a *želatiny R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno na 7,2. Do každé zkumavky se přidá 0,5 ml 1% (V/V) suspenze králičích erytrocytů, čerstvě odebraných do vhodného protisrážlivého roztoku a 3x promytých roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l). Po inkubaci 1 h při 37 °C a další 1 h při pokojové teplotě se odečítá hemolýza. Toxoid vyhovuje zkoušce, když v žádné zkumavce nedojde k hemolýze.

Nepřítomnost β -toxinu. Do zkumavek se naředí po 0,5 ml zkoušený toxoid geometrickou řadou, počínaje koncentrovaným toxoidem až do ředění 1 : 4, pomocí roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) a *želatiny R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno na 7,2. Do každé zkumavky se přidá 0,5 ml 1% (V/V) suspenze beraních erytrocytů, čerstvě odebraných do vhodného protisrážlivého roztoku a 3x promytých roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l). Po inkubaci 1 h při 37 °C a dalších 20 h při (5 ± 3) °C se odečítá hemolýza. Toxoid vyhovuje zkoušce, když v žádné zkumavce nedojde k hemolýze.

Nepřítomnost δ -toxinu. Do zkumavek se naředí po 0,5 ml zkoušený toxoid geometrickou řadou, počínaje koncentrovaným toxoidem až do ředění 1 : 4, pomocí roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) a *želatiny R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno na 7,2. Po přidání 1 mezinárodní jednotky referenčního α -stafylokokového antitoxinu v objemu 0,10 ml se směs ponechá vázat 15 min při pokojové teplotě. Pak se přidá do každé zkumavky 0,5 ml 1% (V/V) suspenze morčecích

4998 *Vaccinum staphylococcicum*

erytrocytů, čerstvě odebraných do vhodného protisrážlivého roztoku a 3x promytých roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l). Po inkubaci 1 h při 37 °C a další 1 h při pokojové teplotě se odečítá hemolýza. Toxoid vyhovuje zkoušce, když v žádné zkumavce nedojde k hemolýze.

Nepřítomnost leukocidinu. Stanoví se leukocidní aktivita zkoušeného dialyzovaného toxoidu. Do zkumavek se naředí po 1 ml zkoušený toxoid geometrickou řadou, počínaje koncentrovaným toxoidem až do ředění 1 : 4, pomocí *tlumivého roztoku fosforečnanového s chloridem sodným o pH 7,4*. Pak se přidá 0,1 ml leukocytárního náplavu získaného následujícím způsobem: 20 ml čerstvé lidské krve se odebere do roztoku připraveného smícháním 2 ml 10% roztoku dextranu 70 na injekci (100 g/l) a *glukosy R* (50 g/l) a 2 ml roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) a *edetanu disodného R* (10 g/l). Odebraná krev se nechá sedimentovat v odměrném válci 60 min až 90 min při 37 °C, supernatant se odsaje, odstředí a znovu se odsaje asi 90 % supernatantu. Sedimentované leukocyty se rozštěpou ve zbylém supernatantu a doplní se *tlumivým roztokem fosforečnanovým s chloridem sodným o pH 7,4* do celkového objemu 10 ml. Zkoušený toxoid s leukocyty se inkubuje 1 h při 37 °C. Po přidání 0,1 ml roztoku *červeně Kongo R* (10 g/l) se prohlíží nativní preparáty zhotovené z obsahu jednotlivých zkumavek a počítají se modrozeleně zbarvené živé buňky a hnědě zbarvené mrtvé buňky. Hodnotí se minimálně 25 živých buněk vedle současně nalezených mrtvých buněk. Toxoid vyhovuje zkoušce, pokud je leukocidní aktivita nulová, tj. převažují živé buňky zbarvené modrozeleně nad mrtvými hnědými buňkami.

Obsah vazných jednotek Nejméně 30 LB/ml. Provádí se u várky α -toxoidu.

Vazná jednotka toxoidu (limes binding, LB) je ono množství toxoidu, které ve směsi s 1 m.j. referenčního α -stafylokokového antitoxinu ho vyváže tak, že přidaná 1/4 LH+ dávky toxinu způsobí úplnou hemolýzu 5% (V/V) suspenze králičích erytrocytů.

LH+ dávka toxinu (limes haemolysis, LH) je ono množství toxinu, které po smíšení a inkubaci s 1 m.j. referenčního α -stafylokokového antitoxinu ještě hemolyzuje králičí erytrocyty.

Mezinárodní jednotka je takové množství α -stafylokokového antitoxinu, které po smíšení a inkubaci s 1 LH+ dávkou toxinu ještě připustí hemolýzu králičích erytrocytů.

Příprava roztoku toxinu. Stafylokokový toxin o známé účinnosti se předtitruje s referenčním antistafylokokovým sérem a podle výsledků této titrace se toxin naředí roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) a *želatiny R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno na 7,2 tak, aby 1/4 LH+ dávky toxinu byla obsažena v 0,1 ml. Tato dávka se použije pro vlastní titraci toxoidu.

Stanovení obsahu vazných jednotek. Zkoušený toxoid (vakcína) se podle předpokládaného účinku naředí do zkumavek aritmetickou řadou, ve které bude stoupající množství toxoidu o 0,01 ml doplněné na celkový objem 1 ml roztokem *chloridu sodného R* (9 g/l) a *želatiny R* (1 g/l), jehož pH bylo upraveno na 7,2. Po přidání 1 m.j. referenčního α -stafylokokového antitoxinu v objemu 0,10 ml se směs ponechá vázat 15 min až 20 min při teplotě 18 °C až 20 °C. Po přidání 1/4 LH+ dávky toxinu v objemu 0,10 ml se ponechá vázat dalších 15 min při stejné teplotě. Pak se ke směsi přidá 5% (V/V) suspenze králičích erytrocytů v objemu 0,10 ml a po inkubaci 1 h při 37 °C a další 1 h při teplotě 18 °C až 20 °C se odečítá stupeň hemolýzy. Zjistí se zkumavka, ve které došlo ještě k hemolýze, a určí se obsah vazných jednotek.

Konečná várka vakcíny

Obsahuje nativní stafylokokový α -toxoid v množství 7,6 až 10,7 LB/ml. Dále obsahuje nativní stafylokokové β -toxoidy a δ -toxoidy v množstvích limitovaných požadavky na obsah DHM nativních toxinů.

K přípravě šarže se použije pouze konečná várka vakcíny, která vyhovuje následujícím požadavkům.

Protimikrobní konzervační látky. 85 % až 115 % zamýšleného množství. Pokud je třeba, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou metodou.

Sterilita (2.6.1). Konečná várka vakcíny vyhovuje zkoušce na sterilitu; na každou živnou půdu se použije 10 ml.

Účinnost. Provedou se zkoušky popsané v odstavci Stanovení účinnosti.

Šarže

Konečná várka vakcíny se asepticky rozplní do sterilních zabezpečených obalů. Obaly se uzavřou tak, aby se předešlo kontaminaci.

K použití se může uvolnit šarže, která odpovídá všem požadavkům dále uvedeným v odstavcích Zkoušky totožnosti, Zkoušky na čistotu a Stanovení účinnosti. Pokud byla zkouška na neškodnost, stanovení obsahu volného formaldehydu a stanovení protimikrobní konzervační látky a stanovení účinnosti provedeny s vyhovujícími výsledky u konečné várky vakcíny, mohou se u šarže vypustit.

Zkoušky totožnosti

A. Zkouška imunogenity je zároveň zkouškou totožnosti.

B. 0,2 ml zkoušené vakcíny se smíchá s 0,2 ml referenčního stafylokokového anti toxinu o koncentraci 10 m.j./ml a nechá se vázat 15 min při 18 °C až 20 °C. Po přidání 0,2 ml dávky toxinu o koncentraci 1/4 LH+ v objemu 0,10 ml určené dle předchozí titrace se směs ponechá vázat dalších 15 min při stejné teplotě. Pak se přidá ke směsi 5% (V/V) suspenze králičích erytrocytů v objemu 0,10 ml a nechá se inkubovat 1 h při 37 °C. Zkouška vyhovuje, pokud ve směsi došlo k hemolýze.

Zkoušky na čistotu

Zkouška na reaktivitu a toxicitu

a) Dvěma zdravým králíkům (nejlépe bílým novozélandským) o hmotnosti 2 kg až 3 kg, kterým předtím nebyla podána žádná látka, jež by mohla narušit zkoušku, se vstříkne intradermálně 0,2 ml vakcíny. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže během 48 h následujících po injekci nevyvolá vznik lokální reakce v místě vpichu. V případě reakce se zkouška opakuje na dvojnásobném počtu zvířat. Jestliže při opakované zkoušce dojde ke vzniku reakce, vakcína nevyhovuje.

b) Dvěma zdravým králíkům (čičilám) o hmotnosti 2 kg až 3 kg, kterým předtím nebyla podána žádná látka, jež by mohla narušit zkoušku, se vstříknou intravenózně 3 ml vakcíny na 1 kg hmotnosti králíka. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže se u zvířat během 7 dnů následujících po injekci neprojeví toxické příznaky, úbytek hmotnosti a žádné zvíře neuhyne. V případě reakce se zkouška opakuje na dvojnásobném počtu zvířat. Jestliže při opakované zkoušce dojde ke vzniku reakce, vakcína nevyhovuje.

Volný formaldehyd (2.4.18). Přípravek vyhovuje požadavku uvedenému v článku *Vaccina ad usum humanum*.

5000 *Vaccinum staphylococcicum*

Protimikrobní konzervační látky. Nejméně nejnižší prokazatelně účinné množství, nejvýše 115 % deklarovaného množství. Pokud je třeba, stanoví se obsah protimikrobní konzervační látky vhodnou chemickou metodou.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení účinnosti**Stanovení obsahu vazných jednotek**

Hotový výrobek obsahuje 7,6 až 10,7 LB/ml α -stafylokokového toxoidu. Stanoví se postupem uvedeným v odstavci Obsah vazných jednotek.

Stanovení imunogenity

- a) Nejméně devíti zdravým morčatům o hmotnosti asi 280 g, kterým předtím nebyla podána žádná látka, jež by mohla narušit zkoušku, se každému vstříknou podkožně dvě dávky zkoušené vakcíny po 1 ml tak, že se druhá dávka aplikuje za 1 týden po dávce první. Za 14 dnů po podání druhé dávky jsou morčata vykrváčena a v sérech jednotlivých zvířat se stanoví obsah protilátek proti stafylokokovému α -toxinu.
- b) Nejméně třem králíkům o hmotnosti 2,3 kg až 2,7 kg, kterým předtím nebyla podána žádná látka, jež by mohla narušit zkoušku, a jejichž přirozený titer byl nižší než 0,1 m.j./ml, se každému vstříkne intravenózně v týdenních intervalech 1 ml, 2 ml a 3 ml zkoušené vakcíny. Za týden po třetí dávce jsou králíci vykrváčeni a v sérech jednotlivých zvířat se stanoví obsah protilátek proti stafylokokovému α -toxinu.

Podle výsledků předtitrace se toxin naředí tak, aby obsahoval 1 LH+ dávku v objemu 0,2 ml. Do řady zkumavek se vhodně naředí séra imunizovaných zvířat. Po přidání 1 LH+ dávky toxinu v 0,2 ml se směs nechá vázat 20 min při pokojové teplotě. Po této době se přidá ke směsi 5% (V/V) suspenze králičích erytrocytů v objemu 0,1 ml a po inkubaci 1 h při 37 °C a 1 h při pokojové teplotě se odečítá hemolýza - tj. poslední zkumavka, ve které ještě došlo k hemolýze erytrocytů.

Hodnocení: Séra jedné třetiny imunizovaných morčat obsahují nejméně 1 m.j. a séra dvou třetin morčat alespoň 0,5 m.j. α -stafylokokového antitoxinu v 1 ml.

Séra imunizovaných králíků obsahují v průměru nejméně 3 m.j. α -stafylokokového antitoxinu v 1 ml.

Nevyhovuje-li vakcína ve stanovení imunogenity, opakuje se tato zkouška na dvojnásobném počtu zvířat.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum cryodesiccatum 5001

Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum cryodesiccatum

1998



Lyofilizovaná živá vakcína proti respiračnímu onemocnění skotu vyvolanému respiračním syncytiálním virem (BRSV)

Je to přípravek z vhodného kmene bovinního respiračního syncytiálního viru.

Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. K pomnožení vakcinačního kmene se použije vhodná buněčná kultura (5.2.4). Virová suspenze se sklídí, smíchá se s vhodným stabilizačním roztokem a lyofilizuje se.

Výběr vakcinačního kmene

K přípravě vakcíny se může použít jen takový virový kmen, který prokazatelně postačuje z hlediska nevratnosti virulence, bezpečnosti a imunogenity. K průkazu bezpečnosti (5.2.6) a účinnosti (5.2.7) se mohou použít následující zkoušky.

