

Ročník 2001

---



# SBÍRKA ZÁKONŮ

## ČESKÁ REPUBLIKA

---

Částka 17

Rozeslána dne 15. února 2001

Cena Kč 829,-

---

### O B S A H:

48. 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), ve znění vyhlášky č. 296/1999 Sb.
-



## 48

## VYHLÁŠKA

## Ministerstva zdravotnictví

ze dne 4. ledna 2001,

kteřou 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), ve znění vyhlášky č. 296/1999 Sb.

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, ve znění zákona č. 149/2000 Sb.:

davky na jakost, postup při přípravě, zkoušení, uchovávání a dávkování léčiv (Český lékopis 1997), ve znění vyhlášky č. 296/1999 Sb., se mění takto:

## Čl. I

Vyhláška č. 1/1998 Sb., kterou se stanoví požadavky

1. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody, kapitoly 2.2.24 a 2.2.25 znějí:

”

## 2.2.24 Absorpční spektrofotometrie v infračervené oblasti



2000

Spektrofotometry v infračervené oblasti se používají pro záznam spekter v oblasti od  $4000\text{ cm}^{-1}$  do  $670\text{ cm}^{-1}$  ( $2,5\text{ }\mu\text{m}$  až  $15\text{ }\mu\text{m}$ ) nebo v některých případech až do  $200\text{ cm}^{-1}$  ( $50\text{ }\mu\text{m}$ ). Spektrofotometry s Fourierovou transformací využívají polychromatické záření a Fourierovou transformací se převádí spektrum z původních dat do frekvenční reprezentace. Mohou být také použity spektrofotometry opatřené optickým systémem schopným vytvářet monochromatické záření v měřené oblasti. Normálně je spektrum dáno jako funkce transmittance, poměrem intenzity propuštěného a dopadajícího záření.

Absorbance  $A$  je definována jako dekadický logaritmus převrácené hodnoty transmittance  $T$  a je vyjádřena vztahem:

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \frac{I_0}{I},$$

v němž značí:

$T$  -  $Ill_0$ ,

$I_0$  - intenzitu dopadajícího monochromatického záření,

$I$  - intenzitu prošlého monochromatického záření.

## Příprava vzorku

**Pro záznam s využitím propustnosti nebo absorpce.** Látka se upraví jedním z následujících postupů.

**Kapaliny.** Kapalina se zkouší buď jako film mezi dvěma destičkami propustnými pro infračervené záření, nebo v kyvetě vhodné tloušťky rovněž propustné pro infračervené záření.

**Kapaliny nebo pevné látky v roztoku.** Připraví se roztok ve vhodném rozpouštědle. Zvolí se koncentrace a tloušťka kyvety tak, aby se získalo vhodné spektrum. Dobré výsledky se zpravidla získávají s koncentracemi od  $10\text{ g/l}$  do  $100\text{ g/l}$

pro tloušťku kyvety 0,5 mm až 0,1 mm. Absorpce způsobená rozpouštědlem by měla být kompenzována vložení podobné kyvety s použitým rozpouštědlem do referenčního paprsku.

**Pevné látky.** Pevné látky se zkoušejí dispergované ve vhodné kapalině (suspenze) nebo v pevné látce (halogenidová tableta) podle toho, co je vhodnější. Je-li to v článku předepsáno, připraví se film z taveniny mezi dvěma destičkami propustnými pro infračervené záření.

(a) **Suspenze.** Rozetře se malé množství zkoušené látky s minimálním množstvím *tekutého parafinu R* nebo jiné vhodné kapaliny; k přípravě vhodné suspenze stačí zpravidla 5 mg až 10 mg zkoušené látky. Suspenze se stlačí mezi dvě destičky propustné pro infračervené záření.

(b) **Tableta.** Není-li uvedeno jinak, rozetřou se 1 mg až 2 mg zkoušené látky s 300 mg až 400 mg jemně práškovaného a vysušeného *bromidu draselného R* nebo *chloridu draselného R*. Tato množství postačují zpravidla k přípravě tablety o průměru 13 mm a k získání spektra vhodné intenzity. Směs se pečlivě rozetře, stejnoměrně se jí naplní vhodná forma a slisuje se ve vakuu tlakem asi 800 MPa ( $8 \text{ t.cm}^{-2}$ ). Z různých příčin mohou vzniknout špatné tablety: např. nedostatečné nebo přílišné roztírání, vlhkost nebo jiné nečistoty v dispergujícím prostředí a nedostatečné rozmělnění částic. Tableta se nepoužije, vykazuje-li při vizuální kontrole nejednotnou propustnost, nebo je-li transmitance při asi  $2000 \text{ cm}^{-1}$  ( $5 \mu\text{m}$ ) v nepřítomnosti specifického absorpčního pásu menší než 75 % bez kompenzace.

**Plyny.** Plyny se zkoušejí v kyvetě propustné pro infračervené záření mající optickou dráhu asi 100 mm. Kyveta se evakuuje a naplní se na požadovaný tlak pomocí kohoutu nebo jehlového ventilu při použití vhodné trubice pro převod plynu mezi kyvetou a nádobou obsahující zkoušenou látku. Je-li to nutné, upraví se tlak v kyvetě na tlak atmosférický použitím plynu propustného pro infračervené záření (např. *dusíku R* nebo *argonu R*). K odstranění interference absorpce způsobené vodou, oxidem uhličitým nebo jinými atmosférickými plyny se vloží do referenčního paprsku stejná kyveta, která je buď evakuována, nebo naplněna plynem propustným pro infračervené záření.

### Pro záznam s využitím mnohonásobné reflexe

Je-li tento záznam předepsán v článku, upraví se látka jednou z následujících metod.

**Roztoky.** Látka se rozpustí ve vhodném rozpouštědle za podmínek uvedených v článku. Roztok se odpaří na thalliumbromido-jodidové destičce nebo na jiné vhodné destičce.

**Pevné látky.** Látka se homogenně rozprostře na thalliumbromido-jodidové nebo jiné vhodné destičce.

### Identifikace s použitím referenčních látek

Stejným způsobem se upraví jak zkoušená, tak i referenční látka a za stejných podmínek se zaznamenají spektra od  $4000 \text{ cm}^{-1}$  do  $670 \text{ cm}^{-1}$  ( $2,5 \mu\text{m}$  až  $15 \mu\text{m}$ ). Minima propustnosti (absorpční maxima) spektra zkoušené látky odpovídají polohou i relativní intenzitou hodnotám referenční látky (CRL).

Vykazují-li spektra zaznamenaná v pevném stavu rozdíly v polohách minim propustnosti (absorpčních maxim), zpracuje se stejným způsobem zkoušená i referenční látka tak, aby vykrytalizovaly nebo vznikly ve stejné formě, nebo se postupuje tak, jak je předepsáno v článku, a pak se zaznamenají spektra.

### Identifikace s použitím referenčních spekter

**Kontrola rozlišovací schopnosti.** Zaznamená se spektrum 0,04 mm silného polystyrenového filmu. Rozdíl  $x$  (viz obr. 2.2.24-1) mezi procenty transmitance při maximu propustnosti A při  $2870 \text{ cm}^{-1}$  ( $3,48 \mu\text{m}$ ) a minimu propustnosti B při  $2849,5 \text{ cm}^{-1}$  ( $3,51 \mu\text{m}$ ) by měl být větší než 18. Rozdíly mezi procenty transmitance při maximu propustnosti C při  $1589 \text{ cm}^{-1}$  ( $6,29 \mu\text{m}$ ) a minimu propustnosti D při  $1583 \text{ cm}^{-1}$  ( $6,32 \mu\text{m}$ ) by měl být větší než 12.

**Ověření stupnice vlnočtů.** Stupnice vlnočtů může být ověřena použitím polystyrenového filmu, který má minima propustnosti (absorpční maxima) při vlnočtech v  $\text{cm}^{-1}$  uvedených v tab. 2.2.24-1.

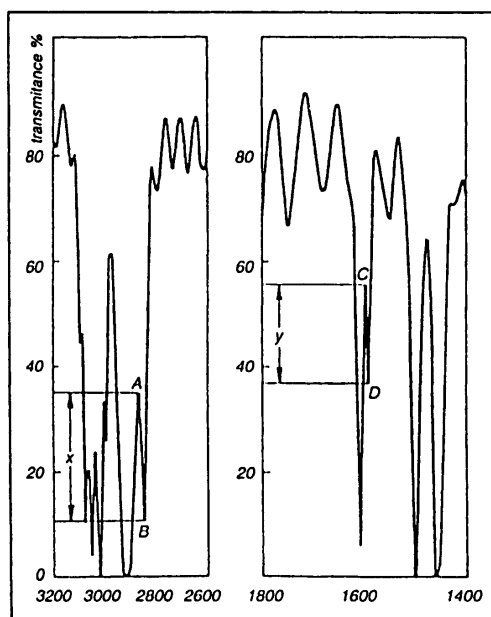
**Tab. 2.2.24-1** Minima propustnosti (a přijatelná tolerance) polystyrenového filmu v  $\text{cm}^{-1}$ .

3060,0 ( $\pm 1,5$ )
2849,5 ( $\pm 1,5$ )
1942,9 ( $\pm 1,5$ )
1601,2 ( $\pm 1,0$ )
1583,0 ( $\pm 1,0$ )
1154,5 ( $\pm 1,0$ )
1028,3 ( $\pm 1,0$ )

*Pracovní postup.* Zkoušená látka se připraví podle návodu uvedeného u referenčního spektra. Za pracovních podmínek, které byly použity při kontrole rozlišovací schopnosti, se zaznamená spektrum zkoušené látky a na něj se superponují absorpční pásy polystyrenu při  $2849,5 \text{ cm}^{-1}$  ( $3,51 \mu\text{m}$ ),  $1601,2 \text{ cm}^{-1}$  ( $6,25 \mu\text{m}$ ) a  $1028,3 \text{ cm}^{-1}$  ( $9,72 \mu\text{m}$ ). Porovnají se obě spektra a maxima polystyrenu uvedené výše. Použijí-li se polohy maxim polystyrenu jako referenční hodnoty, pak polohy význačných maxim spektra zkoušené látky musí odpovídat význačným maximům referenčního spektra s odchylkou nejvýše 0,5 % vlnočtové stupnice. Relativní intenzity maxim obou spekter by měly být shodné.

### Nečistoty v plynech

Pro analýzu nečistot v plynech se použije kyveta propustná pro infračervené záření s vhodnou optickou dráhou (např. 1 m až 20 m). Naplní se způsobem uvedeným v odstavci Plyny. Detekce a kvantifikace nečistot se provede podle postupu uvedeného v článku.

**Obr. 2.2.24-1** Typické spektrum polystyrenu používané při kontrole rozlišovací schopnosti

### 2.2.25 Absorpční spektrofotometrie v ultrafialové a viditelné oblasti

2000



Absorbance  $A$  je definována jako dekadický logaritmus převrácené hodnoty transmittance  $T$  pro monochromatické záření a je vyjádřena vztahem:

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} = \log_{10} \frac{I_0}{I},$$

v němž značí:

$T$  -  $I/I_0$ ,

$I_0$  - intenzitu dopadajícího monochromatického záření,

$I$  - intenzitu prošlého monochromatického záření.

V homogenním prostředí je měřena absorbance ( $A$ ) úměrná tloušťce vrstvy ( $b$ ), kterou záření prochází a koncentraci absorbující látky v roztoku ( $c$ ) podle vztahu:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot b,$$

v němž značí:

$\varepsilon$  - molární absorpční koeficient (absorptivita), je-li koncentrace ( $c$ ) vyjádřena v mol/l a tloušťka vrstvy ( $b$ ) v cm.

Výraz  $A_{1\text{cm}}^{1\%}$  je specifická absorbance, která vyjadřuje absorbanci roztoku látky o koncentraci 10 g/l měřenou v 1 cm vrstvě při určité vlnové délce:

$$A_{1\text{cm}}^{1\%} = \frac{10\varepsilon}{M_r},$$

Není-li uvedeno jinak, měří se absorbance při předepsané vlnové délce v 1 cm vrstvě při  $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$  a měření se provádí proti použitému rozpouštědлу nebo směsi rozpouštědel. Absorbance použitého rozpouštědla měřená proti vzduchu při předepsané vlnové délce by neměla být vyšší než 0,4, a je přednostně menší než 0,2. Absorpční spektrum se vynese jako závislost absorbance nebo její funkce (osa pořadnic) na vlnové délce nebo její funkci (osa úseček).

Jestliže v člancích je uváděna jedna hodnota vlnové délky pro maximum absorpce, může se nalezená hodnota od této lišit nejvýše o  $\pm 2$  nm.

**Zařízení.** Spektrofotometry vhodné pro měření v ultrafialové a viditelné oblasti spektra se skládají z optického systému schopného poskytovat monochromatické záření v rozsahu 200 nm až 800 nm a ze zařízení vhodného pro měření absorbance.

**Kontrola vlnových délek.** Správnost stupnice vlnových délek se ověřuje pomocí hodnot absorpčních maxim roztoku chloristanu holmitého R, poloh čar pro vodíkovou, resp. deuteriovou lampu nebo poloh čar pro rtuťové páry, které jsou uvedeny v tabulce 2.2.25-1. Povolena tolerance je  $\pm 1$  nm pro ultrafialovou oblast a  $\pm 3$  nm pro viditelnou oblast.

Tab. 2.2.25-1 Absorpční maxima pro kontrolu stupnice vlnových délek.

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,7 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,0 nm (D $\beta$ )
302,25 nm (Hg)	486,1 nm (H $\beta$ )
313,16 nm (Hg)	536,3 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,5 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

**Kontrola absorbance.** Správnost stupnice absorbance se ověřuje roztokem dichromanu draselného R při vlnových délkách uvedených v tabulce 2.2.25-2, v níž jsou pro každou vlnovou délku udány přesné hodnoty specifické absorbance a povolené limity. Tolerance pro absorbanci je  $\pm 0,01$ . Pro kontrolu absorbance se použije roztoku dichromanu draselného R připraveného takto: rozpustí se 57,0 mg až 63,0 mg dichromanu draselného R předem vysušeného při  $130^\circ\text{C}$  do konstantní hmotnosti v kyselině sírové 0,005 mol/l RS a zředí se jí na 1000,0 ml.

Tab. 2.2.25-2

Vlnová délka (nm)	Specifická absorpance $A_{1\text{cm}}^{1\%}$	Maxima tolerance
235	124,5	122,9 až 126,2
257	144,5	142,8 až 146,2
313	48,6	47,0 až 50,3
350	107,3	105,6 až 109,0

*Limit rozptýleného světla* může být sledován při daných vlnových délkách pomocí vhodných roztoků nebo filtrů. Např. absorpance roztoku *chloridu draselného R* (12 g/l) měřená v 1cm vrstvě při 200 nm musí být vyšší než 2 v porovnání s *vodou R* jako kontrolní kapalinou.

*Rozlišovací schopnost* (pro kvalitativní analýzu). Pokud je to předepsáno v článku, je třeba provést měření rozlišovací schopnosti přístroje takto: zaznamená se spektrum roztoku *toluenu R* 0,0 2% (V/V) v *hexanu R*. Minimální poměr absorpance v maximum při 269 nm k absorpaci v minimum při 266 nm je uveden v článku.

*Spektrální šířka štěrbin* (pro kvantitativní analýzu). Aby se předešlo chybám při měření způsobeným spektrální šířkou štěrbin při použití přístroje, kde šířka štěrbin při zvolené vlnové délce může být měněna, musí být šířka štěrbin malá ve srovnání s polovinou šířky absorpčního pásu, ale současně musí být co největší, aby byla získána vysoká hodnota  $I_0$ . V každém případě šířka štěrbin přístroje by měla být vždy taková, aby při jejím dalším zmenšení nedocházelo ke změnám v odečtu absorpance.

*Kyvety*. Povolená tolerance vnitřní vzdálenosti protilehlých stěn používaných kyvet je  $\pm 0,005$  cm. Naplní-li se týmž rozpouštědlem, musí kyvety pro zkoušený roztok a pro kontrolní kapalinu mít stejnou transmitanci. V opačném případě je třeba zavést příslušnou korekci.

Kyvety je nutno čistit a zacházet s nimi opatrně.

## Derivační spektrofotometrie

Derivační spektrofotometrie znamená transformaci absorpčního spektra (nultého řádu) v 1., 2. nebo vyšší derivaci spektra.

*První derivace spektra (derivační spektrum 1. řádu)* je závislost gradientu absorpční křivky (změna absorpance s vlnovou délkou,  $dA/d\lambda$ ) na vlnové délce.

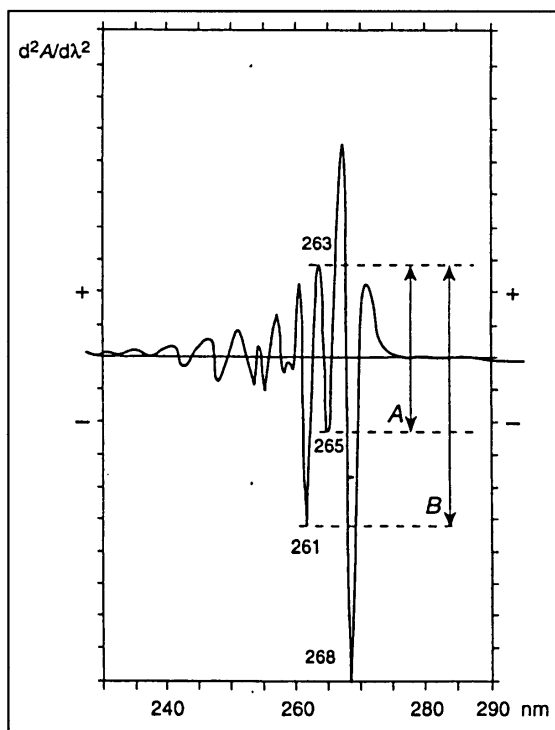
*Druhá derivace spektra (derivační spektrum 2. řádu)* je závislost zakřivení absorpčního spektra na vlnové délce ( $d^2A/d\lambda^2$ ). Druhá derivace při jakékoliv vlnové délce  $\lambda$  je úměrná koncentraci podle následujících rovnic:

$$\frac{d^2 A}{d\lambda^2} = \frac{d^2 A_{1\text{cm}}^{1\%}}{d\lambda^2} \cdot \frac{c' b}{10} = \frac{d^2 A \epsilon}{d\lambda^2} \cdot \frac{cb}{10},$$

v nichž značí:

$c'$  - koncentraci absorbující látky v g/l.

*Zařízení*. Použije se spektrofotometr vybavený analogovým odporově-kapacitním diferenčním modulem nebo digitálním diferenciatorem, nebo případně jiným zařízením vytvářejícím derivační spektra. U některých metod tvorby druhé derivace spektra vzniká vlnový posun vzhledem ke spektru nultého řádu, a to je nutno v těchto případech uvažovat.



Obr. 2.2.25-1

**Rozlišovací schopnost.** Pokud je předepsáno v článku, zaznamená se derivační spektrum druhého řádu roztoku *toluenu R* (0,2 g/l) v *methanolu R* za použití *methanolu R* jako kontrolní kapaliny. Ve spektru je malý záporný extrém umístěný mezi dvěma velkými zápornými extrémy při 261 nm a 268 nm, viz obrázek 2.2.25-1. Není-li uvedeno jinak, poměr A/B (viz obrázek 2.2.25-1) není menší než 0,2.

**Pracovní postup.** Připraví se roztok zkoušené látky, nastaví se vhodné instrumentální podmínky podle návodu výrobce a množství stanovované látky se vypočítá způsobem uvedeným v článku.

“

2. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody, kapitola 2.2.31 zní:

”

### 2.2.31. Elektroforéza

#### OBECNÝ PRINCIP

Působením elektrického pole nabitě částice rozpuštěné nebo dispergované v roztoku elektrolytu migrují ve směru elektrody opačné polarity. Při gelové elektroforéze je pohyb částic zpomalován interakcemi s okolní gelovou maticí, která působí jako molekulární síto. Protichůdné působení elektrické síly a molekulárního prosívání vede k různým migračním rychlostem podle velikosti, tvaru a náboje částic. Vzhledem k jejich odlišným fyzikálně-chemickým vlastnostem



2000



migrují různé makromolekuly směsi během elektroforézy různými rychlostmi, a tak se rozdělují do jednotlivých frakcí. Elektroforetické separace se mohou provádět v systémech bez podpůrných fází (např. separace ve volném roztoku při kapilární elektroforéze) a ve stabilizujících médiích, jako jsou tenkovrstvé desky, filmy nebo gely.

## VOLNÁ ELEKTROFORÉZA NEBOLI ELEKTROFORÉZA S POHYBLIVÝM ROZHRAŇÍM

Tato metoda se používá hlavně ke stanovení elektroforetické pohyblivosti, přičemž experimentální charakteristiky jsou přímo měřitelné a reprodukovatelné. Využívá se hlavně pro látky s vysokými relativními molekulovými hmotnostmi a s nízkými difuzními koeficienty. Poloha rozhraní se na počátku stanoví fyzikálními metodami, jako je refraktometrie nebo konduktometrie. Po aplikaci elektrického pole se po přesně změřeném čase pozorují nová rozhraní a jejich vzájemná poloha. Je nutno volit takové pracovní podmínky, aby bylo možné určit tolik rozhraní, kolik je složek.

## ZÓNOVÁ ELEKTROFORÉZA V NOSIČI

Pro tuto metodu postačuje pouze malé množství vzorku.

Povaha nosiče, jako je papír, agarový gel, acetat celulosy, škrob, agarosa, methylakrylamid, směsný gel, zavádí řadu dalších faktorů ovlivňujících elektroforetickou pohyblivost:

- a) následkem porozity nosiče je naměřená migrační vzdálenost menší než skutečná migrační dráha,
- b) některé nosiče nejsou elektroneutrální a mohou někdy vyvolat významný elektroosmotický tok,
- c) jakékoliv zahřívání v důsledku Jouleova efektu může způsobit odpařování kapaliny z nosiče, což v důsledku kapilarity způsobí pohyb roztoku od krajů do středu. Iontová síla má z tohoto důvodu tendenci postupně vzrůstat.

Rychlost migrace potom závisí na čtyřech hlavních faktorech, zejména na pohyblivosti nabitě částice, elektroosmotickém toku, toku způsobeném odpařováním a intenzitě elektrického pole. Proto je nezbytné pracovat za zcela přesně definovaných experimentálních podmínek a používat, kdekoli je to možné, referenčních látek.

Zařízení pro elektroforézu se skládá ze:

- *zdroje stejnosměrného elektrického proudu*, jehož napětí může být regulováno a stabilizováno,
- *elektroforetické komory*, obvykle pravoúhlé, vyrobené ze skla nebo pevného plastu se dvěma oddělenými prostory, anodickým a katodickým, obsahujícími roztok elektrolytu. V každém prostoru je ponořena elektroda, např. platinová nebo grafitová. Elektrody jsou propojeny vhodně izolovaným obvodem se zdrojem stejnosměrného proudu, jehož kladný pól se připojí k anodě a záporný pól ke katodě. Hladina kapaliny v obou prostorech se udržuje na stejné úrovni, aby se předešlo toku způsobenému sifonovým efektem.

Elektroforetická komora je uzavřena vzduchotěsným víkem, které udržuje během operace vlhkost nasycenou atmosféru a snižuje odpařování rozpouštědla. Z bezpečnostních důvodů se používá zařízení k přerušení elektrického proudu při sejmutí víka. Překročí-li elektrický výkon 10 W, doporučuje se chlazení nosiče.

- *zařízení na upevnění nosiče:*

*Proužková elektroforéza.* Proužek nosiče, předem navlhčený používaným roztokem elektrolytu a ponořený na obou koncích do elektrodových prostorů je vhodně napnutý a upevněn k podložce nosiče, který zabrání difuzi elektrolytu. Podložkou může být vodorovný rámeček, podstavec ve tvaru obráceného V nebo deska s vyčnívajícími hroty umístěnými ve vhodných vzdálenostech.

*Gelová elektroforéza.* Zařízení se skládá ze skleněné desky (např. mikroskopické sklíčko), na jejíž celou plochu je nanášena pevně přilnavá vrstva gelu stejné tloušťky. Elektrické spojení mezi gelem a vodivým roztokem je zajištěno různými způsoby podle druhu použitého zařízení. Je třeba učinit předběžné opatření, aby se zabránilo kondenzaci vlhkosti nebo vysychání pevné vrstvy.

- *měřicího nebo detekčního zařízení.*

*Pracovní postup.* Roztok elektrolytu se nalije do elektrodových prostorů. Nosič nasycený elektrolytem se umístí do komory způsobem vhodným pro dané zařízení. Vyznačí se místo startu a nanese se vzorek. Na předepsanou dobu se zapojí elektrický proud. Po vypnutí zdroje se nosič vyjme z komory, vysuší se a separované látky se vizualizují.

## ELEKTROFORÉZA V POLYAKRYLAMIDOVÉM GELU V TRUBIČKÁCH

Při tomto typu elektroforézy je stacionární fází gel, který je připraven ze směsi akrylamidu a N,N'-metylenbisakrylamidu. Gely jsou připraveny do trubiček délky 7,5 cm a o vnitřním průměru 0,5 cm. Na každou trubičku se nanáší jeden roztok.

*Zařízení.* Skládá se ze dvou nad sebou umístěných nádobek na tlumivý roztok vyrobených z vhodného materiálu, jako je polymethylmetakrylat. Každá nádoba je vybavena platinovou elektrodou. Elektrody jsou připojeny ke zdroji umožňujícímu práci buď při konstantním proudu, nebo při konstantním napětí. Zařízení má na dně horní nádoby několik držáků stejně vzdálených od elektrody.

*Postup stanovení.* Před polymerací gelu by měly být roztoky odplyněny a gely použity bezprostředně po přípravě. Připraví se směs gelu podle předpisu a nalije se do vhodných skleněných trubiček s uzavřeným dnem do stejné výšky asi 1 cm od horního okraje. Je nutné zajistit, aby v trubičce nezůstaly bublinky vzduchu. Směs gelu se převrství vodou R, aby se zamezilo přístupu vzduchu a nechá se zpolymerovat. Tvorba gelu trvá obvykle asi 30 min a je ukončena, když se objeví ostré rozhraní mezi gelem a vrstvou vody. Vrstva vody se odstraní. Spodní nádoba se naplní předepsaným tlumivým roztokem a odstraní se uzávěry trubiček. Trubičky se upevní do držáků v horní nádobce tak, aby spodní část trubiček byla ponořena v tlumivém roztoku spodní nádoby. Trubičky se opatrně naplní předepsaným tlumivým roztokem. Připraví se zkoušený roztok a kontrolní roztok, oba obsahující vhodné značkovací barvivo, zahustí se např. tím, že se v nich rozpustí *sacharosa R*. Tyto roztoky se nanášejí na povrch gelu jednotlivých trubiček, přičemž pro každý roztok se použije jiná trubička. Do horní nádoby se nalije stejný tlumivý roztok. Elektrody se připojí ke zdroji elektrické energie a elektroforéza se nechá probíhat za předepsané teploty a při předepsaném konstantním napětí nebo předepsané intenzitě proudu. Zdroj energie se vypne v okamžiku, kdy značkovací barvivo doputuje téměř ke spodní nádobce. Trubičky se ze zařízení okamžitě vyjmou a gel se z nich uvolní. Poloha jednotlivých zón v elektroforeogramu se deteguje předepsaným způsobem.

## SDS ELEKTROFORÉZA V POLYAKRYLAMIDOVÉM GELU

*Rozsah použitelnosti.* Gelová elektroforéza v polyakrylamidu se používá ke kvalitativní charakterizaci bílkovin v biologických přípravcích, ke kontrole čistoty a ke kvantitativnímu stanovení.

*Účel.* Analytická gelová elektroforéza je vhodná metoda, kterou se prokazuje totožnost a homogenita bílkovin ve farmaceutických přípravcích. Tato metoda se rutinně používá ke stanovení molekulových hmotností bílkovin a bílkovinných podjednotek a ke stanovení složení podjednotek purifikovaných bílkovin.

Náhradou za gely a zkoumadla popsaná v tomto textu je možno použít komerčně běžně dostupné gely a zkoumadla, za předpokladu, že poskytují odpovídající výsledky a že vyhovují validačním požadavkům uvedeným v odstavci Vali-dace zkoušky.

## CHARAKTERISTIKY POLYAKRYLAMIDOVÝCH GELŮ

Sítovací vlastnosti polyakrylamidových gelů jsou založeny na trojrozměrné síti vláken a pórů, kterou tvoří bifunkční bisakrylamidové zesíťování polyakrylamidových řetězců. Polymerace je katalyzována tvorbou volných radikálů z peroxidisíranu diamonného a tetramethylethylendiaminu.

Zvyšováním koncentrace akrylamidu v gelu se snižuje účinná velikost jeho pórů. Účinná velikost pórů gelu je pracovně definovaná jeho prosívacími vlastnostmi, tj. odporem, který klade pohybu makromolekul. Jsou dány limity koncentrací akrylamidu, které mohou být používány. Při vysokých koncentracích akrylamidu se gel láme mnohem snáze a je s ním obtížnější manipulace. Se snižující se velikostí pórů gelu se snižuje i migrační rychlost průchodu bílkovin gelem. Úpravou velikosti pórů gelu pomocí změny koncentrace akrylamidu může být rozlišovací schopnost metody optimalizována pro daný bílkovinný produkt. Proto je daný gel fyzikálně charakterizován pomocí odpovídajícího složení akrylamidu a bisakrylamidu.

Stav bílkoviny je vedle složení gelu důležitým faktorem elektroforetické pohyblivosti. U bílkovin závisí elektroforetická pohyblivost na hodnotě pK nabitých skupin a velikosti molekuly. Je ovlivňována typem, koncentrací a hodnotou pH tlumivého roztoku, teplotou a silou pole a také vlastnostmi materiálu nosiče.

## ELEKTROFORÉZA ZA DENATURAČNÍCH PODMÍNEK V POLYAKRYLAMIDOVÉM GELU

Metoda citovaná jako příklad je omezena na analýzy monomerních polypeptidů s hmotnostním rozmezím od 14 000 do 100 000 daltonů. Hmotnostní rozmezí je možné rozšířit různými technikami (např. gradientové gely, zvláštní tlumivý systém), tyto techniky však nejsou předmětem této kapitoly.

Elektroforéza za denaturačních podmínek v polyakrylamidovém gelu s použitím dodecylsírany sodného (SDS-PAGE) je nejrozšířenější způsob elektroforézy ke stanovení farmaceutické kvality bílkovinných výrobků a bude předmětem vzorové metody. Typická analytická elektroforéza bílkovin se provádí v polyakrylamidových gelech za podmínek zajišťujících rozštěpení bílkovin na jejich jednotlivé polypeptidové podjednotky a současně minimalizujících jejich shlukování. Nejčastěji se používá silně aniontový detergent dodecylsírany sodný (SDS) v kombinaci se zahříváním, při kterém se bílkoviny štěpí před jejich aplikací na gel. Denaturované polypeptidy váží SDS, stávají se záporně nabitými a vykazují stálý poměr náboj/hmotnost, bez ohledu na druh bílkoviny. Protože množství navázaného SDS je téměř vždy úměrné molekulové hmotnosti polypeptidu a je nezávislé na jeho sekvenci, SDS-polypeptidové komplexy migrují polyakrylamidovým gelem s pohyblivostí závislou na velikosti polypeptidu.

U všech výsledných detergent-polypeptidových komplexů se předpokládá stejný funkční vztah mezi jejich elektroforetickou pohyblivostí a molekulovou hmotností. Migrace SDS komplexů směrem k anodě probíhá předvídatelným způsobem, přičemž nízkomolekulární komplexy se pohybují rychleji než vysokomolekulární. Molekulová hmotnost bílkovin se může tudíž určovat z jejich relativní pohyblivosti v kalibrované SDS-PAGE a výskyt jednoho pruhu v takovémto gelu je kritériem čistoty.

Modifikace polypeptidového skeletu, jako je N- nebo O-glykosylace, má však významný vliv na zdánlivou molekulovou hmotnost bílkoviny, protože SDS se neváže na sacharidovou složku způsobem podobným polypeptidu, a tak není udržován stálý poměr náboje ke hmotnosti. Zdánlivá molekulová hmotnost bílkovin po posttranslačních modifikacích tedy není skutečným odrazem hmotnosti polypeptidového řetězce.

### *Redukční podmínky*

Polypeptidové podjednotky a trojrozměrná struktura je v bílkovinách často udržována přítomností disulfidických vazeb. Cílem SDS-PAGE analýzy za redukčních podmínek je porušení této struktury redukcí disulfidických vazeb. Úplná denaturace a štěpení bílkovin působením 2-merkptoethanolu nebo dithiothreitolu (DTT) vede k rozvinutí skeletu polypeptidu a jeho následné komplexaci s SDS. Za těchto podmínek může být molekulová hmotnost polypeptidových podjednotek počítána lineární regresí z molekulových hmotností přítomných vhodných standardů.

### *Neredukční podmínky*

Pro některé analýzy není úplné štěpení bílkovin na peptidové podjednotky žádoucí. Nepůsobí-li se redukčními zkoumadly, jako je 2-merkptoethanol nebo DTT, zůstávají disulfidické kovalentní vazby neporušeny a je zachována oligomerní forma bílkoviny. Oligomerní komplexy SDS-bílkovina se pohybují pomaleji než SDS-polypeptidové podjednotky. Kromě toho nemohou být neredukované bílkoviny kompletně nasyceny SDS, a tudíž nemohou vázat detergent v konstantním hmotnostním poměru. Tím je stanovení molekulové hmotnosti těchto molekul pomocí SDS-PAGE analýzy méně přesné než analýzy plně denaturovaných polypeptidů a je proto nezbytné, aby jak standardy tak neznámé bílkoviny byly pro platná srovnání v podobné konfiguraci. Nicméně zbarvení jediného pásu v takovém gelu je kritériem čistoty.