Nevratnost virulence

Dvěma vnímavým telatům bez protilátek proti syncytiálnímu viru respiračního onemocnění skotu se intranazálně podá množství viru, které je optimální pro reizolaci v jednotlivých pasážích. Od 3. do 7. dne po podání viru se od obou telat denně provádí nosní výtěr, ten se vloží do vhodného média (jehož objem nepřevyšuje 5 ml), které je pak použito k očkovaní buněčných kultur pro ověření přítomnosti viru. Dvěma jiným telatům stejného stáří a citlivosti se podá asi 1 ml suspenze z nosního výtěru, která podle výsledků titrace na tkáňových kulturách obsahuje maximální množství viru. Stejný postup se opakuje na telatech v pěti pasážích. U žádného telete se nezjistí klinické známky, jež by bylo možné přisoudit vakcinačnímu viru. Ve srovnání s původním vakcinačním virem se nezjistí vzestup virulence. Výpočet se provádí na základě titru vyloučeného v nosních výtěrech.

Bezpečnost. Studie bezpečnosti se provádějí na telatech v nejnižším stáří doporučeném pro vakcinaci a všemi předepsanými způsoby podání.

- A. Pěti telatům bez protilátek na bovinní respirační syncytiální virus se podá předepsaným způsobem nejméně desetinásobek nejvyššího titru viru, který lze předpokládat u šarže vakcíny. Zvířata se pozorují 21 dnů. U všech zvířat se měří rektální teplota den před vakcinací, v den vakcinace a denně následujících 7 dnů. Nezjistí se nadměrný vliv na tělesnou teplotu ani žádné nadměrné místní nebo systémové reakce.
- B. V terénních pokusech používaná zvířata se rovněž použijí k hodnocení výskytu hypersenzitivních reakcí u vakcinovaných zvířat následně vystavených vlivu vakcíny nebo divokému viru. Vakcína je postačující, pokud není zaznamenán nadměrný výskyt bezprostředních hypersenzitivních reakcí.

Imunogenita. Zkouška popsána v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity vakcinačního kmene.

5002 *Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum cryodesiccatum***Zkoušení šarže**

Pokud bylo stanovení účinnosti provedeno s vyhovujícím výsledkem na reprezentativní šarži vakcíny, může být tato zkouška při běžné kontrole jiných šarží připravených z téhož inokula vypuštěna, pokud k tomu dá souhlas oprávněná autorita.

Zkouška totožnosti

Na vhodných buněčných kulturách se s monospecifickým sérem provede zkouška imunofluorescence.

Zkoušky na čistotu

Bezpečnost. Deset dávek vakcíny se předepsaným způsobem podá každému ze dvou telat minimálního stáří doporučeného pro vakcinaci, která nemají protilátky na boviní respirační syncytiální virus. Zvířata se pozorují 21 dnů. Nejistí se nadměrné místní nebo systémové reakce.

Cizí viry. Vakcína se neutralizuje monospecifickým sérem proti bovinímu respiračnímu syncytiálnímu viru a naočkuje se na buněčnou kulturu vnímavou k virům patogenním pro skot. Kultura se udržuje 14 dnů, v průběhu této doby se provede nejméně jedna pasáž. Nevznikne cytopatický efekt; buňky nevykazují přítomnost hemadsorpčního agens. Provede se specifická zkouška na pestiviry.

Bakteriální a houbová kontaminace. Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

Mykoplazmata (2.6.7) Vakcína vyhovuje zkoušce na mykoplazmata.

Titř viru. Vakcína se titruje na vhodných buněčných kulturách. Dávka vakcíny obsahuje nejméně takové množství viru, které odpovídá minimálnímu deklarovanému titru.

Stanovení účinnosti

Použije se nejméně deset telat bez protilátek na boviní respirační syncytiální virus a minimálního stáří, které je doporučeno pro vakcinaci. Séra se získávají ze zvířat před vakcinací, sedmý a čtrnáctý den po vakcinaci a bezprostředně před čelenží.

Vakcinuje se nejméně pět telat podle návodu k použití. Pět telat se použije jako kontrola.

Zvířata se pozorují 21 dnů, potom se každému kusu vpraví do dýchacích cest vhodné množství virulentního boviního respiračního syncytiálního viru v nízké pasáži. V průběhu čtrnácti dnů po čelenži se u zvířat sledují klinické příznaky, zejména respirační, a vylučování viru (nosní výtěry, tracheobronchiální výplachy).

Vakcína vyhovuje, jestliže u vakcinovaných zvířat ve srovnání s kontrolními dochází:

- a) k průkaznému snížení průměru titru a doby vylučování viru,
- b) k významnému snížení celkových a místních příznaků (pokud čelenžní virus tyto příznaky vyvolává).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže protilátky na boviní respirační syncytiální virus nebyly zjištěny u kontrolních zvířat před čelenží nebo jestli více než dvě z pěti kontrolních zvířat vylučují čelenžní virus při vyšetření nosních výtěrů nebo tracheobronchiálních výplachů.

Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Zinci oxidi gelatina mollis

N

Měkká zinková želatina

Synonymum. Gelatina zinci oxydati mollis

Je to želatinový glycerogel s oxidem zinečnatým (ZnO, M_r 81,38).

Obsahuje 9,0 % až 11,0 % ZnO, 32,0 % až 36,0 % glycerolu ($C_3H_8O_3$, M_r 92,09) a 35,0 % až 43,0 % vody.

Příprava

Zinci oxidum (125)	100,0 g
Glycerolum 85%	400,0 g
Gelatina	150,0 g
Aqua conservans	350,0 g

Želatina se stejnoměrně provlhčí konzervační vodou, nechá se 15 min bobtnat a potom se zahřívá na vodní lázni při teplotě nejvýše 65 °C, až se želatina rozpustí. Vypařená voda se nahradí teplou čištěnou vodou a k roztoku želatiny se zvolna přimíchá důkladně rozetřená směs oxidu zinečnatého s glycerolem 85%. Ještě teplá směs se plní do vhodných obalů.

Vlastnosti

Bílá rosolovitá hmota, při zahřátí taje.

Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se za tepla protřepe s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 10 % RS*, přidá se 5 ml *vody R* a zfiltruje se. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- B. 0,2 g se smíchá s 10 ml *horké vody R*. Ke 2 ml směsi se přidá 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 10 % RS* a *chroman draselný RS*; vznikne oranžově žlutá sraženina (*želatina*).

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 1,000 g se odváží do 250ml baňky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří. Potom se přidá 100 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

5004 *Zinci oxidi pasta*

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Glycerol. 0,3000 g se smíchá v baňce se zabroušenou zátkou s 20 ml teplé *vody R*, přidá se 0,1 ml *červeně fenolové RS* a po kapkách *hydroxid sodný 0,1 mol/l VS* do vzniku fialově červeného zbarvení. Potom se přidá 1,5 g *jodistanu sodného R*, baňka se uzavře, směs se krouživým pohybem občas promíchává a po rozpuštění jodistanu sodného se tekutina nechá ještě 5 min stát. Pak se přidá 1,5 ml *propylenglykolu R*, promíchá se a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do fialově červeného zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje s výsledkem slepé zkoušky.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 mg C₃H₈O₃.

Voda. Stanoví se způsobem uvedeným v článku Stanovení vody destilací (2.2.13).

Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

Označování

V označení na obalu se uvedou názvy použitých protimikrobních přísad.

Zinci oxidi pasta**N**

Zinková pasta

Synonymum. Pasta zinci oxydati

Je to hydrofobní pasta s oxidem zinečnatým (ZnO, *M_r* 81,38).

Obsahuje 23,8 % až 26,3 % ZnO.

Příprava

Zinci oxidum (125)	250,0 g
Tritici amyllum (125)	250,0 g
Vaselinum flavum	500,0 g

Směs vysušeného oxidu zinečnatého a pšeničného škrobu se proseje, pak se důkladně rozetře v zahřáté nerezové misce s roztavenou žlutou vazelínou a míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Stejnorodá bílá až nažloutlá pasta téměř bez pachu. Ve vodě se nerozpouští ani se do ní nedá voda vmíchat.

Zkoušky totožnosti

A. 1 g se 5 min zahřívá v porcelánové misce na vodní lázni za stálého míchání s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Vzniklá tekutina se ihned zředí 5 ml *vody R*, promíchá se, sleje a zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).

B. 0,5 g se povaří s 10 ml *vody R* a po ochlazení se tekutina sleje. K 5 ml tekutiny se přidá 0,1 ml *jodu RS1*; vznikne tmavě modré zbarvení (*škrob*).

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 0,3000 g se odváží do 250ml baňky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří, až se vrstva pasty vyjasní. Potom se přidá 100 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.
Chráněna před světlem.

Zinci oxidi pasta 50%

N

Zinková pasta 50%

Synonymum. Pasta zinci oxydati 50%

Je to hydrofobní pasta s oxidem zinečnatým (ZnO, M_r 81,38).

Obsahuje 47,5 % až 52,5 % ZnO.

Příprava

Zinci oxidum (125)	50,0 g
Paraffinum liquidum	25,0 g
Vaselinum flavum	25,0 g

Ke směsi oxidu zinečnatého a tekutého parafínu se po částech a za stálého roztírání přidává poloroztavená žlutá vazelína.

Vlastnosti

Stejnorodá téměř bílá pasta. Ve vodě se nerozpouští ani se do ní nedá voda vmíchat.

Zkoušky totožnosti

A. 1 g se 5 min zahřívá v porcelánové misce na vodní lázni za stálého míchání s 10 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Vzniklá tekutina se ihned zředí 10 ml *vody R*, promíchá se, sleje a zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).

B. 0,8 g se promíchá s 0,2 g *síry R* a silně se zahřívá; uvolňuje se pach sirovodíku (*tekutý parafín*).

5006 *Zinci oxidi pasta mollis***Stanovení obsahu**

0,150 g se odváží do 250ml baňky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří, až se vrstva pasty vyjasní. Potom se přidá 100 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

V chladnu a chráněna před světlem.

Zinci oxidi pasta mollis**N**

Měkká zinková pasta

Synonymum. Pasta zinci oxydati mollis

Je to hydrofobní pasta s oxidem zinečnatým (ZnO, M_r 81,38) ve složeném základu obsahujícím alkoholy tuku z ovčí vlny.

Obsahuje 28,5 % až 31,5 % ZnO.

Příprava

Zinci oxidum (125)	300,0 g
Helianthi oleum raffinatum	200,0 g
Alcoholes adipis lanae	50,0 g
Vaselinum flavum	450,0 g

Oxid zinečnatý se důkladně rozetře se slunečnicovým olejem a k získané suspenzi se po částech přimíchává roztavená směs alkoholů tuku z ovčí vlny a žluté vazelíny. Míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Stejnorodá bílá až nažloutlá pasta téměř bez pachu. Dá se do ní vmíchat omezené množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g se 5 min zahřívá v porcelánové misce na vodní lázni za stálého míchání s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné 10 % RS*. Vzniklá tekutina se ihned zředí 5 ml *vody R*, promíchá se, sleje a zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- B.** 0,5 g se protřepe s 5 ml *chloroformu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R*, 0,1 ml *kyseliny sírové R* a protřepe se; po chvíli vzniká sytě zelené zbarvení (*cholesterol*).

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 0,400 g se odváží do 250ml baňky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří, až se vrstva pasty vyjasní. Potom se přidá 100 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Zinci oxidi pasta salicylata

N

Zinková pasta s kyselinou salicylovou

Synonymum. Pasta zinci oxydati cum acido salicylico

Je to hydrofobní pasta s oxidem zinečnatým (ZnO, M_r 81,38) a s kyselinou salicylovou ($C_7H_6O_3$, M_r 138,12).

Obsahuje 22,8 % až 25,2 % ZnO a 1,8 % až 2,2 % $C_7H_6O_3$.

Příprava

Acidum salicylicum (90)	20,0 g
Vaselinum flavum	20,0 g
Zinci oxidi pasta	960,0 g

Kyselina salicylová se důkladně rozetře se žlutou vazelínou a po částech se přimíchává zinková pasta.

Vlastnosti

Stejnorodá bílá až nažloutlá pasta téměř bez pachu. Ve vodě se nerozpouští ani se do ní nedá voda vmíchat.

Zkoušky totožnosti

- 0,5 g se zahřeje s 10 ml *vody R* k varu. Po vychladnutí se tekutina zfiltruje. Filtrát zbarví *papír lakmusový modrý R* červeně a po přidání 0,1 ml *chloridu železitého RS1* se zbarví červeno-fialově (*kyselina salicylová*).
- 1 g se 5 min zahřívá v porcelánové misce na vodní lázni za stálého míchání s 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*. Vzniklá tekutina se ihned zředí 5 ml *vody R*, promíchá se, sleje se a zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- 0,5 g se povaří s 10 ml *vody R* a po ochlazení se tekutina sleje. K 5 ml tekutiny se přidá 0,1 ml *jodu RS1*, vznikne tmavě modré zbarvení (*škrob*).

5008 *Zinci oxidi suspensio***Stanovení obsahu**

Kyselina salicylová. 5,000 g se ve 100ml baňce protřepává s 20 ml *etheru petrolejového R* za mírného zahřívání na vodní lázni do rozpuštění pastového základu. Ke směsi se přidá 20 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* na *fenolftalein RSI*, důkladně se promíchá a zfiltruje se přes skládaný papírový filtr předem navlhčený zneutralizovaným lihem. Baňka i filtr se postupně promyjí celkem asi 50 ml zneutralizovaného teplého *lihu 96% R*. Ke spojeným filtrátům se přidá 0,2 ml *fenolftaleinu RSI* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do slabě červeného zbarvení.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Oxid zinečnatý. 0,3000 g se odváží do 250ml baňky, přidá se 5 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří, až se vrstva pasty vyjasní. Potom se přidá 100 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Zinci oxidi suspensio**N**

Suspenze oxidu zinečnatého

Synonymum. Suspensio zinci oxydati

Je to suspenze oxidu zinečnatého (ZnO , M_r 81,38) a mastku ($Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$, M_r 379,27) ve směsi glycerolu ($C_3H_8O_3$, M_r 92,09) a bentonitové magmy.

Obsahuje 23,8 % až 26,3 % ZnO , 19,9 % až 22,8 % $C_3H_8O_3$ a 23,7 % až 27,6 % $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ a bentonitu.

Příprava

Zinci oxidum (45)	250,0 g
Talcum (45)	250,0 g
Glycerolum 85%	250,0 g
Bentoniti magma	250,0 g

Oxid zinečnatý a mastek se pečlivě rozetřou s glycerolem 85% a bentonitovou magmou.

Vlastnosti

Stejnorodá bílá suspenze, velmi hustá, prakticky bez pachu.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1 g se v kelímku odpaří, spálí a vyžihá (ke zkoušce lze použít zbytek ze stanovení obsahu mastku a bentonitu). Ke zbytku se přidá 5 ml kyseliny *chlorovodíkové 10% RS* a zahřívá se asi 5 min na vodní lázni. Potom se přidá 5 ml *vody R* a tekutina se zfiltruje. Zbytek na filtru se použije ke zkoušce B. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- B.** Zbytek na filtru ze zkoušky A se vysuší, v platinovém kelímku se smísí s 0,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a žihá se. Tavenina se vylouží 30 ml horké *vody R* a po vychladnutí se ke vzniklé tekutině přidává po částech *kyselina chlorovodíková RS*, až ustane šumění, a potom ještě asi 10 ml navíc. Tekutina se odpaří na vodní lázni do sucha, ke zbytku se přidá asi 20 ml *vody R*, povaří se a po chlazení zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).
- C.** Asi 5 g se zvolna zahřívá s 0,5 g *hydrogensíranu draselného R*; uhehnatí a vyvíjí se pronikavý pach akroleinu (*glycerol*).

Zkouška na čistotu

Mikrobiální znečištění. Nejvýše 10^2 živých mikroorganismů (5.1.4, kategorie 2). Stanovení počtu se provede na pevných půdách (2.6.12).

Zkouška lékové formy

Velikost částic. 1,0 g se rozetře s 5 ml *vody R*. V mikroskopickém preparátu při pozorování ne čtyřech zorných polích se nezjistí částice o průměru větším než 50 μm .

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 0,600 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové zředěné RS* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Glycerol. 2,000 g se v odměrné baňce zředí *vodou R* na 50,0 ml. 10,0 ml této tekutiny se zfiltruje navlhčeným hustým papírovým filtrem do baňky se zabroušenou zátkou a filtr se promyje *vodou R*. Spojené filtráty se doplní na celkový objem asi 40 ml, přidá se 25,0 ml roztoku *jodistanu sodného R* (21,4 g/l), baňka se uzavře, její obsah se promíchá a nechá se 15 min stát za chránění před světlem. Potom se přidá 5,0 ml roztoku *ethylenglykolu R* (500 g/l), znovu se promíchá a nechá se stát 20 min za chránění před světlem. Přidá se 0,2 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,209 $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$.

Mastek a bentonit. 1,000 g se v předem vyžihaném a zváženém platinovém kelímku odpaří, opatrně spálí, vyžihá do konstantní hmotnosti a po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Od hmotnosti zbytku, přepočtené na 100 g suspenze, se odečte nalezený obsah oxidu zinečnatého; rozdíl udává obsah mastku a bentonitu v suspenzi.

Uchovávání

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

V dobře uzavřených širokohrdlých obalech.

5010 *Zinci oxidi unguentum***Označování**

Viz článek *Liquida ad usum dermicum*.

V označení na obalu se uvede upozornění, že přípravek je nutno před použitím protřepat.

Zinci oxidi unguentum**N****Zinková mast**

Synonymum. Unguentum zinci oxydati

Je to hydrofobní mast s oxidem zinečnatým (ZnO , M_r 81,38).
Obsahuje 13,8 % až 16,2 % ZnO .

Příprava

Zinci oxidum (125)	150,0 g
Propylis gallas	0,075 g
Ethanolum 96% (V/V)	7,5 ml
Adeps suillus	730,0 g
Cera alba	50,0 g
Helianthi oleum raffinatum	70,0 g

Bílý vosk a vepřové sádlo se roztaví na vodní lázni zahřáté na 70 °C a za stálého míchání se po kapkách přidává propylgallat rozpuštěný v ethanolu 96%. Odděleně se důkladně rozetře oxid zinečnatý se slunečnicovým olejem a k získané suspenzi se po částech přimíchává roztavená směs vosku a sádla. Míchá se do vychladnutí.

Vlastnosti

Stejnorodá bílá mast charakteristického pachu. Dá se do ní vmíchat jen malé množství vody.

Zkoušky totožnosti

- A.** 1,0 g se smíchá v kádince s 5 ml *chloroformu R* a stejné množství se v jiné kádince smíchá s 5 ml *vody R*. Zkoušená mast se rozpustí v chloroformu, ve vodě se nerozpouští (*hydrofobní mast*).
- B.** 1,0 g se 5 min zahřívá na vodní lázni za stálého míchání s 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS* a 5,0 ml *vody R*. Po ochlazení se vodná vrstva zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce na zinek (2.3.1).
- C.** 1,0 g se zahřívá se 2,0 ml *lihu 96% R* na vodní lázni do roztavení. Teplá směs se protřepává 30 s, ochladí se a přidá se 1,0 ml *amoniaku 26% R*; vznikne slabě červené zbarvení (*propylgallat*).

Stanovení obsahu

Oxid zinečnatý. 0,400 g se odváží do 250,0 ml baňky, přidá se 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, do hrdla baňky se vloží malá nálevka a krátce se povaří, až se vrstva masti vyjasní. Potom se přidá 100,0 ml *vody R* a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,138 mg ZnO.

Uchovávání

Viz článek *Unguenta*.

Chráněna před světlem.

Zinci sulfatis oculo guttae**N**

Oční kapky se síranem zinečnatým

Synonymum. Collyrium zinci sulfurici

Je to sterilní roztok síranu zinečnatého ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $M_r 287,54$), kyseliny borité (H_3BO_3 , $M_r 61,83$) a tetraboritanu sodného ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, $M_r 381,37$) s protimikrobní přísadou.

Obsahuje 0,22 % až 0,28 % $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,56 % až 1,70 % H_3BO_3 a 0,027 % až 0,033 % $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$.

Příprava

Zinci sulfas heptahydricus	0,25 g
Acidum boricum	1,62 g
Natrii tetraboras	0,03 g
Thiomersalum	0,002 g
Aqua purificata	ad 100,0 g

Kyselina boritá a tetraboritan sodný se rozpustí v roztoku 0,002 g thiomersalu v 90 g vysterilizované čištěné vody 60 °C až 70 °C teplé. V ochlazeném roztoku se rozpustí síran zinečnatý, doplní se vysterilizovanou čištěnou vodou na 100,0 g, provede se membránová filtrace, rozplní se do vhodných obalů v prostoru čistoty A nebo se sterilizuje v konečném obalu párou (5.1.1), např. 20 min při 121 °C. V odůvodněných případech lze jako protimikrobní přísadu použít fenylyhydrargyriumborat (0,01 g/l).

Vlastnosti

Čirá bezbarvá tekutina.

Zkoušky totožnosti

A. K 5 ml se přidává po kapkách *hydroxid sodný zředěný RS*; vzniká bílá amorfni sraženina, která se rozpustí v nadbytku *hydroxidu sodného zředěného RS* (zinek).

5012 *Zinci sulfatis oculoguttae*

B. 1 ml vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

C. 5 ml se odpaří na porcelánové misce na vodní lázni do sucha, zbytek se rozpustí ve 3 ml lihu 96% R a přidá se 0,5 ml kyseliny sírové R. Zapálený roztok hoří plamenem, který je zejména na okraji zeleně zbarvený (kyselina boritá a boritany).

D. 2 ml se protřepou s 1 ml chloroformu R a 0,2 ml dithizonu RS; chloroformová vrstva se zbarví hnědožlutě (sloučenina rtuti).

Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Hodnota pH (2.2.3). 5,7 až 6,3.

Sterilita (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

Stanovení obsahu

Síran zinečnatý. 10,00 g se zředí 50 ml vody R a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,02 mol/l VS odpovídá 5,75 mg $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$.

Tetraboritan sodný. K 10,00 g se přidá 0,1 ml červeně methylové RS a titruje se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l VS ze žlutého do fialově červeného zbarvení. Nalezená spotřeba se koriguje výsledkem slepé zkoušky.

1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS odpovídá 1,907 mg $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$.

Kyselina boritá. Ke ztitrovanému roztoku ze stanovení tetraboritanu sodného se přidá směs 10 ml čerstvě připraveného roztoku sorbitolu R (200 g/l) a 1,0 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS předem zneutralizovaná hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS na 0,5 ml modři thymolové RS do zeleného zbarvení. Titruje se týmž odměrným roztokem do stejného zbarvení.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 6,183 mg H_3BO_3 .

Obsah volné kyseliny borité v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{[b - (0,2 \cdot a + 0,2 \cdot c)] \cdot 0,6183}{n},$$

v němž značí:

a - spotřebu kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS při stanovení tetraboritanu sodného v mililitrech,

b - spotřebu hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS při stanovení kyseliny borité v mililitrech,

c - spotřebu edetanu disodného 0,02 mol/l VS při stanovení síranu zinečnatého v mililitrech přepočtenou na navážku pro stanovení kyseliny borité,

n - navážku zkoušeného přípravku pro stanovení kyseliny borité v gramech.

Uchovávání

Viz článek *Ocularia*.

Chráněny před světlem.

Označování

Viz článek *Ocularia*, odstavec *Oculoguttae*.

V označení na obalu se uvede název použité protimikrobní přísady.

Vydávání

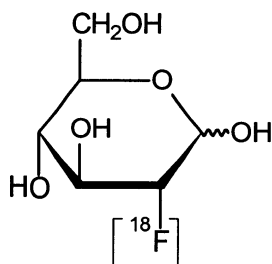
Vydávají se v obalech o obsahu obvykle 10 ml, nejvýše však 20 ml, s uzávěry umožňujícími podávání ve formě jednotlivých kapek.

6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky

Fludeoxyglucosi [¹⁸F] solutio iniectionabilis

Injekce s fludeoxyglukosou [¹⁸F]

1999



Je to sterilní roztok 2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-glukopyranosy (2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-glukosy) pro diagnostické použití. Injekce obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity fluoru-18 k datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 95 % radioaktivity odpovídá fluoru-18 ve formě 2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-glukosy a 2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-mannosy, přičemž frakce 2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-mannosy nepřesahuje 10 % celkové radioaktivity. Nejméně 99,0 % radioaktivity odpovídá fluoru-18. Obsah 2-fluor-2-deoxy-D-glukosy není vyšší než 10 mg v maximální doporučené dávce injekce.

Výroba

Výroba radionuklidu

Fluor-18 je radioaktivní izotop fluoru, který se může vyrábět různými jadernými reakcemi, např. ozařováním kyslíku-18 protony, ozařováním neonu-20 deuterony nebo ozařováním kyslíku-16 jádry helia-3 nebo helia-4.

Radiochemická syntéza

2-[[¹⁸F]fluor]-2-deoxy-D-glukosa se může připravit různými způsoby chemických syntéz, které poskytují produkty s rozdílnými hodnotami měrné radioaktivity, vedlejších produktů a možných nečistot.