## CHARAKTERISTIKY DISKONTINUÁLNÍHO TLUMIVÉHO SYSTÉMU GELOVÉ ELEKTROFORÉZY

Nejoblíbenější elektroforetickou metodou k charakterizaci komplexních směsí bílkovin je použití diskontinuálního tlumivého systému skládajícího se ze dvou stýkajících se, ale odlišných gelů: rozlišovacího neboli separačního gelu (dolního) a zaostřovacího (horního) gelu. Tyto dva gely jsou zhotoveny s odlišnou pórovitostí a obsahují roztoky o různém pH a iontové síle. Kromě toho v gelu a v elektrodových tlumivých roztocích se používají ionty s různou pohyblivostí. Diskontinuita tlumivých roztoků způsobuje zakoncentrování velkých objemů vzorků v zaostřovacím gelu a vede ke zlepšení rozlišení. Po zapnutí proudu se na zóně vzorku vytvoří spád napětí, jehož působením bílkoviny putují do zaostřovacího gelu. Glycinové ionty z elektrodového tlumivého roztoku následují bílkoviny do zaostřovacího gelu. Rychle se utvoří oblast pohybujícího se rozhraní s vysoce pohyblivými chloridovými ionty v čele a s relativně pomalými glycinovými ionty vzadu. Lokalizovaný vysokonapěťový gradient, tvořící se mezi zónami vedoucího a koncového iontu, způsobuje, že SDS-bílkovinné komplexy vytvářejí úzké zóny a migrují mezi zónami chloridů a glycinu.

V širokých limitech, bez ohledu na výšku zóny aplikovaného vzorku se všechny SDS-bílkoviny koncentrují do velmi úzké oblasti a vstupují do rozlišovacího gelu jako tenká, dobře definovaná zóna o vysoké hustotě bílkovin. Zaostřovací gel s velkými póry nezpomaluje migraci většiny bílkovin a slouží hlavně jako antikonvekční prostředí. Na rozhraní zaostřovacího a separačního gelu jsou bílkoviny silně zpomaleny vlivem omezené velikosti pórů separačního gelu. V rozlišovacím gelu jsou bílkoviny dále zpomalovány vlivem zesíťování matrice. Glycerinové ionty předstihnou bílkoviny, které se pak pohybují v oblasti stálého pH tvořeného trometamolem a glycinem. Molekulární prosívání způsobuje, že se komplexy SDS-polypeptid oddělují na základě svých molekulových hmotností.

## PŘÍPRAVA VERTIKÁLNÍCH SDS POLYAKRYLAMIDOVÝCH GELŮ S DISKONTINUÁLNÍMI TLUMIVÝMI ROZTOKY

### Sestavení kazety pro odlévání gelu

Slabým detergentem se očistí a důkladně se opláchnou vodou dvě skleněné desky (např. o velikosti 10 cm x 8 cm), polytetrafluorethylenový hřeben, dva vymezovače a silikonová gumová hadice (např. o průměru 0,6 mm x 35 cm). Všechny části se osuší papírovým ubrouskem. Vymezovače a hadice se namažou nesilikonovým tukem. Vymezovače se aplikují podél každé ze dvou krátkých stran skleněné desky 2 mm od okrajů a 2 mm od dlouhé strany odpovídající spodní části gelu. Hadice se začne pokládat na skleněnou desku za použití jednoho vymezovače jako vodička. Hadice se pečlivě svine na dně vymezovače a sleduje dlouhou stranu skleněné desky. Zatímco se přidržuje hadice jedním prstem podél dlouhé strany, hadice se opět stočí a položí se ke druhé krátké straně skleněné desky za použití druhého vymezovače jako vodička. Druhá skleněná deska se umístí přesně nad první a forma se přitlačí rukou. Na každou ze dvou krátkých stran formy se umístí dvě svorky, na delší stranu gelové formy se pečlivě umístí čtyři svorky a takto se vytvoří dno gelové formy. Ověřte se, že hadice prochází kolem okraje skleněných desek a nebyla vytlačena při umísťování svorek. Gelová forma je nyní připravena k nalití gelu.

### Příprava gelu

V diskontinuálním tlumivém SDS polyakrylamidovém gelu se doporučuje nejprve nalít separační gel, nechat jej zpolymerovat a poté nalít zaostřovací gel, neboť složení těchto dvou gelů se liší poměrem akrylamidbisakrylamidu, tlumivými roztoky a pH.

#### *Příprava separačního (rozlišovacího) gelu*

V kónické baňce se připraví vhodný objem roztoku obsahujícího požadovanou koncentraci akrylamidu pro separační gel za použití hodnot daných v tabulce 2.2.31-1. Složky se smísí v předepsaném pořadí. Pokud je třeba, roztok se před přidáním roztoku peroxodisíranu diamonného a tetramethylethyldiaminu (TEMED) zfiltruje, je-li to nutné za použití vakua přes acetatcelulosovou membránu o velikosti pórů 0,45  $\mu\text{m}$ ; roztok se udržuje pod vakuem, filtrační jednotkou se krouží, až se v roztoku netvoří žádné bublinky. Přidá se vhodné množství roztoku peroxodisíranu diamonného a tetramethylethyldiaminu podle tabulky 2.2.31-1, krouživým pohybem se promíchá a ihned se nalije do mezery mezi dvěma skleněnými deskami formy. Nechá se dostačující prostor pro zaostřovací gel (délka zubů hřebenu plus 1 cm navíc). Za použití zúžené skleněné pipety se roztok opatrně převrství isobutanolem nasyceným vodou. Gel se ponechá ve vertikální poloze při teplotě místnosti zpolymerovat.

#### *Příprava zaostřovacího gelu*

Po úplné polymeraci (asi 30 min) se odlije isobutanol a horní část gelu se několikrát opláchnou vodou, aby se odstranil zbytek isobutanolu a nezpolymerizovaný akrylamid. Z horní části gelu se odsaje co možná nejvíce kapaliny a poté se odstraní zbývající voda okrajem papírového ubrousku.

V kónické baňce se připraví vhodný objem roztoku obsahujícího požadovanou koncentraci akrylamidu za použití hodnot daných v tabulce 2.2.31-2. Složky se smísí v předepsaném pořadí. Je-li to vhodné, roztok se před přidáním roztoku peroxodisíranu diamonného a tetramethylethyldiaminu zfiltruje, je-li nutno za použití vakua přes acetatcelulosovou membránu o velikosti pórů 0,45  $\mu\text{m}$ ; roztok se udržuje pod vakuem, za občasného víření, kroužení filtrační jednotkou, až se v roztoku netvoří další bublinky. Přidá se vhodné množství roztoku peroxodisíranu diamonného a tetramethylethyldiaminu podle tabulky 2.2.31-2, krouživým pohybem se promíchá a ihned se nalije do mezery mezi dvěma skleněnými deskami formy přímo na povrch zpolymerovaného rozlišovacího gelu. Do zaostřovacího gelu se ihned vloží čistý polytetrafluorethylenový hřeben, přičemž se dbá na to, aby pod hřebem nezůstaly vzduchové bublinky. Přidá se další roztok zaostřovacího gelu, aby se zcela zaplnily prostory hřebenu. Gel se nechá ve vertikální poloze při teplotě místnosti zpolymerovat.

Tab. 2.2.31-1 Příprava separačního gelu

Složky roztoku	Objemy složek (ml) na objem gelové formy							
	5 ml	10 ml	15 ml	20 ml	25 ml	30 ml	40 ml	50 ml
<b>6% akrylamid</b>								
voda R	2,6	5,3	7,9	10,6	13,2	15,9	21,2	26,5
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	8,0	10,0
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,004	0,008	0,012	0,016	0,02	0,024	0,032	0,04
<b>8% akrylamid</b>								
voda R	2,3	4,6	6,9	9,3	11,5	13,9	18,5	23,2
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	1,3	2,7	4,0	5,3	6,7	8,0	10,7	13,3
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,003	0,006	0,009	0,012	0,015	0,018	0,024	0,03
<b>10% akrylamid</b>								
voda R	1,9	4,0	5,9	7,9	9,9	11,9	15,9	19,8
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	1,7	3,3	5,0	6,7	8,3	10,0	13,3	16,7
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
<b>12% akrylamid</b>								
voda R	1,6	3,3	4,9	6,6	8,2	9,9	13,2	16,5
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0	12,0	16,0	20,0
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
<b>14% akrylamid</b>								
voda R	1,4	2,7	3,9	5,3	6,6	8,0	10,6	13,8
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	2,3	4,6	7,0	9,3	11,6	13,9	18,6	23,2
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,2	2,5	3,6	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02
<b>15% akrylamid</b>								
voda R	1,1	2,3	3,4	4,6	5,7	6,9	9,2	11,5
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>		5,0	7,5	10,0	12,5	15,0	20,0	25,0
Tris 1,5 mol/l (pH 8,8) <sup>(2)</sup>	1,3	2,5	3,8	5,0	6,3	7,5	10,0	12,5
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,5
TEMED <sup>(5)</sup>	0,002	0,004	0,006	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02

<sup>(1)</sup> Roztok 30% akrylamidu: akrylamid-bisakrylamid (29 : 1) RS<sup>(2)</sup> Tris 1,5 mol/l (pH 8,8): tlumivý roztok trometamolový o pH 8,8 (1,5 mol/l)

<sup>(3)</sup> 100 g/l SDS: roztok *dodecylsíranu sodného R* (100 g/l)

<sup>(4)</sup> 100 g/l APS: roztok *peroxidisíranu diamonného R* (100 g/l). Peroxidisíran diamonný poskytuje volné radikály, které řídí polymerizaci akrylamidu a bisakrylamidu. Protože se roztok peroxidisíranu diamonného rozkládá pomalu, připravuje se každý týden čerstvý roztok.

<sup>(5)</sup> TEMED: *tetramethylethylendiamin R*

**Tab. 2.2.31-2 Příprava zaostřovacího gelu**

Složky roztoku	Objemy složek (ml) na objem gelové formy							
	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5 ml	6 ml	8 ml	10 ml
<i>voda R</i>	0,68	1,4	2,1	2,7	3,4	4,1	5,5	6,8
roztok akrylamidu <sup>(1)</sup>	0,17	0,33	0,5	0,67	0,83	1,0	1,3	1,7
Tris 1,0 mol/l (pH 6,8) <sup>(2)</sup>	0,13	0,25	0,38	0,5	0,63	0,75	1,0	1,25
100 g/l SDS <sup>(3)</sup>	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
100 g/l APS <sup>(4)</sup>	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1
TEMED <sup>(5)</sup>	0,001	0,002	0,003	0,004	0,005	0,006	0,008	0,01

<sup>(1)</sup> Roztok akrylamidu: *akrylamid-bisakrylamid (29 : 1) 30% RS*

<sup>(2)</sup> Tris 1,0 mol/l (pH 6,8): *tlumivý roztok trometamolový o pH 6,8 (1 mol/l)*

<sup>(3)</sup> 100 g/l SDS: roztok *dodecylsíranu sodného R* (100 g/l)

<sup>(4)</sup> 100 g/l APS: roztok *peroxidisíranu diamonného R* (100 g/l). Peroxidisíran diamonný poskytuje volné radikály, které řídí polymerizaci akrylamidu a bisakrylamidu. Protože se roztok peroxidisíranu diamonného rozkládá pomalu, připravuje se každý týden čerstvý roztok.

<sup>(5)</sup> TEMED: *tetramethylethylendiaminu R*

#### Umístění gelu do elektroforetického zařízení a elektroforetická separace

Po úplné polymeraci (asi 30 min) se opatrně odstraní polytetrafluorethylenový hřeben. Jamky se ihned vypláchnou vodou nebo *SDS-PAGE elektrodovým roztokem R*, aby se odstranil nezpolymerovaný akrylamid. Je-li to nutné, napřímí se zuby zaostřovacího gelu pomocí tupé hypodermické jehly připevněné k injekční stříkačce. Na krátké straně se odstraní svorky, opatrně se vytáhnou hadice a svorky se opět nasadí. Na druhé krátké straně se postupuje podobně. Odstraní se hadice i ze spodní části gelu. Kazeta s gelem se umístí do elektroforetického zařízení. Vrchní i spodní nádobka se naplní elektroforetickými tlumivými roztoky. Odstraní se všechny bubliny, které se zachytily na dně gelu mezi skleněnými deskami, nejlépe zahnutou hypodermickou jehlou připevněnou k injekční stříkačce. Nikdy se neprovádí pre-elektroforéza, tj. připojení napětí před aplikací vzorku, protože tím dochází k porušení diskontinuity tlumivých systémů.

Před aplikací vzorku se štěrba mezi skly pečlivě opláchně *SDS-PAGE elektrodovým roztokem RS*. Připraví se zkoušený a kontrolní roztok v doporučeném vzorkovém tlumivém roztoku a upraví se, jak je specifikováno v jednotlivém článku. Aplikuje se vhodný objem jednotlivých vzorků do jamek zaostřovacího gelu. Elektroforéza se spustí podle podmínek doporučených výrobcem zařízení. Výrobci SDS-PAGE zařízení mohou dodávat gely různých rozměrů o různé tloušťce. Čas, po který elektroforéza probíhá, a aplikovaný proud, resp. napětí pro optimální dělení se mohou lišit podle výrobce zařízení. Ověří se, že barevné čelo se pohybuje směrem k separačnímu gelu. Přiblíží-li se barvivo ke dnu gelu, elektroforéza se zastaví. Kazeta s gelem se vyjme ze zařízení a oddělí se skleněné desky. Odstraní se vymezovače a zaostřovací gel a ihned se pokračuje barvením.

#### DETEKCE BÍLKOVIN V GELECH

Coomassie barvení je nejrozšířenější metoda barvení bílkovin s detekční úrovní řádu od 1 µg do 10 µg bílkoviny na pás. Barvení stříbrem je nejcitlivější metoda barvení bílkovin v gelech a může být detegován pás obsahující 10 ng až 100 ng.

Všechny kroky při barvení gelu se provádějí při teplotě místnosti jemným třepáním (např. na orbitální třepačce) ve vhodné nádobě. Při barvení gelů musí být použity rukavice, aby nedošlo k obarvení otisků prstů.

### Coomassie barvení

Gel se ponoří do velkého přebytku *barvicího roztoku modři kyselé 83 RS* a nechá se stát nejméně 1 h. Pak se barvicí roztok odstraní.

Gel se odbarví velkým přebytkem *odbarvovacího roztoku RS*, který se několikrát vymění, až jsou obarvené pruhy bílkovin jasně rozlišitelné na čistém pozadí. Čím důkladněji je gel odbarven, tím menší množství bílkoviny může být detegováno. Odbarvování může být urychleno přidáním několika gramů anexu nebo malé houby do *odbarvovacího roztoku RS*.

*POZNÁMKA: Kyselé roztoky používané v tomto procesu nefixují bílkoviny v gelu. Úplně to může vést ke ztrátě některých nízkomolekulárních bílkovin během barvení a odbarvování tenkých gelů. Stálé fixace se dosáhne tak, že se gel nechá stát ve směsi objemových dílů kyseliny trichloroctové R, methanolu R a vody R (1 + 4 + 5) po dobu 1 h před ponořením do barvicího roztoku modři kyselé RS.*

### Barvení stříbrem

Gel se ponoří do velkého přebytku *fixačního roztoku R* a nechá se stát po dobu 1 h. *Fixační roztok R* se odstraní, přidá se čerstvý *fixační roztok R* a inkubuje se nejméně 1 h nebo, je-li to vhodné, přes noc.

*Fixační roztok R* se odstraní a gel se promývá velkým přebytkem *vody R* po dobu 1 h. Gel se poté nechá nasáknout 15 min v roztoku *glutaraldehydu R 1% (V/V)* a dvakrát po dobu 15 min se promývá ve velkém přebytku *vody R*, pak se nechá 15 min nasáknout ve tmě čerstvým *zkoumadlem dusičnanu stříbrného R*. Nakonec se gel třikrát po dobu 5 min promyje ve velkém přebytku *vody R* a ponoří se asi na 1 min do *vyvíjecího roztoku R*, dokud nedojde k uspokojivému obarvení. Vyvíjení se zastaví inkubací v *blokovacím roztoku R* po dobu 15 min a gel se opláchně *vodou R*.

## SUŠENÍ OBARVENÝCH SDS POLYAKRYLAMIDOVÝCH GELŮ

V závislosti na použité barvicí metodě se s gely zachází poněkud odlišným způsobem. Při Coomassie barvení se po odbarvovacích krocích ponechá gel stát v roztoku *glycerolu R* (100 g/l) nejméně 2 h (je možná inkubace přes noc). Pro barvení stříbrem se ke konečnému oplachování přidá jeden krok – ponechání gelu 5 min v roztoku *glycerolu R* (20 g/l).

Dvě fólie porézního celulosového filmu se ponoří do *vody R* a inkubují se 5 min až 10 min. Jedna z fólií se umístí na sušicím rámečku. Gel se opatrně uchopí a položí se na celulosový film. Odstraní se všechny zachycené vzduchové bubliny a nalije se několik mililitrů *vody R* okolo okrajů gelu. Druhá fólie se umístí na gel shora a opět se odstraní zachycené vzduchové bubliny. Dokončí se sestavení sušicího rámečku, který se umístí v sušárně nebo se ponechá při pokojové teplotě, dokud se neusuší.

## STANOVENÍ MOLEKULOVÉ HMOTNOSTI

Molekulové hmotnosti bílkovin se stanovují srovnáním jejich pohyblivosti s pohyblivostí několika standardů bílkovin o známých molekulových hmotnostech. Pro kalibrační gely jsou dostupné směsi bílkovin s přesně známými molekulovými hmotnostmi smíchané pro homogenní barvení. Lze je získat v různých rozmezích molekulových hmotností. Koncentrované zásobní roztoky bílkovin o známé molekulové hmotnosti jsou ředěny ve vhodném vzorkovém tlumivém roztoku a jsou aplikovány na stejný gel jako zkoumaný vzorek bílkoviny.

Okamžitě po ukončení elektromigrace se v gelu označí poloha značkovacího barviva bromfenolové modři, aby se identifikoval vedoucí okraj elektroforetického iontového čela. To může být provedeno tím, že se vystřihnou zářezy v koncích gelu nebo se vloží jehla s nasátým indickým inkoustem do gelu na čelo barviva. Po barvení se měří migrační vzdálenost každého bílkovinného pásu (standardů i neznámých bílkovin) od počátku separačního gelu. Migrační vzdálenost každé bílkoviny se dělí vzdáleností, kterou urazilo barvivo. Takto získané normalizované migrační vzdálenosti se nazývají relativní pohyblivosti bílkovin (relativní k čelu barviva) a jsou konvenčně označeny jako  $R_f$ . Sestrojí se křivka logaritmu relativních molekulových hmotností ( $M_r$ ) standardů bílkovin jako funkce hodnot  $R_f$ . Graf je mírně sigmoidní. Neznámé molekulové hmotnosti mohou být určeny lineární regresní analýzou nebo interpolací z křivek  $\log M_r$  proti  $R_f$ , pokud se hodnoty neznámých vzorků nacházejí v lineární části grafu.

## VALIDACE ZKOUŠKY

Zkoušku lze hodnotit, jestliže bílkoviny standardů molekulových hmotností jsou rozloženy podél 80 % délky gelu a zahrnují požadované separační rozmezí (např. rozmezí pokrývající produkt a jeho dimer nebo produkt a jeho nečistoty) separace získané pro významné bílkovinné pásy, vykazující lineární vztah mezi logaritmem molekulové hmotnosti a  $R_f$ . Další validační požadavky s ohledem na zkoušený roztok mohou být specifikovány v příslušném článku.

## KVANTIFIKACE NEČISTOT

Tam, kde je limit nečistot v článku specifikován, měl by být ředěním zkoušeného roztoku připraven kontrolní roztok, odpovídající dané úrovni nečistot. Např. pokud je limit 5 %, připraví se kontrolní roztok ředěním zkoušeného roztoku v poměru 1 : 20. Žádná nečistota (žádný pás jiný než hlavní pás) na elektroforeogramu získaného se zkoušeným roztokem nesmí být intenzivnější než hlavní pás získaný s kontrolním roztokem.

Za validačních podmínek by měly být nečistoty kvantifikovány normalizací k hlavnímu pásu za pomoci integračního densitometru. V tomto případě musí být odezvy validovány na linearitu.

“

3. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.2 Fyzikální a fyzikálně-chemické metody se za kapitolu 2.2.41 doplňují kapitoly 2.2.42, 2.2.43 a 2.2.44, které znějí:

”

### 2.2.42 Hustota pevných látek

2000



Hustota pevných látek odpovídá jejich průměrné hmotnosti vztažené na jednotku objemu a je obvykle vyjadřována v gramech na krychlový centimetr ( $\text{g/cm}^3$ ), ačkoliv mezinárodní jednotka je kilogram na krychlový metr ( $\text{g/cm}^3 = 1000 \text{ kg/m}^3$ ).

Na rozdíl od plynů a kapalin, jejichž hustota závisí jenom na teplotě a tlaku, hustota pevné částice závisí také na jejím molekulovém uspořádání, a proto se mění s krystalovou strukturou a stupněm krystalinity.

Je-li pevná částice amorfní nebo částečně amorfní, může její hustota záviset také na způsobu přípravy a zpracování.

Na rozdíl od kapalin mohou tedy být hustoty dvou chemicky ekvivalentních pevných látek různé, a tato různost odráží rozdíl ve struktuře pevného stavu. Hustota částic je důležitá fyzikální charakteristika pro farmaceutické použití.

Hustota pevné částice může dosahovat různých hodnot v závislosti na metodě použité k měření jejího objemu. Je užitečné rozlišovat tři úrovně vyjadřování hustoty:

- *hustota krystalu*, která zahrnuje pouze pevnou frakci materiálu; hustota krystalu je také nazývána *pravá hustota*,
- *hustota částice*, která zahrnuje také objem dutin uvnitř částice,
- *celková hustota*, která dále zahrnuje volný objem mezi částicemi, vytvořený ve vrstvě prášku; celková hustota se také nazývá *zdánlivá hustota*.

#### I. Hustota krystalu

Hustota krystalu látky je průměrná hmotnost vztažená na jednotku objemu (hmotnost objemové jednotky), s výjimkou všech dutin, které nejsou základní částí molekulového uspořádání. Je to vnitřní vlastnost látky a měla by být proto nezávislá na metodě stanovení. Hustota krystalu může být zjištěna buď výpočtem, nebo jednoduchým měřením.

A. *Vypočítaná hustota krystalu* se získá s použitím krystalografických dat (velikost a složení základní buňky) dokonalého krystalu, např. z rentgenových difrakčních dat, a molekulové hmotnosti látky.



B. *Změřená hustota krystalu* je poměr hmotnosti a objemu po změření těchto hodnot u monokrystalu.

## II. Hustota částice

Hustota částice bere v úvahu jak hustotu krystalu, tak i porozitu uvnitř částice (uzavřené a/nebo otevřené póry). Hustota částice tedy závisí na hodnotě určeného objemu, tato hodnota však závisí na metodě měření. Hustota částice může být stanovena s použitím jedné ze dvou následujících metod:

- A. Hustota určená pyknometrem je stanovena měřením objemu, který zaujímá známá hmotnost prášku; tento objem je ekvivalentní objemu plynu, nahrazeného práškem v plynovém pyknometru (2.9.23). Při měření hustoty pyknometrem určený objem zahrnuje objem otevřených pórů; vylučuje však objem zavřených pórů nebo pórů nedosažitelných pro plyn. Z důvodů vysoké difúzní schopnosti helia, který je pro tyto účely přednostně volen, je většina otevřených pórů pro plyn dosažitelná. Hustota jemně rozemletého prášku určená pyknometrem se tedy obecně příliš neliší od hustoty krystalu.
- B. Hustota určená rtuťovým porozimetrem se také nazývá *hustota granule*. Objem určený touto metodou také nezahrnuje příspěvky od uzavřených pórů, u otevřených pórů zahrnuje objem jen od pórů větších, než je určitý limit velikosti. Tento limit velikosti pórů neboli minimální dostupný průměr pórů závisí na maximálním tlaku rtuti potřebném k proniknutí a použitím při měření; za normálních používaných tlaků rtuť neproniká do nejjemnějších pórů dosažitelných pro helium. Pro jeden vzorek mohou být získány různé hustoty granule, protože pro každý použitý tlak rtuti je určena hodnota, odpovídající limitní velikosti pórů při tomto tlaku.

## III. Celková a setřesná hustota

Celková hustota prášku zahrnuje příspěvek volného objemu mezi částicemi. Celková hustota tedy závisí na hustotě částic prášku a na prostorovém uspořádání částic ve vrstvě prášku.

Celkovou hustotu je často velmi obtížné změřit, protože nejmenší porušení vrstvy může mít za následek získání jiné hodnoty. Při uvádění získané hodnoty je tedy nutno specifikovat, jak bylo stanovení provedeno.

- A. Celková hustota je stanovována měřením objemu prášku o známé hmotnosti, který byl prosát sítím do odměrného válce (2.9.15).
- B. Setřesná hustota je získána mechanickým sklepáváním odměrného válce obsahujícího práškový vzorek. Po zaznamenání původního objemu je válec mechanicky sklepáván, dokud jsou pozorovány další malé změny objemu (2.9.15).

### 2.2.43 Hmotnostní spektrometrie



2000

Hmotnostní spektrometrie je metoda založená na přímém měření hodnoty poměru hmotnosti a nábojového čísla ( $m/z$ ) (počtu kladných a záporných iontů v plynné fázi vzniklých po ionizaci analyzované látky). Tento poměr je vyjadřován v atomových hmotnostních jednotkách (1 a.h.j. je jedna dvanáctina atomové hmotnosti izotopu uhlíku  $^{12}\text{C}$ ) nebo v daltonech (1 Da je hmotnost vodíkového atomu).

Ionty produkované v *iontovém zdroji* přístroje jsou akcelerovány, a pak separovány v *analyzátoru* a následně detegovány v detektoru. Veškeré tyto procesy probíhají v uzavřeném prostoru, ve kterém je systémem pump udržováno vakuum  $10^{-3}$  Pa až  $10^{-6}$  Pa.

Ve výsledném hmotnostním spektru je vyneseno relativní nadbytek různých druhů přítomných iontů jako funkce poměru  $m/z$ . Signál příslušející určitému iontu je obvykle reprezentován několika píky odpovídajícími statistickému zastoupení jednotlivých izotopů ve struktuře iontu. Charakteristický soubor izotopických píků tvoří *izotopický profil* charakteristický pro danou strukturu. Pík reprezentující nejvíce zastoupený izotop daného atomu je nazýván *monoizotopický pík*.

Informace získané hmotnostní spektrometrií jsou kvalitativní (určení molekulové hmotnosti, informace o struktuře z pozorovaných fragmentových iontů) nebo kvantitativní (s použitím vnitřních nebo vnějších standardů) s dosahovanými detekčními limity řádu pikomolů až femtomolů.

## Dávkování vzorku

Prvním krokem při analýze je nadávkování vzorku bez přílišného narušení vakua přístroje. Při obecné metodě tzv. *přímého dávkování* je roztok vzorku ve vhodném rozpouštědle s pomocí sondy přímého vstupu vnesen do prostoru iontového zdroje (v křemenném kelímku, na vlákne nebo na kovové destičce). Systém vakuových uzávěrů zajišťuje postupné snižování tlaku při zasouvání sondy, odpaření rozpouštědla mimo prostor iontového zdroje a vylučuje přímou expozici iontového zdroje atmosférickému tlaku.

Jiné způsoby dávkování umožňují s využitím vhodného zařízení vzájemně separovat komponenty vzorku před vstupem do hmotnostního spektrometru:

*Plynová chromatografie/hmotnostní spektrometrie (GC-MS)* - při použití vhodných kapilárních nebo mikronáplňových kolon je možno konec kolony umístit přímo do prostoru iontového zdroje bez nutnosti použití separátoru nosného plynu.

*Kapalinová chromatografie/hmotnostní spektrometrie (LC-MS)* - tato kombinace je obzvláště vhodná pro analýzu polárních, málo těkavých sloučenin a látek tepelně nestálých, které není možno analyzovat kombinací GC-MS. Spojení je komplikováno obtížemi při ionizaci z kapalně fáze. Mezi kapalinový chromatograf a hmotnostní spektrometr je nutno zařadit některé z dále uvedených rozhraní:

- *rozhraní pro přímý vstup kapalin:* mobilní fáze je rozprašena a rozpouštědlo je odpařeno před vstupem do iontového zdroje,
- *rozhraní pro vstup desolvovaného vzorku:* zajišťuje rozprašení mobilní fáze do maximálního průtoku 0,6 ml/min a následné odsušení kapalně fáze v desolvatační komůrce. Vzorek v podobě neutrálních částic vstupuje do vlastního prostoru iontového zdroje. Tato technika je vhodná pro analýzu málo polárních látek s hmotností do 1000 Da,
- *rozhraní s pohybujičím se kovovým páskem:* mobilní fáze se vzorkem, s maximální průtokovou rychlostí do 1 ml/min, je kontinuálně nanášena na smyčku z kovového pásu a přes systém vakuových uzávěrů unášena do prostoru iontového zdroje. Během pohybu dochází k odpaření rozpouštědla a vzorek je unášen do prostoru iontového zdroje, kde je ionizován. Tato metoda není vhodná pro analýzu vysoce polárních a tepelně nestálých látek.

Ostatní typy rozhraní (elektrosprej, termosprej, chemická ionizace za atmosférického tlaku) jsou ve své podstatě ionizačními technikami a jsou dále popsány v odstavci věnovaném způsobům ionizace.

*Chromatografie s nadkritickou fází/hmotnostní spektrometrie (SFC-MS)* - mobilní fáze je většinou tvořena oxidem uhličitým udržovaným při nadkritické teplotě a tlaku. Průchodem přes vyhřívaný restriktor, který je umístěn mezi kolonou a iontovým zdrojem dochází k jejímu převedení do plynně fáze.

*Kapilární elektroforéza/hmotnostní spektrometrie (CE-MS)* - nosný elektrolyt s komponentami vzorku je přes vhodné rozhraní veden do hmotnostního spektrometru. K zajištění účinného transportu analyzovaných látek i při extrémně malých průtocích nosného elektrolytu separační kapilárou (řádu několika mikrolitrů za minutu) je často využíván tok pomocné kapaliny přidávané za výstupem separační kolony. Využitelnost CE-MS je do značné míry limitována velmi malým množstvím dávkovaného vzorku a nutností použití těkavých nosných elektrolytů.

## Způsoby ionizace

*Ionizace nárazem elektronu (EI)* - vzorek převedený do plynně fáze je ionizován proudem elektronů, jejichž kinetická energie (obvykle 70 eV) je vyšší než ionizační energie analyzovaných molekul. Ve spektru je možno kromě molekulárního iontu  $M^+$  pozorovat i ionty fragmentové, které jsou charakteristické pro strukturu pozorovaných molekul. Tato technika EI ionizace je hlavně limitována nutností převedení vzorku do plynně fáze a nehodí se pro látky polární, tepelně nestálé nebo vysokomolekulární. EI ionizace je vhodná pro spojení s plynovou chromatografií/hmotnostní spektrometrií, v některých případech s kapalinovou chromatografií.

*Chemická ionizace (CI)* - tento způsob ionizace využívá pro přenos energie na ionizovanou molekulu vzorku tzv. reakčního plynu (methan, amoniak, oxid dusnatý a dusičitý nebo kyslík). Pro hmotnostní spektrum po chemické ionizaci je v závislosti na použitém reakčním plynu charakteristická přítomnost kvazimolekulárního iontu typu  $(M + H)^+$ ,  $(M - H)^+$ , nebo popřípadě aduktových iontů vznikajících mezi vzorkem a použitým plynem. Ve srovnání s EI ionizací je obecně produkováno méně fragmentových iontů. Pro ionizaci tepelně nestálých látek je využívána varianta desorpční chemické ionizace, kdy vzorek nanesený na žhavené kovové vlákno je velmi rychle odpařen vlivem Joule-Thomsonova jevu.

*Ionizace nárazem urychlených neutrálních atomů a nebo iontů (FAB-fast atom bombardment, LSIMS-liquid secondary ion mass spectrometry)* - vzorek rozpuštěný ve viskózní netěkavé matrici (např. glycerin) je nanesen na kovovou destičku a ionizován proudem urychlených neutrálních atomů (např. argonu, xenonu a nebo cesiových iontů). Při ionizaci vznikají ionty typu  $(M + H)^+$ ,  $(M - H)^+$ , nebo ionty aduktů s vlastním vzorkem nebo matricí. Tento způsob ionizace je

vhodný pro polární a tepelně nestálé látky, umožňuje i ionizaci makromolekul do hmotností asi 10 kDa. Pokud jsou do mobilní fáze přidány 1 % až 2 % glycerolu, je tato technika ionizace kompatibilní s kapalinovou chromatografií. Průtok mobilní fáze musí být velmi nízký, řádově jednotek  $\mu\text{l}/\text{min}$ . Technika FAB ionizace rovněž umožňuje analýzu látek separovaných tenkovrstvou chromatografií přímo na separační destičce, která je po nanesení tenké vrstvy matrice vložena do iontového zdroje.

*Ionizace a desorpce polem (FI, FD)* - vzorek převedený do plynné fáze je ionizován elektrickým polem o vysoké intenzitě v blízkosti wolframové elektrody pokryté mikro Jehličkami (emitoru) (*ionizace polem*) nebo je vzorek nanesen na emitor (*desorpce polem*). K ionizaci vzorku dochází po vložení napětí mezi emitor a protielektrodu (asi 10 kV) přímo z fáze pevné. Techniky FI a FD, produkující především molekulární a kvazimolekulární ionty typu  $M^+$  a  $(M + H)^+$ , jsou využívány pro ionizaci málo polárních a tepelně nestálých látek.

*Ionizace desorpce laserem v přítomnosti matrice (MALDI)* - vzorek ve vhodné matrici je nanesen na kovovou destičku a ionizován zářením pulzního laseru (oblast vlnových délek od UV do IČ, délka trvání pulzu od pikosekund až k nanosekundám). Tento způsob ionizace hraje klíčovou roli při analýze makromolekulárních látek s hmotností až 100 kDa a je používán nejčastěji ve spojení s průletovými hmotnostními analyzátory (TOF).

*Elektrosprej (ES)* - ionizace probíhá za atmosférického tlaku. Vzorky v roztoku jsou přiváděny do iontového zdroje kovovou kapilárou na jejíž konec je vloženo napětí asi 5 kV. Kapalina je rozprášena vlivem nehomogenního elektrického pole, vytvořený sprej je rychle desolvován protiproudem horkého inertního plynu. Látky disociované v roztoku přecházejí v iontové formě přímo do plynné fáze. V závislosti na povaze analyzovaných látek jsou produkovány jednou a nebo vícenásobně nabitě ionty. Průtoková rychlost kapalně fáze přicházející do elektrospreje se pohybuje v rozmezí několika  $\mu\text{l}/\text{min}$  až 1 ml/min. Tato technika ionizace je vhodná pro analýzu polárních, vysokomolekulárních látek do molekulových hmotností až 100 kDa. Může být spojena s kapalinovou chromatografií nebo kapilární elektroforézou.