5014 *Fludeoxyglucosi [¹⁸F] solutio iniectabilis*

Nejvíce používaná metoda přípravy je katalyzovaná nukleofilní substituce 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluormethansulfonyl-β-D-mannopyranosy s [¹⁸F]fluoridem. Obvykle je [¹⁸F]fluorid adsorbován na anex a potom eluován roztokem uhličitanu draselného, který je poté vysušen odpařením. Ke zvýšení nukleofility [¹⁸F]fluoridu lze použít přídavek katalyzátoru fázového přenosu, jako je aminopolyether v suchém acetonitrilu tak, aby snadno reagoval s tetraacetylovaným mannosyltriflatem při zvýšené teplotě. Hydrolyza v alkalickém nebo kyselém prostředí poskytuje 2-[¹⁸F]fluor-2-deoxy-D-glukosu. Hydrolyza kyselinou chlorovodíkovou může vést ke vzniku 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy. Hydrolyza v alkalickém prostředí může vést ke vzniku 2-[¹⁸F]fluor-2-deoxy-D-mannosy jako vedlejšího produktu.

Jiné způsoby nahrazují aminopolyether tetraalkylamoniovou solí nebo se používá nukleofilní substituce v pevné fázi na derivatizovaných anexech, např. derivatizovaných 4-(4-methylpiperidino)pyridinem.

Elektrofilní způsob přípravy 2-[¹⁸F]fluor-2-deoxy-D-glukosy je založen na reakci molekulárního [¹⁸F]fluoru nebo [¹⁸F]acetylhypofluoridu s 3,4,6-tri-O-acetyl-D-glukalem. [¹⁸F]Acetylhypofluorid se získá přeměnou molekulárního [¹⁸F]fluoru na pevný komplex s kyselinou octovou a octanem draselným. Výroba molekulárního [¹⁸F]fluoru vyžaduje přidání malého množství fluoru na plynný neonový terč, obvykle 0,1 % až 1 %, což má za následek snížení měrné radioaktivity konečného produktu. Hydrolyzou O-acetylací chráněného [¹⁸F]fluorovaného cukru vzniká 2-[¹⁸F]fluor-2-deoxy-D-glukosa a obvykle malé množství 2-[¹⁸F]fluor-2-deoxy-D-mannosy.

Přípravek může být čištěn postupně chromatograficky v kombinacích na pryskyřici zpomalující ionty, měnič iontů, oxidem hlinitým a silikagelem derivatizovaným oktadecylovými skupinami. Odstranění katalyzátoru fázové přeměny může být provedeno různými metodami, které jsou všechny založeny na použití několika separačních kolon.

Výrobní systémy a jejich provedení vyhovují požadavkům příslušných úřadů.

Výchozí suroviny**1. Terčové látky**

Každá šarže terčového materiálu musí být odzkoušena navrženým výrobním postupem dříve, než je použita v rutinní přípravě fluoru-18 a při výrobě přípravku, což zajišťuje, aby při těchto podmínkách terč poskytoval fluor-18 v požadovaném množství a kvalitě.

2. Výchozí látky pro organickou syntézu

Je doporučeno zkoušet výchozí látky při jejich výrobě, dříve než jsou použity pro výrobu přípravku, aby bylo zajištěno, že v těchto podmínkách poskytují výchozí látky přípravek v požadovaném množství a kvalitě.

1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-O-trifluormethansulfonyl-β-D-mannopyranosa. Zkouší se infračervenou absorpční spektrofotometrií (2.2.24), srovnáním s referenčním spektrem *Ph. Eur.* 1,3,4,6-tetra-O-acetyl-2-O-trifluormethansulfonyl-β-D-mannopyranosy.

Teplota tání (2.2.14). 119 °C až 122 °C.

3,4,6-Tri-O-acetyl-D-glukal. Zkouší se infračervenou absorpční spektrofotometrií (2.2.24), srovnáním s referenčním spektrem *Ph. Eur.* 3,4,6-tri-O-acetyl-D-glukalu.

Teplota tání (2.2.14). 53 °C až 55 °C.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý nebo slabě žlutý roztok.

Fluor-18 má poločas přeměny 109,8 min a emituje pozitrony o maximální energii 0,633 MeV s následným anihilačním zářením gama o energii 0,511 MeV.

Zkoušky totožnosti

- A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Gama fotony mají energii 0,511 MeV a v závislosti na geometrii měření může být pozorován pík o energii 1,022 MeV.
- B. Zkouška Radionuklidová čistota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce (a) Radiochemická čistota, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku má přibližně stejný retenční čas jako hlavní pík na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 4,5 až 8,5; měří se zkoušený přípravek.

Chemická čistota. *Jednotlivé zkoušky na chemickou čistotu se mohou vynechat, jestliže zmiňované substance nejsou používány nebo nemohou v procesu výroby vznikat.*

(a) 2-Fluor-2-deoxy-D-glukosa a 2-chlor-2-deoxy-D-glukosa. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok (a). 10 mg glukosy R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg 2-fluor-2-deoxy-D-glukosy R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na objem V, kde V je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Porovnávací roztok (c). 1,0 mg 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 2,0 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na objem V, kde V je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *anexem pro chromatografii silně zásaditým R* (10 μm),
- mobilní fáze, kterou je *hydroxid sodný 0,1 mol/l RS* chráněný před atmosférickým oxidem uhličitým, s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity pro zkoušení radiochemické čistoty,
- detektoru vhodného pro cukry v požadovaném koncentračním rozsahu,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje mezi 20 °C a 30 °C.

Kolona se promývá mobilní fází do ustálení rovnováhy.

Nastříknou se odděleně porovnávací roztoky (a), (b) a (c). Jestliže validační studie vyloučí vznik 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy, nastříknou se odděleně porovnávací roztoky (a) a (b). Chromatogram se zaznamená po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času D-glukosy, 2-fluor-2-deoxy-D-glukosy, a když je požadováno, i 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy.

Nastříkne se zkoušený roztok. Chromatogram získaný pomocí detektoru pro cukry vykazuje hlavní pík odpovídající D-glukose (zkoušený roztok z nukleofilní cesty) nebo 2-fluor-2-deoxy-D-glukose (zkoušený roztok z elektrofilní cesty). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je 2-chlor-2-deoxy-D-glukosa eluována po 2-fluor-2-deoxy-D-glukose, avšak jejich píky nemohou být úplně rozděleny. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plochy píků odpovídajících 2-fluor-2-deoxy-D-glukose a 2-chlor-2-deoxy-D-glukose nejsou větší než plochy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b), anebo porovnávacího roztoku (c) (10 mg 2-fluor-2-deoxy-D-glukosy/V a 0,5 mg 2-chlor-2-deoxy-D-glukosy/V).

5016 *Fludeoxyglucosi [¹⁸F]solutio iniectabilis*

(b) Aminopolyether. Zkouška je prováděna pouze v základním roztoku před přidáním chloridu sodného při výrobě a není určena pro konečný přípravek, tj. pro injekci. Provede se chromatografie na tenké vrstvě (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok. 0,110 g aminopolyetheru R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

0,2 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na objem V , kde V je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Na vrstvu se odděleně nanese 2 μ l zkoušeného roztoku a 2 μ l porovnávacího roztoku. Vyvýjí se směs objemových dílů amoniaku 17,5% RS a methanolu R (1 + 9) po dráze asi 8 cm. Vrstva se suší 15 min na vzduchu. Poté se vystaví na nejméně 10 min působení par jodu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrna odpovídající aminopolyetheru není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (2,2 mg/ V).

(c) Tetraalkylamoniové soli. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok. 2,1 ml tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l RS se zředí vodou R na 20 ml.

1 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na objem V , kde V je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μ m),
- mobilní fáze, která je směs objemových dílů roztoku kyseliny toluensulfonové R (0,95 g/l) a acetonitrilu R (25 + 75), s průtokovou rychlostí 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky.

Teplota kolony se udržuje při konstantní teplotě mezi 20 °C a 30 °C.

Kolona se promývá mobilní fází do ustálení rovnováhy.

Nastříkne se porovnávací roztok. Zaznamená se chromatogram po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času tetrabutylamoniových iontů.

Nastříkne se zkoušený roztok. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího tetrabutylamoniovým iontům není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (2,75 mg/ V).

(d) Výsledná přeměna původního činidla 4-(4-methylpiperidino)pyridinu. Provede se spektrofotometrie v ultrafialové oblasti (2.2.25).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok. 20 mg 4-(4-methylpiperidino)pyridinu se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na objem V , kde V je maximální doporučená dávka v mililitrech.

Měří se absorbance zkoušeného a porovnávacího roztoku v maximu při 263 nm. Absorbance zkoušeného roztoku není větší než absorbance porovnávacího roztoku (0,02 mg/ V).

(e) Zbytková rozpouštědla (2.4.24). Koncentrace acetonitrilu nepřevyšuje 4,1 mg/ V , kde V je doporučená maximální dávka v mililitrech. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Měření poločasu přeměny je popsáno v článku *Radiofarmaca* a je 105 min až 115 min. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Radiochemická čistota.

(a) Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce (a) Chemická čistota.

Jestliže jsou chromatogramy získané pomocí radioaktivního detektoru zaznamenány za předepsaných podmínek, hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku má stejný retenční čas jako pík na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) získaného pomocí detektoru cukrů. Retenční časy pro 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-mannosu a ^{18}F fluoridu jsou přibližně 90 % a pro 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-glukosu přibližně 50 %. Ostatní píky na chromatogramu mohou patřit různě acetylovaným derivátům 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-glukosy.

Vypočítá se obsah ^{18}F fluorovaných látek v procentech z plochy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku. Součet radioaktivity odpovídající 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-glukose a 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-mannose v procentech je nejméně 95 % z celkové radioaktivity, přičemž 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-mannosová frakce nepřesahuje 10 % z celkové radioaktivity.

Metoda může podcenit nebo opominout nehydrolyzovanou nebo částečně hydrolyzovanou 2- ^{18}F fluor-2-deoxytetraacetyl-D-glukosu, protože tyto meziproducty mohou podporovat žádoucí hydrolyzu konečného produktu v chromatografických podmínkách.

(b) Proveďte se chromatografie na tenké vrstvě (2.2.27) způsobem popsaným v článku *Radiofarmaca* za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Na vrstvu se nanese 2 μl až 10 μl . Vyvíjí se směsí objemových dílů vody R a acetonitrilu R (5 + 95) po dráze 8 cm. Vrstva se suší 15 min na vzduchu a vhodným detektorem se stanoví rozdělení radioaktivity. Nejméně 95 % z celkové radioaktivity je ve skvrně odpovídající 2-fluor-2-deoxy-D-glukose (R_F asi 0,45).

Možné nečistoty jsou ^{18}F fluorid (R_F 0,0), částečně acetylované 2- ^{18}F fluor-2-deoxy-D-glukosové deriváty (R_F asi 0,8 až 0,95).

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 175/ V m.j. endotoxinu v mililitru, kde V je doporučená maximální dávka v mililitrech. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem popsaným v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení se standardizovaným roztokem fluoru-18 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku. Standardizované roztoky fluoru-18 dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita.

Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

Označování

Viz článek *Radiofarmaca*. Průvodní informace popisuje podrobně syntetickou cestu přípravy. Označení na obalu udává maximální doporučenou dávku v mililitrech.

5018 Indii [¹¹¹In] chloridi solutio

Indii [¹¹¹In] chloridi solutio

Roztok s chloridem inditým [¹¹¹In]



1998

Je to sterilní roztok india-111 ve formě vodného roztoku kyseliny chlorovodíkové bez přísad. Indium-111 je radioaktivní izotop india, který může být připraven ozařováním kadmia protony o vhodné energii. Roztok obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity india-111 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Na jiné radionuklidy, než je indium-111, připadá nejvýše 0,25 % z celkové radioaktivity. Nejméně 95,0 % radioaktivity odpovídá indiu-111 ve formě iontů india(III). Je zvolen takový způsob přípravy, že se nepřidává žádný nosič a měrná aktivita není menší než 1,85 GBq india-111 v mikrogramu india.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý roztok.

Indium-111 má poločas přeměny 2,8 dne a emituje záření gama a rtg-záření.

Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška se provede po dostatečně dlouhé době, aby se neuplatňovaly krátkodobé radionuklidy, jako je indium-110m. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg-záření způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku india-111, kromě rozdílů způsobených přítomností india-114m. Provede se přímé porovnání spekter nebo se použije zařízení kalibrované pomocí referenčního roztoku india-114m. Referenční roztok india-111 a referenční roztok india-114m dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita. Nejvíce zastoupené fotony gama india-111 mají energie 0,171 MeV a 0,245 MeV.
- B. Ke 100 µl dusičnanu stříbrného RS2 se přidá 50 µl roztoku; vznikne bílá sraženina.
- C. Zkouška Hodnota pH, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- D. Hodnotí se chromatogram získaný ve zkoušce Radiochemická čistota, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna má hodnotu R_F 0,5 až 0,8.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 1,0 až 2,0; měří se zkoušený přípravek.

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg-záření způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku india-111, kromě rozdílů způsobených přítomností india-114m.

Indium-114m. Zkouška se provede po dostatečně dlouhé době, aby se neuplatňovaly krátkodobé radionuklidy, jako je indium-110m. Zaznamená se spektrum záření gama pomocí vhodného detektoru s olověnou clonou o tloušťce 6 mm umístěnou mezi vzorek o radioaktivitě asi 30 MBq a detektor. Odezva v oblasti odpovídající fotonům india-114m o energiích 0,558 MeV a 0,725 MeV nepřevyšuje odezvu získanou za použití referenčního roztoku india-114m (0,25 %) o radioaktivitě 75 kBq měřeného za stejných podmínek; všechna měření jsou vztažena k datu a hodině podání. Referenční roztoky india-111 a india-114m dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita.

Radiochemická čistota. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27), jak je uvedeno v článku *Radiofarmaca*, za použití silikagelu na vrstvě skleněných vláken.

Na vrstvu se nanese 5 μl zkoušeného roztoku a ihned se vyvíjí roztokem *chloridu sodného R* (9,0 g/l), jehož pH bylo upraveno na hodnotu ($2,3 \pm 0,05$) *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*, po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudě studeného vzduchu a stanoví se rozdělení radioaktivity pomocí vhodného detektoru. Chlorid inditý [^{111}In] má hodnotu R_F 0,5 až 0,8. Nejméně 95 % celkové radioaktivity chromatogramu odpovídá chloridu inditému [^{111}In].

Kadmium. Nejvýše 0,40 $\mu\text{g/ml}$, stanoví se atomovou absorpční spektrometrií za použití elektrotermického atomizátoru (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 0,05 ml přípravku se zředí vhodným objemem vhodné koncentrace *kyseliny chlorovodíkové R*.

Porovnávací roztoky. Připraví se zředěním základního roztoku *kadmia* (1 mg Cd/ml) stejnou koncentrací *kyseliny chlorovodíkové R* jako zkoušený roztok.

Měří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

Měď. Nejvýše 0,15 $\mu\text{g/ml}$; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií za použití elektrotermického atomizátoru (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 0,1 ml přípravku se zředí vhodným objemem vhodné koncentrace *kyseliny chlorovodíkové R*.

Porovnávací roztoky. Připraví se zředěním základního roztoku *mědi* (1 mg Cu/ml) stejnou koncentrací *kyseliny chlorovodíkové R* jako zkoušený roztok.

Měří se absorbance při 324,8 nm za použití měděné lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

Železo. Nejvýše 0,60 $\mu\text{g/ml}$, stanoví se atomovou absorpční spektrometrií za použití elektrotermického atomizátoru (2.2.23, *Metoda I*).

Zkoušený roztok. 0,1 ml přípravku se zředí vhodným objemem vhodné koncentrace *kyseliny chlorovodíkové R*.

Porovnávací roztoky. Připraví se zředěním základního roztoku *železa* (1 mg Fe/ml) stejnou koncentrací *kyseliny chlorovodíkové R* jako zkoušený roztok.

Měří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek může být používán před dokončením zkoušky.

Stanovení radioaktivity

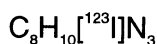
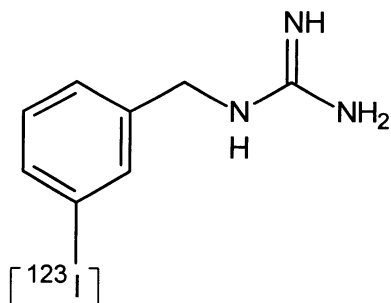
Změří se radioaktivita postupem popsaným v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem india-111 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

5020 *Iobenguani^[123I] solutio iniectionabilis***Iobenguani^[123I] solutio iniectionabilis**Injekce s iobenguanem^[123I]

Je to sterilní roztok 1-(3-[¹²³I]jodbenzyl)guanidinu nebo jeho soli prostý bakteriálních endotoxinů. Může obsahovat vhodný tlumivý roztok. Může také obsahovat zbytky použitého katalyzátoru, jako je měď v iontové formě, vhodnou stabilizační přísadu, jako je kyselina askorbová, a protimikrobní přísady. Jod-123 je radioaktivní izotop jodu, který může být získán ozařováním xenonu, obohaceného xenonem-124 (nejméně 98 %), protony a následnou přeměnou vzniklého cesia-123 přes xenon-123 na jod-123. Přípravek obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity jodu-123 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 95 % radioaktivity odpovídá jodu-123 ve formě iobenguanu. Měrná aktivita není menší než 10 GBq jodu-123 v gramu báze iobenguanu. Na jiné radionuklidy než jod-123 připadá nejvýše 0,35 % z celkové radioaktivity.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý nebo slabě žlutý roztok.

Jod-123 má poločas přeměny 13,2 h a emituje záření gama a rtg-záření.

Zkoušky totožnosti

- A.** Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg-záření způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku jodu-123, kromě rozdílů způsobených přítomností jodu-125, telluru-121 a jiných radionuklidových nečistot. Nejvíce zastoupené fotony gama jodu-123 mají energii 0,159 MeV. Jod-125 má poločas přeměny 59,4 dne a emituje rtg-záření o energii 0,027 MeV a fotony o energii 0,035 MeV. Tellur-121 má poločas přeměny 19,2 dne a nejvíce zastoupené fotony mají energie 0,507 MeV a 0,573 MeV. Referenční roztoky jodu-123, jodu-125 a telluru-121 dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita.
- B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Radiochemická čistota. Rozdělení radioaktivity je zároveň zkouškou totožnosti přípravku.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 8,0, měří se zkoušený přípravek.

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Stanoví se relativní obsah jodu-125, telluru-121 a jiných přítomných radionuklidových nečistot. Nejsou detegovány jiné radionuklidy s delším poločasem přeměny, než má jod-125. Pro stanovení jodu-125, telluru-121 a jiných radionuklidových nečistot se zkoušený roztok nechá stát po dostatečně dlouhou dobu, aby radioaktivita jodu-123 klesla na hodnotu vhodnou pro stanovení těchto nečistot. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg-záření přeměněných radionuklidů způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Na jiné radionuklidy než jod-123 připadá nejvýše 0,35 % z celkové radioaktivity. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Radiochemická čistota. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok (a). 0,100 g *jodidu sodného R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg *jobenguaniumsulfatu CRL* se rozpustí v 50 ml mobilní fáze a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dusičnanu amonného R* (80 g/l), *amoniaku zředěného RS2* a *methanolu R* (1 + 2 + 27) a jejíž průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity,
- spektrofotometru s průtokovým uspořádáním při 254 nm,
- injektorové smyčky, 10 μl.

Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztoky. Nejméně 95 % radioaktivity chromatogramu odpovídá píku jobenguanu. Nejvýše 4 % radioaktivity odpovídají píku jodidu a nejvýše 1 % radioaktivity se nachází v ostatních píkách.

Měrná aktivita. Vypočítá se z údajů získaných ve zkoušce Radiochemická čistota. Obsah jobenguaniumsulfatu se stanoví z ploch píků odpovídajících jobenguanu na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Obsah báze jobenguanu se vypočítá vynásobením získaného výsledku faktorem 0,85.

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 175/*V* m.j. endotoxinu v mililitru, kde *V* je doporučená maximální dávka v mililitrech.

Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem popsáním v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem jodu-123 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

5022 *Iobenguani^[131I] solutio iniectionabilis ad usum diagnosticum***Uchovávání**

Chráněn před světlem za podmínek uvedených v článku *Radiofarmaca*.

Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

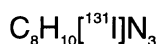
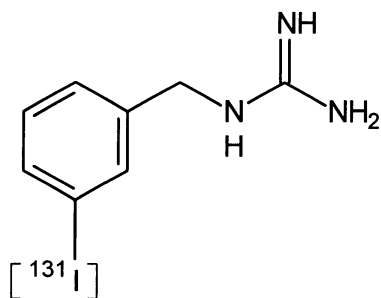
V označení na obalu se uvede měrná aktivita vyjádřená v GBq jodu-123 na gram báze jobengu-
guanu.

Iobenguani^[131I] solutio iniectionabilis ad usum diagnosticum



1999

Injekce s jobenguanem^[131I] pro diagnostické použití



Je to sterilní roztok 1-(3-[¹³¹I]jodbenzyl)guanidinu nebo jeho solí prostý bakteriálních endotoxinů. Může obsahovat vhodný tlumivý roztok. Může také obsahovat zbytky použitého katalyzátoru, jako je měď v iontové formě, vhodnou stabilizační přísadu, jako je kyselina askorbová, a protimikrobní přísady. Jod-131 je radioaktivní izotop jodu, který může být získán ozařováním telluru neutrony nebo extrakcí ze štěpných produktů uranu. Přípravek obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity jodu-131 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 94 % radioaktivity odpovídá jodu-131 ve formě jobengu-
guanu. Měrná aktivita není menší než 20 GBq jodu-131 v gramu báze jobengu-
guanu.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý nebo slabě žlutý roztok.

Jod-131 má poločas přeměny 8,04 dne a emituje záření beta a záření gama.

Zkoušky totožnosti

- A.** Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku jodu-131. Referenční roztok jodu-131 dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita. Nejvíce zastoupené fotony gama jodu-131 mají energii 0,365 MeV.
- B.** Hodnotí se chromatogram získaný ve zkoušce Radiochemická čistota. Rozdělení radioaktivity je zároveň zkouškou totožnosti přípravku.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 8,0, měří se zkoušený přípravek

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku jodu-131. Stanoví se relativní obsah jodu-131, jodu-133, jodu-135 a ostatních radionuklidových nečistot. Jod-133 má poločas přeměny 20,8 h a nejvíce zastoupené fotony gama mají energie 0,530 MeV a 0,875 MeV. Jod-135 má poločas přeměny 6,55 h a nejvíce zastoupené fotony gama mají energie 0,527 MeV, 1,132 MeV a 1,260 MeV. Na jod-131 připadá nejméně 99,9 % z celkové radioaktivity.

Radiochemická čistota. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok (a). 0,100 g jodidu sodného R se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg jobenguaniumsulfatu CRL se rozpustí v 50 ml mobilní fáze a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dusičnanu amonného R* (80 g/l), *amoniaku zředěného RS2* a *methanolu R* (1 + 2 + 27) a jejíž průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity,
- spektrofotometru s průtokovým uspořádáním při 254 nm,
- injektorové smyčky, 10 μl.

Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztoky. Nejméně 94 % radioaktivity chromatogramu odpovídá píku jobenguanu. Nejvýše 5 % radioaktivity odpovídá píku jodidu a nejvýše 1 % radioaktivity se nachází v ostatních pikách.

Měrná aktivita. Vypočítá se z údajů získaných ve zkoušce Radiochemická čistota. Obsah jobenguaniumsulfatu se stanoví z ploch píků odpovídajících jobenguanu na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Obsah báze jobenguanu se vypočítá vynásobením získaného výsledku faktorem 0,85.

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 175/V m.j. endotoxinu v mililitru, kde V je doporučená maximální dávka v mililitrech.

5024 *Iobenguani^[131I] solutio iniectionabilis ad usum therapeuticum***Stanovení radioaktivity**

Změří se radioaktivita postupem popsaným v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem jodu-131 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

Uchovávání

Chráněn před světlem za podmínek uvedených v článku *Radiofarmaca*.

Označování

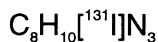
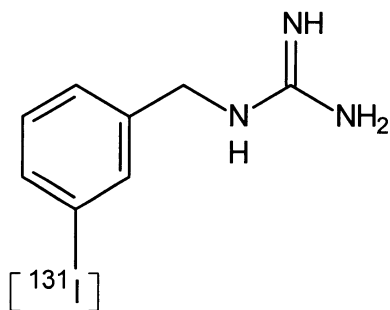
Viz článek *Radiofarmaca*.

V označení na obalu se uvede měrná aktivita vyjádřená v GBq jodu-131 na gram báze jobenguanu.

Iobenguani^[131I] solutio iniectionabilis ad usum therapeuticum

1999

Injekce s jobenguanem^[131I] pro terapeutické použití



Je to sterilní roztok 1-(3-^[131I]jodbenzyl)guanidinu nebo jeho solí prostý bakteriálních endotoxinů. Může obsahovat vhodný tlumivý roztok. Může také obsahovat zbytky použitého katalyzátoru, jako je měď v iontové formě, vhodnou stabilizační přísadu, jako je kyselina askorbová, a protimikrobní přísady. Jod-131 je radioaktivní izotop jodu, který může být získán ozařováním telluru neutrony nebo extrakcí ze štěpných produktů uranu. Přípravek obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity jodu-131 k referenčnímu datu a hodině uvedeným v označení. Nejméně 92 % radioaktivity odpovídá jodu-131 ve formě jobenguanu. Měrná aktivita není menší než 400 GBq jodu-131 v gramu báze jobenguanu.