*Chemická ionizace za atmosférického tlaku (APCI)* - vzorek v kapalně fázi je rozprášen rychlým ohřevem a proudem inertního plynu. Ionizace probíhá za atmosférického tlaku působením dostatečně intenzivního elektrického pole v okolí elektrody udržované na potenciálu několika kV a vystavené proudu spreje. Produkované ionty jsou většinou jednou nabitě, typu  $(M + H)^+$ ,  $(M - H)^-$  v závislosti na podmínkách ionizace. Průtoková rychlost kapalně fáze může dosahovat až 2 ml/min, proto je technika ionizace ideální pro spojení s kapalinovou chromatografií.

*Termosprej (TS)* - Vzorek v mobilní fázi obsahující vodu, organické rozpouštědlo a těkavý elektrolyt (nejčastěji octan amonný) je rozprášen průchodem kovovou kapilárou za kontrolované teploty, jejíž konec je zahříván na teplotu nad bodem varu kapalných složek roztoku. K vlastní ionizaci dochází při desolvataci vytvořeného spreje kombinovaným působením povrchového elektrostatického náboje a přítomného elektrolytu. Přijatelná průtoková rychlost kapalně fáze přicházející do termospreje se může pohybovat v rozmezí 1 ml/min až 2 ml/min. Ionty elektrolytu ionizují analyzované složky. V případě čistě organického rozpouštědla může být produkce iontů nahrazena nebo podpořena působením elektrického výboje asi 800 V. Tato technika ionizace je kompatibilní ve spojení s kapalinovou chromatografií/hmotnostní spektrometrií.

## Analyzátory

Rozdíly v účinnosti hmotnostních analyzátorů jsou v zásadě dány dvěma parametry:

- rozsahem, ve kterém mohou být měřeny poměry  $m/z$ , tj. *hmotnostním rozsahem*,
- rozlišovací schopností, definovanou pro separaci dvou iontů stejné intenzity, poskytující píky s 10% překrytím, s poměry  $m/z$  lišícími se o  $\Delta M$ , např. rozlišovací schopnost ( $M/\Delta M$ ) je 1000 s 10% překrytím, umožní rozdělit poměry  $m/z$  na 1000 a 1001 s 10% odezvou nad základní linií. Ostatně, v řadě případů (např. v kvadrupolových analyzátoch, průletových analyzátoch a iontových pastí) je rozlišovací schopnost často definována podílem molekulové hmotnosti iontu pozorovaného píku a jeho šířky v polovině jeho výšky.

*Magnetické a elektrostatické analyzátory* - ionty produkované v iontovém zdroji jsou urychlovány napětím  $V$  a (v závislosti na konfiguraci přístroje) fokusovány na vstup magnetického analyzátoru (magnetická indukce  $B$ ) nebo elektrostatického analyzátoru (elektrostatické pole  $E$ ). V magnetickém poli ionty opisují dráhu o poloměru  $r$  danou Laplaceovou rovnicí:

$$m/z = \frac{B^2 r^2}{2V}.$$

Aby ionty rozdílné hmotnosti dopadly na fixní místo na detektoru, je nutno v průběhu měření periodicky měnit (skenovat) hodnoty  $B$  a nebo  $V$ . Obvyklé je skenování  $B$  při konstantní hodnotě  $V$  a nebo skenování  $V$  při konstantní

hodnotě  $B$ . Za magnetickým analyzátozem je obvykle umístěn elektrostatický analyzátor (elektrický sektor), který disperguje svazek procházejících iontů podle kinetických energií a umožňuje tím podstatně zvýšit rozlišovací schopnost přístroje. Maximální rozlišení takto uspořádaného přístroje (tzv. dvousektorového) dosahuje hodnot 10 000 až 150 000 a v mnoha případech umožňuje stanovení hodnoty poměrů ( $m/z$ ) s dostatečnou přesností určit elementární složení pozorovaných iontů. Maximální analyzovatelná hmotnost jednoduše nabitých iontů dosahuje hodnot v rozmezí 2 kDa až 15 kDa. Některé ionty se mohou spontánně (netastabilní přechody) nebo zprostředkovaně (kolizemi s molekulami plynné látky v tzv. kolizní cele (kolizně aktivovaná disociace - CAD) rozpadat v prostorech bez vlivu elektrického a magnetického pole mezi zdrojem iontů a detektorem. Pozorování těchto rozpadů je velmi užitečné pro určení struktury látky, stejně tak pro charakterizaci specifické složky ve směsi bez předchozího dělení. Studium tohoto typu rozpadu je často realizováno s pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie. Existuje několik technik v závislosti na místě rozpadu:

- *mód dceřinných iontů* (určení fragmentačních cest vybraného tzv. rodičovského iontu):

$B/E$  je konstantní, (*MIKES - Mass-analysed Ion Kinetic spectroscopy*),

- *mód rodičovských iontů* (určení všech iontů, které při svém rozpadu poskytnou ion o specifickém poměru  $m/z$ ):  $B^2/E$  je konstantní,

- *mód neutrálních ztrát* (detekce všech iontů odštěpujících stejný neutrální fragment):

$B/E(1-E/E_0)^{1/2}$  je konstantní, v němž  $E_0$  je základní napětí vkládané na elektrický sektor.

*Kvadrupolové filtry* - jsou tvořeny čtyřmi paralelními kovovými tyčemi kruhového nebo hyperbolického průřezu. Jsou uspořádány symetricky vzhledem k trajektorii procházejících iontů, tyče orientované proti sobě jsou elektricky propojené. Potenciály vkládané na oba protější páry jsou opačné a sestávají ze stejnosměrné a střídavé složky. Ionty různých hmotností produkované v iontovém zdroji jsou postupně propouštěny přes kvadrupol změnou velikosti vkládaných napětí (poměr stejnosměrné a střídavé složky zůstává konstantní). Běžný rozsah hmotností analyzovatelných iontů leží v rozsahu 1 až 2000 a.h.j., v závislosti na provedení může dosahovat maximální hodnoty až 4000 a.h.j. Kvadrupolový filtr dosahuje obecně nižší rozlišovací schopnosti než magnetický analyzátor, přesto však je možno získat monoizotopický profil jednoduše nabitých iontů v celém hmotnostním rozsahu. Kvadrupolové filtry je možno kombinovat a získat přístroje typu tandemových hmotnostních spektrometrů, kde jsou v sérii zařazeny tři kvadrupoly  $Q_1$ ,  $Q_2$  a  $Q_3$  ( $Q_2$  slouží jako kolizní cela a není pravým analyzátozem, nejčastěji používaným kolizním plynem je argon).

Nejběžnější způsoby skenování trojitého kvadrupolového přístroje jsou:

- *mód dceřinných iontů*:  $Q_1$  propouští vybraný rodičovský ion, který fragmentuje v kolizní cele  $Q_2$ . Produkty rozpadu (dceřinné ionty) jsou analyzovány v  $Q_3$ .

- *mód rodičovských iontů*:  $Q_3$  propouští pouze ion o vybraném  $m/z$ , neboť  $Q_1$  skenuje daný hmotnostní rozsah. Pouze ionty rozpadající se na vybraný fragment jsou detegovány.

- *mód neutrálních ztrát*:  $Q_1$  a  $Q_3$  jsou skenovány přes určitý hmotnostní rozsah s posunem odpovídajícím hmotnostní diferencí při odštěpení vybraného neutrálního fragmentu charakteristického pro produkt nebo pro určitou třídu látek.

Hmotnostní spektra je možno získat i s pomocí přístrojů kombinujících kvadrupolové filtry s magnetickými analyzátozem nebo elektrostatickými sektory. Tyto přístroje označujeme jako *hybridní hmotnostní spektrometry*.

*Iontová past* - je funkční obdobou kvadrupolových filtrů s vytvářeným uzavřeným elektrostatickým polem. Iontová past umožňuje získat trojrozměrná spektra iontových produktů přes několik generací dceřinných iontů ( $MS^n$ ).

*Ion-cyklotronová rezonance (ICR)* - ionty vystavené homogennímu magnetickému poli o dostatečně velké intenzitě, se pohybují po uzavřených kruhových drahách. Jejich úhlovým rychlostem je možno s využitím algoritmu Fourierovy transformace přiřadit příslušné hodnoty  $m/z$ . Tento jev se nazývá ioncyklotronová rezonance. Analyzátozem tohoto druhu tvořené supravodivými magnety dosahují extrémně vysoké rozlišovací schopnosti (do 1 000 000 a výše) a umožňují provádět experimenty ( $MS^n$ ). Zásadním požadavkem funkce ICR analyzátozem je velmi nízké vakuum řádu  $10^{-7}$  Pa.

*Průletové analyzátozem (TOF)* - ionty produkované v iontovém zdroji jsou akcelerovány napětím  $V$  v rozsahu 10 kV až 20 kV. Pak procházejí analyzátozem tvořeným tzv. *letovou trubicí* o délce 25 cm až 150 cm bez vlivu elektrického a magnetického pole. Doba průletu  $t$  iontu letovou trubicí k detektoru je přímo úměrná odmocnině z poměru  $m/z$ . Teoreticky je hmotnostní rozsah TOF analyzátozem neomezený, praktické limitace jsou dány typem použitého iontového zdroje (metodou ionizace nebo desorpce). TOF analyzátozem jsou využívány zejména při analýze makromolekulárních látek do hmotnosti až několika set kDa. Hmotnostní spektrometry využívající TOF analyzátozem jsou velmi citlivé (pro analýzu jsou postačující množství řádově jednotek pikomolů). Přesnost měření a dosažitelné rozlišení je možno výrazně zvýšit použitím elektrostatického zrcadla (reflektronu).

## Sběr dat

V zásadě existují tři způsoby získávání dat.

*Mód kompletního spektra* - je zaznamenáván veškerý signál získaný ve zvoleném rozsahu hodnot  $m/z$ . Hmotnostní spektrum zobrazuje relativní intenzity různých druhů iontů jako funkci  $m/z$ . Získané výsledky jsou v zásadě kvalitativní. Pro rychlou identifikaci struktury reprezentované získaným hmotnostním spektrem je možno využít počítačového porovnání s referenčními knihovnamí spekter.

*Fragmentometrický mód* [monitorování vybraného iontu - SIM (single-ion monitoring), monitorování více vybraných iontů - MIM (multiple-ion monitoring)] - je zpracován pouze signál příslušející iontu o vybraném  $m/z$ , popřípadě několika vybraným iontům charakteristickým pro zkoušenou látku. S využitím tohoto způsobu sběru dat, využívaného často pro účely kvantitativní analýzy, je možno podstatně snížit detekční limit metody. Kvantitativní nebo semikvantitativní stanovení je možno provádět s použitím interních a externích standardů (např. deuterovaných standardů). Tento typ měření není možno provádět s TOF analyzátoři.

*Fragmentometrický MS-MS mód* (multiple reaction monitoring-MRM) – je možno specificky sledovat unimolekulární nebo bimolekulární rozpad iontů vybraného prekurzorového iontu charakteristického pro analyzovanou látku. Díky vysoké selektivitě, specifčnosti a citlivosti je tento mód mimořádně vhodný pro kvantitativní studie s použitím vhodných vnitřních standardů (např. deuterovaných standardů). Tento druh analýz je možno provádět pouze na tandemových hmotnostních spektrometrech, přístrojích s iontovou pastí nebo ICR analyzátořem.

## Kalibrace

Kalibrace umožňuje přiřadit detegovanému signálu správnou hodnotu  $m/z$ . Obecně se kalibrace provádí s pomocí vhodné porovnávací látky. Je možno provádět kalibraci externí (odděleně od vlastního měření) nebo interní (kdy je porovnávací látka přidána přímo do analyzovaného vzorku). Počet iontů nebo bodů nutných pro spolehlivou kalibraci závisí na druhu použitého analyzátoru a na požadované přesnosti měření. Např. v případě magnetických analyzátorů, kdy hodnota  $m/z$  závisí exponenciálně na magnetické indukci, je nutno kalibrovat na maximální počet bodů.

## Detekce signálu a zpracování výsledků

Ionty separované v analyzátoru, fokusované na detektor typu fotonásobiče a nebo elektronásobiče, poskytují elektrický signál úměrný jejich dopadajícímu počtu. Signál je dále zesílen, digitalizován a zpracován v počítači. S pomocí vhodného programového vybavení jsou kromě sběru dat zajištěny další nezbytné funkce, jako je kalibrace, rekonstrukce spekter, automatická kvantifikace, archivování a strojové vyhodnocení spekter. Počítač kontroluje i důležité parametry související s chodem a nastavením hmotnostního spektrometru.

### 2.2.44 Celkový obsah organického uhlíku ve vodě pro farmaceutické použití<sup>1)</sup>



RZ2000

Stanovení celkového obsahu organického uhlíku je nepřímým měřítkem organických sloučenin obsažených ve vodě pro farmaceutické použití. Stanovení celkového obsahu organického uhlíku může být použito také pro kontrolu provádění různých operací při přípravě léčivých přípravků.

Pro stanovení celkového obsahu organického uhlíku je dostupná řada vhodných metod. Tato obecná stať nepředpisuje danou metodu, která má být použita, ale popisuje postupy používané pro kvalifikaci zvolené metody a interpretaci výsledků u limitních zkoušek. Porovnávací roztok je analyzován ve vhodných intervalech v závislosti na četnosti měření; pro přípravu tohoto roztoku je použita látka, u níž se předpokládá, že je snadno oxidovatelná (např. sacharosa) při koncentraci nastavené tak, aby odezva přístroje odpovídala limitu celkového obsahu organického uhlíku, který má být měřen. Pro stanovení způsobilosti systému je analyzován roztok látky, u níž se předpokládá, že je obtížně oxidovatelná (např. 1,4-benzochinon).

Společné pro různé typy přístrojů, které jsou používány pro měření celkového obsahu organického uhlíku ve vodě pro farmaceutické použití, je to, že se v nich dosahuje úplné oxidace organických molekul ve vzorku vody za vzniku oxidu uhličitého, jehož množství je následně změřeno a výsledek je použit pro výpočet koncentrace uhlíku ve vodě.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 11, 1, 49 (1999). Závazné od 1. 7. 1999

Použitý přístroj musí rozlišit organický uhlík a anorganický uhlík později přítomný jako uhličitán. Tohoto rozlišení může být dosaženo buď změřením anorganického uhlíku a odečtením od celkového uhlíku, nebo odstraněním anorganického uhlíku ze vzorku před oxidací. Při odstraňování anorganického uhlíku mohou být strženy i organické molekuly, ale takovými organický uhlík je ve vodě pro farmaceutické použití přítomen v zanedbatelném množství.

*Přístroj.* Použije se kalibrovaný přístroj instalovaný buď v přímém spojení, nebo odděleně. Ověří se způsobilost systému ve vhodných intervalech, jak je popsáno dále. Přístroj musí mít mez detekce udávanou výrobcem nejméně 0,05 mg uhlíku v litru.

*COU voda* (voda pro stanovení celkového obsahu organického uhlíku). Použije se vysoce čištěná voda splňující následující požadavky:

- vodivost: nejvýše 1,0  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  při 25 °C,
- celkový organický uhlík: nejvýše 0,1 mg/l.

Podle typu použitých přístrojů, obsah těžkých kovů a mědi může být kritický. Je proto třeba dodržovat pokyny výrobce přístroje.

*Příprava skleněného nádobí.* Použije se skleněné nádoby, z něhož byly velice pečlivě odstraněny organické látky. Pro konečné opláchnutí se použije COU voda.

*Porovnávací roztok.* *Sacharosa R* se suší 3 h při 105 °C a pak se rozpustí v COU vodě tak, aby získaný roztok obsahoval 1,19 mg sacharosy v litru (0,50 mg uhlíku v litru).

*Zkoušený roztok.* Voda, která má být zkoušena, se při řádném dodržování opatření zabraňujících znečištění shromáždí ve vzduchotěsné nádobě, přičemž zbývající prázdný prostor v nádobě musí být co nejmenší. Zkouška se provede co nejdříve, aby se snížilo znečištění vody z nádoby a z závěru na minimum.

*Roztok pro způsobilost systému.* *1,4-benzochinon R* se rozpustí v COU vodě tak, aby získaný roztok obsahoval 0,75 mg 1,4-benzochinonu v litru (0,50 mg uhlíku v litru).

*COU voda pro kontrolu.* Použije se COU voda získaná současně s vodou použitou pro přípravu porovnávacího roztoku a roztoku pro způsobilost systému.

*Kontrolní roztoky.* Kromě COU vody pro kontrolu, se připraví vhodné kontrolní roztoky pro nulování přístroje nebo další roztoky potřebné pro stanovení základní linie nebo pro nastavení kalibrace podle pokynů výrobce; provede se slepá zkouška pro nastavení nulové polohy přístroje.

*Způsobilost systému.* Provede se měření s následujícími roztoky a zaznamenají se odezvy. Vypočítá se účinnost odezvy v procentech za použití výrazu:

$$\frac{r_{ss} - r_w}{r_s - r_w} \cdot 100,$$

v němž značí:

$r_w$  - COU voda,

$r_s$  - porovnávací roztok,

$r_{ss}$  - roztok pro způsobilost systému.

Systém je způsobilý, jestliže účinnost odezvy je 85 % až 115 % teoretické odezvy.

*Pracovní postup.* Provede se měření se zkoušeným roztokem a zaznamená se odezva ( $r_u$ ). Zkoušený roztok vyhovuje zkoušce, jestliže  $r_u$  není větší než  $r_s - r_w$ .

Tato metoda může být použita také u přímo spojeného přístrojového systému, který byl patřičně kalibrován a u něhož byla ověřena způsobilost systému. Umístění přístroje musí být zvoleno tak, aby bylo zajištěno, že odezvy jsou charakteristické pro použitou vodu.

4. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.4 Limitní zkoušky, se kapitola 2.4.20 Antioxidanty v mastných olejích zrušuje.

5. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.4 Limitní zkoušky, kapitola 2.4.22 zní:

”

#### 2.4.22 Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií



Cizí oleje se stanoví jako methylestery mastných kyselin přítomných ve zkoušených olejích. Pokud není v příslušném článku uvedeno jinak, použije se metoda A.

##### Metoda A

*Tato metoda není použitelná pro oleje obsahující acylglyceroly mastných kyselin epoxy-, hydroepoxy-, cyklopropyl- nebo 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 jedné z tabulek 2.4.22 se připraví 0,50 g směsi kalibračních látek tak, jak je předepsáno v příslušném článku (nezmiňuje-li se článek o určitém roztoku, použije se složení popsané v tab. 2.4.22-1). 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  $\mu$ m až 200  $\mu$ m) 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 dáována 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[(kvanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxanu R* nebo *makrogolu 20 000 R* (tloušťky 0,1  $\mu$ m až 0,5  $\mu$ m) nebo jinou vhodnou stacionární fází,
- *heliumu 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  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla 50 % až 70 % celé stupnice zapisovače.

Určí se retenční časy jednotlivých mastných kyselin. Nastříkne se 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a zkontroluje se poměr signálu k šumu pro pík odpovídající methylmyristatu.

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

Použije-li se kalibrační směs 1 nebo 3, 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 nejméně 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 nejméně 1,8 pro kapilární kolony; na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je poměr signálu k šumu (2.2.28) pro pík odpovídající methylmyristatu nejméně 5.

Použije-li se kalibrační směs 2, zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je počet teoretických pater ( $n$ ) (2.2.28), počítáno pro pík odpovídající methyldekanoatu, nejméně 1500 pro náplňové kolony a nejméně 15 000 pro kapilární kolony; na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení ( $R_s$ ) (2.2.28) mezi píky odpovídajícími methyloktanoatu a methyldekanoatu nejméně 2 pro náplňové a nejméně 4 pro kapilární kolony; na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je poměr signálu k šumu (2.2.28) pro pík odpovídající methylhexanoatu nejméně 5.

### 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 roztoky a informací v tabulce 2.4.22-1:

- a) za izotermických podmínek vynesení logaritmu redukovaných 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 redukovaných 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 vynesení retenčních časů jako funkce počtu uhlíkových atomů mastných kyselin; určení totožnosti se provede pomocí kalibrační křivky.

**Kvantitativní analýza.** Používá se obvyklý postup (metoda normalizace), při kterém součet ploch všech píků na chromatogramu, kromě píku rozpouštědla, je brán jako 100 %. Doporučuje se použití elektronického integrátoru. Obsah složky se vypočítá jako procentuální podíl plochy odpovídajícího píku z celkového součtu ploch všech píků. Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05 % celkové plochy.

V některých případech, např. v přítomnosti mastných kyselin s 12 nebo méně uhlíkovými atomy, mohou být v jednotlivém článku předepsány korekční faktory převodu ploch píků na procenta.

### Metoda B

*Tato metoda není použitelná pro oleje obsahující acylglyceroly mastných kyselin s epoxy-, hydroepoxy-, cyklopropyl- a cyklopropenylovými skupinami nebo oleje s číslem kyselosti vyšším než 2,0.*

**Zkoušený roztok.** Naváží se 0,100 g zkoušeného oleje do 10ml centrifugační zkumavky se šroubovacím uzávěrem. Rozpusť se v 1 ml heptanu *R* a 1 ml dimethylkarbonatu *R* a opatrně se míchá za mírného zahřívání (50 °C až 60 °C). Ještě za tepla se přidá 1 ml roztoku sodíku *R* (12 g/l) v methanolu bezvodém *R*, který se připraví opatrně a intenzivně se míchá asi 5 min. Přidají se 3 ml vody destilované *R* a intenzivně se míchá asi 30 s. Zkumavka se odstředí 15 min při 1500  $g_n$ . Nastříkne se 1  $\mu$ l organické fáze.

**Porovnávací roztoky a vyhodnocení chromatogramů.** Pokud není v článku uvedeno jinak, použije se postup uvedený v metodě A.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm se stěnou pokrytou vrstvou makroglu 20 000 *R* (tloušťka filmu 0,25  $\mu$ m),
- helia pro chromatografii *R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,9 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,



- injektorové smyčky (1/100),  
s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 15	100	-	izotermicky
	15 - 36	100 → 225	10	lineární gradient
	36 - 61	225	-	izotermicky
nástřikový prostor		250		
detektor		250		

### Metoda C

Tato metoda není použitelná pro oleje obsahující acylglyceroly mastných kyselin s epoxy-, hydroperoxy-, aldehyd-, keton-, cyklopropyl- a cyklopropenylovými skupinami a konjugovanými polyneenasycenými nebo acetylenovými skupinami, protože dochází k částečnému nebo celkovému rozpadu těchto skupin.

Zkoušený roztok. V 25ml kuželové baňce se rozpustí 0,10 g zkoušeného oleje ve 2 ml roztoku hydroxidu draselného R (20 g/l) v methanolu R a vaří se 30 min pod zpětným chladičem. Zpětným chladičem se přidají 2,0 ml fluoridu boritého v methanolu RS, vaří se 30 min a pak se přidají 4 ml heptanu R a vaří se 5 min. Baňka se ochladí, přidá se 10,0 ml nasyceného roztoku chloridu sodného R, míchá se asi 15 s a přidá se takové množství nasyceného roztoku chloridu sodného R, aby vrchní vrstva vystoupila k hrdlu baňky. Z vrchní vrstvy se odeberou 2 ml a promyjí se třikrát 2 ml vody R a vysuší se síranem sodným bezvodým R.

Porovnávací roztoky a vyhodnocení chromatogramů. Pokud není v článku uvedeno jinak, použije se postup uvedený v metodě A.

Tab. 2.4.22-1 Kalibrační látky\*

Směs následujících látek	Ekvivalentní délka řetězce**		Složení v %	
	(1)	(2)	Izotermické podmínky	Lineární teplotní program
<i>methyllaurat R</i>	12,0	12,0	5	10
<i>methylmyristat R</i>	14,0	14,0	5	15
<i>methylpalmitat R</i>	16,0	16,0	10	15
<i>methylstearat R</i>	18,0	18,0	20	20
<i>methylarachidat R</i>	20,0	20,0	40	20
<i>methyloleat R</i>	18,6	18,3	20	20

Tab. 2.4.22-2 Kalibrační látky\*

Směs následujících látek	Ekvivalentní délka řetězce**		Složení v %	
	(1)	(2)	Izotermické podmínky	Lineární teplotní program
<i>methylhexanoat R</i>	6,0	6,0	5	10
<i>methyloktanoat R</i>	8,0	8,0	5	35
<i>methyldekanoat R</i>	10,0	10,0	10	35
<i>methyllaurat R</i>	12,0	12,0	20	10
<i>methylmyristat R</i>	14,0	14,0	40	10

Tab. 2.4.22-3 Kalibrační látky\*

Směs následujících látek	Ekvivalentní délka řetězce**		Složení v %	
	(1)	(2)	Izotermické podmínky	Lineární teplotní program
<i>methylymyristat R</i>	14,0	14,0	5	15
<i>methylypalmitat R</i>	16,0	16,0	10	15
<i>methylystearat R</i>	18,0	18,0	15	20
<i>methylyarachidat R</i>	20,0	20,0	20	15
<i>methylyoleat R</i>	18,6	18,3	20	15
<i>methylykosenoat R</i>	20,2	20,2	10	10
<i>methylybehenat R</i>	22,0	22,0	10	5
<i>methylylignocerat R</i>	24,0	24,0	10	5

\* 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* (1) a pro kolonu s *makrogolem 20 000 R* (2).

“

6. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.4 Limitní zkoušky se za kapitolu 2.4.26 doplňují kapitoly 2.4.27 a 2.4.28, které znějí:

”

#### 2.4.27 Nikl v hydrogenovaných rostlinných olejích

2000



Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Upozornění: Při použití mikrovlnného rozkladu za zvýšeného tlaku v uzavřeném systému je třeba dodržovat návod a bezpečnostní předpisy výrobce.*

*Zkoušený roztok.* 0,100 g (*m*) se naváží do nádobky pro vysokotlaký mikrovlnný rozklad (fluoropolymer nebo křemenné sklo), přidá se 6,0 ml *kyseliny dusičné R* a 2,0 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Stejným způsobem se připraví roztok pro slepou zkoušku. Uzavřené nádobky se vloží do laboratorní mikrovlnné pícky. Pro rozklad se použije vhodný program, např. 250 W po dobu 10 min; 600 W po dobu 5 min; 400 W po dobu 5 min; 250 W po dobu 7 min. Před otevřením se digesční nádobky nechají ochladit. Obsah nádobek se kvantitativně převede do odměrných baněk, zředí se *vodou R* na 25,0 ml a promíchá se.

*Porovnávací roztoky.* K 10,0 ml základního roztoku niklu (10 µg Ni/ml) se přidá 1,0 ml *kyseliny dusičné R*, 2,0 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R* a zředí se *vodou R* na 20,0 ml. Do čtyř odměrných baněk se vnese 20 µl, 50 µl, 100 µl a 150 µl tohoto roztoku, do každé baňky se přidá 6,0 ml *kyseliny dusičné R*, zředí se *vodou R* na 25,0 ml a opět se promíchá. Získají se porovnávací roztoky obsahující: 4 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml a 30 ng/ml niklu.

*Nulový roztok.* 6,0 ml *kyseliny dusičné R* se přidá do *vody R* a zředí se jí na 25,0 ml.

*Postup.* Připraví se směsi objemových dílů roztoku *dusičnanu hořečnatého R* (5,0 g/l) a kontrolního roztoku získaného při slepé zkoušce (1 + 2); roztoku *dusičnanu hořečnatého R* (5,0 g/l) a zkoušeného roztoku (1 + 2); roztoku *dusičnanu hořečnatého R* (5,0 g/l) a porovnávacích roztoků (1 + 2); roztoku *dusičnanu hořečnatého R* (5,0 g/l) a nulového roztoku (1 + 2).

Stanoví se absorbance všech roztoků při 232,0 nm za použití vhodného atomového absorpčního spektrometru s grafitovým atomizátorem (pecí), vybaveného systémem kompenzace pozadí Zeemanovým jevem, pyrolyticky potaže-

nou trubičkou s ploškou a niklovou lampou s dutou katodou. Teplota pece se 10 s udržuje na 100 °C, pak se 10 s zvyšuje na 1400 °C (spalovací teplotu), při níž se udržuje 10 s, potom se teplota 20 s zvyšuje na 2500 °C (teplota atomizace), při níž se udržuje 5 s. Pomocí nulového roztoku se nastaví nula přístroje. Z hodnot pro porovnávací roztoky se stanoví kalibrační křivka. Při použití vnější kalibrace se stanoví koncentrace zkoušeného roztoku a kontrolního roztoku získaného při slepé zkoušce z odpovídajících absorbancí. V případě potřeby se zředí nulovým roztokem tak, aby se získala hodnota v kalibrovaném rozsahu absorbance (zředovací faktor  $f$ ).

Obsah niklu v  $\mu\text{g/g}$  se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{c \cdot f}{m \cdot 40},$$

v němž značí:

$c$  - změřenou koncentraci v nanogramech v mililitru,

$f$  - zředovací faktor,

$m$  - navážku zkoušené látky v gramech.

#### 2.4.28 Kyselina 2-ethylhexanová



2000

Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití kyseliny 3-cyklohexylpropionové R jako vnitřního standardu. Roztok vnitřního standardu. 100 mg kyseliny 3-cyklohexylpropionové R se rozpustí v cyklohexanu R a zředí se jím na 100 ml.

Zkoušený roztok. K 0,300 g zkoušené látky se přidají 4,0 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové R 33% (V/V) a silně se dvakrát 1 min třepe, vždy s 1,0 ml roztoku vnitřního standardu. Fáze se nechají oddělit (je-li nezbytné, použije se k lepšímu oddělení odstředování). Použijí se spojené horní vrstvy.

Porovnávací roztok. 75,0 mg kyseliny 2-ethylhexanové R se rozpustí v roztoku vnitřního standardu a zředí se jím na 50,0 ml. K 1,0 ml roztoku se přidají 4,0 ml roztoku kyseliny chlorovodíkové R 33% (V/V) a 1 min se silně třepe. Fáze se nechají oddělit (je-li nezbytné, použije se k lepšímu oddělení odstředování). Ke spodní vrstvě se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a silně se 1 min třepe. Fáze se nechají oddělit (je-li nezbytné, použije se k lepšímu oddělení odstředování). Použijí se spojené horní vrstvy.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 10 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou makrogolem 20 000 2-nitrotetrafalatem R (tloušťka vrstvy je 1,0  $\mu\text{m}$ ),
  - helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 10 ml/min,
  - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 2 2 - 7,3 7,3 - 10,3	40 40 → 200 200	30	izotermicky lineární gradient izotermicky
nástříkový prostor detektor		200 300		

Nastříkne se 1  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 1  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími kyselině 2-ethylhexanové (první pík) a vnitřnímu standardu není menší než 2,0.

Obsah kyseliny 2-ethylhexanové v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A_T \cdot I_R \cdot m_R \cdot 2}{A_R \cdot I_T \cdot m_T},$$

v němž značí:

- $A_T$  - plochu píku kyseliny 2-ethylhexanové na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $A_R$  - plochu píku kyseliny 2-ethylhexanové na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $I_T$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu zkoušeného roztoku,  
 $I_R$  - plochu píku vnitřního standardu na chromatogramu porovnávacího roztoku,  
 $m_T$  - hmotnost zkoušené látky v gramech ve zkoušeném roztoku,  
 $m_R$  - hmotnost kyseliny 2-ethylhexanové v gramech v porovnávacím roztoku.

“

7. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.5 Stanovení obsahu, kapitola 2.5.6 zní:

”

### 2.5.6 Číslo zmýdelnění

2000



Číslo zmýdelnění  $I_S$  udává množství hydroxidu draselného v miligramech, potřebné k neutralizaci volných kyselin a ke zmýdelnění esterů obsažených v 1 g látky.

Není-li uvedeno jinak, pro stanovení se použijí množství uvedená v tabulce 2.5.6-1.

Předpokládaná hodnota $I_S$	Množství vzorku v gramech
3 – 10	12 – 15
10 – 40	8 – 12
40 – 60	5 – 8
60 – 100	3 – 5
100 – 200	2,5 – 3
200 – 300	1 – 2
300 – 400	0,5 – 1

Předepsané množství zkoušené látky ( $m$  g) se převede do 250ml baňky z borokřemičitého skla a přidá se 25,0 ml hydroxidu draselného v lihu 0,5 mol/l VS a několik skleněných kuliček. Připojí se zpětný chladič a vaří se 30 min, pokud není předepsáno jinak. Potom se přidá 1 ml fenolftaleinu RSI a ihned se titruje kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS. Současně se za stejných podmínek provede slepá zkouška.

Číslo zmýdelnění se vypočte podle vzorce:

$$I_S = \frac{28,05 \cdot (n_2 - n_1)}{m},$$

v němž značí:

- $n_1$  - spotřebu kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS při titraci v ml,  
 $n_2$  - spotřebu kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS při slepé zkoušce v ml,  
 $m$  - navážku zkoušené látky v gramech.

“

8. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.6 Biologické metody, kapitola 2.6.12 a kapitola 2.6.13 znějí:

”

### 2.6.12 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (celkový počet živých mikroorganismů)



2000

Dále popsaná zkouška umožňuje kvantitativně spočítat mezofilní bakterie a houby, 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, neutralizují se přiměřeným způsobem. Používají-li se k tomuto účelu inaktivující látky, prokáže se jejich účinnost 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 se statí (5.1.3) nebo (5.1.4) se může použít metoda zalévání do agaru, metoda očkování na povrch agarové pudy 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, jejichž homogenita může být 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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0 nebo v jiné vhodné tekutině. Obecně se připraví ředění 1 : 10, ale vlastnosti výrobku nebo požadovaná citlivost mohou vyžadovat použití jiných poměrů. 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.

*Nelipofilní výrobky nerozpustné ve vodě.* 10 g nebo 10 ml zkoušeného výrobku se suspenduje v tlumivém roztoku s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0 nebo jiné vhodné tekutině. Obecně se připraví suspenze ředěním 1 : 10, 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 je-li třeba, udržuje se při této teplotě na vodní lázni nebo v termostatu. K přípravě ředění 1 : 10 původního výrobku se přidá dostatečné množství předeřátého tlumivého roztoku s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0. 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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0 obsahujícího vhodnou koncentraci sterilního polysorbátu 80 nebo jiné povrchově aktivní látky.

**Transdermální náplasti.** Sterilní pinzetou se z deseti transdermálních náplastí odstraní ochranná fólie a náplasti se položí na sterilní sklo nebo podnos z plastu tak, aby adhezivní vrstva byla nahoře. Lepivý povrch se pokryje sterilní gázou (nebo tkaným filtrem typu mřížky z polymerního monofilu), je-li to nutné, a deset náplastí se přenesou do nejméně 500 ml tlumivého roztoku s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0 obsahujícího vhodnou inaktivační látku, jako je polysorbát 80 a/nebo lecitin. Nejméně 30 min se silně protřepává (přípravek A). Stejným způsobem se připraví deset náplastí, vloží se do nejméně 500 ml tekuté půdy D a silně se protřepává 30 min (přípravek B).

## Zkoušení vzorku

### Membránová filtrace

Použijí se membránové filtry s nominální velikostí pórů nejvýše 0,45 µm a jejichž účinnost zadržet bakterie byla ověřena. Typ materiálu filtru se vybere tak, aby tato účinnost nebyla ovlivněna složkami zkoušeného vzorku. Filtry z dusičnanů celulosy se např. používají pro vodné, olejové a slabé lihové roztoky a filtry z octanu celulosy se např. používají pro silné 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), přenesou se 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 s chloridem sodným a 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 přenesou na povrch vhodné agarové půdy, jako je agarová půda B, a druhý určený především pro počítání hub se přenesou 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 dřívě. Vyberou se misky s nejvyšším počtem kolonií, který však nepřesahuje 100, a vypočítá se počet jednotek vytvářejících kolonie v gramu nebo mililitru výrobku.

Při zkoušce transdermálních náplastí se odděleně filtruje po 50 ml přípravku A přes dva sterilní membránové filtry. Jeden filtr se přenesou na agarovou půdu B ke stanovení celkového počtu aerobních mikroorganismů, druhý filtr na agarovou půdu C ke stanovení počtu hub.

### Počítání na pevných půdách

#### a) 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 rozeřáté agarové půdy vhodné pro kultivaci bakterií (jako např. agarová půda B) nebo rozeřáté agarové půdy vhodné pro kultivaci hub (jako např. agarová půda C). Půdy se rozeřívají při teplotě, která nepřesahuje 45 °C. Použijí-li se větší Petriho misky, zvětší se příslušně i množství agarů. S každou živnou půdou a s každým zředěním se připraví nejméně dvě Petriho misky. Misky s půdou pro bakterie 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.

#### b) 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) rozeřáté při asi 45 °C a nechá se ztuhnout. Používají-li se větší Petriho misky, použije se přiměřeně větší množství živné půdy. Povrch půd se nechá zaschnout, např. ve skříní s laminárním prouděním vzduchu nebo v termostatu. Odměřený objem, nejméně však 0,1 ml vzorku připraveného, jak je popsáno 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 agarů.

## 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 až 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 mililitru zkoušeného výrobku se stanoví z tabulky 2.6.12-1.

**Tab. 2.6.12-1** Hodnoty nejpravděpodobnějšího počtu 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 kultivačních půd a validita metody 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*).

*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (NCIMB 9518, CIP 4.83, CCM 4516, CNCTC Mau 29/58)

*Escherichia coli* ATCC 8739 (NCIMB 8545, CIP 53.126, CCM 4517)

*Bacillus subtilis* ATCC 6633 (NCIMB 8054, CIP 52.62, CCM 1999, CNCTC Bs 8/58)

*Candida albicans* ATCC 10231 (NCPF 3179, IP 48.72, CCM 8215, CNCTC 59/91)

*Aspergillus niger* ATCC 16404 (IMI 149007, IP 1431.83, CCM 8222)

K přípravě referenční suspenze, obsahující asi 100 jednotek vytvářejících kolonie, se použije tlumivý roztok s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0. Suspenze každého z mikroorganismů se použije samostatně jako kontrola 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 ředičího roztoku a aseptického provedení zkoušky se místo zkoušeného přípravku použije sterilní roztok s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0. Nejistí se růst mikroorganismů.

## Interpretace výsledků

Za počet bakterií se považuje průměrné množství jednotek vytvářejících kolonie, které byly nalezeny na agarové půdě B. Za počet hub se považuje průměrné množství jednotek vytvářejících kolonie, které byly nalezeny na agarové půdě C. Celkový počet živých mikroorganismů je součtem počtu bakterií a počtu hub, jak byly popsány výše. 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 přijatelná hodnota je  $5 \times 10^2$ ,

$10^3$  mikroorganismů - nejvyšší přijatelná hodnota je  $5 \times 10^3$  atd.

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

Pro každý z pěti vzorků se vypočítá 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 ve stati 2.6.13.

### 2.6.13 Mikrobiologické zkoušení nesterilních výrobků (zkoušky na specifické mikroorganismy)



2000

V těchto obecných metodách se předpokládá použití určitých selektivních půd. Vlastností společnou pro všechny selektivní půdy je, že nezachytí subletálně poškozené mikroorganismy. Jelikož subletálně poškozené mikroorganismy jsou důležité pro kvalitu výrobku, je jejich resuscitace zahrnuta do zkušebních postupů, které používají selektivní půdy.

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

#### 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 bakterií.** Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno ve stati 2.6.12, ale místo tlumivého roztoku s chloridem sodným a s 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 množství homogenizátu A odpovídající 1 g nebo 1 ml zkoušeného výrobku se kvantitativně přenesse do 100 ml pomnožovací půdy E a inkubuje 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 <sup>3</sup>
+	+	-	méně než 10 <sup>3</sup> a více než 10 <sup>2</sup>
+	-	-	méně než 10 <sup>2</sup> a více než 10
-	-	-	méně než 10

Při zkoušení transdermálních náplastí se filtruje 50 ml přípravku B, který je popsán ve stati 2.6.12 sterilním membránovým filtrem. Filtr se vloží do 100 ml obohacené tekuté půdy E a inkubuje se 18 h až 24 h při 35 °C až 37 °C. Po inkubaci se vyočkuje na agarovou půdu F k důkazu enterobakterií a jiných gramnegativních mikroorganismů.

#### **Escherichia coli**

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno ve stati 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. Obsah nádoby se protřepe a 1 ml se přenesse 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 ověřovací biochemické zkoušky jsou negativní.

#### **Salmonella**

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno ve stati 2.6.12, ale místo tlumivého roztoku s chloridem sodným a 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. 1 ml obohacené kultury se přenesse 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 v agaru. 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 ověřující biochemické a sérologické zkoušky jsou negativní.

### **Pseudomonas aeruginosa**

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno ve stati 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.

Při zkoušení transdermálních náplastí se filtruje 50 ml přípravku A, který je popsán ve stati 2.6.12, sterilním membránovým filtrem. Filtr se vloží do 100 ml tekuté půdy A a inkubuje se 18 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Po inkubaci se vyočkuje na agarovou půdu N.

### **Staphylococcus aureus**

Zkoušený výrobek se zpracuje, jak je popsáno ve stati 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 popsáný typ kolonií nebo jestliže ověřovací biochemické zkoušky jsou negativní.

Při zkoušení transdermálních náplastí se filtruje 50 ml přípravku A, který je popsán ve stati 2.6.12, sterilním membránovým filtrem. Filtr se vloží do 100 ml tekuté půdy A a inkubuje se 18 h až 48 h při 35 °C až 37 °C. Po inkubaci se vyočkuje na agarovou půdu O.

### **Růstové a selektivní vlastnosti půd a validita zkoušky**

Dále uvedené zkoušky se provedou nejméně u každé šarže dehydrované živné 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 (NCIMB 9518, CIP 4.83, CCM 4516, CNCTC Mau 29/58): tekutá půda A,

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

*Escherichia coli* např. ATCC 8739 (NCIMB 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 každé kultury se zředí tlumivým roztokem s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0 tak, aby suspenze obsahovala asi 1000 živých mikroorganismů v 1 ml. Smíchají se stejné díly od 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 příslušné mikroorganismy se dosáhne 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 zkoušet na jejich nepřítomnost. Tyto výrobky mají obecně nízký celkový počet mikroorganismů. Druhá metoda je semikvantitativním stanovením *Clostridium perfringens* a je určena pro výrobky, kde množství tohoto druhu je kritériem jejich kvality.

#### **1. Zkouška na klostridie.**

Zkoušený výrobek se zpracuje tak, jak je popsáno ve stati 2.6.12. Připraví se dvě stejné dávky, odpovídající 1 g nebo 1 ml zkoušeného výrobku. Jedna dávka se zahřívá 10 min při 80 °C a potom se rychle ochladí. Druhá dávka se nezahřívá. Po protřepání se z obou dávek naočkuje po 10 ml do dvou zkumavek (38 mm x 200 mm) nebo do jiných vhodných nádob obsahujících 100 ml živné půdy P. Inkubuje se 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 za anaerobních podmínek 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 sklíčko 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 ve stati 2.6.12 a připraví se ještě stonásobné a tisícinásobné zředění v tlumivém roztoku s chloridem sodným a 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 zkumavkách nebo jiných vhodných nádobách 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 desetíně 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 (NCIMB 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 vodítko, ale 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. Mohou se použít jiné půdy, mají-li podobné výživné a selektivní vlastnosti pro mikroorganismy, na které se má zkoušet.

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

dihydrogenfosforečnan draselný	3,6 g
hydrogenfosforečnan sodný dihydrát	7,2 g, odpovídá 0,067 mol/l fosforečnanu
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

pH se upraví tak, aby po sterilizaci bylo  $6,9 \pm 0,2$ . Sterilizuje se 15 min v autoklávu při 121 °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	3,0 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 °C a ihned se ochladí.

**Agarová půda F (žlučový agar s glukosou, violetí krystalovou a červeň 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 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 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	30,0 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 °C.

#### **Tekutá půda I (tetrathionová 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 monohdrát	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  $7,3 \pm 0,2$ . Zahřívá se opatrně k varu a povaří se 1 min. Ochladí se na 50 °C a rozplní 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 monohdrát	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 °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 monohdrát	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 °C, ochladí se na 50 °C a rozplní se do Petriho misek.

#### 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 na 45 °C až 50 °C a přidá 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 gentamicinumsulfát 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 monohdrát	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 amonno-železitého (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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0, přednostně před sterilizací. Jestliže se používají, prokáže se jejich účinnost a že nejsou pro mikroorganismy toxické.

*Typický neutralizační roztok má následující složení:*

polysorbát 80	30 g
lecitin vaječný	3 g
histidiniumchlorid	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

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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0

Typ protimikrobní látky	Inaktivující látka	Koncentrace	Poznámka
fenoly	laurylsíran 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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0
organické sloučeniny rtuť	thioglykolan 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 s chloridem sodným a s peptonem o pH 7,0

“

9. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.8 Farmakognostické metody, se za kapitolu 2.8.13 doplňuje kapitola 2.8.14, která zní:

”

#### 2.8.14 Stanovení tříslovin v rostlinných drogách

2000



*Všechny extrakční a ředící postupy se provádějí za ochrany před světlem*

*Rostlinné drogy nebo suché extrakty.* Předepsané množství práškované drogy (180) nebo extraktu se v 250ml baňce s kulatým dnem smíchá se 150 ml vody R a zahřívá se 30 min na vodní lázni. Ochladí se pod tekoucí vodou a směs se převede kvantitativně do 250ml odměrné baňky. Baňka s kulatým dnem se promyje vodou R, promývací tekutina se přidá k filtrátu v odměrné baňce a zředí se vodou R na 250,0 ml. Po usazení částic drogy se tekutina zfiltruje filtračním papírem o průměru 125 mm. Prvních 50 ml filtrátu se odstraní.

*Tekuté extrakty nebo tinkтуры.* Předepsané množství tekutého extraktu nebo tinkтуры se zředí vodou R na 250,0 ml. Směs se zfiltruje filtračním papírem o průměru 125 mm. Prvních 50 ml filtrátu se odstraní.

*Celkové polyfenoly.* 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se smíchají s 1,0 ml zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R, 10,0 ml vody R a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (290 g/l) na 25,0 ml. Po 30 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) při 760 nm ( $A_1$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Polyfenoly neadsorbovatelné na kožní prášek.* K 10,0 ml filtrátu se přidá 0,10 g kožního prášku CRL a intenzivně se protřepává 60 min, pak se zfiltruje. 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto filtrátu se smíchají s 1,0 ml zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R, 10,0 ml vody R a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (290 g/l) na 25,0 ml. Po 30 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) při 760 nm ( $A_2$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Porovnávací roztok.* 50,0 mg pyrogallolu R se bezprostředně před použitím rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto filtrátu se smíchají s 1,0 ml zkoumadla fosfomolybdenan-wolfranového R, 10,0 ml vody R a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (290 g/l) na 25,0 ml. Po 30 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) při 760 nm ( $A_3$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

Obsah tříslovin v procentech vyjádřený jako pyrogallol se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1}$$

němž značí:

$m_1$  - hmotnost zkoušené látky v gramech,

$m_2$  - hmotnost pyrogallolu v gramech.

“



10. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, kapitola 2.9.7 zní:

”

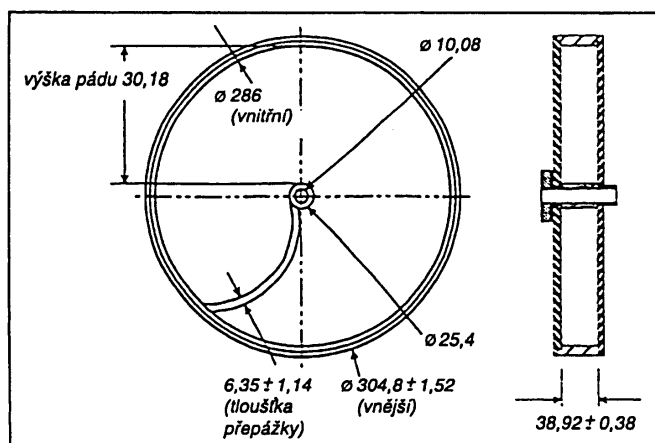
### 2.9.7 Oděr neobalených tablet

2000



*Podstata zkoušky.* Oděrem se rozumí poškození neobalených tablet mechanickým namáháním za definovaných podmínek, při kterém jsou vystaveny vzájemnému odírání, nárazům a pádům, čímž dochází k narušování jejich povrchu, lámání nebo štěpení tablet.

*Přístroj.* Používá se bubínek, viz obr. 2.9.7-1, o vnitřním průměru v rozmezí 283 mm až 291 mm a hloubce v rozmezí 36 mm až 40 mm, zhotovený z průhledného plastu s hladkým vnitřním povrchem, který nevyvolává statickou elektřinu, a jedna strana bubínku je odnímatelná. Tablety kloužají a převalují se při každé otáčce bubínku po přepážce se zakřivením o vnitřním průměru 75,5 mm až 85,5 mm. Přepážka vede ze středu bubínku k jeho vnější stěně. Bubínek je ve středu připevněn k vodorovné hřídeli pohonu, který zabezpečuje otáčení bubínku  $25 \pm 1$  otáčka za min. Tablety pak při každé otáčce bubínku kloužají nebo se převalují po přepážce a padají na stěnu bubínku nebo narážejí navzájem na sebe.



Obr. 2.9.7-1 Otočný bubínek (rozměry v milimetrech)

*Postup zkoušky.* Pro tablety do hmotnosti 0,65 g/ks včetně se jako zkoušený vzorek bere 20 tablet, pro tablety o hmotnosti větší než 0,65 g/ks je zkoušený vzorek 10 tablet. Z tablet se na sítu č. 1000 odstraní volný prach třením jemným kartáčkem nebo profouknutím tlakovým vzduchem. Tablety se potom přesně zváží, umístí do bubínku a spustí se otáčení. Po 100 otáčkách bubínku se tablety vyjmou a odstraní se z nich volný prach stejným způsobem, jak je popsáno výše. Pokud není žádná tableta rozbita, rozlomena nebo její větší část odštipnuta, zváží se tablety s přesností na miligramy.

U tablet o průměru 13 mm a větším se může vyskytnout problém s reprodukovatelností výsledků díky častému nepravidelnému pohybu tablet. Některé tablety se mohou dotýkat a navzájem se chránit před volným pádem v bubínku. V těchto případech se vyhovujících reprodukovatelných výsledků dosáhne nakloněním bubínku. Obvykle dostatečné je takové nastavení, že osa tvoří úhel  $10^\circ$  se základnou.

*Hodnocení.* Oděr tablet se vyjadřuje jako procentuální úbytek výchozí hmotnosti tablet. Zaznamená se počet zkoušených tablet.

Obvykle se zkouška provádí jednou. Pokud nejsou výsledky jednoznačné nebo pokud je úbytek hmotnosti tablet větší než 1 %, opakuje se zkouška dvakrát a stanovuje se průměr ze všech tří zkoušek. Úbytek hmotnosti zkoušených tablet nejvýše do 1 % se pro většinu přípravků považuje za vyhovující výsledek.

“

11. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, kapitola 2.9.18 a kapitola 2.9.19 znějí:

”

### 2.9.18 Přípravky k inhalaci: aerodynamické stanovení jemných částic



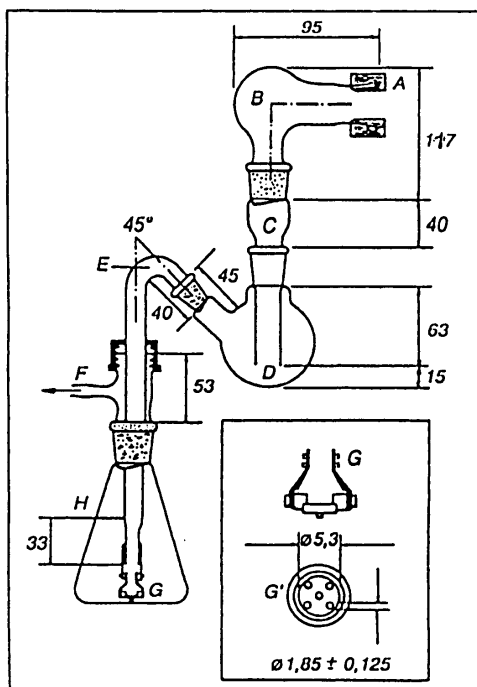
2000

*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 A (SKLENĚNÝ ODLUČOVAČ ČÁSTIC)

Přístroj je vyobrazen na obrázku 2.9.18-1 (viz také tabulka 2.9.18-1).



**Obr. 2.9.18-1** Přístroj A pro aerodynamické stanovení jemných částic. Rozměry v milimetrech (tolerance  $\pm 1$  mm, není-li uvedeno jinak).

Tab. 2.9.18-1 Specifikace dílů k obrázkům 2.9.18-1/3

Označení	Předmět	Popis	Rozměry <sup>*)</sup>
A	nástavec pro aplikátor	tvarovaný gumový nástavec pro zasunutí aplikátoru s ventilem	
B	vstupní hrdlo	upravená baňka s kulatým dnem <i>vstupní otvor se zábrusem</i> <i>kónická výpust se zábrusem</i>	50 ml 29/32 24/29
C	spojovací hrdlo	tvarovaný skleněný nástavec <i>vstupní otvor se zábrusem</i> <i>kónická výpust se zábrusem</i> spodní část výpusti ve tvaru trubičky o vybrané světlosti <i>vnitřní průměr</i> tenkostěnná skleněná trubička <i>vnější průměr</i>	24/29 24/29  14  17
D	horní odlučovací komora	upravená baňka s kulatým dnem <i>vstupní otvor se zábrusem</i> <i>kónická výpust se zábrusem</i>	100 ml 24/29 24/29
E	spojovací trubička	středně silná skleněná trubička <i>skleněný kónický zábrus</i> ohnutý a horní svislý díl <i>vnější průměr</i> spodní svislý díl <i>vnější průměr</i>	14/23  13  8
F	šroubový uzávěr, postranní rameno s nástavcem	plastický šroubový uzávěr silikonový gumový kroužek podložka z PTFE skleněný závit, <i>velikost závitu</i> postranní výpust k odsávacímu zařízení <i>minimální průměr otvoru</i>	28/13 28/11 28/11 28  5
G	soubor spodní trysky	upravený polypropylenový držák filtru spojený se spodní svislou částí spojovací trubice pomocí spojky z PTFE acetalová kruhová destička s otvory pro 4 trysky sestavené v kruhu o průměru 5,3 mm okolo rozpěrné vložky <i>průměr vložky</i> <i>výstupek vložky</i>	viz obr. 2.9.18-1   10 2 2
H	spodní odlučovací komora	kónická baňka <i>vstupní otvor se zábrusem</i>	250 ml 24/29

<sup>\*)</sup> Rozměry v milimetrech, není-li uvedeno jinak.

#### Postup pro rozprašovače

Do horní odlučovací komory se odměří 7 ml, do dolní 30 ml vhodného rozpouštědla.

Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je řádně upevněný přístroj ve svislé poloze a zda se rozpěrná vložka trysky dolní tryskové soustavy právě dotýká dna spodní odlučovací komory. K výpusti přístroje se připojí vhodné odsávací zařízení opatřené filtrem o přiměřené velikosti pórů a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu protékalo hrdlem ( $60 \pm 5$ ) l/min vzduchu.

Nádržka rozprašovače se naplní tekutým přípravkem k inhalaci a pomocí nástavce (adaptéru) se k přístroji připojí k tomu uzpůsobený aplikátor.

Pak se zapne odsávací zařízení a po 10 s i rozprašovač. Není-li uvedeno jinak, rozprašovač se po 60 s vypne, počká se asi 5 s a pak se vypne i odsávací zařízení přístroje. Potom se přístroj rozebere a po omytí vnitřního povrchu horní odlučovací komory se promývací tekutina převede do odměrné baňky. Pak se omyje vnitřní povrch spodní odlučovací komory a promývací tekutina se převede do jiné odměrné baňky. Nakonec se promyje filtr před odsávacím zařízením a jeho spojení s dolní odlučovací komorou a takto získaná tekutina se připojí k promývací tekutině získané promytím spodní odlučovací komory. V každé z obou baněk s promývací tekutinou se stanoví obsah léčivé látky. Výsledky získané z obou částí přístroje se samostatně vyjádří v procentech vztažených na celkové množství léčivé látky.

#### **Postup pro tlakové inhalátory**

Nástavec (adaptér) pro připojení tlakového ventilu se posune ke konci hrdla, takže když se aplikátor ventilu zasune do hloubky asi 10 mm, má souhlasnou polohu s vodorovnou osou hrdla a konec ventilu s tlakovou nádobkou směřuje nahoru a shodně s celým přístrojem leží ve svislé rovině.

Do horní odlučovací komory se odměří 7 ml, do dolní 30 ml vhodného rozpouštědla.

Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je řádně upevněný přístroj ve svislé poloze a zda se rozpěrná vložka trysky dolní tryskové soustavy právě dotýká dna spodní odlučovací komory. K výpusti přístroje se připojí vhodné odsávací zařízení a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu protékalo hrdlem ( $60 \pm 5$ ) l/min vzduchu.

Dávkovací ventil se připraví k činnosti tak, že se tlakovým inhalátorem třepe 5 s a jedna dávka se odstříkne. Nejdříve po 5 s se inhalátorem znovu třepe a opět se odstříkne jedna dávka. To se opakuje ještě třikrát.

Pak se třepe asi 5 s, zapne se odsávací zařízení a po zasunutí aplikátoru nasazeného na ventil do nástavce (adaptéru) se hned vystříkne jedna dávka. Sestavený inhalátor se potom oddělí od nástavce, třepe se jím nejméně 5 s, znovu se zakončení aplikátoru spolu s ventilem vrátí do nástavce a opět se vystříkne jedna dávka. Postup při vystřikování jednotlivých dávek se zopakuje ještě osmkrát, přičemž se pokaždé před vystřiknutím dávky třepe inhalátorem. Po vystřiknutí desáté dávky se čeká nejméně 5 s a odsávací zařízení se vypne. Potom se přístroj rozebere.

Vnitřní povrch přívodní trubice do horní odlučovací komory a její vnější povrch zasahující do komory se omyjí vhodným rozpouštědlem a promývací tekutina se shromáždí v dolní odlučovací komoře. V tomto roztoku se stanoví obsah účinné složky. Vypočte se množství účinné složky shromážděné v dolní odlučovací komoře po uvedení ventilu v činnost a výsledky se vyjádří v procentech vztažených na dávku uvedenou na obalu.

#### **Postup pro inhalátory prášku**

Do horní odlučovací komory se odměří 7 ml, do dolní 30 ml vhodného rozpouštědla.

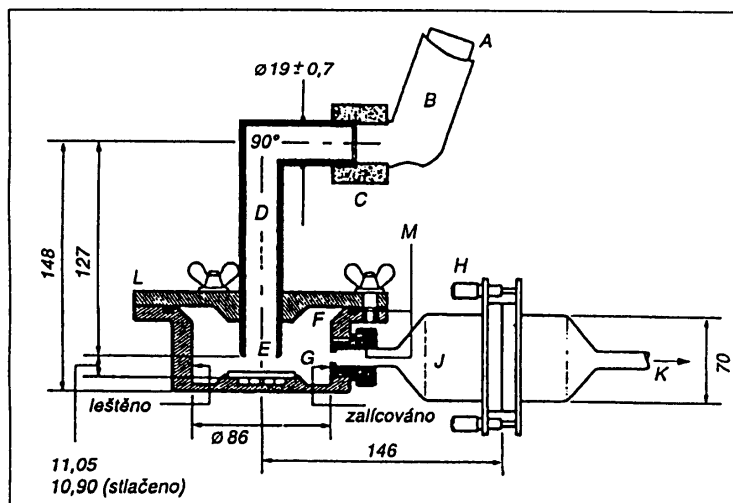
Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je řádně upevněný přístroj ve svislé poloze a zda se rozpěrná vložka trysky dolní tryskové soustavy právě dotýká dna spodní odlučovací komory. Aniž by se na přístroj nasadil inhalátor, připojí se k výpusti přístroje vhodné odsávací zařízení a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu protékalo hrdlem ( $60 \pm 5$ ) l/min vzduchu.

Inhalátor se připraví k použití a pomocí vhodného spojovacího nástavce se k přístroji připojí aplikátor inhalátoru. Pak se na 5 s zapne odsávací zařízení. Po vypnutí odsávacího zařízení se inhalátor vyjme. Vefouknutí se opakuje ještě devětkrát a potom se přístroj rozebere.

Vnitřní povrch přívodní trubice do dolní odlučovací komory a její vnější povrch zasahující do komory se omyjí vhodným rozpouštědlem, promývací tekutina se shromáždí v dolní odlučovací komoře a v roztoku se stanoví obsah léčivé látky. Vypočte se množství léčivé látky shromážděné po vystřiknutí v dolní odlučovací komoře a výsledky se vyjádří v procentech vztažených na dávku uvedenou na obalu.

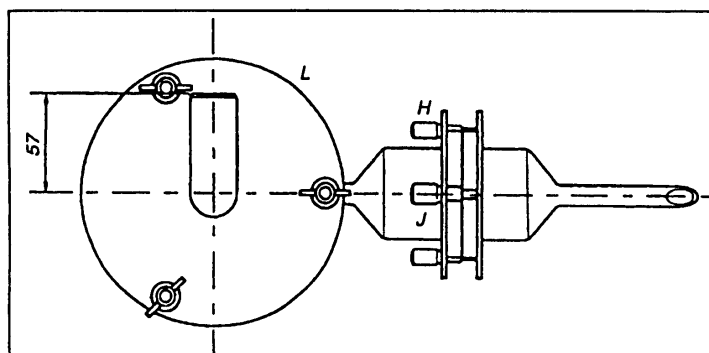
### **PŘÍSTROJ B (KOVOVÝ ODLUČOVAČ ČÁSTIC)**

Přístroj je vyobrazen na obrázcích 2.9.18-2/3.



**Obr. 2.9.18-2** Přístroj B pro aerodynamické stanovení jemných částic (rozměry v milimetrech)

- |                                  |   |
|----------------------------------|---|
| A - tlaková nádobka inhalátoru   | G - kotouč ze slinutého skla (BS porozita č. 1) |
| B - aplikátor                    | H - upevnění filtru z nerezavějící oceli        |
| C - spojovací nástavec (adaptér) | J - skleněná filtrační sestava                  |
| D - hrdlo                        | K - odsávací zařízení (vakuová vývěva)          |
| E - tryska                       | L - hliníkové víko odlučovací komory            |
| F - odlučovací komora            | M - pryžový těsnicí kroužek                     |



**Obr. 2.9.18-3** Přístroj B pro aerodynamické stanovení jemných částic (pohled na vrchní desku shora, rozměry v milimetrech)

### Postup pro rozprašovače

Usazování emitovaných kapiček se zkouší pomocí odlučovacího přístroje spojeného s naplněným rozprašovačem prostřednictvím vhodného spojovacího nástavce (adaptéru). Výpust přístroje vedoucí k odsávacímu zařízení je opatřena vhodným filtrem, např. o velikosti pórů  $0,25 \mu\text{m}$ .

Při tomto postupu se pracuje se suchou odlučovací komorou. Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je spodní část přístroje umístěna na rovné vodorovné řádně upevněné podložce. K výpusti přístroje se připojí vhodné odsávací zařízení a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu procházelo hrdlem  $(60 \pm 5) \text{ l/min}$  vzduchu.

Nádržka rozprašovače se naplní tekutým přípravkem k inhalaci. Připraví se aplikátor a připojí se ke spojovacímu nástavci zařízení.

Zapne se odsávací zařízení přístroje a po 10 s se uvede do chodu rozprašovač. Po 60 s, není-li uvedeno jinak, se vypne rozprašovač a přibližně po dalších 5 s i odsávací zařízení a přístroj se rozebere. Pak se omyje vnitřní povrch hrdla i horní a spodní část komory a promývací tekutiny se převedou do odměrné baňky. Pak se vhodným rozpouštědlem promyje filtr a filtrační zařízení a tekutina se opět převede do vhodné odměrné baňky. V obou roztocích se stanoví obsah léčivé látky. Výsledky se vyjádří samostatně pro obě části přístroje v procentech vztažených na celé množství léčivé látky.

#### **Postup pro tlakové inhalátory**

Spojovací nástavec (adaptér) pro nasazení ventilu se posune ke konci hrdla tak, že po nasazení aplikátoru má zařízení souhlasnou polohu s vodorovnou osou hrdla a konec ventilu s tlakovou nádobkou směřuje nahoru a shodně s celým přístrojem leží ve svislé rovině.

Při tomto postupu se pracuje se suchou odlučovací komorou. Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je spodní část přístroje umístěna na rovné vodorovné řádně upevněné podložce tak, že konec ventilu s tlakovou nádobkou je ve svislé poloze. K vypnutí přístroje se připojí vhodné odsávací zařízení a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu procházelo hrdlem ( $60 \pm 5$ ) l/min vzduchu.

Dávkovací ventil se připraví k činnosti tak, že se tlakovým inhalátorem třepe 5 s a jedna dávka se odstraní odstříknutím. Nejdříve za 5 s se inhalátorem znovu třepe a opět se jedna dávka odstříkne. To se opakuje ještě třikrát.

Pak se tlakovým inhalátorem třepe asi 5 s, zapne se odsávací zařízení a bezprostředně po zasunutí aplikátoru s ventilem do nástavce (adaptéru) se vystříkne jedna dávka. Sestavený inhalátor se pak vysune ze spojovací části přístroje, opět se jím třepe asi 5 s a po opětném zasunutí konce aplikátoru s ventilem do spojovací části se vystříkne další dávka. Celý postup se opakuje ještě osmkrát, vždy po protřepání mezi jednotlivými dávkami. Po vystříknutí desáté dávky se počká asi 5 s a odsávací zařízení se vypne. Přístroj se potom rozebere.

Filtr a filtrační zařízení se promyjí vhodným rozpouštědlem a stanoví se obsah léčivé látky v promývacím roztoku. Pak se vypočte množství léčivé látky získané z filtračního zařízení po uvedení ventilu do činnosti a výsledky se vyjádří v procentech vztažených na dávku uvedenou v označení na obalu.

#### **Postup pro inhalátory prášku**

Do odlučovací komory se odměří 25 ml vhodného rozpouštědla tak, aby pokrylo kotouč ze slinutého skla.

Všechny součásti přístroje se spojí a ověří se, zda je spodní část odlučovače částic umístěna na rovné vodorovné řádně upevněné podložce. Aniž by se zasunul inhalátor, připojí se k vypnutí přístroje vhodné odsávací zařízení a průtok vzduchu přístrojem se upraví tak, aby na přívodu procházelo hrdlem ( $60 \pm 5$ ) l/min vzduchu.

Inhalátor se připraví k použití a pomocí vhodného spojovacího nástavce (adaptéru) se k přístroji připojí aplikátor. Potom se na 5 s zapne odsávací zařízení. Po vypnutí odsávání se inhalátor vyjme. Vystříkne se dalších devět dávek a přístroj se rozebere.

Filtrační zařízení se včetně filtru promyje vhodným rozpouštědlem a v roztoku se stanoví obsah léčivé látky. Poté se vypočte množství léčivé látky získané po vystříknutí z filtračního zařízení a výsledky se vyjádří v procentech vztažených na dávku účinné složky uvedenou v označení na obalu.

### **Stanovení dávky jemných částic a jejich distribuce podle velikosti**

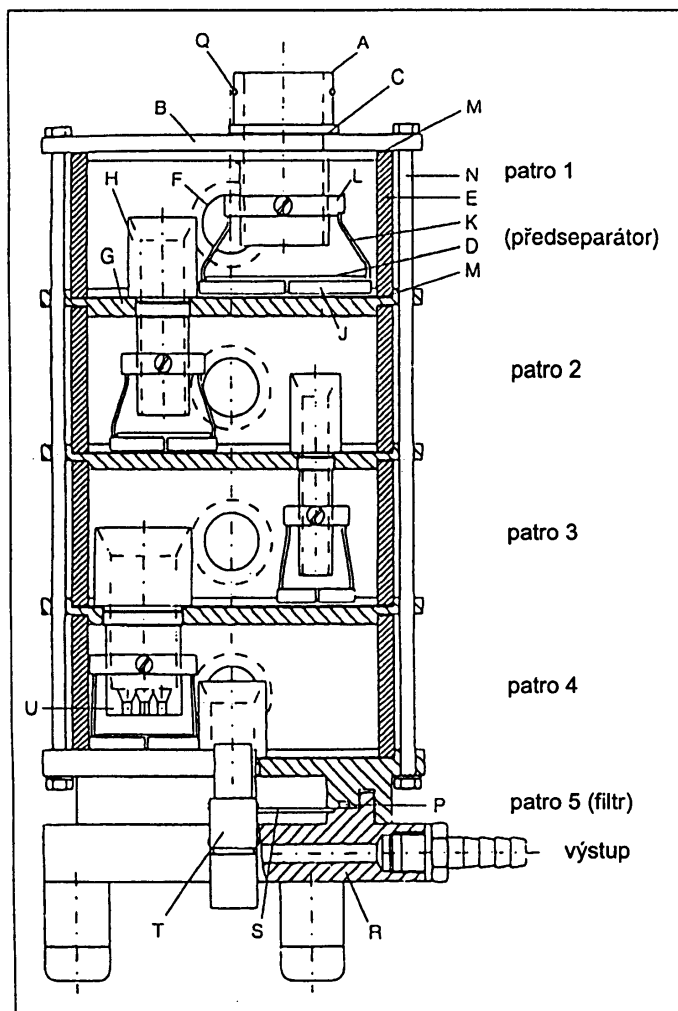
#### **PŘÍSTROJ C (VÍCESTUPŇOVÝ KAPALINOVÝ ODLUČOVAČ)**

Přístroj se skládá z prvního patra (předseparátoru), odlučovacích pater 2, 3, 4 a z filtračního patra 5, které s nimi tvoří celek, viz obrázky 2.9.18-4/6.