Vlastnosti

Čirý bezbarvý nebo slabě žlutý roztok.

Jod-131 má poločas přeměny 8,04 dne a emituje záření beta a záření gama.

Zkoušky totožnosti

- A. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku jodu-131. Referenční roztok jodu-131 dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita. Nejvíce zastoupené fotony gama jodu-131 mají energii 0,365 MeV.
- B. Hodnotí se chromatogram získaný ve zkoušce Radiochemická čistota. Rozdělení radioaktivity je zároveň zkouškou totožnosti přípravku.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 3,5 až 8,0, měří se zkoušený přípravek.

Radionuklidová čistota. Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku jodu-131. Stanoví se relativní obsah jodu-131, jodu-133, jodu-135 a ostatních radionuklidových nečistot. Jod-133 má poločas přeměny 20,8 h a nejvíce zastoupené fotony gama mají energie 0,530 MeV a 0,875 MeV. Jod-135 má poločas přeměny 6,55 h a nejvíce zastoupené fotony gama mají energie 0,527 MeV, 1,132 MeV a 1,260 MeV. Na jod-131 připadá nejméně 99,9 % z celkové radioaktivity.

Radiochemická čistota. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok (a). 0,100 g jodidu sodného R se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 20,0 mg jobenguaniumsulfatu CRL se rozpustí v 50 ml mobilní fáze a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dusičnanu amonného R* (80 g/l), *amoniaku zředěného RS2* a *methanolu R* (1 + 2 + 27) a jejíž průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- vhodného detektoru radioaktivity,
- spektrofotometru s průtokovým uspořádáním při 254 nm,
- injektorové smyčky, 10 μl.

Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztoky. Nejméně 92 % radioaktivity chromatogramu odpovídá píku jobenguanu. Nejvýše 7 % radioaktivity odpovídá píku jodidu a nejvýše 1 % radioaktivity se nachází v ostatních pikách.

Měrná aktivita. Vypočítá se z údajů získaných ve zkoušce Radiochemická čistota. Obsah jobenguaniumsulfatu se stanoví z ploch píků odpovídajících jobenguanu na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (b). Obsah báze jobenguanu se vypočítá vynásobením získaného výsledku faktorem 0,85.

5026 *Technetii^[99mTc] mertiatidi solutio iniectionabilis*

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek může být používán před dokončením zkoušky.

Bakteriální endotoxiny (2.6.14). Nejvýše 175/*V* m.j. endotoxinu v mililitru, kde *V* je doporučená maximální dávka v mililitrech.

Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem popsáním v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem jodu-131 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

Uchovávání

Chráněn před světlem za podmínek uvedených v článku *Radiofarmaca*.

Označování

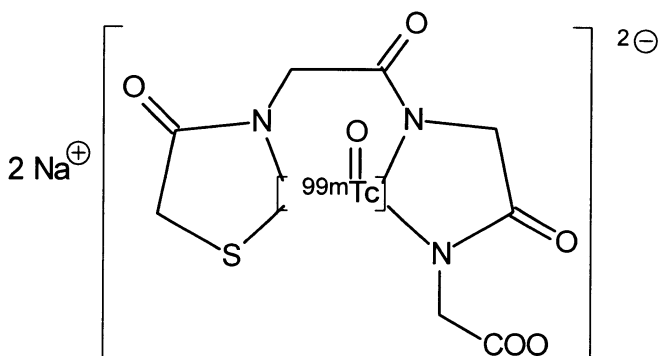
Viz článek *Radiofarmaca*.

V označení na obalu se uvede měrná aktivita vyjádřená v GBq jodu-131 na gram báze jobenguanu.

Technetii^[99mTc] mertiatidi solutio iniectionabilis

Injekce s mertiatidem značeným techneciem^[99mTc]

1999



Je to sterilní roztok, který může být připraven buď zahřátím směsi obsahující *S*-benzoyl-merkaptacetyltriglycin (betiatid), slabé chelatační činidlo, jako je vínan, cínatou sůl a injekci ^[99mTc]technecistanu sodného (štěpný nebo neštěpný produkt), nebo smícháním roztoků merkaptacetyltriglycinu (mertiatid), cínaté soli a injekce ^[99mTc]technecistanu sodného (štěpný nebo neštěpný produkt) při zásaditém pH. Může obsahovat stabilizační přísady a tlumivý roztok. Injekce obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity technecia-99m k referenčnímu datu

a hodině uvedeným v označení. Nejméně 94 % radioaktivity připadá na komplex mertiatidu s techneciem [^{99m}Tc].

Vlastnosti

Čirý bezbarvý roztok.

Technecium-99m má poločas přeměny 6,02 h a emituje záření gama.

Zkoušky totožnosti

- A.** Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku technecia-99m. Proveďte se přímé porovnání spekter nebo se použije zařízení kalibrované pomocí referenčního roztoku technecia-99m. Referenční roztoky technecia-99m dodávají laboratoře, které uznala oprávněná autorita. Nejvíce zastoupené fotony gama technecia-99m mají energii 0,140 MeV.
- B.** Hodnotí se chromatogram získaný ve zkoušce b) Radiochemická čistota. Hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku má přibližně stejný retenční čas jako hlavní pík porovnávacího roztoku.

Zkoušky na čistotu

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 7,5, měří se zkoušený přípravek.

Radiochemická čistota

a) Proveďte se vzestupná papírová chromatografie (2.2.26), jak je uvedeno v článku *Radiofarmaca*, za použití vhodného papíru jako stacionární fáze.

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Na pruh chromatografického papíru se nanese 2 µl zkoušeného roztoku. Využívá se ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (40 + 60). Papír se usuší a změřá se rozložení radioaktivity vhodným detektorem. Na startu ($R_F = 0,0$ až $0,1$) není nalezeno více než 2,0 % celkové radioaktivity.

b) Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. Zkoušený přípravek.

Porovnávací roztok. 5 mg *S-benzoylmerkaptoacetyltriglycinu CRL* se rozpustí v 5 ml *vody R* zahříváním na vodní lázni. K 1 ml tohoto roztoku v uzavřené lahvičce naplněné *dusíkem R* se přidá 0,5 ml roztoku *vínanu draselno-sodného R* (40 g/l), 25 µl roztoku *chloridu cínatého R* (4 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 0,05 mol/l RS* a 370 MBq až 740 MBq injekce (^{99m}Tc)technecistanu sodného (štěpný nebo neštěpný produkt) v objemu nepřevyšujícím 3 ml. Směs se zahřívá na vodní lázni po dobu 10 min a ochladí se na pokojovou teplotu.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem okta-decylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze při průtokové rychlosti 1,0 ml/min:

5028 *Technetii^{99m}Tc] mertiatidi solutio iniectionabilis*

- *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *lihu 96% R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (1,36 g/l) (7 + 93), jejíž pH bylo upraveno na hodnotu 6,0 pomocí *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*,
- *mobilní fáze B* - směs objemových dílů *vody R* a objemových dílů *methanolu R* (10 + 90),
- vhodného detektoru radioaktivity,
- injektorové smyčky, 20 µl.

Kolona se ustaluje promýváním mobilní fázi A po dobu 20 min. Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok. 10 min po každém nástřiku se přepne na mobilní fázi B a chromatogram se zaznamenává po dobu 15 min.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže hlavní pík na chromatogramu zkoušeného roztoku má přibližně stejný retenční čas jako hlavní pík na chromatogramu porovnávacího roztoku. Součet ploch píků předcházejících hlavnímu píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (odpovídající hydrofilním nečistotám, zahrnující [^{99m}Tc]technecistan) není větší než 3,0 % součtu ploch všech píků. Součet píků následujících za hlavním píkem (odpovídající lipofilním nečistotám) není větší než 4,0 % součtu ploch všech píků.

Nejméně 94 % radioaktivity odpovídá mertiatidu značeného techneciem [^{99m}Tc].

Sterilita. Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*. Přípravek se může použít před dokončením zkoušky.

Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem uvedeným v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem technecia-99m nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.

Obsah

Použité zkratky:

1998	článek Suppl. Ph.Eur.1998
1999	článek Suppl. Ph.Eur.1999
N	národní článek
R98	revize 1998
R99	revize 1999
RN	revize národního článku
RR98	rychlá revize 1998
RR99	rychlá revize 1999

	Změny Českého lékopisu 1997	4875
2	Zkušební metody	4897
	2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody	4897
RR99	2.2.6 Index lomu	4897
R99	2.2.27 Tenkovrstvá chromatografie	4897
1998	2.2.41 Církulární dichroismus	4900
	2.3 Zkoušky totožnosti	4903
R99	2.3.2 Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií	4903
	2.4 Limitní zkoušky	4904
R99	2.4.8 Těžké kovy	4904
R99	2.4.22 Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií	4904
R99	2.4.24 Totožnost a kontrola zbytkových rozpouštědel	4906
1999	2.4.26 N,N-Dimethylanilin	4914
	2.5 Stanovení obsahu	4915
R99	2.5.5 Číslo peroxidové	4915
1998	2.5.31 Ribosa v polysacharidových vakcínách	4916
1999	2.5.32 Coulometrická titrace, mikrometoda	4917
	2.6 Biologické zkoušky	4919
RR98	2.6.1 Zkouška na sterilitu	4919
R99	2.6.2 Mykobakterie	4926
R99	2.6.7 Zkouška na mykoplazmata	4927
R99	2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (celkový počet živých mikroorganismů)	4932
R99	2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (zkoušky na specifické mikroorganismy)	4937
R99	2.6.14 Bakteriální endotoxiny	4946
R99	2.6.16 Důkaz cizích antigenů v humánních virových vakcínách	4960
1999	2.6.21 Techniky amplifikace nukleových kyselin	4962

II *Obsah*

2.7	Metody stanovení účinnosti	4966
R99	2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik	4966
1999	2.7.10 Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru VII	4979
1998	2.7.11 Stanovení účinnosti lidského koagulačního faktoru IX	4981
1998	2.7.12 Stanovení účinnosti heparinu v koncentrátech koagulačních faktorů ..	4982
2.9	Metody farmaceutické technologie	4983
R99	2.9.18 Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic	4983
R99	2.9.20 Hodnocení kontaminace viditelnými částicemi	4994
1998	2.9.22 Stanovení doby deformace lipofilních čípků	4995
1999	2.9.23 Pyknometrické stanovení hustoty tuhých látek	4996
1999	2.9.24 Pevnost čípků a vaginálních kuliček	4998
3	Obalový materiál a obaly	5001
3.1	Materiály používané pro výrobu obalů	5001
1999	3.1.10 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na neinjekční vodné roztoky	5001
1999	3.1.11 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly pro suché lékové formy k perorálnímu podání	5004
4	Zkoumadla	5009
4.1	Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky	5010
	4.1.1 Zkoumadla	5010
	4.1.2 Základní roztoky pro limitní stanovení nečistot	5245
	4.1.3 Tlumivé roztoky	5254
4.2	Odměrná analýza	5265
	4.2.1 Základní látky pro odměrné roztoky	5265
	4.2.2 Odměrné roztoky	5266
N	Seznam referenčních látek použitých v národních člancích	5277
5	Všeobecné dodatky	5279
5.4	Zbytková rozpouštědla	5279
5.5	Tabulka závislosti hustoty na obsahu ethanolu	5293
N	Tabulka I: Omamné a psychotropní látky	5304
N	Tabulka II: Venena	5307
N	Tabulka III: Separanda	5308
N	Tabulka IV: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro dospělé	5310
N	Tabulka V: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro děti	5329

N	Tabulka VI: Doporučené dávky některých officinálních léčiv používaných u zvířat	5335
6	Speciální část	5339
6.1	Léčivé a pomocné látky	5339
R99	Absinthii herba	5339
1998	Aceclofenacum	5341
1998	Acesulfamum kalicum	5344
R99	Acetonum	5347
R99	Acidum alginicum	5349
R99	Acidum amidotrizoicum dihydricum	5350
R99	Acidum ascorbicum	5352
RR99	Acidum asparticum	5354
1998	Acidum chenodeoxycholicum	5379
RR99	Acidum glutamicum	5359
R99	Acidum iopanoicum	5362
R99	Acidum iotalamicum	5364
1999	Acidum mefenamicum	5366
R99	Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1:1 dispersio 30%	5369
R99	Acidum methacrylicum et ethylis acrylas polymerisatum 1:1	5370
R99	Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1:1	5372
R99	Acidum methacrylicum et methylis methacrylas polymerisatum 1:2	5373
1999	Acidum oxolinicum	5374
RR99	Acidum undecylenicum	5377
1998	Acidum ursodeoxycholicum	5379
1999	Acidum valproicum	5381
RR99	Alaninum	5384
R99	Alcohol cetylstearylicus emulsificans A	5386
R99	Alcohol cetylstearylicus emulsificans B	5389
R99	Alcohol isopropylicus	5392
1999	Alcuronii chloridum	5395
1999	Alfacalcidolum	5398
1999	Alfuzosini hydrochloridum	5401
1999	Allantoinum	5404
1999	Allii sativi bulbis pulveratum	5406
1999	Alteplasmum ad iniectabile	5408
1999	Amikacini disulfas	5416
1999	Amikacinum	5420
1999	Aminoglutethimidum	5423
RR99	Amitriptylini hydrochloridum	5427
1999	Amphotericinum B	5431
1999	Amylum pregelificatum	5433
1998	Arachidis oleum hydrogenatum	5434
N	Argenti diacetyltannas albuminatus	5436
RR99	Arginini hydrochloridum	5438
RR99	Argininum	5440