K odlučovacímu 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 nejbližším 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 pryžovým těsnicím kroužkem (P), který utěsňuje okraj filtru zachycený v držáku

filtru. Držák filtru (R) je konstruován jako miska se soustředným vybráním, v němž je zapuštěna perforovaná podpora 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 trubicou s pravouhlým kolenem - viz obrázek 2.9.18-7. 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.



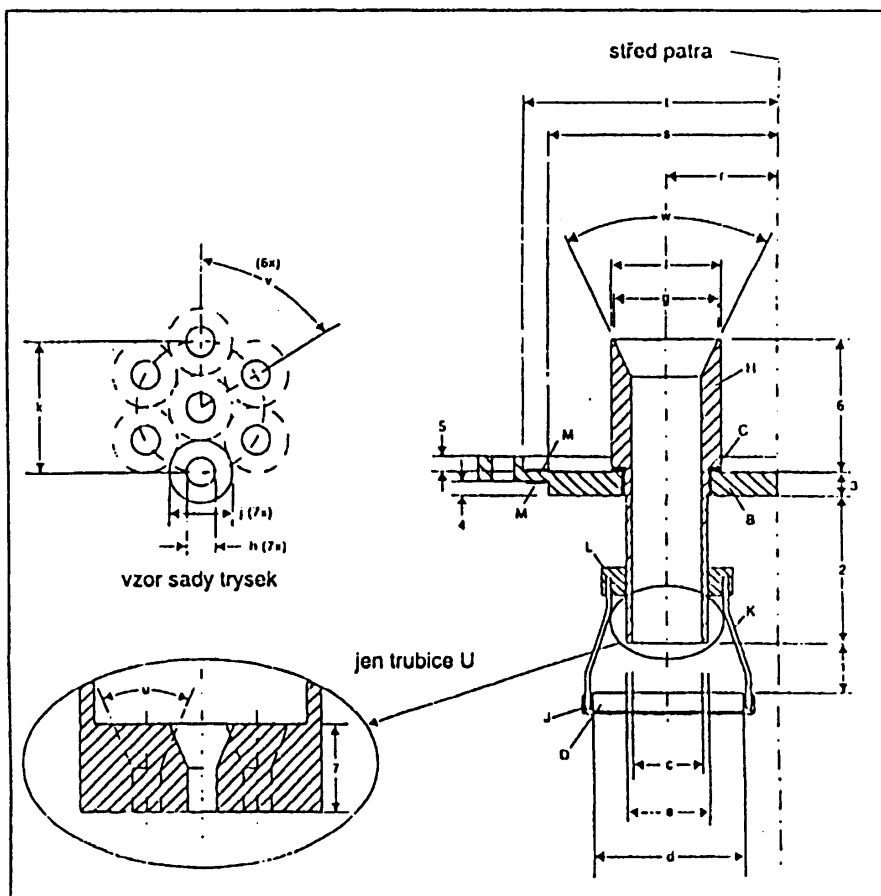
Obr. 2.9.18-4 Vícestupňový kapalinový odlučovač

Tab. 2.9.18-2 Specifikace dílů k obrázkům 2.9.18-4/6

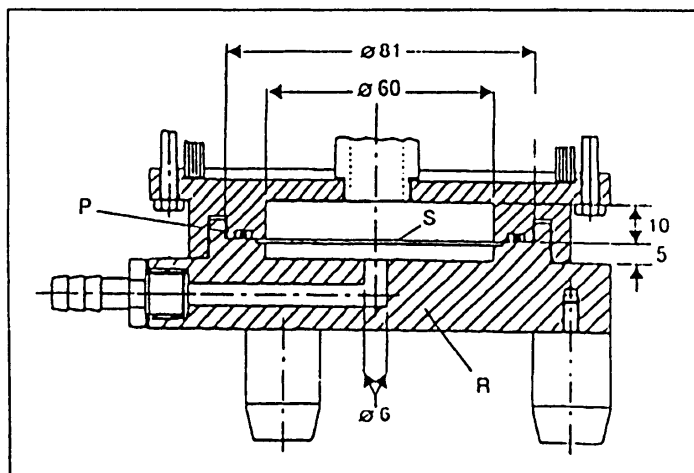
Označení <sup>(1)</sup>	Předmět	Popis	Rozměry <sup>(2)</sup>
A, H	tryska-trubice	kovová trubice zašroubovaná do mezistěny, zajištěná těsněním (C), s leštěným povrchem	viz obrázek 2.9.18-5
B, G	mezistěna	kruhová, kovová deska - průměr - tloušťka viz obrázek 2.9.18-5	120
C	těsnění	např. PTFE	podle potřeby k utěsnění trysky
D	odlučovací deska	disk ze slinutého skla porozita 0, průměr	viz obrázek 2.9.18-5
E	skleněný válec	skleněná leštěná trubice	
		- výška, včetně těsnění	46
		- vnější průměr	100
		- tloušťka stěny	3,5
		- vzorkovací okénko (F), průměr	18
		- zátko do okénka	ISO 24/25
J	kovový rám	kruhový rám profilu L se zářezem	
		- vnitřní průměr	pro zachycení odlučovací desky
		- výška	4
		- tloušťka vodorovné části	0,5
		- tloušťka svislé části	2
K	drát	ocelový drát spojující kovový rám s objímkou (dva pro každý rám)	
		- průměr	1
L	objímka	kovová objímka připojená šroubem k trysce	
		- vnitřní průměr	vhodný k upevnění trysky
		- výška	6
		- tloušťka	5
M	těsnění	např. silikonové	k upevnění skleněného válce
N	svorník	kovový svorník s maticí (6 párů)	
		- délka	205
		- průměr	4
P	O-kroužek	těsnicí pryžový kroužek	
		- průměr x tloušťka	66,34 x 2,62
Q	O-kroužek	těsnicí pryžový kroužek	
		- průměr x tloušťka	29,1 x 1,6
R	držák filtru	kovové pouzdro s podstavcem a výpustí	viz obrázek 2.9.18-6
S	podpěra filtru	perforovaná kovová destička	
		- průměr	65
		- průměr otvoru	3
		- vzdálenost mezi středy otvorů	4
T	úchytné uzávěry		
U	soustava trysek	trubice (H) zakončená soustavou trysek	viz obr. 2.9.18-5

<sup>(1)</sup> Vztaženo na obr. 2.9.18-4.<sup>(2)</sup> Rozměry v milimetrech, tolerance podle ISO 2768-m, pokud není uvedeno jinak.





**Obr. 2.9.18-5** Detaily kovové trubice a sběrné desky. Vlevo detaily zakončení trubice U vedoucí do 4. patra (vysvětlivky označení a rozměry viz tabulku 2.9.18-3 a obrázek 2.9.18-4).



Obr. 2.9.18-6 Detaily filtračního patra (5. patro). Uvedeny rozměry ( $\varnothing$  průměr). Návaznost na označení v tabulce 2.9.18-2.

Tab. 2.9.18-3 Rozměry<sup>(1)</sup> trysky s odlučovací deskou

Druh	Označení <sup>(2)</sup>	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 <sup>(3)</sup>	20	25	25	25	25
vzdálenost	7	n	n	n	8,5	n
průměr	c	25	14	8,0 ( $\pm$ ,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 ( $\pm$ ,5)	n
průměr	j	n	n	n	6,3	n
průměr	k	n	n	n	12,6	n
poloměr <sup>(4)</sup>	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

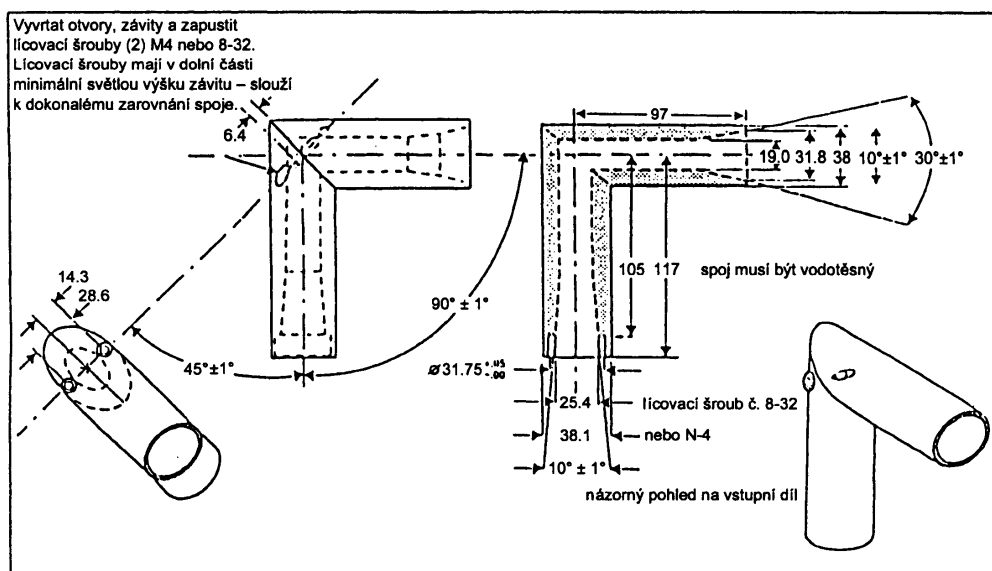
<sup>(1)</sup> Rozměry v milimetrech, tolerance podle ISO 2768-m, pokud není uvedeno jinak.

<sup>(2)</sup> Vztahuje se k obrázku 2.9.18-5.

<sup>(3)</sup> Včetně těsnění.

<sup>(4)</sup> Vzataženo na střed komory.

n - Nevztahuje se na tuto položku.



Obr. 2.9.18-7 Vstupní díl. Rozměry v milimetrech, není-li uvedeno jinak.

#### Poznámky

- (1) Materiál může být z hliníku nebo nerezové oceli.
- (2) Strojní opracování z materiálu tvaru tyč kulatá (v průřezu) průměr 38 mm (1,5").
- (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 otvorů a vyřezání závitů M4 x 0,7 nebo 8-32 se sešroubují šrouby. 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 léčivou látku a nasadí se zátky. Nakloněním přístroje se navlhčí zátky, tím se vybijí 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 (inhalačního přípravku) byl po zasunutí ve vodorovné poloze shodně 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 a 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 vystříknutí (podání). Odpojí se inhalátor od adaptéru a postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet vystříknutí, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu vystříknutí má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním vystříknutí 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 tří horních pater přístroje, vždy do rozpouštědla, které 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 ze šesti objemů rozpouštědla.

Vypočte se dávka jemných částic (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 2.9.18-8. Není-li předepsáno jinak, uskuteční se zkouška při průtokové rychlosti  $Q$ , použité ve zkoušce Stejnomyšnosti podané dávky prosáním 4 litrů vzduchu přes přístroj.

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  $Q$  ( $\pm 5\%$ ). 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 2.9.18-8). Poměr  $P3/P2 \leq 0,5$  určuje kritický průtok. Když není dosaženo požadovaných hodnot, použije se účinnější vakuová pumpa a měření se opakuje.

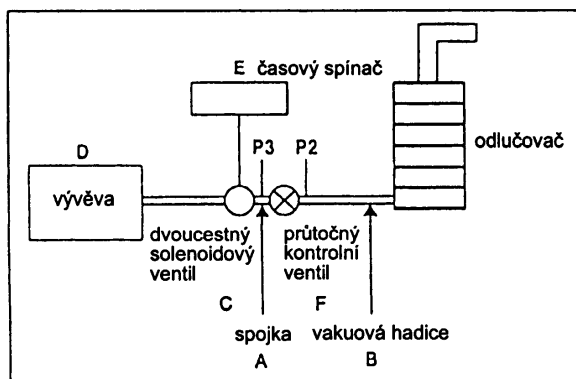
Do každého ze čtyř horních pater přístroje se odměří 20 ml vhodného rozpouštědla a nasadí se zátky. Nakloněním přístroje se navlhčí zátky, tím se vybijí elektrostatické náboje. Na konec vstupního dílu se nasadí vhodný adaptér pro náustek přípravku.

Inhalační práškový přípravek se připraví k použití podle instrukcí pro pacienty. Při běžícím odsávání a uzavření dvoucestného ventilu se vsune náustek přípravku do adaptéru vstupního dílu. Otevřením ventilu po doporučenou dobu  $T$  ( $\pm 5\%$ ) se vefoukne (insuluje) 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 ze sběrných desek všech tří horních pater přístroje, vždy do rozpouštědla, které 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 rozpouštědla.

Vypočte se dávka jemných částic (viz dále uvedené).



Obr. 2.9.18-8 Aparatura k měření prášků pro inhalaci

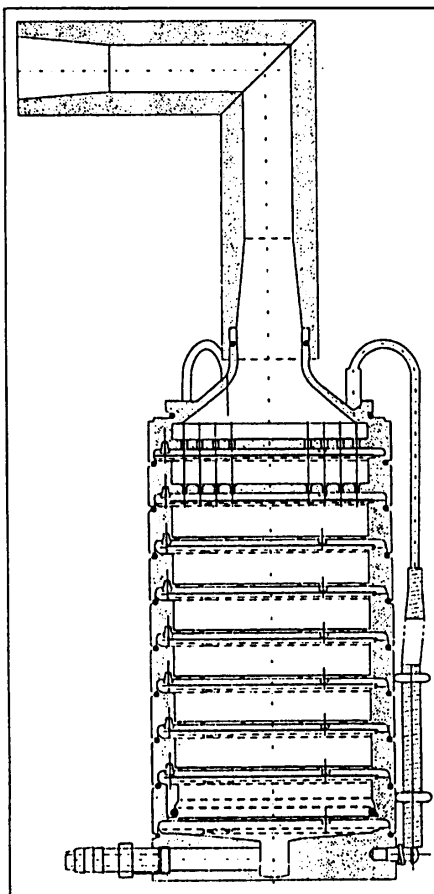
Tab. 2.9.18-4 Specifikace dílů k obrázku 2.9.18-8

Označení	Název	Popis
A	spojka	vnitřní průměr $\geq 8$ mm, např. krátká kovová spojka s odbočkou o menším průměru k P3
B	vakuová hadice	vnitřní průměr ( $8 \pm 0,5$ ) mm, délka ( $50 \pm 10$ ) 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 $\geq 8$ mm a maximální reakční dobou 100 ms (např. typ 256-A08, Bürker GmbH, D-74653) nebo ekvivalentní

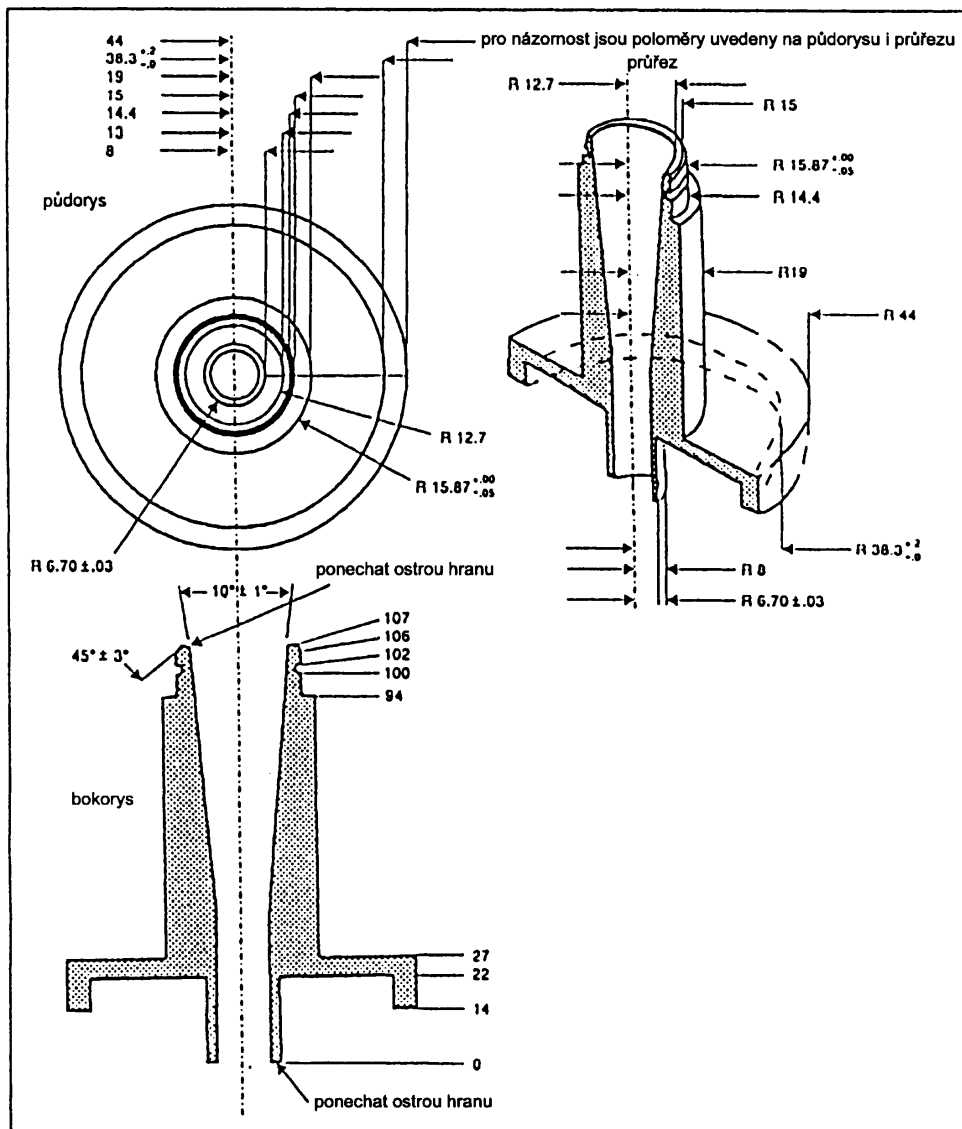
D	vývěva	vyhovuje kapacitou pro požadovanou rychlost toku vzduchu přes sestavenou aparaturu s práškovým inhalačním přípravkem připojeným k adapteru náustku (např. výrobky typ 1023, 1423 nebo 2565, Gast Manufacturing Inc., Benton Harbor, MI 49022), nebo ekvivalentní; spojení vývěvy se solenoidovým ventilem pomocí krátké a/nebo široké ( $\geq 10$ 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, UK) nebo ekvivalentní

### PŘÍSTROJ D („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 obrázek 2.9.18-9, kuželový vstup vzorkovače je připojen k pravoúhelnému kovovému vstupnímu dílu popsanému na obrázku 2.9.18-7. 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 2.9.18-10. K dosažení vysoké průtokové rychlosti přes vzorkovač se připojí přístroj k odsávacímu systému přípojkou o vnitřním průměru  $\geq 8$  mm.



Obr. 2.9.18-9 Andersenův vzorkovač velikostí v úpravě pro tlakové přípravky pro inhalaci



**Obr. 2.9.18-10** Přípojka vstupního dílu k předseparátoru Andersena 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 vystřikne se jednou do odpadu. Zapne se odsávání z přístroje. Náustek se vsune do adaptéru a z nádoby přípravku v převrácené poloze, stisknutím ventilu

po dostatečnou dobu se uskuteční úplné vystříknutí (podání). Vyjme se inhalační přípravek z adaptéru a postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet vystříknutí, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu vystříknutí má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním vystříknutí 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 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 2.9.18-8.

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 kalibrovaný 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 C. Vypne se průtok vzduchu.

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 (insuluje) prášek do přístroje. Postup se opakuje. Má se uskutečnit jen minimální počet vefouknutí, běžně je tento počet nejvíce deset. Při tomto počtu vefouknutí má však být zaručeno přesné a správné stanovení dávky jemných částic. Po posledním vefouknutí 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 ze sběrných desek všech pater přístroje.

Za použití vhodné analytické metody se stanoví množství léčivé látky obsažené v každém z devíti objemů rozpouštědla.

Vypočte se dávka jemných částic (viz dále uvedené).

### Výpočty

Z analýz roztoků se vypočte hmotnost léčivé látky na jedno vystříknutí pro každé patro a hmotnost léčivé látky na jedno vystříknutí ve vstupním dílu, adaptéru náustku i předseparátoru, tam kde byl použit. Celková hmotnost léčivé látky není menší než 75 % a není větší než 125 % průměrné podané dávky stanovené při zkoušce Stejněměrnost podané dávky. Je-li celková hmotnost mimo uvedené rozmezí, zkouška se opakuje.

Počínaje filtrem, počítají se kumulativní hmotnosti pro vzorkové průměry částic na příslušných patrech (viz tabulku 2.9.18-5 pro přístroj C nebo tabulku 2.9.18-6 pro přístroj D). Interpolací se vypočte hmotnost léčivé látky pro částice menší než 5  $\mu\text{m}$ , což je dávka jemných částic.

Podle potřeby, kde je to vhodné, nakreslí se graf kumulativních podílů léčivé látky v závislosti na vzorkovém průměru (viz tabulky 2.9.18-5/6) na logaritmickém pravděpodobnostním papíře a tento graf se použije ke stanovení hodnot hmotnostního množstevního středního aerodynamického průměru částic a geometrické standardní odchylky. Lze také použít i vhodné výpočetní metody.

Tab. 2.9.18-5 Výpočty pro přístroj C. Použití  $q_1 = \sqrt{(60/Q)}$ , kde  $Q$  je průtoková rychlost v l/min.

Vzorkový průměr částic ( $\mu\text{m}$ )	Hmotnost usazené léčivé látky na jedno vystříknutí (vefouknutí)	Kumulativní hmotnost usazené léčivé látky na jedno vystříknutí (vefouknutí)	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, $m_2$	$c = c_2 + m_2$	100

\* 5. patro je filtrační

Tab. 2.9.18-6 Výpočty pro přístroj D, za podmínky použití 28,3 l/min

Vzorkový průměr částic ( $\mu\text{m}$ )	Hmotnost usazené léčivé látky na jedno vystříknutí (vefouknutí)	Kumulativní hmotnost na jedno vystříknutí (vefouknutí)	Kumulativní podíl léčivé látky (%)
$d_7 = 0,4$	z 8. patra, $m_8$	$c_7 = m_8$	$f_7 = (c_7/c) \cdot 100$
$d_6 = 0,7$	ze 7. patra, $m_7$	$c_6 = c_7 + m_7$	$f_6 = (c_6/c) \cdot 100$
$d_5 = 1,1$	ze 6. patra, $m_6$	$c_5 = c_6 + m_6$	$f_5 = (c_5/c) \cdot 100$
$d_4 = 2,1$	z 5. patra, $m_5$	$c_4 = c_5 + m_5$	$f_4 = (c_4/c) \cdot 100$
$d_3 = 3,3$	ze 4. patra, $m_4$	$c_3 = c_4 + m_4$	$f_3 = (c_3/c) \cdot 100$
$d_2 = 4,7$	ze 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



RZ2000

### 2.9.19 Hodnocení kontaminace částicemi pod hranicí viditelnosti<sup>1)</sup>

*Podstata zkoušky.* K hodnocení částic menších, než jsou částice viditelné, se použije vhodný přístroj, který na principu blokování světla umožňuje automatické stanovení velikosti částic přítomných v roztoku a počtu částic podle velikosti.

Přístroj se kalibruje *disperzemi sférických částic CRL* známých velikostí mezi 10  $\mu\text{m}$  a 25  $\mu\text{m}$ . Tyto standardní částice se dispergují ve *vodě prosté částic R* a je nutné předejít shlukování částic.

Hodnocená kontaminace injekcí a infuzí je tvořena nezáměrně přítomnými cizorodými, pohyblivými a nerozpuštěnými částicemi, jinými než plynové bubliny v roztocích.

Typy přípravků, pro které je tato zkouška požadována, a požadavky jsou uvedeny v příslušném článku.

*Obecná opatření.* Zkouška se provádí za podmínek omezujících kontaminaci částicemi, přednostně ve skříní s laminárním prouděním vzduchu.

Čisté skleněné nádoby prosté částic lze získat jejich pečlivým vymytím a vymytím filtračního zařízení bez membránových filtrů teplým roztokem detergentu a propláchnutím velkým množstvím *vody R*, aby se odstranily všechny stopy detergentu. Bezprostředně před vlastním použitím se omyje nádobí a příslušné části zařízení shora dolů, nejdříve zvenku a pak zevnitř *vodou prostou částic R*.

Se zkoušeným přípravkem se zachází opatrně, aby se nevnesly vzduchové bubliny, zejména při přemístění části přípravku do nádoby, v níž se uskutečňuje měření.

K ověření vhodnosti prostředí, v němž se zkouška provádí, čistoty nádob a kvality použité *vody prosté částic R* se uskuteční kontrolní zkouška. Při ní se hodnotí kontaminace částicemi v pěti vzorcích po 5 ml *vody prosté částic R* níže popsanou metodou. Jestliže počet částic velikosti 10  $\mu\text{m}$  nebo větších přesahuje 25 částic pro spojených 25 ml, pak provozní podmínky zkoušky a další opatření nebyly dostatečné. Přípravné práce je nutné opakovat až do získání vyhovujících výsledků kontrolní zkoušky.

*Postup zkoušky.* Obsah vzorku v obalu se promíchá pomalým dvacetipětinásobným převrácením. Je-li třeba, opatrně se sejme pojistný uzávěr. Obal se zevnějšku očistí proudem *vody prosté částic R* a odstraní se uzávěr, aniž by došlo ke kontaminaci hodnoceného obsahu. Plynové bubliny z přípravku se odstraní dvouminutovým stáním.

Odeberou se čtyři dávky, každá o objemu nejméně 5 ml a spočítá se počet částic o velikosti stejné nebo větší než 10  $\mu\text{m}$  a 25  $\mu\text{m}$ .

*Hodnocení.* Z hodnocení se vyřadí výsledek získaný u první dávky a vypočte se průměrný počet částic ve zkoušeném přípravku.

Kritéria zkoušky A, B nebo C se použijí v příslušném článku léčivého přípravku.

#### Zkouška A

*Roztoky pro infuze nebo roztoky pro injekce v obalech se jmenovitým objemem větším než 100 ml*

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 11, 1, 50 (1999). Závazné od 1. 7. 1999



Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže průměrný počet přítomných částic ve zkoušené jednotce není vyšší než 25 částic v mililitru pro částice o velikosti 10 µm nebo větší a není vyšší než 3 částice v mililitru pro částice o velikosti 25 µm nebo větší.

#### Zkouška B

*Roztoky pro infuze nebo roztoky pro injekce v obalech se jmenovitým objemem 100 ml nebo menším*

Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže průměrný počet přítomných částic ve zkoušené jednotce není vyšší než 6000 částic v obalu pro částice o velikosti 10 µm nebo větší a není vyšší než 600 částic v obalu pro částice o velikosti 25 µm nebo větší.

#### Zkouška C

*Prášky pro parenterální použití v obalech s jmenovitým objemem 100 ml nebo menším*

Přípravek vyhovuje zkoušce, jestliže průměrný počet přítomných částic ve zkoušené jednotce není vyšší než 10 000 částic v obalu pro částice o velikosti 10 µm nebo větší a není vyšší než 1000 částic v obalu pro částice o velikosti 25 µm nebo větší.

“

12. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, kapitola 2.9.22 zní:

”

### 2.9.22 Stanovení doby deformace lipofilních čípků



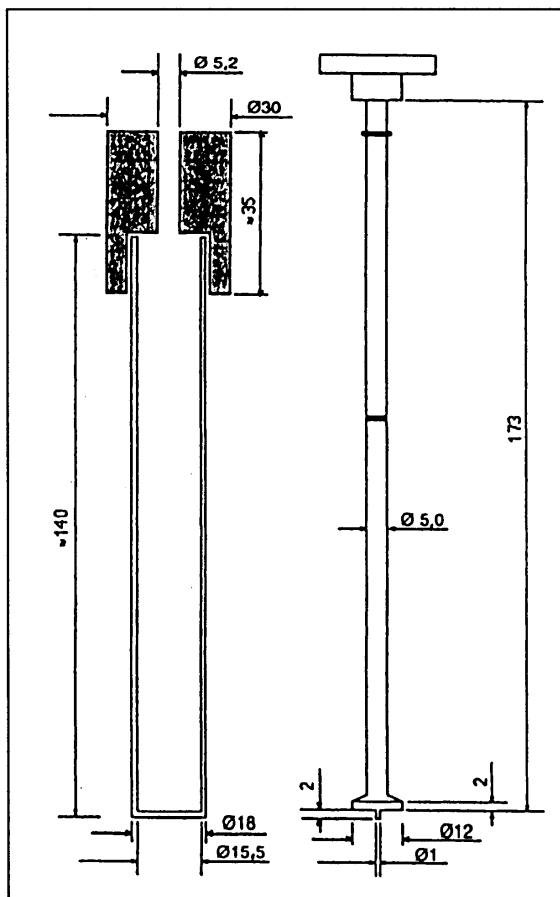
2000

*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 A.* Přístroj, viz obrázek 2.9.22-1, se skládá ze skleněné trubice s plochým dnem, která má vnitřní průměr 15,5 mm a délku asi 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 rozšířena 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, dolní část je z plastického materiálu a horní část je z plastického materiálu nebo kovu s diskem působícím jako zatížení. Horní a dolní část jsou buď 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 tyč volně provlékne otvorem krytu 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.

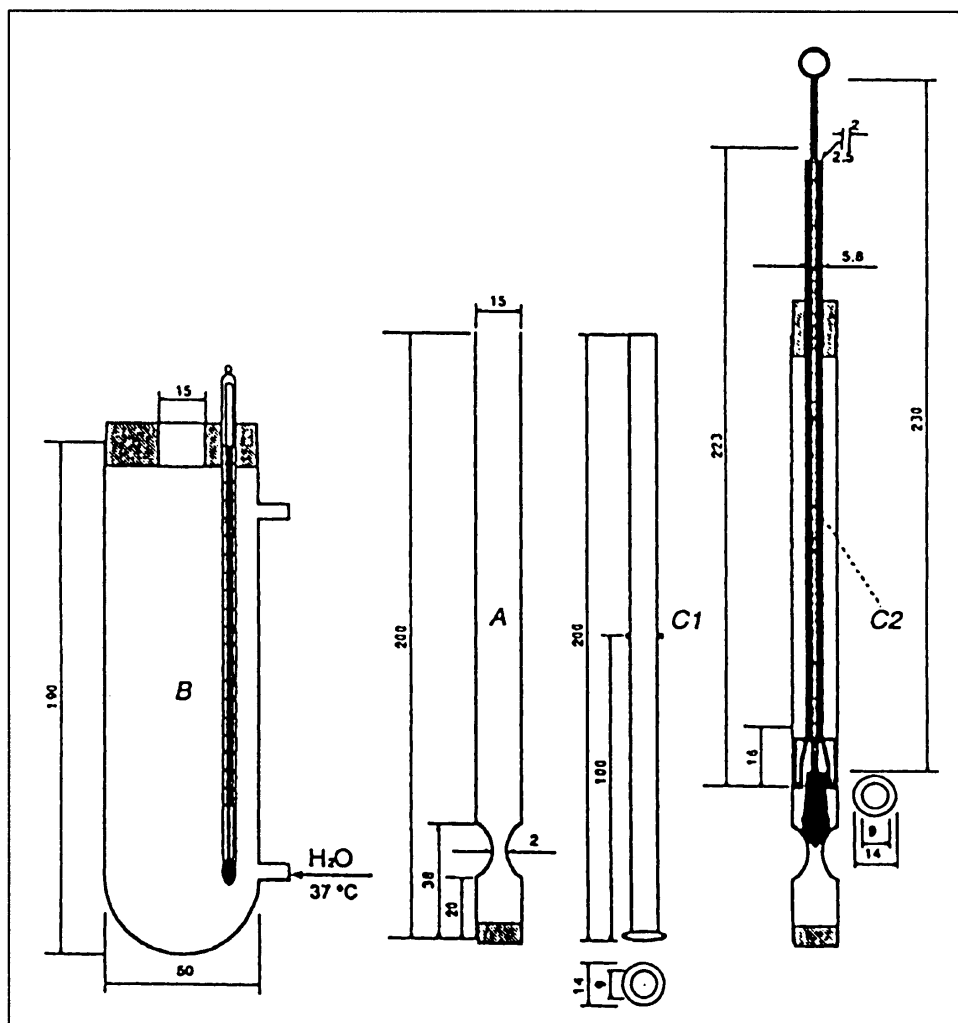


Obr. 2.9.22-1 Přístroj A pro stanovení doby deformace lipofilních čípků (rozměry v milimetrech)

*Přístroj B.* Přístroj, viz obrázek 2.9.22-2, se skládá z vodní lázně (B) a vnitřní trubice (A) vložené do lázně a upevněné v zátce. Vnitřní trubice má dolní otvor uzavřený zátkou. Zařízení je doplněno teploměrem. K zatížení čípku ve vnitřní trubici se použije jedna ze dvou vložek:

- skleněná tyč (C1), skládající se z trubice neprodyšně uzavřené na obou koncích a olemované na dolním konci; hmotnost tyče je pomocí olovených broků upravena na  $(30 \pm 0,1)$  g,
- průchozí vložka (C2), tvořená tyčí o hmotnosti  $(7,5 \pm 0,1)$  g v trubici s rozšířením pro čípek; tyč i trubice jsou z nerezové oceli.

*Postup zkoušky.* Do vnitřní trubice se vlije 5 ml vody o teplotě  $(36,5 \pm 0,5)$  °C, vloží se čípek hrotem dolů a na něj vložka (C1 nebo C2). Od tohoto okamžiku se začíná měřit čas. Doby deformace (spojenou s táním nebo rozpouštěním) čípku udává čas, kdy lem skleněné tyčky (C1) nebo ocelová tyčka (C2) dosáhne zúženou část vnitřní trubice.



Obr. 2.9.22-2 Přístroj B pro stanovení doby deformace lipofilních čípků (rozměry v milimetrech)

13. V příloze části 2 Zkušební metody, kapitola 2.9 Metody farmaceutické technologie, se za kapitolu 2.9.24 doplňují kapitoly 2.9.25 a 2.9.26, které znějí:

”

### 2.9.25 Uvolňování léčiva z léčivé žvýkáci gumy



#### Podstata zkoušky

Léčivo se uvolní z léčivé žvýkáci gumy mechanickým hnětením kousku gumy v malé komůrce, obsahující známý objem tlumivého roztoku.

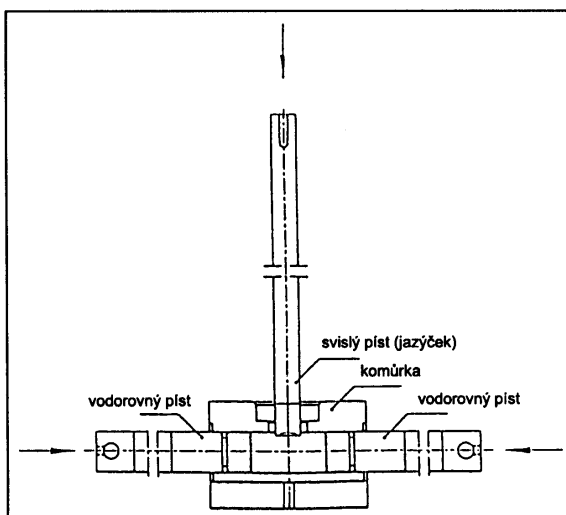
#### Přístroj

Součástí přístroje napodobujícího žvýkání, viz obrázek 2.9.25-1, je komůrka o objemu asi 40 ml. Žvýkání napodobují dva proti sobě umístěné vodorovné písty, které se pohybují současně konstantní rychlostí. Ke konci zkoušky se písty mohou otáčet v opačném směru kolem své vlastní osy. Umožní to dosažení maximálního žvýkáciho efektu.

Třetí, svislý píst („jazýček“) pracuje střídavě s oběma vodorovnými písty a zajišťuje správné umístění vzorku během zkoušky. Písty, jejichž vzájemná souhra musí být seřízena, pohání stlačený vzduch. Všechny součásti přístroje jsou z nerezavějící oceli.

#### Postup zkoušky

Komůrka se vytemperuje na teplotu  $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$  a nastaví se rychlost pístů na potřebnou hodnotu. Pak se do komůrky přidá 20 ml tlumivého roztoku, obvykle o pH blízkém 6. Přístroj se nejprve uvede do chodu pouze s tlumivým roztokem, bez žvýkáci gumy. Po 2 minutách se přístroj zastaví a tlumivý roztok se pipetou z komůrky odstraní a použije se jako kontrola při analýze. Do komůrky se potom přidá dalších 20 ml tlumivého roztoku a kousek přesně odvážené žvýkáci gumy a přístroj se znovu uvede do chodu. Ve stanovených časových intervalech se pak odebírají vzorky roztoku a stanovuje se v nich množství uvolněného léčiva. Frekvence hnětení je obvykle nastavena na 60 cyklů za min. Zbytek gumy může být uchován pro další hodnocení.



Obr. 2.9.25-1 Přístroj pro stanovení uvolňování léčiva z léčivé žvýkáci gumy

## 2.9.26 Specifický povrch adsorpcí plynu



2000

### I Úvod

Specifický povrch prášku se určuje fyzikální adsorpcí plynu na povrchu pevné látky a měřením množství adsorbovaného plynu, které odpovídá monomolekulární vrstvě na povrchu látky. Fyzikální adsorpce závisí na relativně slabých silách (van der Waalsovy síly) mezi adsorbovanými molekulami plynu a adsorpčním povrchem zkoušeného prášku. Množství adsorbovaného plynu pak může být měřeno gravimetricky, volumetricky nebo metodou kontinuálního měření průtoku.

### II Brunauerova, Emmettova a Tellerova teorie (BET) a stanovení specifického povrchu

#### II.1 Vícebodové měření

Údaje jsou zpracovávány podle rovnice adsorpční izotermy podle Brunauera, Emmetta a Tellera (BET):

$$\frac{1}{V_a \left( \frac{P_0}{P} - 1 \right)} = \frac{C-1}{V_m C} \cdot \frac{P}{P_0} + \frac{1}{V_m C}, \quad (1)$$

v níž značí:

$P$  - parciální tlak par adsorbovaného plynu měřený v rovnováze s povrchem při  $-196$  °C, v pascalech,

$P_0$  - tlak nasycených par adsorbovaného plynu v pascalech,

$V_a$  - objem plynu adsorbovaného při standardní teplotě a tlaku (STP) [tj. 273,15 K a atmosférický tlak  $1,0133 \cdot 10^5$  Pa] v mililitrech,

$V_m$  - objem plynu adsorbovaného při standardních podmínkách potřebný pro vytvoření zdánlivé monomolekulární vrstvy na povrchu vzorku v mililitrech,

$C$  - bezrozměrná konstanta vztahující se k adsorpční enthalpii plynu adsorbovaného na vzorku prášku.

Měří se hodnota  $V_a$  pro každou z nejméně tří hodnot  $P/P_0$  a vypočítá se hodnota BET podle vzorce:

$$\frac{1}{V_a \left( \frac{P_0}{P} - 1 \right)}$$

Hodnoty BET se vynesou do grafu proti  $P/P_0$  podle rovnice (1). Tato závislost by měla být lineární obvykle v rozmezí relativního tlaku 0,05 až 0,3. Údaje jsou považovány za přijatelné, pokud korelační koeficient lineární regrese  $r$  není menší než 0,9975, to znamená, že  $r^2$  není menší než 0,995. Z vyplývající lineární závislosti jsou pomocí lineární regresní analýzy určovány směrnice přímky, která je rovna  $(C-1)/V_m C$ , a úsek na ose y, který se rovná  $1/V_m C$ . Z těchto hodnot je  $V_m$  počítáno jako  $1/(\text{směrnice} + \text{úsek})$ , zatímco  $C$  je počítáno jako  $(\text{směrnice}/\text{úsek}) + 1$ . Z takto stanovené hodnoty  $V_m$  je pak specifický povrch  $S$ , v  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , vypočítán podle vztahu:

$$S = \frac{V_m \cdot N \cdot a}{m \cdot 22400}, \quad (2)$$

v němž značí:

$N$  - Avogadrova konstanta ( $6,023 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$ ),

$a$  - účinný průřez jedné adsorbované molekuly v metrech čtverečních ( $0,162 \text{ nm}^2$  pro dusík a  $0,195 \text{ nm}^2$  pro krypton),

$m$  - hmotnost zkoušeného prášku v gramech,

22400 - objem v mililitrech, který zaujímá adsorbovaný plyn při standardních podmínkách (STP) při přípuštění menších odchylek od ideálního plynu.

#### II.2 Jednobodové měření

Normálně jsou požadována nejméně tři měření hodnoty  $V_a$  při různých hodnotách  $P/P_0$  pro stanovení specifického povrchu pomocí techniky měření adsorpce dynamicky protékajícího plynu (*Metoda I*) nebo pomocí volumetrického měření adsorpce plynu (*Metoda II*). Avšak za jistých okolností popsanych níže, může být přijatelné stanovení

specifického povrchu prášku z jediného měření hodnoty  $V_a$  při jediné hodnotě  $P/P_0$ , jako je 0,300 (odpovídá 0,300 molu dusíku nebo 0,001038 molárního zlomku kryptonu). Hodnota  $V_m$  se pak vypočítá podle vztahu:

$$V_m = V_a \left( 1 - \frac{P}{P_0} \right). \quad (3)$$

Specifický povrch se pak vypočítá z hodnoty  $V_m$  podle výše uvedeného vztahu (2).

Metoda jednobodového měření může být použita přímo pro řadu vzorků daného materiálu, pro který je materiálová konstanta  $C$  mnohem větší než jedna. Tyto okolnosti mohou být ověřeny porovnáním hodnot specifického povrchu u řady vzorků prášků, které byly stanoveny jednobodovou metodou s hodnotami, které byly stanoveny vícebodovou metodou. Pokud jsou hodnoty z jednobodového měření a vícebodového měření velmi podobné, naznačuje to, že hodnota  $1/C$  se blíží k nule.

Metoda jednobodového měření může být nepřímo použita pro řadu velmi podobných vzorků daného materiálu, pro který materiálová konstanta  $C$  není nekonečně velká, ale může být považována za invariantní. Za těchto okolností může být chyba metody jednobodového měření omezena nebo vyloučena použitím metody vícebodového měření, kterým se z BET diagramu určí konstanta  $C$  pro jeden vzorek z této řady. Konstanta  $C$  je zde vypočítána jako  $(1 + \text{směrnice/úsek})$ . Pak se  $V_m$  vypočítá z jediné hodnoty  $V_a$  dané jedinou hodnotou  $P/P_0$  podle rovnice:

$$V_m = V_a \left( \frac{P_0}{P} - 1 \right) \left[ \frac{1}{C} + \frac{C-1}{C} \cdot \left( \frac{P}{P_0} \right) \right]. \quad (4)$$

Specifický povrch se pak vypočítá z hodnoty  $V_m$  podle výše uvedeného vztahu (2).

### III Zkušební postupy

Tato část popisuje metody používané k přípravě vzorků, způsob měření adsorpce dynamicky protékajícího plynu (*Metoda I*) a způsob volumetrického měření adsorpce plynu (*Metoda II*).

#### III.1 Příprava vzorků

##### III.1.1 Odstranění plynu

Plyny a páry, které se mohou fyzikálně adsorbovat na povrchu vzorku po jeho výrobě a během jeho úpravy, manipulace a uchování, musí být před stanovením specifického povrchu vzorku odstraněny. Pokud se adsorbované plyny ze vzorku neodstraní, může být výsledný specifický povrch nižší nebo proměnný, protože přechodný povrch je pokryt molekulami předem adsorbovaných plynů nebo par. Protože povrch farmaceutických látek je velmi náchylný k adsorpci plynů, je k dosažení požadované přesnosti a správnosti měření jejich specifického povrchu odstranění předem adsorbovaných plynů a par kritickým parametrem.

*Podmínky.* Musí být zajištěny podmínky odplynění, aby byly získány reprodukovatelné BET diagramy, konstantní hmotností zkoušeného prášku a aby nenastaly žádné fyzikální a chemické změny zkoušeného prášku.

Podmínky odplynění, které jsou definovány teplotou, tlakem a časem, by měly být zvoleny tak, aby zajistily, co možná nejvíce reprodukovatelný skutečný povrch zkoušené pevné látky. Odplynění mnoha látek je často dosahováno použitím vakua nebo pročištěním vzorku proudem suchého nereaktivního plynu. V opačném případě se někdy používá zvýšené teploty ke zvýšení rychlosti, kterou nečistoty opouštějí povrch. Ale pozor, odplynění zahříváním vzorku může změnit povahu jeho povrchu a nemělo by se používat, pokud není specificky určeno jinak.

Pokud je použito zahřátí, doporučená teplota a doba odplyňování by měly být co nejnižší, aby se dosáhlo vysoce reprodukovatelných hodnot v přijatelném časovém intervalu. Pro odplyňování citlivých vzorků mohou být použity jiné odplyňovací metody, jako je cyklická metoda desorpce-adsorpce.

##### III.1.2 Plyny používané k adsorpci

Standardní postup je adsorpce dusíku při teplotě kapalného dusíku.

Pro prášky s nízkou hodnotou specifického povrchu ( $<1 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ), kde je adsorbovaný podíl nízký, je lepší použít krypton při teplotě kapalného dusíku, protože tento plyn vykazuje nízký tlak nasycených par a tím velmi snižuje chybu měření.

Všechny použité plyny musí být prosty vlhkosti.

### III.1.3 Množství vzorku

Správná navážka vzorku je, když je povrch vzorku nejméně 1 m<sup>2</sup> při použití dusíku k adsorpci a 0,5 m<sup>2</sup> při použití kryptonu.

### III.2 Měření

Protože množství plynu adsorbovaného za daného tlaku má sklon se zvětšovat při poklesu teploty, adsorpční měření se obvykle provádějí za nízké teploty. Měření se provádí při teplotě -196 °C, což je bod varu kapalného dusíku.

#### III.2.1 Metoda I: metoda dynamického průtoku

##### III.2.1.1 Princip metody

Plyny, které se doporučují použít k adsorpci při užití metody dynamického průtoku, jsou vysušený dusík nebo krypton. Jako nosný plyn, který se neadsorbuje za doporučených podmínek, se používá helium.

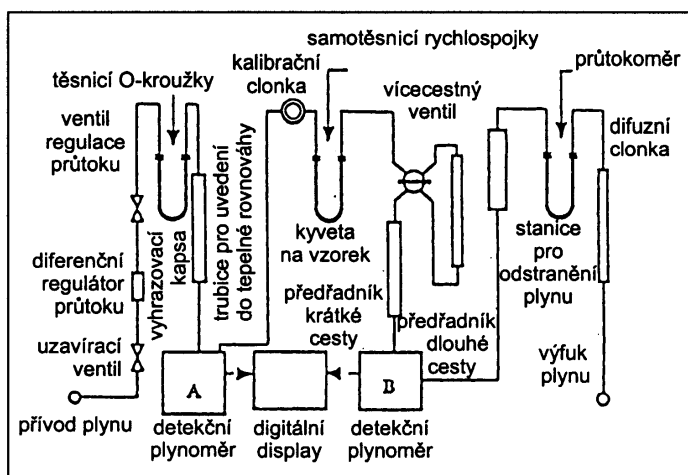
Pro rozmezí  $P/P_0$  0,05 až 0,30 se vyžadují minimálně tři směsi plynu vhodného k adsorpci s heliem.

Detekční plynoměr má poskytnout signál, který je přibližně úměrný objemu plynu, který jím prochází při definované teplotě a tlaku. Jedním z mnoha různých vhodných typů pro tento účel je detektor tepelné vodivosti s integrátorem. Musí být stanoveny minimálně tři hodnoty v doporučeném rozmezí  $P/P_0$  od 0,05 do 0,30.

##### III.2.1.2 Pracovní postup

Známa směs plynů, obvykle dusík a helium, se nechá procházet snímačem tepelné vodivosti, vzorkem, opět snímačem tepelné vodivosti a pak se vede k registračnímu potenciometru.

Při ponoření kyvety se vzorkem do kapalného dusíku vzorek adsorbuje dusík z mobilní fáze. To vyvede z rovnováhy snímač tepelné vodivosti a vygeneruje se impulz, který se zaznamená zapisovačem do grafu.



Obr. 2.9.26-1 Schéma zařízení pro metodu dynamického průtoku

Při vyjmutí z chladicího média vznikne desorpční pík, který má stejnou plochu jako v opačném směru adsorpční pík. Desorpční pík je lépe definovatelný a je proto používán ke stanovení.

K provedení kalibrace se do systému vstříkne vhodný vzduch, který poskytne pík o obdobné velikosti jako je desorpční pík a získá se tak podíl adsorbovaného plynu na jednotku plochy píku (místo dusíku může být použit vzduch, protože má stejnou tepelnou vodivost).

Pro jednobodové stanovení se použije směs dusík/helium. Několik takových směsí nebo směsi dvou proudů plynů pak se použije pro vícebodové stanovení.

Výpočet je v podstatě stejný jako pro volumetrickou metodu.

#### III.2.2 Metoda II: volumetrická metoda

##### III.2.2.1 Princip metody

Při užití volumetrické metody, viz obrázek 2.9.26-2, je plynem doporučeným k adsorpci dusík. Ten je vhnán do evakuovaného prostoru nad vzorkem, který byl předem zbaven veškerého plynu, a dosáhne se tak definovaného

rovnovážného tlaku plynu  $P$ . Proto použití helia jako nosného plynu není nezbytné. Helium se ale může použít pro jiné účely, jako je měření objemu, který nebyl obsazen.

Protože se zde používá k adsorpci místo směsi plynů pouze čistý plyn, jsou u této metody odstraněny rušivé vlivy tepelné difuze.

### III.2.2.2 Pracovní postup

K zabránění znečištění čistého povrchu se vpustí malé množství vysušeného dusíku do zkumavky se vzorkem, zkumavka se vyjme, uzavře se zátkou a zváží se. Vypočítá se hmotnost vzorku. Zkumavka se vloží do přístroje pro volumetrické stanovení. Opatrně se sníží tlak ve zkumavce na 2,66 Pa nebo nižší.

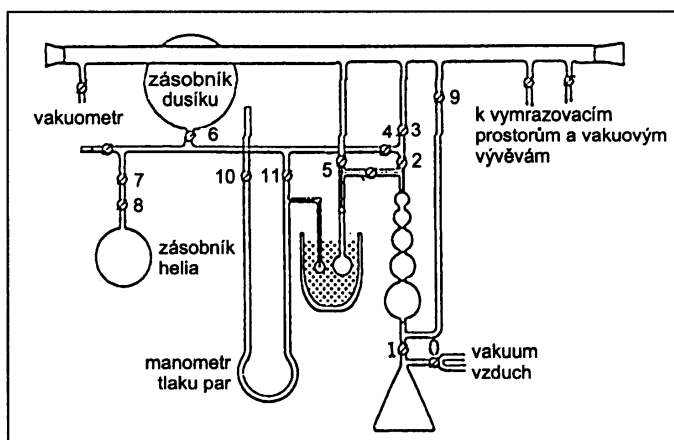
Pokud princip činnosti zařízení vyžaduje stanovit zbytkový objem ve zkumavce, např. vpuštěním neadsorbovaného plynu, jako je helium, provede se tento postup v tomto bodě, který následuje po snížení tlaku ve zkumavce na 2,66 Pa nebo níže. Adsorpce plynného dusíku je pak měřena způsobem popsáným níže.

Zdvihne se Dewarova nádoba s kapalným dusíkem při teplotě  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  do definovaného bodu na kyvetě se vzorkem. Vpustí se objem dusíku dostatečný k dosažení relativního tlaku  $P/P_0$  rovno  $0,10 \pm 0,02$ . Změří se objem  $V_a$ , který se adsorboval. Opakuje se měření  $V_a$  při hodnotách  $P/P_0$   $0,20 \pm 0,02$  a  $0,30 \pm 0,02$ .

Vyžadují se minimálně údaje ze tří měření. Další měření se mohou provést, a to zvláště ve výjimečných případech, kdy není při hodnotách  $P/P_0$  blízkých 0,3 dosaženo lineárního průběhu. Protože nelineární průběh se často získá při těchto hodnotách  $P/P_0$  nebo při hodnotách pod 0,05, nedoporučuje se měření v této oblasti. Zkouška linearity, zpracování údajů a výpočet specifického povrchu vzorku jsou popsány výše.

## IV Referenční materiály

Funkčnost zařízení se pravidelně ověřuje za použití vhodných referenčních materiálů o známé ploše povrchu. Referenční materiály by měly mít podobnou plochu povrchu, jako má zkoušený vzorek.



Obr. 2.9.26-2 Schéma přístroje pro volumetrickou metodu



14. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.1 Materiály pro výrobu obalů, kapitola 3.1.1 zní:

”

### 3.1.1 Materiály pro obaly na lidskou krev a krevní složky

2000



*Poznámka: Pro materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na vodné roztoky pro intravenózní infuzi platí text 3.1.14.*

Obaly z plastů pro odběr, uchovávání, zpracování a podávání krve a jejich složek mohou být vyrobeny z jednoho nebo více polymerů, které v případě potřeby mohou obsahovat určité přísady.

Jestliže je celý obal nebo jeho část vyrobena z materiálu uvedeného v lékopisu, jakost takového materiálu se kontroluje metodami popsány v lékopise, viz 3.1.1.1 *Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na lidskou krev a krevní složky*.

Za normálních podmínek použité materiály a obaly vyrobené z takových materiálů nevolňují monomery nebo jiné látky v množstvích, která by mohla být škodlivá nebo která by mohla způsobit abnormální změny krve nebo krevních složek.

“

15. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.1 Materiály pro výrobu obalů se za kapitolu 3.1.1 doplňují kapitoly 3.1.1.1 a 3.1.1.2, které znějí:

”

#### 3.1.1.1 Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na lidskou krev a krevní složky

2000



Obsahují nejméně 55 % polyvinylchloridu a kromě vysokomolekulárního polymeru získaného polymerací vinylchloridu obsahují ještě různé přísady.

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na lidskou krev a krevní složky jsou definovány povahou a poměry složek použitých při jejich výrobě.

#### Výroba

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu se vyrábějí polymeračními metodami zaručujícími, že obsah zbytkového vinylchloridu je menší než 1 µg v jednom gramu polymeru. Použitý výrobní postup je validován, aby se prokázalo, že výrobek vyhoví 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 mikrostříkačkou do 20,0 ml *dimethylacetamidu R* tak, aby špička jehly byla ponořena do rozpouštědla. Těsně před použitím se roztok zředí *dimethylacetamidem R* 1 : 1000.

*Zkoušený roztok.* 1,000 g zkoušeného materiálu se přenesse do lahvičky na 50 ml a přidá se 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvička se uzavře, uzávěr se zajistí a protřepe se, aniž by došlo ke smočení zátky kapalinou. Lahvička se temperuje 2 h ve vodní lázni při (60 ± 1) °C.

**Základní roztok vinylchloridu.** *Připravuje se v digestoři.* 50,0 ml *dimethylacetamidu R* se přeneso do lahvičky na 50 ml. Lahvička se uzavře a zátka se zajistí. Lahvička se zvaží 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 podkožní jehla a objem plynu ve stříkačce se zmenší z 50 ml na 25 ml. Těchto zbylých 25 ml vinylchloridu se pomalu nastříkne do lahvičky za opatrného třepání tak, aby nedošlo ke smočení jehly kapalinou. Lahvička se opět zvaží. Přírůstek hmotnosti je asi 60 mg (1 µl takto připraveného roztoku obsahuje asi 1,2 µg vinylchloridu). Nechá se stát 2 h. Základní roztok se uchovává v chladničce.

**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 přeneso po 10,0 ml roztoku vnitřního standardu. Lahvičky se uzavřou a zátka 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 % *dimethylstearamidu R* a 5 % *makroglu 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.

## Přísady

Do polymerů se pro optimalizaci jejich chemických, fyzikálních a mechanických vlastností přidává určitý počet přísad, aby se přizpůsobily pro určené použití. Všechny tyto přísady se volí z následujícího seznamu, který specifikuje pro každý výrobek nejvyšší přípustný obsah.

- nejvýše 40 % bis(2-ethylhexyl)-ftalatu (přísada polymerů 01),
- nejvýše 1 % zinkium-oktanoatu (přísada polymerů 02),
- nejvýše 1 % stearanu vápenatého nebo stearanu zinečnatého nebo 1 % jejich směsi,
- nejvýše 1 % N,N'-diacylethylendiaminů (přísada polymerů 03),
- nejvýše 10 % jednoho z následujících epoxidovaných olejů nebo 10 % jejich směsi:
- epoxidovaný sójový olej (přísada polymerů 04) s obsahem oxiranového kyslíku 6 % až 8 % a číslem jodovým nejvýše 6,
- epoxidovaný lněný olej (přísada polymerů 05) s obsahem oxiranového kyslíku nejvýše 10 % a číslem jodovým nejvýše 7.

V polymeru může být zjištěno velmi malé množství antioxidantů přidávaných do monomerního vinylchloridu.

K polymeru se nepřidává žádný antioxidant.

Pro barvení materiálu se použije pouze ultramarinová modř.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Bezbarvý nebo světle žlutý prášek, kuličky, granule nebo, po zpracování, průsvitné fólie různé tloušťky nebo obaly, se slabým pachem. Při spalování se vyvíjí hustý černý dým.

## Zkoušky totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

Ke 2,0 g zkoušeného materiálu se přidá 200 ml *etheru prostého peroxidických látek R* a vaří se 12 h pod zpětným chladičem. Zbytek (B) a roztok (A) se oddělí filtrací.

Roztok (A) se odpaří do sucha za sníženého tlaku ve vodní lázni při 30 °C. Zbytek po odpaření se rozpustí v 10 ml *toluenu R* (roztok A<sub>1</sub>). Zbytek (B) se rozpustí zahříváním na vodní lázni pod zpětným chladičem v 60 ml *dichlorethanu R* a zfiltruje se. Filtrát se přidá po kapkách a za silného třepání k 600 ml *heptanu R* zahřátého téměř k varu. Horká směs se zfiltruje horkým filtrem, aby se oddělil koagulát B<sub>1</sub> a organický roztok. Organický roztok se ochladí, oddělí se vzniklá sraženina B<sub>2</sub> a zfiltruje se zváženým filtrem ze slinutého skla (40).

A. Koagulát (B<sub>1</sub>) se rozpustí v 30 ml *tetrahydrofuranu R* a za stálého třepání se přidá po malých dávkách 40 ml *ethanolu R*. Filtrací se oddělí sraženina B<sub>3</sub> a suší se ve vakuu při teplotě nejvýše 50 °C nad *oxidem fosforečným R*. Několik miligramů sraženiny B<sub>3</sub> se rozpustí v 1 ml *tetrahydrofuranu R*. Několik kapek získaného roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a odpaří se do sucha v sušárně při teplotě 100 °C až 105 °C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) vysušené látky odpovídá spektru *polyvinylchloridu CRL*.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku C získaného ve zkoušce Přísady polymerů 01, 04 a 05 odpovídá spektru *přísady polymerů 01 CRL*.

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** 5,0 g se převede do spalovací baňky, přidá se 30 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se do vzniku černé sirupovité hmoty. Ochladí se a opatrně se přidá 10 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Směs se mírně zahřeje, nechá se ochladit a přidá se 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*; opakuje se střídavě odpařování a přidávání peroxidu vodíku do získání bezbarvé tekutiny. Objem tekutiny se sníží asi na 10 ml, ochladí se a zředí *vodou R* na 50,0 ml.

**Roztok S2.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla, přidá se 500 ml *vody na injekci R* a hrdlo baňky se překryje kádinkou z borokřemičitého skla. Zahřívá se 20 min v autoklávu na (121 ± 2) °C. Po zchladnutí se roztok sleje a doplní do 500 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S2 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý nebo zásaditý reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** 100,0 ml roztoku S2 se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml *hexanu R*. Absorbance při 250 nm až 310 nm je nejvýše 0,25.

**Redukující látky.** *Zkouška se provádí do 4 h od přípravy roztoku S2.* Ke 20,0 ml roztoku S2 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška s 20 ml *vody na injekci R*. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 2,0 ml.

**Primární aromatické aminy.** Ke 2,5 ml roztoku A<sub>1</sub> připraveného pro zkoušky totožnosti se přidá 6 ml *vody R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*. Důkladně se protřepe, organická vrstva se oddělí a odstraní se. K vodné vrstvě se přidá 0,4 ml čerstvě připraveného roztoku *duřitanu sodného R* (10 g/l). Promíchá se a nechá 1 min stát. Přidá se 0,8 ml roztoku *amidosisiranu amonného R* (25 g/l), nechá se stát 1 min a přidají se 2 ml roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (5 g/l). Po 30 min není zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem za použití 1 ml roztoku *naftylaminu R* (0,01 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*, 5 ml *vody R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* místo vodné vrstvy (20 µg/g).

**Přísady polymerů 01, 04 a 05.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R* (tloušťka 1 mm).

**Porovnávací roztoky.** Připraví se roztoky 0,1 mg/ml *přísady polymerů 01 CRL*, *přísady polymerů 04 CRL* a *přísady polymerů 05 CRL* v *toluenu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů (30 mm x 3 mm) 0,5 ml roztoku A<sub>1</sub> získaného při zkouškách totožnosti, dále se nanese po 5 µl každého porovnávacího roztoku a vyvíjí se *toluenem R* po dráze 15 cm. Vrstva se opatrně vysuší a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu se vyznačí pruh odpovídající přísadě polymerů 01 (*R<sub>F</sub>* asi 0,4).

Tento pruh silikagelu se sejme a třepe se 1 min se 40 ml *etheru R*. Zfiltruje se a filtr se propláchne ještě dvakrát 10 ml *etheru R*. Filtráty se spojí a odpaří do sucha. Hmotnost zbytku (C) je nejvýše 40 mg.

Vrstva se vystaví na 5 min působení par jodu. Na chromatogramu se vyznačí pruh odpovídající přísadám polymerů 04 a 05 ( $R_F = 0$ ). Tento pruh silikagelu se sejme a podobně se sejme odpovídající pruh silikagelu jako kontrolní vzorek. Oba vzorky se 15 min odděleně třepou se 40 ml *methanolu R*. Zfiltruje se a každý filtr se propláchne ještě dvakrát 10 ml *methanolu R*. Filtráty se spojí a odpaří do sucha. Rozdíl hmotností mezi oběma zbytky není větší než 10 mg.

**Přísada polymerů 03.** Sraženina B<sub>2</sub> získaná při zkouškách totožnosti a nacházející se ve zváženém filtru se slinutého skla (40) se promyje *ethanolem R*. Vysuší se do konstantní hmotnosti nad *oxidem fosforečným R* a zváží se. Hmotnost sraženiny je nejvýše 20 mg.

Infračervené spektrum (2.2.24) zbytku odpovídá spektru *přísady polymerů 03 CRL*.

**Baryum.** Nejvýše 5 µg Ba/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se žihá v křemenném kelímku. Zbytek se převede do 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a na vodní lázni se odpaří do sucha. Tento zbytek se převede do 20 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*.

*Porovnávací roztok.* Roztok obsahující 0,25 µg Ba/ml se připraví za použití základního roztoku *barya (50 µg Ba/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se emisní intenzita při 455,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 455,30 nm. Ověří se nepřítomnost barya v použité kyselině chlorovodíkové.

**Kadmium.** Nejvýše 0,6 µg Cd/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 10 ml roztoku S1 se odpaří do sucha. Zbytek se převede do 5 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (10 ml/l), zfiltruje se a filtrát se zředí stejným roztokem kyseliny na 10,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se ze základního roztoku *kadmia (1 mg Cd/ml)* zředěním roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (10 ml/l).

Změří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost kadmia v použité kyselině chlorovodíkové.

**Vápník.** Nejvýše 0,07 %; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok připravený pro stanovení barya.

*Porovnávací roztok.* Roztok obsahující 50,0 µg Ca/ml se připraví ze základního roztoku *vápníku (400 µg Ca/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se emisní intenzita při 315,89 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 315,60 nm. Ověří se nepřítomnost vápníku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Cín.** Nejvýše 20 µg Sn/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 1 ml roztoku S1 se bezprostředně před použitím zředí *vodou R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* Bezprostředně před použitím se do 50ml odměrné baňky obsahující 5 ml roztoku *kyseliny sírové R 20% (V/V)* přidají 2 ml základního roztoku *cínu (5 µg Sn/ml)* a zředí se *vodou R* na 50 ml.

Měří se emisní intenzita při 189,99 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 190,10 nm. Ověří se nepřítomnost cínu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Zinek.** Nejvýše 0,2 %, stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 1,0 ml roztoku S1 se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se ze základního roztoku *zinku (100 µg Zn/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost zinku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Těžké kovy (2.4.8).** K 10 ml roztoku S1 se přidá 0,5 ml *fenoltaleinu RS* a *hydroxid sodný koncentrovaný RS*, do vzniku slabě růžového zbarvení a zředí se *vodou R* na 25 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (50 µg/g). Porovnávací roztok se připraví ze základního roztoku *olova (2 µg Pb/ml)*.

**Vodou extrahovatelné látky.** 50 ml roztoku S2 se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti. Provede se slepá zkouška s *vodou na injekci R*. Hmotnost zbytku po korekci na slepou zkoušku je nejvýše 7,5 mg (0,3 %).

## Stanovení obsahu

S 50,0 mg se provede spalování organických látek v kyslíku (2.5.10). Spalné produkty se absorbují 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.

*Sterilní a prázdné obaly se dále podrobí následujícím dodatečným zkouškám.*

**Roztok S3.** Jestliže zkoušený obal obsahuje antikoagulační roztok, obal se před přípravou roztoku S3 vyprázdní a vnitřek se promyje 250 ml *vody na injekci R* při  $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Prázdný obal se naplní stejným objemem *vody na injekci R* jako byl objem roztoku. Obal se uzavře a ohřeje se v autoklávu tak, aby teplota tekutiny byla udržována 30 min na  $110^\circ\text{C}$ . Po ochlazení se obal doplní *vodou na injekci R* na jeho jmenovitý objem a obsah se promíchá.

*Porovnávací roztok.* V baňce z borokřemičitého skla se *voda na injekci R* zahřívá 30 min v autoklávu při  $110^\circ\text{C}$ .

**Redukující látky.** Množství roztoku S3 odpovídající 8 % jmenovitého objemu obalu se ihned po přípravě převede do baňky z borokřemičitého skla. Současně se v jiné baňce z borokřemičitého skla připraví za použití stejného objemu čerstvě připraveného porovnávacího roztoku kontrolní vzorek (slepá zkouška). Ke každému roztoku se přidá 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS* a 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Nechá se stát 15 min za chránění před světlem. Do každého roztoku se přidá 0,1 g *jodidu draselného R*. Nechá se 5 min stát za chránění před světlem a potom se ihned titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku obou titrací je nejvýše 2,0 ml.

**Kysele nebo zásadité reagující látky.** K množství roztoku S3 odpovídajícímu 4 % jmenovitého objemu obalu se přidá 0,1 ml *fenolftaleínu RS*; roztok zůstane bezbarvý. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok zrudne. Přidá se 0,8 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 0,1 ml *červeně methylové RS*; roztok se zbarví oranžovočerveně nebo červeně.

**Chloridy (2.4.4).** 15 ml roztoku S3 vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,4  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 1,2 ml základního roztoku *chloridů (5  $\mu\text{g Cl/ml}$ )* a 13,8 ml *vody R*.

**Amonium (2.4.1)** 5 ml roztoku S3 se zředí *vodou R* na 14 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na amonium (2  $\mu\text{g/g}$ ).