IV *Obsah*

1998	Aurantii amari floris etheroleum	5442
R99	Bacampicillini hydrochloridum	5445
1999	Bambuteroli hydrochloridum	5450
1998	Benperidolum	5454
1998	Benserazidi hydrochloridum	5458
R99	Benzalkonii chloridi solutio	5461
R99	Benzalkonii chloridum	5462
R99	Biotinum	5464
1998	Bromperidolum	5467
1998	Bufexamacum	5471
1998	Buprenorphini hydrochloridum	5473
1998	Buprenorphinum	5476
RN	Butamirati dihydrogenocitras	5478
R99	Butylparabenum	5480
1999	Calcifediolum monohydricum	5483
1998	Calcii ascorbas	5486
R99	Calcii folinas hydricus	5488
RR99	Calcii hydroxidum	5493
1999	Calcii laevulinas dihydricus	5495
1999	Calendulae flos	5497
1998	Carbasalatum calcicum	5499
R99	Carbenicillinum natricum	5501
N	Carbethopendecinii bromidum	5507
RR99	Carbo activatus	5509
1999	Carbomera	5511
1998	Carmellosum natricum substitutum humile	5514
1998	Carmustinum	5516
1999	Cefiximum trihydricum	5517
1999	Cefuroximum axetili	5521
N	Celiprololi hydrochloridum	5525
RR99	Cellacefatum	5529
R99	Centaurii herba	5530
R99	Cera alba	5533
R99	Cera flava	5534
N	Cetyl palmitas	5536
R99	Cetylpyridinii chloridum monohydricum	5537
R99	Chlorocresolum	5539
R99	Chlorpropamidum	5540
RR99	Chlorprothixeni hydrochloridum	5543
R99	Cholesterolum	5546
1999	Ciclopiroxum olaminum	5549
N	Cinnamomi etheroleum	5553
N	Citronellae etheroleum	5554
1999	Clebopridi hydrogenomalas	5556
1998	Clemastini hydrogenofumaras	5559
1998	Clozapinum	5563
R99	Copovidonum	5565

1999	Coriandri fructus	5567
1998	Crataegi fructus	5569
1998	Crotamitonum	5571
1998	Cyamopsidis seminis pulvis	5574
R99	Cyclizini hydrochloridum	5575
R99	Cyproteroni acetat	5578
RR99	Cysteini hydrochloridum monohydricum	5580
RR99	Cystinum	5583
1998	Dalteparinum natricum	5585
R99	Daunorubicini hydrochloridum	5587
1999	Decylis oleas	5593
1999	Deptropini dihydrogenocitras	5594
1999	Dexchlorpheniraminii hydrogenomaleas	5597
1998	Dicycloverini hydrochloridum	5601
1998	Diethylenglycoli monoethylicum etherum	5603
R99	Digitoxinum	5605
1999	Dihydralazini sulfas dihemihydricus	5607
R99	Dimeticonum	5611
1999	Dinoprostionum	5612
1999	Dinoprostum trometamoli	5617
1998	Dipyridamolum	5620
1999	Dirithromycinum	5623
1999	Dobutamini hydrochloridum	5626
R99	Dosulepini hydrochloridum	5630
1998	Doxaprami hydrochloridum monohydricum	5633
N	Doxazosini mesilas	5636
R99	Enoxaparinum natricum	5640
1999	Erythropoietini solutio concentrata	5642
1999	Estriolum	5650
1998	Etamsylatum	5654
1999	Ethanolum 96%	5656
N	Ethanolum 85%	5660
N	Ethanolum 60%	5661
1999	Ethanolum anhydricum	5662
N	Ethanolum benzino denaturatum	5666
1999	Ethylis oleas	5668
R99	Ethylparabenum	5670
1999	Etilefrini hydrochloridum	5672
R99	Etoposidum	5675
1999	Eucalypti folium	5685
R99	Eugenolum	5687
1999	Fenbendazolum	5691
1998	Fenbufenum	5693
1999	Fenofibratum	5696
1998	Fentanylum	5700
1998	Fenticonazoli nitras	5703
1999	Flecainidi acetat	5707

VI *Obsah*

1999	Flumazenilum	5711
1999	Flumetasoni pivalas	5714
1998	Fluocortoloni pivalas	5717
R99	Foeniculi amari fructus	5720
R99	Foeniculi dulcis fructus	5722
1999	Foenugraeci semen	5724
1999	Fosfomycinum calcicum monohydricum	5725
1999	Fosfomycinum dinatricum	5728
1998	Galactosum	5731
R99	Gallamini triethiodidum	5732
1999	Glucosum liquidum	5737
1999	Glyceroli trinitratis solutio	5739
1999	Glyceromacrogoli caprylocapras	5742
1999	Glyceromacrogoli lauras	5744
1999	Glyceromacrogoli linoleas	5746
1999	Glyceromacrogoli oleas	5748
1999	Glyceromacrogoli stearas	5750
1998	Gonadorelini acetas	5752
1999	Gossypii oleum hydrogenatum	5755
1999	Graminis radix	5757
1999	Gummiresina myrrha	5758
R99	Halothanum	5760
R99	Helianthi oleum raffinatum	5764
1998	Hexetidinum	5765
RR99	Histidini hydrochloridum monohydricum	5768
RR99	Histidinum	5770
R99	Hydrocortisonum	5772
1998	Hydroxyethylis salicylas	5777
1999	Imipenemum	5780
R99	Insulinum	5783
R99	Insulinum humanum	5787
R99	Iohexolum	5792
R99	Iopamidolum	5799
RR99	Isoleucinum	5803
1999	Isoprenalini hydrochloridum	5805
1999	Itraconazolum	5808
1999	Ivermectinum	5814
1999	Jecoris aselli oleum (typus A)	5820
1999	Jecoris aselli oleum (typus B)	5828
R98	Ketoconazolum	5836
RR99	Lactitolum monohydricum	5840
1998	Lactulosum	5843
R99	Lactulosi solutio	5847
1999	Lavandulae etheroleum	5852
RR99	Leucinum	5854
1999	Levocarnitinum	5856

R99	Lorazepamum	5859
RR99	Lysini hydrochloridum	5861
1999	Macrogoli stearas	5864
1999	Magnesii chloridum tetrahemihydricum	5866
R99	Magnesii chloridum hexahydricum	5868
RN	Magnesii lactas dihydricus	5869
1999	Malathionum	5871
1998	Maltitolum	5873
1998	Maltitolum liquidum	5875
1999	Maprotilini hydrochloridum	5877
1999	Maydis oleum raffinatum	5880
RN	Medosulepini hydrochloridum	5882
R99	Medroxyprogesteroni acetat	5886
1998	Mefloquini hydrochloridum	5891
N	Melissae folium	5894
1998	Mepivacaini hydrochloridum	5896
1999	Metamizolum natricum monohydricum	5900
RR99	Methioninum	5903
R99	Methylparabenum	5905
1999	Methylparabenum natricum	5907
R99	Methylprednisoloni hydrogenosuccinas	5910
R99	Methylprednisolonum	5914
1999	Metixeni hydrochloridum monohydricum	5919
1999	Metoclopramidum	5921
R99	Metrifonatum	5925
R99	Millefolii herba	5929
R99	Minocyclini hydrochloridum	5931
1998	Mitoxantroni dihydrochloridum	5934
1999	Morphini sulfas	5937
1999	Nabumetonum	5940
R99	Nadroparinum calcicum	5943
R99	Natrii alginas	5947
R99	Natrii amidotrizoas	5949
R99	Natrii cetylo-et stearylosulfas	5951
R99	Natrii hydrogenophosphas dodecahydricus	5955
RR99	Natrii valproas	5957
1999	Netilmicini sulfas	5960
1999	Nimodipinum	5963
1998	Nitrendipinum	5965
1999	Norfloxacinum	5968
R99	Nortriptylini hydrochloridum	5970
1998	Omega-3 acidorum esteri ethylici	5973
1999	Omega-3 acidorum triglycerida	5978
R99	Omeprazolom	5984
1998	Orthosiphonis folium	5988
1998	Oxybuprocaini hydrochloridum	5990
1999	Oxybutynini hydrochloridum	5992

VIII *Obsah*

1999	Parnaparinum natricum	5996
1999	Pentaerithrityli tetranitras dilutus	5997
R99	Pentamidini diisetionas	6001
1999	Pheniramini hydrogenomaleas	6004
R99	Phenoxymethylpenicillinum	6007
R99	Phenoxymethylpenicillinum kalicum	6011
RR99	Phenylalaninum	6015
1998	Phenytoinum	6018
R99	Phytomenadionum	6020
1999	Picotamidum monohydricum	6023
R99	Pilocarpini hydrochloridum	6026
R99	Pilocarpini nitras	6029
1998	Pimozidum	6032
1999	Piperacillinum monohydricum	6036
1999	Piperacillinum natricum	6040
1999	Pivmecillinami hydrochloridum	6045
1999	Plantaginis ovatae semen	6048
1999	Plantaginis ovatae testa	6049
RR99	Plasma humanum ad separationem	6051
R99	Prednisolonum	6053
1999	Prilocaini hydrochloridum	6057
1999	Prilocainum	6060
R99	Primulae radix	6064
RR99	Prolinum	6065
1999	Promazini hydrochloridum	6067
1999	Propacetamoli hydrochloridum	6069
R99	Propranololi hydrochloridum	6073
R99	Propylis gallas	6076
R99	Propylparabenum	6078
1999	Propylparabenum natricum	6080
1999	Pseudoephedrini hydrochloridum	6083
1998	Pyridostigmini bromidum	6085
R99	Quinidini sulfas dihydricus	6088
R99	Quinini hydrochloridum dihydricum	6092
R99	Quinini sulfas dihydricus	6095
1999	Ramiprilum	6099
1999	Rapae oleum raffinatum	6107
R99	Roxithromycinum	6108
R99	Salviae officinalis folium	6115
1998	Selegilini hydrochloridum	6116
RR99	Serinum	6119
N	Serpylli herba	6121
N	Silymarinum	6123
1998	Sojae oleum hydrogenatum	6128
R99	Somatropini solutio ad praeparationem	6130
R99	Somatropinum	6134
1998	Stannosi chloridum dihydricum	6138

N	Stearinum	6140
1999	Stearomacrogolum	6141
1999	Sufentanili dihydrogenocitras	6143
R99	Talcum	6148
R99	Terbutalini sulfas	6151
1998	Terconazolum	6154
1999	Testosteronum	6157
N	Thiomersalum	6159
RR99	Threoninum	6162
1999	Thymi etheroleum	6164
1998	Tinzaparinum natricum	6167
R99	Tocoferoli alfa acetas	6168
1998	Tocoferoli alfa DL hydrogenosuccinas	6171
1998	Tocoferoli alfa RRR acetas	6175
1998	Tocoferoli alfa RRR hydrogenosuccinas	6178
R99	Tocoferolum alfa	6182
1998	Tocoferolum alfa RRR	6185
1999	Triamcinolonum	6188
1999	Triflusalum	6190
RR99	Trimethoprimum	6193
1999	Tritici oleum raffinatum	6199
RR99	Tryptophanum	6200
1999	Tylosini tartras ad usum veterinarium	6207
1999	Tylosinum ad usum veterinarium	6210
RR99	Tyrosinum	6213
RR99	Valinum	6216
R99	Verapamili hydrochloridum	6218
1999	Vindesini sulfas	6223
1999	Xanthani gummi	6228
1999	Xylitolum	6230
1998	Xylosum	6234
1998	Zinci acexamas	6236
RR99	Zinci undecylenas	6239
1999	Zolpidemi tartras	6241
6.2	Léčivé přípravky	6244
	6.2.1 Obecné články lékových forem	6244
1998	Gummi manducabile medicinale	6244
R99	Inhalanda	6245
1998	Insertum intraruminale	6252
R99	Praeparata homeopathica	6253
R99	Praeparata insulini iniectabilia	6255
RR99	Producta fermentationis	6260
R99	Rectalia	6263
R98	Vaccina ad usum humanum	6266
	6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky	6270
N	Acaciae mucilago	6270