**Vodou extrahovatelné látky.** 100 ml roztoku S3 se odpaří na vodní lázni do sucha. Za stejných podmínek se odpaří 100 ml porovnávacího roztoku (slepá zkouška). Vysuší se v sušárně do konstantní hmotnosti při  $100^\circ\text{C}$  až  $105^\circ\text{C}$ . Zbytek po odpaření roztoku S3 po korekci na slepou zkoušku váží nejvýše 3 mg

**Absorbance (2.2.25).** Změří se absorbance roztoku S3 při 230 nm až 360 nm proti porovnávacímu roztoku jako kontrolní tekutině. Při 230 nm až 250 nm je absorbance nejvýše 0,30 a při 251 nm až 360 nm je absorbance nejvýše 0,10.

**Extrahovatelná přísada polymerů 01.** Jako extrakční rozpouštědlo se použije *líh 96% R* zředěný *vodou R* tak, aby relativní hustota směsi měřená pyknometrem (2.2.5) byla 0,9389 až 0,9395.

*Základní roztok.* 0,100 g *přísady polymerů 01 CRL* se rozpustí v extrakčním rozpouštědle a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztoky:*

- 20,0 ml základního roztoku se zředí extrakčním rozpouštědlem na 100,0 ml,
- 10,0 ml základního roztoku se zředí extrakčním rozpouštědlem na 100,0 ml,
- 5,0 ml základního roztoku se zředí extrakčním rozpouštědlem na 100,0 ml,
- 2,0 ml základního roztoku se zředí extrakčním rozpouštědlem na 100,0 ml,
- 1,0 ml základního roztoku se zředí extrakčním rozpouštědlem na 100,0 ml.

Změří se absorbance (2.2.25) porovnávacích roztoků v maximu při 272 nm za použití extrakčního rozpouštědla jako kontrolní tekutiny. Ze závislosti absorbance na koncentraci přísady polymerů 01 se sestrojí kalibrační křivka.

**Postup extrakce.** Prázdný obal se odběrovou hadičkou s jehlou nebo adaptérem naplní do poloviny jmenovitého objemu extrakčním rozpouštědlem, předem ohřátým na  $37^\circ\text{C}$  v dobře uzavřené baňce. Z obsahu se zcela odstraní vzduch a hadička se uzavře. Naplněný obal se bez třepání ponoří ve vodorovné poloze na  $(60 \pm 1)$  min do vodní lázně o teplotě  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Obal se vyjme z vodní lázně, pozvolna se desetkrát převrátí a obsah se převede do skleněné baňky. Ihned se změní absorbance v maximu při 272 nm za použití extrakčního rozpouštědla jako kontrolní tekutiny. Koncentrace přísady polymerů 01 v miligramech na 100 ml extraktu se odečte z kalibrační křivky. Koncentrace je nejvýše:

- 10 mg/100 ml pro obaly se jmenovitým objemem 300 ml až 500 ml;

- 13 mg/100 ml pro obaly se jmenovitým objemem 150 ml až 300 ml;
- 14 mg/100 ml pro obaly se jmenovitým objemem do 150 ml.

*Jestliže obaly obsahují antikoagulační roztok, vyhovuje tento roztok článku Solutiones anticoagulantes et sanguinem humanum conservantes a následující doplňující zkoušce.*

**Absorbance (2.2.25).** Změří se absorbance antikoagulačního roztoku z obalu při 250 nm až 350 nm. Jako kontrolní tekutina se použije stejný antikoagulační roztok, který nebyl ve styku s materiálem obalu. Absorbance v maximu při 280 nm je nejvýše 0,5.

### 3.1.1.2 Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro hadičky používané v soupravách pro transfuzi krve a krevních složek



*Poznámka: Tento text nahrazuje text stati 3.1.2 v ČL 97.*

Obsahují nejméně 55 % polyvinylchloridu s bis(2-ethylhexyl)-ftalatem (přísada polymerů 01) jako změkčovadlem.

#### Výroba

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu se vyrábějí polymeračními metodami zaručujícími, že obsah zbytkového vinylchloridu je menší než 1 µg v jednom gramu polymeru. Použitý výrobní postup je validován, aby se prokázalo, že výrobek vyhoví 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 mikrostříkačkou do 20,0 ml *dimethylacetamidu R* tak, aby špička jehly byla ponořena do rozpouštědla. Těsně před použitím se 1 ml roztoku zředí *dimethylacetamidem R* na 1000 ml.

**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, uzávěr se zajistí a protřepe se, aniž by došlo ke smočení zátky kapalinou. Nádobka se temperuje 2 h ve vodní lázni při (60 ± 1) °C.

**Základní roztok vinylchloridu.** Přípravuje se v *digestoři*. 50,0 ml *dimethylacetamidu R* se přenese do lahvičky na 50 ml. Lahvička se uzavře a zátky se zajistí. Lahvička se zváží s přesností 0,1 mg. Polyethylenová nebo polypropylenová injekční stříkačka na 50 ml se naplní plyným *vinylchloridem R*. Plyn se nechá ve stříkačce asi 3 min, stříkačka se vyprázdní a opět se naplní 50 ml plyného *vinylchloridu R*. Na stříkačku se nasadí podkožní 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). Nechá se 2 h stát. Základní roztok se uchovává v chladničce.

**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 převede 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 a asi 0,3 µg, 0,6 µg, 0,9 µg, 1,5 µg a 3 µg vinylchloridu. Lahvičky se opatrně protřepou tak, aby nedošlo ke smočení uzávěru roztokem a temperují se 2 h ve vodní lázni při (60 ± 1) °C.

Chromatografický postup se obvykle provádí 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.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Téměř bezbarvý nebo světle žlutý materiál ve formě prášku, kuliček, granulí, nebo po zpracování, hadičky se slabým pachem. Při spalování se vyvíjí hustý černý dým.

## Zkoušky totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu před použitím rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**A.** K 0,5 g se přidá 30 ml *tetrahydrofuranu R* a zahřívá se 10 min za míchání na vodní lázni v digestoři. Materiál se zcela rozpustí. Za míchání se po kapkách přidává *methanol R* a vzniklá zrnitá sraženina se odfiltruje a vysuší při 60 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24) sraženiny. 50 mg sraženiny se rozpustí ve 2 ml *tetrahydrofuranu R* a naleje se na sklíčko. Sklíčko se vysuší v sušárně při 80 °C, film se sejme a upevní v držáku spektrofotometru. Infračervené absorpční spektrum odpovídá spektru *polyvinylchloridu CRL*.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku (C) získaného při zkoušce Přísada polymerů 01 odpovídá spektru *přísady polymerů 01 CRL*.

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** 5,0 g se převede do spalovací baňky, přidá se 30 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se do vzniku černé sirupovité hmoty. Ochladí se a opatrně se přidá 10 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Směs se mírně zahřeje, nechá se ochladit a přidá se 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*; opakuje se střídavé odpařování a přidávání peroxidu vodíku do získání bezbarvé tekutiny. Objem tekutiny se sníží asi na 10 ml, ochladí se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

**Roztok S2.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla, přidá se 500 ml *vody R* a hrdlo baňky se překryje kádinkou z borokřemičitého skla. Zahřívá se 20 min v autoklávu při (121 ± 2) °C. Po zchladnutí se roztok sleje a doplní se na 500 ml

**Vzhled roztoku.** Roztok S2 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Přísada polymerů 01.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** Ke 2,0 g se přidá 200 ml *etheru prostého peroxidických látek R* a zahřívá se 8 h pod zpětným chladičem. Roztok se oddělí filtrací a odpaří se do sucha za sníženého tlaku na vodní lázni při 30 °C. Zbytek se rozpustí v 10 ml *toluenu R*.

**Porovnávací roztok.** 0,8 g *přísady polymerů 01 CRL* se rozpustí v *toluenu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhu 30 mm × 3 mm 0,5 ml zkoušeného roztoku a 5 µl porovnávacího roztoku a vyvíjí se *toluenem R* po dráze 15 cm. Vrstva se opatrně usuší a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Určí se pruh odpovídající přísadě polymerů 01. Tento pruh silikagelu se sejme a třepe se 1 min se 40 ml *etheru R*. Zfiltruje se a odpaří do sucha. Hmotnost zbytku (C) je nejvýše 40 mg.

**Baryum.** Nejvýše 5 µg Ba/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 1,0 g se žihá v křemenném kelímku. Zbytek se převede do 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a na vodní lázni se odpaří do sucha. Tento zbytek se převede do 20 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*.

**Porovnávací roztok.** Roztoky obsahující 0,25 µg Ba/ml se připraví za použití základního roztoku *barya (50 µg Ba/ml)* zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se emisní intenzita při 455,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 455,30 nm. Ověří se nepřítomnost barya v použité *kyselině chlorovodíkové*.

**Kadmium.** Nejvýše 0,6 µg Cd/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 10,0 ml roztoku S1 se odpaří do sucha. Zbytek se převede do 5 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R 1 % (V/V)* zfiltruje se a filtrát se zředí stejným roztokem *kyseliny* na 10,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se ze základního roztoku *kadmia (1 mg Cd/ml)* zředěním roztokem *kyseliny chlorovodíkové R 1 % (V/V)*.

Změří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost kadmia v použité kyselině chlorovodíkové.

**Cín.** Nejvýše 20 µg Sn/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 1 ml roztoku S1 se bezprostředně před použitím zředí vodou R na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* Bezprostředně před použitím se do 50ml odměrné baňky obsahující 5 ml roztoku *kyseliny sírové R* 20 % (V/V) přidají 2 ml základního roztoku *cínu* (5 µg Sn/ml) a zředí se vodou R na 50 ml.

Měří se emisní intenzita při 189,99 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 190,10 nm. Ověří se nepřítomnost cínu v použité kyselině sírové.

**Těžké kovy (2.4.8).** K 10 ml roztoku S1 se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a *hydroxid sodný koncentrovaný RS* do vzniku slabě růžového zbarvení a zředí se vodou R na 25 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (50 µg/g). Porovnávací roztok se připraví ze základního roztoku *olova* (2 µg Pb/ml).

### Stanovení obsahu

K 0,500 g se přidá 30 ml *tetrahydrofuranu R* a zahřívá se 10 min za míchání na vodní lázni v digestoři. Materiál se zcela rozpustí. Za míchání se po kapkách přidá 60 ml *methanolu R*; vzniká zrnitá sraženina polyvinylchloridu. Ponechá se stát několik minut a pokračuje se v přidávání *methanolu R*, dokud se tvoří sraženina. Použitím tří malých dávek *methanolu R* se sraženina převede na filtr ze slinutého skla (40) a propláchně se. Filtr se sraženinou se vysuší do konstantní hmotnosti při 60 °C a zváží se.

*Sterilizované soupravy se dále podrobí následujícím zkouškám.*

**Roztok S3.** Tři soupravy a 300ml nádoba z borokřemičitanového skla se spojí do uzavřeného systému. Nádoba se termostatuje tak, aby byla udržena teplota tekutiny v nádobě na (37 ± 1) °C. Systémem se cirkuluje 250 ml *vody na injekci R* ve směru používaném při transfuzi po dobu 2 h při průtoku 1 l/h (např. pomocí peristaltického čerpadla s co nejkratší vhodnou čerpací hadičkou ze silikonu). Odebere se celý objem roztoku a nechá se ochladit.

**Vzhled roztoku.** Roztok S3 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** Ke 25 ml roztoku S3 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 25 ml roztoku S3 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení na oranžové se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S3 při 230 nm až 250 nm je nejvýše 0,30. Při 251 nm až 360 nm je absorbance roztoku S3 nejvýše 0,15.

**Redukující látky.** Zkouška se provádí do 4 h od přípravy roztoku S3. Ke 20,0 ml roztoku S3 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a titruje se *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška s 20 ml *vody na injekci R*. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 2,0 ml.

**Vodou extrahovatelné látky** 50,0 ml roztoku S3 se odpaří na vodní lázni do sucha a vysuší se v sušárně při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti. Proveďte se slepá zkouška s 50 ml *vody na injekci R*. Hmotnost zbytku po odpaření roztoku S3 po korekci na slepou zkoušku je nejvýše 1,5 mg.

66

16. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.1 Materiály pro výrobu obalů, se kapitola 3.1.2 zrušuje.



17. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.1 Materiály pro výrobu obalů, kapitoly 3.1.3 až 3.1.9 znějí:

”

### 3.1.3 Polyolefiny

2000



Ziskávají se polymerací ethylenu nebo propylenu nebo kopolymerací těchto látek nejvýše s 25 % vyšších homologů ( $C_4$  až  $C_{10}$ ) nebo karboxylových kyselin nebo esterů. Určité materiály mohou být směsí polyolefinů.

#### Výroba

Do polymerů se přidává určitý počet přísad, aby se optimalizovaly jejich chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti, aby se tyto polymery přizpůsobily pro určené použití. Všechny tyto přísady se vybírají z připojeného seznamu, který určuje pro každý výrobek nejvyšší povolený obsah.

Mohou obsahovat nejvýše tři antioxidanty, jedno nebo několik maziv nebo separačních činidel a také oxid titaničitý jako zneprůhledňující činidlo, pokud je třeba uchovávanou látku chránit před světlem. Seznam přísad a jejich nejvyšší povolený obsah:

- butylhydroxytoluen (přísada polymerů 07), nejvýše 0,125 %,
- pentaerytrityl-tetrakis[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 09), nejvýše 0,3 %,
- 1,3,5-tris(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxybenzyl)-s-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion (přísada polymerů 13), nejvýše 0,3 %,
- oktadecyl[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 11), nejvýše 0,3 %,
- ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butanoat] (přísada polymerů 08), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyldisulfid (přísada polymerů 15), nejvýše 0,3 %,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-terc.butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzotriyl)trismethylen]trifenol (přísada polymerů 10), nejvýše 0,3 %,
- 2,2'-bis(oktadecyloxy)-5,5'-spirobi-1,2,3-dioxafosfan (přísada polymerů 14), nejvýše 0,3 %,
- didodecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 16), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 17), nejvýše 0,3 %,
- tris(2,4-di-terc.butylfenyl)fosfit (přísada polymerů 12), nejvýše 0,3 %,
- P-EPQ (přísada polymerů 18), nejvýše 0,1 %,
- kopolymery dimethylsukcinátu a 4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-ethanolu (přísada polymerů 22), nejvýše 0,3 %,

(celkový obsah shora uvedených antioxidačních přísad je nejvýše 0,3 %)

- hydrotalkit, nejvýše 0,5 %,
- alkanamidy, nejvýše 0,5 %,
- alkenamidy, nejvýše 0,5 %,
- křemičitan sodno-hlinitý, nejvýše 0,5 %,
- oxid křemičitý, nejvýše 0,5 %,
- benzoan sodný, nejvýše 0,5 %,
- estery nebo soli mastných kyselin, nejvýše 0,5 %,
- fosforečnan sodný, nejvýše 0,5 %,
- parafinový olej, nejvýše 0,5 %,
- oxid zinečnatý, nejvýše 0,5 %,
- mastek, nejvýše 0,5 %,
- oxid hořečnatý, nejvýše 0,2 %,
- stearan vápenatý nebo stearan zinečnatý nebo jejich směs, nejvýše 0,5 %,
- oxid titaničitý, nejvýše 4 %.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Prášek, kuličky, granule nebo, po zpracování, fólie různé tloušťky nebo obaly. Jsou prakticky nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v horkých aromatických uhlovodících, prakticky nerozpustné v ethanolu, v hexanu a v methanolu. Měkknou při teplotách 65 °C až 165 °C. Hoří modrým plamenem.

## Zkoušky totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

A. K 0,25 g se přidá 10 ml *toluenu R* a vaří se asi 15 min pod zpětným chladičem. Několik kapek získaného roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 80 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum zkoušeného materiálu vykazuje maxima zvláště při 2920 cm<sup>-1</sup>, 2850 cm<sup>-1</sup>, 1475 cm<sup>-1</sup>, 1465 cm<sup>-1</sup>, 1380 cm<sup>-1</sup>, 1170 cm<sup>-1</sup>, 735 cm<sup>-1</sup> a 720 cm<sup>-1</sup>; získané spektrum se shoduje se spektrem typového vzorku zvoleného podle zkoušeného materiálu. Jestliže je zkoušený materiál ve formě fólií, lze přímo změřit spektrum odříznutého kousku o vhodné velikosti.

B. Vyhovuje doplňkovým zkouškám odpovídajícím přítomným přísadám.

C. Asi 20 mg se smíchá v platinovém kelímku s 1 g *hydrogensíranu draselného R* a zahřívá se, dokud úplně neroztaje. Po ochlazení se přidá 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a mírně se zahřeje. Výsledný roztok se zfiltruje a k filtrátu se přidá 1 ml *kyseliny fosforečné R* a 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Jestliže je látka zneprůhledněna oxidem titaničitým, vzniká oranžovožluté zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** Roztok S1 se použije do 4 h po přípravě. 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 500 ml *vody na injekci R* a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se vychladnout a sleje se. Část roztoku se ponechá pro zkoušku Vzhled roztoku a zbytek se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16).

**Roztok S2.** 2,0 g se převedou do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 80 ml *toluenu R* a vaří se 90 min pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se ochladit na 60 °C a za stálého míchání se přidá 120 ml *methanolu R*. Roztok se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Baňka a filtr se vypláchnou 25 ml směsi objemových dílů *toluenu R* a *methanolu R* (40 + 60), výplachy se přidají k filtrátu a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 250 ml. Připraví se kontrolní roztok.

**Roztok S3.** 100 g se převede do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 250 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se vychladnout a roztok se sleje.

**Vzhled roztoku.** Roztok S1 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselie nebo zásadité reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení na oranžové se spotřebuje nejvýše 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S1 při 220 nm až 340 nm je nejvýše 0,2 .

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S1 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 3,0 ml.

**Látky rozpustné v hexanu.** 10 g se převede do 250ml kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 100 ml *hexanu R* a vaří se 4 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se v ledové lázni a rychle se

zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16), teplota roztoku se udržuje na asi 0 °C. (Doba filtrace nesmí překročit 5 min; pokud je třeba, zrychlí se filtrace přetlakem). 20 ml filtrátu v předvážené skleněné misce se odpaří na vodní lázni. Zbytek se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Hmotnost zbytku se neliší o více než 10 % od typového vzorku a nepřevyšuje 5 %.

**Extrahovatelný hliník.** Nejvýše 1 µg Al/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*) v argonovém plazmatu.

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se ze základního roztoku hliníku (200 µg Al/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se intenzita emise hliníku při 396,15 nm, spektrální pozadí se vezme jako 396,25 nm. Ověří se nepřítomnost hliníku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný titan.** Nejvýše 1 µg Ti/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*) v argonovém plazmatu.

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se ze základního roztoku titanu (100 µg Ti/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se intenzita emise titanu při 336,12 nm, spektrální pozadí se vezme jako 336,16 nm. Ověří se nepřítomnost titanu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný zinek.** Nejvýše 1 µg Zn/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se ze základního roztoku zinku (10 µg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost zinku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8).** 50 ml roztoku S3 se na vodní lázni odpaří na objem asi 5 ml a zředí se vodou R na 20,0 ml. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2,5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,5 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 5,0 g. Tento limit neplatí pro materiál zneprůhledněný oxidem titaničitým.

## Doplňkové zkoušky

*Všechny tyto zkoušky nebo jejich část se provádějí pouze tehdy, jestliže je to opodstatněno uvedeným složením nebo použitím materiálu.*

**Fenolické antioxidanty.** 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je jedna ze čtyř následujících směsí:
  - mobilní fáze 1, která je směsí objemových dílů vody R a acetonitrilu R (30 + 70); průtoková rychlost je 2 ml/min,
  - mobilní fáze 2, která je směsí objemových dílů vody R, tetrahydrofuranu R a acetonitrilu R (10 + 30 + 60); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - mobilní fáze 3, která je směsí objemových dílů vody R, 2-propanolu R a methanolu R (5 + 45 + 50); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - mobilní fáze 4, která je směsí objemových dílů tetrahydrofuranu R a acetonitrilu R (20 + 80); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru; 280 nm pro mobilní fáze 1 až 3 a 270 nm pro mobilní fázi 4.

Chromatografický systém musí zajistit:

- rozlišení nejméně 8,0 mezi piky odpovídajícími přísadě polymerů 07 a přísadě polymerů 08 s mobilní fází 1,
- rozlišení nejméně 2,0 mezi piky odpovídajícími přísadě polymerů 09 a přísadě polymerů 10 s mobilní fází 2,

- rozlišení nejméně 2,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 11 a přísadě polymerů 12 s mobilní fází 3,
- rozlišení nejméně 6,0 mezi dvěma základními píky (přibližné retenční časy 3,5 a 5,8) na chromatogramu získaném s přísadou polymerů 18 s mobilní fází 4.

*Zkoušený roztok S21.* 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

*Zkoušený roztok S22.* 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml *dichlormethanu R*. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

*Zkoušený roztok S23.* 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *terc.butylhydroperoxidu R* (10 g/l) v *tetrahydrofuranu R*. Baňka se uzavře a nechá stát 1 h. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

*Z následujících porovnávacích roztoků se připraví pouze ty roztoky, které jsou potřebné pro analýzu fenolických antioxidantů uvedených ve složení zkoušené látky.*

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *butylhydroxytoluen CRL* (přísada polymerů 07) a 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 60 mg *přísady polymerů 11 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 25,0 mg *přísady polymerů 07 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (f).* 60,0 mg *přísady polymerů 13 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (g).* 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (h).* 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (i).* 60,0 mg *přísady polymerů 11 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (j).* 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (k).* 20,0 mg *přísady polymerů 18 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *terc.butylhydroperoxidu R* (10 g/l) v *tetrahydrofuranu R*. Nechá se stát 1 h v uzavřené nádobě. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 07 a/nebo přísadu polymerů 08, použije se mobilní fáze 1 a nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku S21, 20 µl odpovídajícího kontrolního roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (a) a buď po 20 µl porovnávacího roztoku (d) nebo (e), nebo po 20 µl porovnávacího roztoku (d) a (e).

Jestliže zkoušená látka obsahuje jeden nebo více následujících antioxidantů:

- přísada polymerů 09,
- přísada polymerů 10,
- přísada polymerů 11,
- přísada polymerů 12,
- přísada polymerů 13,

použije se mobilní fáze 2 a nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku S21, 20 µl odpovídajícího kontrolního roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (b) a po 20 µl každého porovnávacího roztoku antioxidantu tohoto seznamu, který je uveden ve složení zkoušené látky.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 11 a/nebo přísadu polymerů 12, použije se mobilní fáze 3 a nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S22, 20  $\mu$ l odpovídajícího kontrolního roztoku, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c), a buď po 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (i) nebo (j), nebo po 20  $\mu$ l porovnávacích roztoků (i) a (j).

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 18, použije se mobilní fáze 4 a nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S23, 20  $\mu$ l odpovídajícího kontrolního roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (k).

Ve všech případech se chromatogram zaznamenává po dobu 30 min; chromatogramy odpovídající zkoušeným roztokům S21, S22 a S23 mají pouze píky antioxidantů uvedených ve složení a menší píky, které se také objevují na chromatogramech odpovídajících kontrolních roztoků. Plochy píků zkoušených roztoků S21, S22 a S23 jsou menší než odpovídající plochy píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (d) až (k).

**Nefenolické antioxidanty.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok S24.** 100 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Odparek se rozpustí ve 2 ml dichlormethanu okyseleného R.

**Porovnávací roztok (l).** 60 mg přísady polymerů 14 CRL se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R. 2 ml roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (m).** 60 mg přísady polymerů 15 CRL se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R. 2 ml roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (n).** 60 mg přísady polymerů 16 CRL se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R. 2 ml roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (o).** 60 mg přísady polymerů 17 CRL se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R. 2 ml roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (p).** 60 mg přísady polymerů 16 CRL a 60 mg přísady polymerů 17 se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R. 2 ml roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S24, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (p) a po 20  $\mu$ l porovnávacích roztoků odpovídajících všem fenolickým a nefenolickým antioxidantům zmíněným v typovém složení zkoušeného materiálu.

Vyvíjí se hexanem R po dráze 18 cm. Nechá se usušit a vyvíjí se podruhé dichlormethanem R po dráze 17 cm. Vrstva se nechá usušit a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Postříká se jodem v lihu RS a po 10 min až 15 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku S24 není intenzivnější než skvrny na odpovídajících polohách na chromatogramech porovnávacích roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (p) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

**Přísada polymerů 22.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 10 ml toluenu R a 10 ml roztoku tetrabutylamoniumhydroxidu R (10 g/l) ve směsi objemových dílů toluenu R a ethanolu R (35 + 65). Vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a v případě potřeby se zfiltruje.

**Porovnávací roztok.** 30 mg přísady polymerů 22 CRL se rozpustí v 50 ml toluenu R. 1 ml tohoto roztoku se přidá k 25 ml kontrolního roztoku S2 a odpaří se ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 10 ml toluenu R a 10 ml roztoku tetrabutylamoniumhydroxidu R (10 g/l) ve směsi objemových dílů toluenu R a ethanolu R (35 + 65). Vaří se 3 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a v případě potřeby se zfiltruje.

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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů ethanolu R a hexanu R (11 + 89); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 227 nm.

Nastříkne se po 20  $\mu$ l každého roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu 10 min. Jestliže jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, rozlišení mezi píky odpovídajícími „diolu“ a rozpouštědlu porovnávacího roztoku je nejméně 7.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku je plocha odpovídající píku „diolové“ složky přísady polymerů 22 CRL menší než odpovídající pik na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Amidy a stearyny.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití dvou desek s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** Použije se zkoušený roztok S24 popsany ve zkoušce Nefenolické antioxidanty.

**Porovnávací roztok (q).** 20 mg kyseliny stearové (*přísada polymerů 19 CRL*) se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*.

**Porovnávací roztok (r).** 40 mg oleamidů (*přísada polymerů 20 CRL*) se rozpustí ve 20 ml *dichlormethanu R*.

**Porovnávací roztok (s).** 40 mg erukamidu (*přísada polymerů 21 CRL*) se rozpustí ve 20 ml *dichlormethanu R*.

Na dvě vrstvy se nanese po 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku S24. Na první vrstvu se nanese 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (q) a na druhou vrstvu se nanese po 10  $\mu$ l porovnávacích roztoků (r) a (s).

První vrstva se vyvíjí směsí objemových dílů *ethanolu R* a *trimethylpentanu R* (25 + 75) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *dichlorfenolindofenolatu sodného R* (2 g/l) v *ethanolu R* a zahřívá se několik minut v sušárně při 120 °C, dokud se skvrny nevybarví. Skvrna odpovídající přísadě polymerů 19 na chromatogramu zkoušeného roztoku S24 odpovídá polohou ( $R_F$  asi 0,5) skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (q), ale není intenzivnější než tato skvrna.

Druhá vrstva se vyvíjí *hexanem R* po dráze 13 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a znovu se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit a postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (40 g/l) v *ethanolu R*. Zahřívá se v sušárně při 120 °C, dokud se neobjeví skvrny. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku S24 odpovídající přísadě polymerů 20 nebo přísadě polymerů 21 mají shodnou polohu ( $R_F$  asi 0,2) s odpovídajícími skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (r) a (s), ale nejsou intenzivnější než tyto skvrny.

### 3.1.4 Polyethylen bez přísad pro obaly parenterálních a očních přípravků



Polyethylen bez přísad se získává polymerací ethylenu za vysokého tlaku a za přítomnosti kyslíku nebo iniciátorů vzniku volných radikálů jako katalyzátoru.

#### Vlastnosti

Kuličky, granule, prášek nebo, po zpracování, průsvitné fólie různé tloušťky nebo obaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horkých aromatických uhlovodících, prakticky nerozpustný v ethanolu, v hexanu a v methanolu. Měkne při teplotách nad 65 °C.

Relativní hustota (2.2.5) materiálu je 0,910 až 0,937.

#### Zkoušky totožnosti

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.

A. K 0,25 g se přidá 10 ml *toluenu R* a vaří se asi 15 min pod zpětným chladičem. Několik kapek roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 80 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum látky vykazuje absorpční maxima zejména při 2920  $\text{cm}^{-1}$  až 2850  $\text{cm}^{-1}$ , 1465  $\text{cm}^{-1}$ , 730  $\text{cm}^{-1}$ , 720  $\text{cm}^{-1}$ ; získané spektrum se shoduje se spektrem typového vzorku zvoleného podle zkoušeného materiálu. Jestliže je zkoušený materiál ve formě fólie, lze přímo změřit spektrum odříznutého kousku vhodné velikosti.

B. Zkouška Přísady, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

#### Zkoušky na čistotu

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.

**Roztok S1.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 500 ml *vody na injekci R* a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit, sleje se a část roztoku se ponechá pro zkoušku Vzhled roztoku. Zbytek se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). *Roztok S1 se použije nejdéle do 4 h od přípravy.*

**Roztok S2.** 2,0 g se převedou do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 80 ml *toluenu R* a vaří se 1 h 30 min pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se na 60 °C a za stálého míchání se přidá 120 ml *methanolu R*. Roztok se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Baňka a filtr se promyjí 25 ml směsí 40 ml *toluenu R* a 60 ml *methanolu R*, promývací tekutina se přidá k filtrátu a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 250 ml. Připraví se kontrolní roztok.

**Roztok S3.** 100 g se převede do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 250 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Roztok se nechá ochladit a sleje se.

**Vzhled roztoku.** Roztok S1 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S1 při 220 nm až 340 nm je nejvýše 0,2.

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S1 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se 3 min pod zpětným chladičem a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 0,5 ml.

**Látky rozpustné v hexanu.** 10 g se převede do 250ml kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 100 ml *hexanu R* a vaří se 4 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se v ledové lázni a rychle se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16), teplota roztoku se udržuje na 0 °C (doba filtrace nesmí překročit 5 min; pokud je třeba, zrychlí se filtrace přetlakem). 20 ml filtrátu v předvážené skleněné misce se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Hmotnost zbytku se neliší o více než 10 % od typového vzorku a nepřevyšuje 5 %.

**Příspěvy.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Odparek se rozpustí v 5 ml *dichlormethanu R*. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

**Porovnávací roztok.** 20 mg *příspěvy polymerů 15 CRL* a 20 mg *příspěvy polymerů 08 CRL* se rozpustí *dichlormethanu R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl obou roztoků a vyvíjí se *hexanem R* po dráze 13 cm. Vrstva se nechá usušit a vzduchu a vyvíjí se podruhé směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Usuší se na vzduchu a postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (40 g/l) v *lihu 96% R* a zahřívá se při 120 °C do objevení skvrn na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna, kromě skvrny, která může být na čele rozpouštědla z prvního vyvíjení a která odpovídá oligomerům. Nepřehlídí se ke skvrnám odpovídajícím skvrnám na chromatogramu kontrolního roztoku. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8).** 50 ml roztoku S3 se odpaří na vodní lázni na objem asi 5 ml a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2,5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,5 ml *základního roztoku olova (10 µg Pb/ml)*.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

### 3.1.5 Polyethylen s přísadami pro obaly parenterálních a očních přípravků



Získává se polymerací ethylenu za tlaku v přítomnosti katalyzátoru nebo kopolymerací ethylenu s nejvýše 25 % vyšších alkenových homologů (C<sub>3</sub> až C<sub>10</sub>).

#### Výroba

Do polymerů se přidává určitý počet přísad, aby se optimalizovaly jejich chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti, aby se tyto polymery přizpůsobily pro určené použití. Všechny tyto přísady se vybírají z připojeného seznamu, který určuje pro každý výrobek nejvyšší povolený obsah.

Mohou obsahovat nejvýše tři antioxidanty, jedno nebo několik maziv nebo separačních činidel a také oxid titaničitý jako zneprůhledňující činidlo, pokud je třeba uchovávanou látku chránit před světlem. Seznam přísad a jejich nejvyšší povolený obsah:

- butylhydroxytoluen (přísada polymerů 07), nejvýše 0,125 %,
- (pentaerytrityl)-tetrakis[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 09), nejvýše 0,3 %,
- 1,3,5-tris[3,5-di-terc.butyl-4-hydroxybenzyl]-s-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion (přísada polymerů 13), nejvýše 0,3 %,
- oktadecyl-[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propanoat] (přísada polymerů 11), nejvýše 0,3 %,
- ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butanoat] (přísada polymerů 08), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyldisulfid, (přísada polymerů 15), nejvýše 0,3 %,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-terc.butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzotriyl)trismethylen]trifenol (přísada polymerů 10), nejvýše 0,3 %,
- 2,2'-bis(oktadecyloxy)-5,5'-spirobi(1,3,2)-dioxafosfinan (přísada polymerů 14), nejvýše 0,3 %,
- didodecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 16), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 17), nejvýše 0,3 %,
- tris(2,4-di-terc.butylfenyl)fosfit (přísada polymerů 12), nejvýše 0,3 %,
- (celkový obsah shora uvedených antioxidačních přísad je nejvýše 0,3 %)
- hydrotalcit, nejvýše 0,5 %,
- alkanamidy, nejvýše 0,5 %,
- alkenamidy, nejvýše 0,5 %,
- křemičitan sodno-hlinitý, nejvýše 0,5 %,
- oxid křemičitý, nejvýše 0,5 %,
- benzoan sodný, nejvýše 0,5 %,
- estery nebo soli mastných kyselin, nejvýše 0,5 %,
- fosforečnan sodný, nejvýše 0,5 %,
- parafinový olej, nejvýše 0,5 %,
- oxid zinečnatý, nejvýše 0,5 %,
- oxid hořečnatý, nejvýše 0,2 %,
- stearan vápenatý nebo stearan zinečnatý nebo jejich směs, nejvýše 0,5 %,
- oxid titaničitý, nejvýše 4 %, pouze materiály pro obaly očních přípravků.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Prášek, kuličky, granule nebo, po zpracování, průsvitné fólie různé tloušťky nebo obaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horkých aromatických uhlovodících, prakticky nerozpustný v ethanolu, v hexanu a v methanolu. Měkne při teplotách mezi 70 °C až 140 °C.

Relativní hustota (2.2.5) materiálu je 0,890 až 0,965.