X *Obsah*

N	Acidi borici aqua ophthalmica	6271
N	Acidi borici oculoguttae	6273
N	Acidi borici rhinoguttae cum ephedrino	6274
N	Acidi borici solutio 3%	6276
N	Acidi borici unguentum 10%	6277
N	Acidi salicylici solutio ethanolica	6278
N	Acidi salicylici unguentum 10%	6279
N	Alcoholis cetylici cremor	6280
N	Alcoholis cetylici unguentum	6281
N	Alcoholum adipis lanæ cremor	6283
N	Alcoholum adipis lanæ unguentum	6284
N	Aluminii acetotartratis cremor	6285
N	Aluminii acetotartratis otoguttae	6286
N	Aluminii acetotartratis solutio	6288
N	Ammoniae solutio 10%	6289
N	Anisi spiritus compositus	6290
N	Aqua carminativa	6291
N	Aqua carminativa rubra	6292
N	Aqua conservans	6293
N	Argentii nitratis unguentum compositum	6295
N	Bentoniti magma	6296
1999	Belladonnae folii extractum siccum normatum	6297
N	Calcii chloridi solutio	6299
N	Calcii hydroxidi solutio	6300
N	Camphorae spiritus	6301
N	Chloramphenicoli oculoguttae	6303
N	Cremor anionicus	6304
N	Cremor nonionicus	6306
N	Cremor refrigerans	6307
1998	Factor VII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus	6309
R98	Factor VIII coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus	6311
R98	Factor IX coagulationis sanguinis humani cryodesiccatus	6314
1998	Frangulae corticis extractum siccum normatum	6317
N	Glyceroli suppositorium	6319
N	Glyceroli unguentum	6320
N	Ichthammoli unguentum	6322
R98	Immunoglobulinum humanum hepatitis B ad usum intravenosum	6323
R99	Insulini isophani biphasici iniectio	6324
R99	Insulini isophani iniectio	6325
R99	Insulini zinci amorphi iniectio in suspensione	6325
R99	Insulini zinci cristallisati iniectio in suspensione	6326
R99	Insulini zinci iniectio in suspensione	6327
N	Iodi solutio aquosa	6328
N	Iodi solutio ethanolica	6329
N	Iodi solutio glycerolica	6331
N	Jecoris aselli unguentum compositum	6332
N	Kalii et natrii iodidi oculoguttae	6333

N	Kalii iodidi oculo guttae	6335
N	Macrogoli unguentum	6337
N	Methylcellulosi mucilago	6338
N	Methylrosanilinii chloridi solutio 0,5%	6339
N	Methylrosanilinii chloridi solutio 2%	6340
N	Natrii tetraboratis globulus	6341
N	Natrii tetraboratis oculo guttae	6342
N	Natrii tetraboratis solutio glycerolica	6344
N	Oculo guttae viscosae isotonicae	6345
N	Pilocarpini oculo guttae	6347
1998	Prothrombinum multiplex humanum cryodesiccatum	6349
N	Sapo kalinus	6351
1998	Sennae folii extractum siccum normatum	6353
N	Sirupus simplex	6355
N	Solutio Castellani sine fuchsino	6356
N	Solutio Fraeser	6358
N	Solutio Galli-Valerio	6360
N	Solutio Jarisch	6362
1998	Solutiones ad conservationem partium corporis	6363
R99	Somatropinum pro iniectioe	6364
N	Spiritus ethereus	6369
N	Spiritus saponatus	6370
N	Spiritus saponis kalini	6371
N	Sulfathiazoli globulus	6372
N	Sulfuris pasta 50%	6374
N	Sulfuris pasta composita	6375
N	Sulfuris suspensio	6376
R99	Tuberculini derivatum proteinosum purificatum ad usum humanum	6377
R99	Tuberculinum pristinum ad usum humanum	6381
N	Unguentum constituens pro antibioticis	6384
N	Unguentum emulsificans anionicum	6385
N	Unguentum emulsificans nonionicum	6386
N	Unguentum molle	6387
N	Unguentum ophthalmicum simplex	6388
N	Unguentum simplex	6389
N	Unguentum Whitfield	6390
1999	Vaccinum actinobacillosis inactivatum ad suem	6392
1999	Vaccinum adenovirose caninae inactivatum	6395
RR99	Vaccinum clostridii chauvoei ad usum veterinarium	6397
1999	Vaccinum encephalitis ixodibus advectae inactivatum	6398
R99	Vaccinum febris flavae vivum	6402
1999	Vaccinum haemophili stirpe b conjugatum	6407
R98	Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum	6414
1999	Vaccinum hepatitis viralis anatis vivum	6418
R98	Vaccinum influenzae equi inactivatum	6421
1999	Vaccinum leucosis felinae inactivatum	6424
R98	Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem inactivatum	6427

XII *Obsah*

R98	Vaccinum morbi Aujeszkyi ad suem vivum cryodesiccatum ad usum parenterale . .	6430
R99	Vaccinum morbi Carrei vivum cryodesiccatum ad canem	6434
1998	Vaccinum morbi partus diminutionis MCMLXXVI inactivatum ad pullum . . .	6436
R99	Vaccinum morbillorum vivum	6438
R99	Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum	6441
R99	Vaccinum panleucopeniae felinae inactivatum	6443
R99	Vaccinum panleucopeniae felinae infectivae vivum	6446
1998	Vaccinum parainfluenzae viri bovini vivum cryodesiccatum	6448
R99	Vaccinum parotitidis vivum	6450
1999	Vaccinum pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum	6453
R99	Vaccinum poliomyelitidis inactivatum	6457
R98	Vaccinum rabiei inactivatum ad usum veterinarium	6463
1999	Vaccinum rhinitidis atrophicantis ingravescentis suilae inactivatum	6467
1998	Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae inactivatum	6471
1998	Vaccinum rhinotracheitidis viralis felinae vivum cryodesiccatum	6473
R99	Vaccinum rubellae vivum	6476
N	Vaccinum staphylococcicum	6479
1998	Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum cryodesiccatum	6483
N	Zinci oxidi gelatina mollis	6485
N	Zinci oxidi pasta	6486
N	Zinci oxidi pasta 50%	6487
N	Zinci oxidi pasta mollis	6488
N	Zinci oxidi pasta salicylata	6489
N	Zinci oxidi suspensio	6490
N	Zinci oxidi unguentum	6492
N	Zinci sulfatis oculoguttae	6493
	6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky	6495
1999	Fludeoxyglucosi (¹⁸ F) solutio iniectabilis	6495
1998	Indii (¹¹¹ In) chloridi solutio	6500
R99	Iobenquani (¹²³ I) solutio iniectabilis	6502
R99	Iobenquani (¹³¹ I) solutio iniectabilis ad usum diagnosticum	6504
R99	Iobenquani (¹³¹ I) solutio iniectabilis ad usum therapeuticum	6506
1999	Technetii (^{99m} Tc) mertiatidi solutio iniectabilis	6508

Vydává a tiskne: Tiskárna Ministerstva vnitra, p. o., Bartůňkova 4, pošt. schr. 10, 149 01 Praha 415, telefon (02) 792 70 11, fax (02) 795 26 03 – **Redakce:** Ministerstvo vnitra, Nad Štolou 3, pošt. schr. 21/SB, 170 34 Praha 7-Holešovice, telefon: (02) 614 32341 a 614 33502, fax (02) 614 33502 – **Administrace:** písemné objednávky předplatného, změny adres a počtu odebíraných výtisků – MORAVIAPRESS, a. s., U Póny 3061, 690 02 Břeclav, telefon 0627/305 161, fax: 0627/321 417. Objednávky ve Slovenské republice přijímá a titul distribuuje Magnet-Press Slovakia, s. r. o., Teslova 12, 821 02 Bratislava, tel./fax: 00421 7 525 46 28, 525 45 59. **Roční předplatné** se stanovuje za dodávku kompletního ročníku včetně rejstříku a je od předplatitelů vybíráno formou záloh ve výši oznámené ve Sbírce zákonů. Závěrečné vyúčtování se provádí po dodání kompletního ročníku na základě počtu skutečně vydaných částek (první záloha na rok 2000 činí 2000,- Kč) – Vychází podle potřeby – **Distribuce:** celoroční předplatné i objednávky jednotlivých částek – MORAVIAPRESS, a. s., U Póny 3061, 690 02 Břeclav, telefon: 0627/305 179, 305 153, fax: 0627/321 417. – **Drobný prodej** – **Benešov:** HAAGER – Potřeby školní a kancelářské, Masarykovo nám. 101; **Bohumín:** ŽDB, a. s., technická knihovna, Bezručova 300; **Brno:** GARANCE-Q, Koliště 39, Knihkupectví ČS, Kapucínské nám. 11, Knihkupectví M. Ženíška, Květinářská 1, M.C.DES, Cejl 76, SEVT, a. s., Česká 14; **České Budějovice:** PROSPEKTRUM, Kněžská 18, SEVT, a. s., Krajinská 38; **Hradec Králové:** TECHNOR, Hořická 405; **Chomutov:** DDD Knihkupectví – Antikvariát, Ruská 85; **Jihlava:** VIKOSPOL, Smetanova 2; **Kadaň:** Knihařství – Příbřiková, J. Švermy 14; **Kladno:** eL VaN, Ke Stadionu 1953; **Klatovy:** Krameriovo knihkupectví, Klatovy 169/I.; **Liberec:** Podještědské knihkupectví, Moskevská 28; **Most:** Knihkupectví Růžička, Šeříková 529/1057; **Napajedla:** Ing. Miroslav Kučerík, Svatoplukova 1282; **Olomouc:** BONUM, Ostružnická 10, Tycho, Ostružnická 3; **Ostrava:** LIBREX, Nádražní 14, Profesio, Hollarova 14, SEVT, a. s., Dr. Šmerala 27; **Pardubice:** LEJHANEC, s. r. o., Sladkovského 414, PROSPEKTRUM, nám. Republiky 1400 (objekt GRAND); **Plzeň:** ADMINA, Úslavská 2, EDICUM, Vojanova 45, Technické normy, Lábkova pav. č. 5; **Praha 1:** FIŠER-KLEMENTINUM, Karlova 1, KANT CZ, s. r. o., Hyberská 5, LINDE Praha, a. s., Opletalova 35, Moraviapress, a. s., Na Florenci 7-9, tel.: 02/232 07 66, PROSPEKTRUM, Na Poříčí 7; **Praha 2:** ANAG – sdružení, Ing. Jiří Vítek, nám. Míru 9, Národní dům; NEWSLETTER PRAHA, Šafaříkova 11; **Praha 4:** PROSPEKTRUM, Nákupní centrum Budějovická, Olbrachtova 64, SEVT, a. s., Jihlavská 405; **Praha 5:** SEVT, a. s., E. Peškové 14; **Praha 6:** PPP – Staňková Isabela, Verdunská 1; **Praha 8:** JASIPA, Zenklova 60; **Praha 10:** Abonentní tiskový servis, Hájek 40, Uhříněves, BMSS START, areál VÚ JAWA, V Korytech 20; **Přerov:** Knihkupectví EM-ZET, Bartošova 9; **Sokolov:** KAMA, Kalousek Milan, K. H. Borovského 22; **Šumperk:** Knihkupectví D-G, Hlavní tř. 23; **Tábor:** Milada Šimonová – EMU, Budějovická 928; **Teplice:** L + N knihkupectví, Kapelní 4; **Trutnov:** Galerie ALFA, Bulharská 58; **Ústí nad Labem:** 7 RX, s. r. o., Dlouhá 9, tel.: 047/522 04 24, 522 08 58, 522 08 35, 522 05 39; **Zábřeh:** Knihkupectví PATKA, Žižkova 45; **Žatec:** Prodejna U Pivovaru, Žižkovo nám. 76. **Distribuční podmínky předplatného:** jednotlivé částky jsou expedovány neprodleně po dodání z tiskárny. Objednávky nového předplatného jsou vyřizovány do 15 dnů a pravidelné dodávky jsou zahajovány od nejbližší částky po ověření úhrady předplatného nebo jeho zálohy. Částky vyšlé v době od zaevidování předplatného do jeho úhrady jsou doposílány jednorázově. Změny adres a počtu odebíraných výtisků jsou prováděny do 15 dnů. **Reklamace:** informace na tel. čísle 0627/305 168. V písemném styku vždy uvádějte IČO (právnícká osoba), rodné číslo (fyzická osoba). **Podávání novinových zásilek** povoleno Českou poštou, s. p., Odštěpný závod Jižní Morava Ředitelství v Brně č. j. P/2-4463/95 ze dne 8. 11. 1995.