## Zkoušky totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

- A. K 0,25 g se přidá 10 ml *toluenu R* a vaří se asi 15 min pod zpětným chladičem. Několik kapek získaného roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 80 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum zkoušeného materiálu vykazuje maxima zvláště při 2920 cm<sup>-1</sup> až 2850 cm<sup>-1</sup>, 1465 cm<sup>-1</sup>, 1375 cm<sup>-1</sup>, 1170 cm<sup>-1</sup>, 730 cm<sup>-1</sup> a 720 cm<sup>-1</sup>; získané spektrum se shoduje se spektrem typového vzorku zvoleného podle zkoušeného materiálu. Jestliže je zkoušený materiál ve formě fólie, lze přímo změřit spektrum odříznutého kousku vhodné velikosti.
- B. Doplnkové zkoušky odpovídající přítomným přísadám, viz Zkoušky na čistotu, jsou zároveň zkouškami totožnosti.
- C. Asi 20 mg se smíchá v platinovém kelímku s 1 g *hydrogensíranu draselného R* a zahřívá se, dokud úplně neroztaje. Nechá se ochladit a přidá se 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a mírně se zahřeje. Výsledný roztok se zfiltruje a k filtrátu se přidá 1 ml *kyseliny fosforečné R* a 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Jestliže je látka zneprůhledněna oxidem titaničitým, vzniká oranžovožluté zbarvení.



## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 500 ml vody na injekci R a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a sleje se. Část roztoku se ponechá pro zkoušku Vzhled roztoku a zbytek se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). *Roztok S1 se použije do 4 h od přípravy.*

**Roztok S2.** 2,0 g se převedou do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 80 ml toluenu R a vaří se 90 min pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se ochladit na 60 °C a za stálého míchání se přidá 120 ml methanolu R. Roztok se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Baňka a filtr se promyjí 25 ml směsí objemových dílů toluenu R a methanolu R (40 + 60), promývací tekutina se přidá k filtrátu a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 250,0 ml. Připraví se kontrolní roztok.

**Roztok S3.** 100 g se převede do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 250 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a vaří se 1 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se ochladit a roztok se sleje.

**Vzhled roztoku.** Roztok S1 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,15 ml indikátoru směsného BMF RS. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS. Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,2 ml oranže methylové RS. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S1 při 220 nm až 340 nm je nejvýše 0,2.

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S1 se přidá 1 ml kyseliny sírové zředěné RS a 20,0 ml manganistanu draselného 0,002 mol/l VS. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g jodidu draselného R a ihned se titruje thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS za použití 0,25 ml škrobu RS jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 0,5 ml.

**Látky rozpustné v hexanu.** 10 g se převede do 250ml kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 100 ml hexanu R a vaří se 4 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se v ledové lázni a rychle se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16), teplota roztoku se udržuje na 0 °C. (Doba filtrace nesmí překročit 5 min; pokud je třeba, zrychlí se filtrace přetlakem.) 20 ml filtrátu v předvážené skleněné misce se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se suší v sušárně 1 h při 100 °C až 105 °C. Hmotnost získaného zbytku se neliší o více než 10 % od zbytku získaného z typového vzorku a nepřevyšuje 5 %.

**Extrahovatelný hliník.** Nejvýše 1 µg Al/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku hliníku (200 µg Al/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Měří se emisní intenzita při 396,15 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 396,25 nm. Ověří se nepřítomnost hliníku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný chrom.** Nejvýše 0,05 µg Cr/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku chromu (100 µg Cr/ml) zředěním směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8).

Měří se emisní intenzita při 205,55 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 205,50 nm. Ověří se nepřítomnost chromu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný titan.** Nejvýše 1 µg Ti/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku titanu (100 µg Ti/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Měří se emisní intenzita při 336,12 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 336,16 nm. Ověří se nepřítomnost titanu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný vanad.** Nejvýše 0,1 µg V/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku vanadu (1 mg V/ml) zředěním směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8).

Měří se emisní intenzita při 292,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 292,35 nm. Ověří se nepřítomnost vanadu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný zinek.** Nejvýše 1 µg Zn/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku zinku (10 µg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Extrahovatelné zirkonium.** Nejvýše 0,1 µg Zr/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku zirkonia (1 mg Zr/ml) zředěním směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8).

Měří se emisní intenzita při 343,82 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 343,92 nm. Ověří se nepřítomnost zirkonia v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8).** 50 ml roztoku S3 se odpaří na vodní lázni na objem asi 5 ml a zředí se vodou R na 20,0 ml. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2,5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,5 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky. Tento limit se nevztahuje na materiál, u něhož byl použit oxid titaničitý k zneprůhlednění materiálu.

## Doplňkové zkoušky

*Všechny tyto zkoušky nebo jejich část se provádějí pouze tehdy, jestliže je to opodstatněno uvedeným složením materiálu.*

**Fenolické antioxidanty.** 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je jedna ze tří následujících směsí:
  - mobilní fáze 1, která je směsí objemových dílů vody R a acetonitrilu R (30 + 70); průtoková rychlost je 2 ml/min,
  - mobilní fáze 2, která je směsí objemových dílů vody R, tetrahydrofuranu R a acetonitrilu R (10 + 30 + 60); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - mobilní fáze 3, která je směsí objemových dílů vody R, 2-propanolu R a methanolu R (5 + 45 + 50); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Chromatografický systém musí zajistit:

- rozlišení nejméně 8,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 07 a přísadě polymerů 08 s mobilní fází 1,
- rozlišení nejméně 2,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 09 a přísadě polymerů 10 s mobilní fází 2,
- rozlišení nejméně 2,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 11 a přísadě polymerů 12 s mobilní fází 3.

**Zkoušený roztok S21.** 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. Připraví se kontrolní roztok z kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

**Zkoušený roztok S22.** 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml *dichlormethanu R*. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

*Z následujících porovnávacích roztoků se připraví pouze ty roztoky, které jsou potřebné pro analýzu fenolických antioxidantů uvedených ve složení zkoušené látky.*

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg *butylhydroxytoluenu CRL* (přísady polymerů 07) a 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 60,0 mg *přísady polymerů 11 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 25,0 mg *butylhydroxytoluenu CRL* (přísady polymerů 07) se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (e).** 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (f).** 60,0 mg *přísady polymerů 13 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (g).** 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (h).** 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (i).** 60,0 mg *přísady polymerů 11 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (j).** 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 07 a/nebo přísadu polymerů 08, použije se mobilní fáze 1 a nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku S21, 20 µl odpovídajícího kontrolního roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (a) a buď 20 µl porovnávacího roztoku (d) nebo (e), nebo po 20 µl porovnávacích roztoků (d) a (e).

Jestliže zkoušená látka obsahuje jeden nebo více následujících antioxidantů:

- přísada polymerů 09,
- přísada polymerů 10,
- přísada polymerů 11,
- přísada polymerů 12,
- přísada polymerů 13,

použije se mobilní fáze 2 a nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku S21, 20 µl odpovídajícího kontrolního roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (b) a po 20 µl každého porovnávacího roztoku antioxidantu z tohoto seznamu, který je uveden ve složení zkoušené látky.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 11 a/nebo přísadu polymerů 12, použije se mobilní fáze 3 a nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku S22, 20 µl odpovídajícího kontrolního roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (c) a buď 20 µl porovnávacího roztoku (i) nebo (j) nebo po 20 µl porovnávacích roztoků (i) a (j).

Ve všech případech se chromatogramy zaznamenávají po dobu 30 min; chromatogramy odpovídající zkoušeným roztokům S21 a S22 mají pouze píky antioxidantů uvedených ve složení a menší píky, které se také objevují na chromatogramech odpovídajících kontrolních roztoků. Plochy piků zkoušených roztoků S21 a S22 jsou menší než odpovídající plochy piků na chromatogramech porovnávacích roztoků (d) až (j).

**Nefenolické antioxidanty.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok S23.** 100 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *dichlormethanu okyseleného R*.

**Porovnávací roztok (k).** 60 mg *přísad polymerů 14 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (l).** 60 mg *přísad polymerů 15 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (m).** 60 mg *přísad polymerů 16 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (n).** 60 mg *přísad polymerů 17 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí na *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (o).** 60 mg *přísad polymerů 16 CRL* a 60 mg *přísad polymerů 17 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 20 µl zkoušeného roztoku S23, 20 µl porovnávacího roztoku (o) a po 20 µl porovnávacích roztoků odpovídajících všem fenolickým a nefenolickým antioxidantům zmíněným v typovém složení zkoušeného materiálu. Vyvíjí se *hexanem R* po dráze 18 cm. Vrstva se nechá usušit a vyvíjí se podruhé *dichlormethanem R* po dráze 17 cm. Vrstva se nechá usušit a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Postříká se *jodem v lihu RS* a po 10 min až 15 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku S23 není intenzivnější než skvrny v odpovídajících polohách na chromatogramech porovnávacích roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (o) jsou dvě zřetelné od sebe oddělené skvrny.

**Amidy a stearyny.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití dvou *desek s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S23 popsáný v části týkající se nefenolických antioxidantů.

**Porovnávací roztok (p).** 20 mg *kyseliny stearové CRL* (přísada polymerů 19) se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 10 ml.

**Porovnávací roztok (q).** 40 mg *přísad polymerů 20 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Porovnávací roztok (r).** 40 mg *přísad polymerů 21 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

Na dvě vrstvy se nanese po 10 µl zkoušeného roztoku S23. Na první vrstvu se nanese 10 µl porovnávacího roztoku (p) a na druhou vrstvu se nanese po 10 µl porovnávacích roztoků (q) a (r). První vrstva se vyvíjí směsí objemových dílů *ethanolu R* a *trimethylpentanu R* (25 + 75) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu, postříká se roztokem *dichlorfenolindofenolatu sodného R* (2 g/l) v *ethanolu R* a zahřívá se v sušárně několik minut při 120 °C, aby se skvrny staly intenzivnějšími. Skvrna odpovídající přísadě polymerů 19 na chromatogramu zkoušeného roztoku S23 má shodnou polohu ( $R_F$  asi 0,5) s odpovídající skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (p), ale není intenzivnější než tato skvrna.

Druhá vrstva se vyvíjí *hexanem R* po dráze 13 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu a znovu se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit a postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (40 g/l) v *ethanolu R*. Zahřívá se v sušárně při 120 °C, dokud se skvrny neobjeví. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku S23, odpovídající přísadě polymerů 20 nebo přísadě polymerů 21, mají shodnou polohu ( $R_F$  asi 0,2) s odpovídajícími skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (q) a (r), ale nejsou intenzivnější než tyto skvrny.

### 3.1.6 Polypropylen pro obaly a uzávěry parenterálních a očních přípravků

2000 

Je to homopolymer propylenu nebo kopolymer propylenu s nejvýše 25 % ethylenu nebo směs polypropylenu s nejvýše 25 % polyethylenu. Může obsahovat přísady.

#### Výroba

Do polymerů se přidává určitý počet přísad, aby se optimalizovaly jejich chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti, aby se tyto polymery přizpůsobily pro určené použití. Všechny tyto přísady se vybírají z připojeného seznamu, který určuje pro každý výrobek nejvyšší povolený obsah.

Mohou obsahovat nejvýše tři antioxidanty, jedno nebo několik maziv nebo separačních činidel a také oxid titaničitý jako zneprůhledňující činidlo, pokud je třeba uchovávanou látku chránit před světlem. Seznam přísad a jejich nejvyšší povolený obsah:

- butylhydroxytoluen (přísada polymerů 07), nejvýše 0,125 %,
- (pentaerytrityl)-tetrakis[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 09), nejvýše 0,3 %,
- 1,3,5-tris[3,5-di-terc.butyl-4-hydroxybenzyl]-s-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion (přísada polymerů 13), nejvýše 0,3 %,
- oktadecyl-[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 11), nejvýše 0,3 %,
- ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butanoat] (přísada polymerů 08), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyldisulfid (přísada polymerů 15), nejvýše 0,3 %,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-terc.butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzen-triyl)trismethylen]trifenol (přísada polymerů 10), nejvýše 0,3 %,
- 2,2'-bis(oktadecyloxy)-5,5'-spirobi(1,3,2-dioxafosfinan) (přísada polymerů 14), nejvýše 0,3 %,
- didodecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 16), nejvýše 0,3 %,
- dioktadecyl-3,3'-thiodipropionat (přísada polymerů 17), nejvýše 0,3 %,
- tris(2,4-di-terc.butylfenyl)fosfit (přísada polymerů 12), nejvýše 0,3 %,
- (celkový obsah shora uvedených antioxidačních přísad je nejvýše 0,3 %)
- hydrotalcit, nejvýše 0,5 %,
- alkanamidy, nejvýše 0,5 %,
- alkenamidy, nejvýše 0,5 %,
- křemičitan sodno-hlinitý, nejvýše 0,5 %,
- oxid křemičitý, nejvýše 0,5 %,
- benzoan sodný, nejvýše 0,5 %,
- estery nebo soli mastných kyselin, nejvýše 0,5 %,
- fosforečnan sodný, nejvýše 0,5 %,
- parafinový olej, nejvýše 0,5 %,
- oxid zinečnatý, nejvýše 0,5 %,
- mastek, nejvýše 0,5 %,
- oxid hořečnatý, nejvýše 0,2 %,
- stearan vápenatý nebo stearan zinečnatý nebo jejich směs, nejvýše 0,5 %,
- oxid titaničitý, nejvýše 4 %, pouze materiály pro obaly očních přípravků.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Prášek, kuličky, granule nebo, po zpracování, průsvitné fólie různé tloušťky nebo obaly. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horkých aromatických uhlovodících, prakticky nerozpustný v ethanolu, v hexanu a v methanolu. Měkne při teplotách nad 120 °C.

## Zkoušky totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

- A. K 0,25 g se přidá 10 ml *toluenu R* a vaří se asi 15 min pod zpětným chladičem. Několik kapek získaného roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 80 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum zkoušeného materiálu vykazuje maxima zvláště při 1375 cm<sup>-1</sup>, 1170 cm<sup>-1</sup>, 995 cm<sup>-1</sup> a 970 cm<sup>-1</sup>; získané spektrum se shoduje se spektrem typového vzorku zvoleného podle zkoušeného materiálu. Jestliže je zkoušený materiál ve formě fólie, lze přímo změřit spektrum odříznutého kousku vhodné velikosti.
- B. Doplňkové zkoušky odpovídající přítomným přísadám, viz Zkoušky na čistotu, jsou zároveň zkouškami totožnosti.
- C. Asi 20 mg se smíchá v platinovém kelímku s 1 g *hydrogensíranu draselného R* a zahřívá se, dokud úplně neroztaje. Nechá se ochladit, přidá se 20 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a mírně se zahřeje. Výsledný roztok se zfiltruje a k filtrátu se přidá 1 ml *kyseliny fosforečné R* a 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Jestliže je látka zneprůhledněna oxidem titaničitým, vzniká oranžovožluté zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařezou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 500 ml vody na injekci R a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a sleje se. Část roztoku se ponechá pro zkoušku Vzhled roztoku a zbytek se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). *Roztok S1 se použije do 4 h od přípravy.*

**Roztok S2.** 2,0 g se převedou do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 80 ml toluenu R a vaří se 1 h 30 min pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se ochladit na 60 °C a za stálého míchání se přidá 120 ml methanolu R. Roztok se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Baňka a filtr se promyjí 25 ml směsi objemových dílů toluenu R a methanolu R (40 + 60), promývací tekutina se přidá k filtrátu a zředí se stejným rozpouštědlem na 250 ml. Připraví se kontrolní roztok.

**Roztok S3.** 100 g se převede do kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 250 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a vaří se 1 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Nechá se ochladit a roztok se sleje.

**Vzhled roztoku.** Roztok S1 neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,15 ml indikátoru směsného BMF RS. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS. Ke 100 ml roztoku S1 se přidá 0,2 ml oranže methylové RS. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S1 při 220 nm až 340 nm je nejvýše 0,2.

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S1 se přidá 1 ml kyseliny sírové zředěné RS a 20,0 ml manganistanu draselného 0,002 mol/l VS. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g jodidu draselného R a ihned se titruje thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS za použití 0,25 ml škrobu RS jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 0,5 ml.

**Látky rozpustné v hexanu.** 10 g se převede do 250ml kuželové baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 100 ml hexanu R a vaří se 4 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se v ledové lázni a rychle se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16), teplota roztoku se udržuje na 0 °C. (Doba filtrace nesmí překročit 5 min; pokud je třeba, zrychlí se filtrace přetlakem.) 20 ml filtrátu v předvážené skleněné misce se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Hmotnost získaného zbytku se neliší o více než 10 % od zbytku získaného z typového vzorku a nepřevyšuje 5 %.

**Extrahovatelný hliník.** Nejvýše 1 µg Al/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku hliníku (200 µg Al/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Měří se emisní intenzita při 396,15 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 396,25 nm. Ověří se nepřítomnost hliníku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný chrom.** Nejvýše 0,05 µg Cr/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku chromu (100 µg Cr/ml) zředěním směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8).

Měří se emisní intenzita při 205,55 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 205,50 nm. Ověří se nepřítomnost chromu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný titan.** Nejvýše 1 µg Ti/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku titanu (100 µg Ti/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Měří se emisní intenzita při 336,12 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 336,16 nm. Ověří se nepřítomnost titanu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný vanad.** Nejvýše 0,1 µg V/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku vanadu (1 mg V/ml) zředěním směsí objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R (2 + 8).

Měří se emisní intenzita při 292,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 292,35 nm. Ověří se nepřítomnost vanadu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelný zinek.** Nejvýše 1 µg Zn/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S3.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku zinku (10 µg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost zinku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8).** 50 ml roztoku S3 se odpaří na vodní lázni na objem asi 5 ml a zředí se vodou R na 20,0 ml. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2,5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,5 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky. Tento limit se nevztahuje na zkoušený materiál, u něhož byl použit oxid titaničitý k zneprůhlednění materiálu.

## Doplňkové zkoušky

*Všechny tyto zkoušky nebo jejich část se provádějí pouze tehdy, jestliže je to opodstatněno uvedeným složením materiálu.*

**Fenolické antioxidanty.** 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je jedna ze tří následujících směsí:
  - mobilní fáze 1, která je směsí objemových dílů vody R a acetonitrilu R (30 + 70); průtoková rychlost je 2 ml/min,
  - mobilní fáze 2, která je směsí objemových dílů vody R, tetrahydrofuranu R a acetonitrilu R (10 + 30 + 60); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - mobilní fáze 3, která je směsí objemových dílů vody R, 2-propanolu R a methanolu R (5 + 45 + 50); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Chromatografický systém musí zajistit:

- rozlišení nejméně 8,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 07 a přísadě polymerů 08 s mobilní fází 1,
- rozlišení nejméně 2,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 09 a přísadě polymerů 10 s mobilní fází 2,
- rozlišení nejméně 2,0 mezi píky odpovídajícími přísadě polymerů 11 a přísadě polymerů 12 s mobilní fází 3.

**Zkoušený roztok S21.** 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml směsi stejných objemových dílů acetonitrilu R a tetrahydrofuranu R. Připraví se kontrolní roztok za použití kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

**Zkoušený roztok S22.** 50 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml dichlormethanu R. Připraví se kontrolní roztok z kontrolního roztoku odpovídajícího roztoku S2.

*Z následujících porovnávacích roztoků se připraví pouze ty roztoky, které jsou potřebné pro analýzu fenolických antioxidantů uvedených ve složení zkoušené látky.*

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *butylhydroxytoluenu CRL* (přísada polymerů 07) a 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 60,0 mg *přísady polymerů 11 CRL* a 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 25,0 mg *přísady polymerů 07 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* 60,0 mg *přísady polymerů 08 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (f).* 60,0 mg *přísady polymerů 13 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (g).* 60,0 mg *přísady polymerů 09 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (h).* 60,0 mg *přísady polymerů 10 CRL* se rozpustí v 10,0 ml směsi stejných objemů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědel na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (i).* 60,0 mg *přísady polymerů 11 CRL* se rozpustí v 10,0 ml *dichlormethanu R*. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (j).* 60,0 mg *přísady polymerů 12 CRL* rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*. 2 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 07 a/nebo přísadu polymerů 08, použije se mobilní fáze 1 a nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S21, 20  $\mu$ l odpovídajícího kontrolního roztoku, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) a buď 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d) nebo (e), nebo po 20  $\mu$ l porovnávacích roztoků (d) a (e).

Jestliže zkoušená látka obsahuje jeden nebo více následujících antioxidantů:

- přísada polymerů 09,
- přísada polymerů 10,
- přísada polymerů 11,
- přísada polymerů 12,
- přísada polymerů 13,

použije se mobilní fáze 2 a nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S21, 20  $\mu$ l odpovídajícího kontrolního roztoku, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a po 20  $\mu$ l každého porovnávacího roztoku antioxidantu z tohoto seznamu, který je uveden ve složení zkoušené látky.

Jestliže zkoušená látka obsahuje přísadu polymerů 11 a/nebo přísadu polymerů 12, použije se mobilní fáze 3 a nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku S22, 20  $\mu$ l odpovídajícího kontrolního roztoku, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) a buď 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (i) nebo (j), nebo po 20  $\mu$ l porovnávacích roztoků (i) a (j).

Ve všech případech se chromatogram zaznamenává po dobu 30 min; chromatogramy odpovídající zkoušeným roztokům S21 a S22 mají pouze píky antioxidantů uvedených ve složení a menší píky, které se také objevují na chromatogramech odpovídajících kontrolních roztoků. Plochy píků zkoušených roztoků S21 a S22 jsou menší než odpovídající plochy píků na chromatogramech porovnávacích roztoků (d) až (j).

**Nefenolické antioxidanty.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok S23.* 100 ml roztoku S2 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *dichlormethanu okyseleného R*.

*Porovnávací roztok (k).* 60 mg *přísady polymerů 14 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (l).* 60 mg *přísady polymerů 15 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (m).* 60 mg *přísady polymerů 16 CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem okyseleným R* na 10 ml.



**Porovnávací roztok (n).** 60 mg přísady polymerů 17 CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (o).** 60 mg přísady polymerů 16 CRL a 60 mg přísady polymerů 17 se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí dichlormethanem okyseleným R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 20 µl zkoušeného roztoku S23, 20 µl porovnávacího roztoku (o) a po 20 µl porovnávacích roztoků odpovídajících všem fenolickým a nefenolickým antioxidantům zmíněným v typovém složení zkoušeného materiálu.

Vyvíjí se hexanem R po dráze 18 cm. Vrstva se nechá usušit a vyvíjí se podruhé dichlormethanem R po dráze 17 cm. Vrstva se nechá usušit a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Postříká se jodem v lihu RS a po 10 min až 15 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku S23 není intenzivnější než skvrny na odpovídajících polohách na chromatogramech porovnávacích roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (o) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené skvrny.

**Amidy a stearany.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití dvou desek s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok S23 popsáný v části týkající se nefenolických antioxidantů.

**Porovnávací roztok (p).** 20 mg kyseliny stearové CRL (přísada polymerů 19) se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok (q).** 40 mg přísady polymerů 20 CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

**Porovnávací roztok (r).** 40 mg přísady polymerů 21 CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

Na dvě vrstvy se nanese po 10 µl zkoušeného roztoku S23. Na první vrstvu se nanese 10 µl porovnávacího roztoku (p) a na druhou vrstvu se nanese po 10 µl porovnávacích roztoků (q) a (r). První vrstva se vyvíjí směsí objemových dílů ethanolu R a trimethylpentanu R (25 + 75) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem dichlorfenolindofenolátu sodného R (2 g/l) v ethanolu R a zahřívá se v sušárně několik minut při 120 °C, aby se skvrny staly intenzivnějšími. Skvrna odpovídající přísadě polymerů 19 na chromatogramu zkoušeného roztoku S23 má shodnou polohu ( $R_F$  asi 0,5) se skvrnou na chromatogramu porovnávacího roztoku (p), ale není intenzivnější než tato skvrna.

Druhá vrstva se vyvíjí hexanem R po dráze 13 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a znovu se vyvíjí směsí objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit a postříká se roztokem kyseliny fosfomolybdenové R (40 g/l) v ethanolu R. Zahřívá se v sušárně při 120 °C, dokud se skvrny nevybarví. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku S23, odpovídající přísadě polymerů 20 nebo přísadě polymerů 21, mají shodnou polohu ( $R_F$  asi 0,2) s odpovídajícími skvrnami na chromatogramech porovnávacích roztoků (q) a (r), ale nejsou intenzivnější.

### 3.1.7 Kopolymer ethylen-vinylacetat pro obaly a hadičky přípravků parenterální výživy



Kopolymer ethylen-vinylacetat, který vyhovuje následujícím požadavkům, je vhodný pro výrobu obalů a hadiček přípravků parenterální výživy.

Vyrábí se kopolymerací směsí ethylenu a vinylacetatu. Tento kopolymer obsahuje definovaná množství vinylacetatu: materiály na obaly obsahují nejvýše 25 % vinylacetatu, materiály na hadičky obsahují nejvýše 30 % vinylacetatu.

#### Výroba

Do polymerů se přidává určitý počet přísad, aby se optimalizovaly jejich chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti, aby se tyto polymery přizpůsobily určenému použití. Všechny tyto přísady se vybírají z připojeného seznamu, který určuje pro každý výrobek nejvyšší povolený obsah.

Kopolymer ethylen-vinylacetat může obsahovat nejvýše tři z následujících antioxidantů:

- butylhydroxytoluen (přísada polymerů 07), nejvýše 0,125 %,
- (pentaerytrityl)-tetrakis[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 09), nejvýše 0,2 %,
- oktadecyl-[3-(3,5-di-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)propionat] (přísada polymerů 11), nejvýše 0,2 %,
- tris(2,4-di-terc.butylfenyl)fosfit (přísada polymerů 12), nejvýše 0,2 %,
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-terc.butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzen-triyl)trismethylen]trifenol (přísada polymerů 10), nejvýše 0,2 %.

Může také obsahovat:

- oleamid (přísada polymerů 20), nejvýše 0,5 %,
- erukamid (přísada polymerů 21), nejvýše 0,5 %,
- uhličitan vápenatý nebo hydroxid draselný, nejvýše 0,5 % každého,
- stearan vápenatý nebo stearan zinečnatý nebo jejich směs, nejvýše 0,5 %,
- koloidní oxid křemičitý, nejvýše 0,2 %.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Kuličky, granule nebo, po zpracování, průsvitné fólie nebo hadice různé tloušťky nebo vzorky hotových předmětů. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v horkých aromatických uhlovodících, prakticky nerozpustný v ethanolu, v methanolu a v hexanu, který však rozpouští polymery o nízké molekulové hmotnosti. Hoří modrým plamenem. Teplota, při které látka měkne, se mění s obsahem vinylacetatu; klesá z asi 100 °C při obsahu několika procent vinylacetatu až k 70 °C při obsahu 30 % vinylacetatu.

## Zkouška totožnosti

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

K 0,25 g se přidá 10 ml *toluenu R* a vaří se asi 15 min pod zpětným chladičem. Několik kapek roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a rozpouštědlo se odpaří v sušárně při 80 °C. Změří se infračervené absorpční spektrum (2.2.24). Spektrum zkoušené látky vykazuje absorpční maxima odpovídající vinylacetatu při 1740 cm<sup>-1</sup>, 1375 cm<sup>-1</sup>, 1240 cm<sup>-1</sup>, 1020 cm<sup>-1</sup> a 610 cm<sup>-1</sup> a maxima odpovídající ethylenu při 2920 cm<sup>-1</sup> až 2850 cm<sup>-1</sup>, 1470 cm<sup>-1</sup>, 1460 cm<sup>-1</sup>, 1375 cm<sup>-1</sup>, 730 cm<sup>-1</sup> a 720 cm<sup>-1</sup>. Získané spektrum se dále shoduje se spektrem typového vzorku poskytnutého výrobcem. Jestliže je zkoušený materiál ve formě fólií, lze změřit spektrum odříznutého kousku vhodné velikosti.

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S1.** 2,0 g se převedou do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 80 ml *toluenu R* a zahřívá se 90 min pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se na 60 °C a za stálého míchání se do baňky přidá 120 ml *methanolu R*. Roztok se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Baňka a filtr se promyjí 25 ml směsí objemových dílů *toluenu R* a *methanolu R* (40 + 60). Promývací tekutina se přidá k filtrátu a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 250 ml.

**Roztok S2.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem, přidá se 500 ml *vody na injekci R* a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a sleje se. Část roztoku se uchová pro zkoušku Vzhled roztoku a zbytek se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). *Roztok se musí použít do 4 h od přípravy.*

**Vzhled roztoku.** Roztok S2 je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S2 při 220 nm až 340 nm je nejvýše 0,2.

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S2 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška; rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 0,5 ml.

**Amidy a kyselina stearová.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití dvou *desek s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 100 ml roztoku S1 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *dichlormethanu* *okyseleného R*.

**Porovnávací roztok (a).** 20 mg *kyseliny stearové CRL* (příslady polymerů 19) se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*.

**Porovnávací roztok (b).** 40 mg *příslady polymerů 20 CRL* se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*. 1 ml roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 5 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 40 mg *příslady polymerů 21 CRL* se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*. 1 ml roztoku se zředí *dichlormethanem R* na 5 ml.

Na dvě vrstvy se nanese po 10 µl každého roztoku.

První vrstva se vyvíjí směsí objemových dílů *ethanolu R* a *trimethylpentanu R* (25 + 75) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit a postříká se roztokem *dichlorfenolindofenolatu sodného R* (2 g/l) v *ethanolu R* a zahřívá se v sušárně při 120 °C několik minut, aby se skvrny staly intenzivnějšími. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající *kyselině stearové* není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Druhá vrstva se vyvíjí *hexanem R* po dráze 13 cm. Vrstva se usuší a znovu se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se nechá usušit a postříká se roztokem *kyseliny fosfomolybdenové R* (40 g/l) v *ethanolu R*. Zahřívá se v sušárně při 120 °C, dokud se skvrny neobjeví. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídající *přísladě polymerů 21* nebo *přísladě polymerů 20* nejsou intenzivnější než skvrny na chromatogramech porovnávacích roztoků (b) a (c).

**Fenolické antioxidanty.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok (a).** 50 ml roztoku S1 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*.

**Zkoušený roztok (b).** 50 ml roztoku S1 se odpaří ve vakuu při 45 °C do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml *dichlormethanu R*.

**Porovnávací roztok (a).** 25 mg *butylhydroxytoluenu CRL* (příslady polymerů 07), 40 mg *příslady polymerů 10 CRL*, 40 mg *příslady polymerů 09 CRL* a 40 mg *příslady polymerů 11 CRL* se rozpustí v 10 ml směsi stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *tetrahydrofuranu R*. 2 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 40 mg *příslady polymerů 11 CRL* a 40 mg *příslady polymerů 12 CRL* se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*. 2 ml tohoto roztoku se zředí *dichlormethanem R* 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, kterou je jedna ze dvou následujících směsí; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - *mobilní fáze 1* je směsí objemových dílů *vody R*, *tetrahydrofuranu R* a *acetonitrilu R* (10 + 30 + 60),
  - *mobilní fáze 2* je směsí objemových dílů *vody R*, *2-propanolu R* a *methanolu R* (5 + 45 + 50),
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Při použití mobilní fáze 1 se nastříkne 20 µl zkoušeného roztoku (a) a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) jsou pouze hlavní píky odpovídající píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) s retenčním časem delším než 2 min.

Plochy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) nejsou větší než plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (a), kromě posledního eluovaného píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže s mobilní fází 1 počet teoretických pater vypočtených pro pik odpovídající *přísladě polymerů 07* je nejméně 2500 a rozlišení mezi píky *příslady polymerů 09* a *příslady polymerů 10* není menší než 2,0.

Jestliže je na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) pik se stejným retenčním časem jako poslední antioxidant eluovaný z porovnávacího roztoku (a), použije se mobilní fáze 2 takto: Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b) a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) jsou pouze hlavní píky s retenčním časem delším než 3 min odpovídající píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Plochy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) nejsou větší než plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *příslady polymerů 11* a *příslady polymerů 12* je nejméně 2,0.

**Látky rozpustné v hexanu.** 5 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 50 ml *hexanu R* a vaří se 4 h na vodní lázni pod zpětným chladičem za stálého míchání. Ochladí se v ledové lázni; může se vytvořit gel. Filtruje se roztok hexanu pod přetlakem 27 kPa filtrem ze slinutého skla (16) za chlazení ledovou lázní. (Filtr je nutno předem 15 min chladit, doba filtrace nesmí překročit 5 min, zbytek na filtru se nepromývá.) 20 ml filtrátu

se odpaří na vodní lázni do sucha. Zbytek se suší 1 h při 100 °C. Hmotnost zbytku není větší než 40 mg (2 %) pro kopolymer, který je používán na obaly a není větší než 0,1 g (5 %) pro kopolymer, který je používán na hadičky.

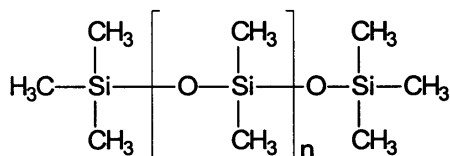
**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 1,2 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,250 g až 1,000 g, podle obsahu vinylacetátu ve zkoušeném kopolymeru, se převede do 300ml kuželové baňky se zabroušeným hrdlem a magnetickým míchadlem. Přidá se 40 ml *xylenu R* a vaří se 4 h pod zpětným chladičem za míchání. Za stálého míchání se nechá ochladit a když začne vypadávat tuhá fáze, pomalu se přidává 25,0 ml *hydroxidu draselného v lihu RS1*. Vaří se znovu 3 h pod zpětným chladičem za stálého míchání. Za stálého míchání se nechá ochladit, chladič se propláchne 50 ml *vody R* a do baňky se přidá 30,0 ml *kyseliny sírové 0,05 mol/l VS*. Obsah baňky se přenesení do 400ml kádinky a baňka se promyje dvakrát 50 ml roztoku *síranu sodného bezvodého R* (200 g/l) a třikrát 20 ml *vody R*. Promývací tekutiny se přidají do kádinky s původním roztokem. Nadbytek kyseliny sírové se titruje *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *kyseliny sírové 0,05 mol/l VS* odpovídá 8,609 mg vinylacetátu.

### 3.1.8 Silikonový olej používaný jako mazivo



Je to polydimethylsiloxan získaný hydrolyzou a polykondenzací dichlordimethylsilanu a chlortrimethylsilanu. Různé druhy jsou rozlišeny číslem udávajícím jmenovitou viskozitu uvedenou za názvem.

V závislosti na polymeračním stupni ( $n = 400$  až  $1200$ ) je jmenovitá hodnota kinematické viskozity od  $1000 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  do  $30\,000 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ .

### Vlastnosti

Čiré bezbarvé různě viskózní kapaliny. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v methanolu, mísitelný s ethylacetátem, s 2-butanonem a s toluenem a velmi těžce rozpustný v ethanolu.

### Zkoušky totožnosti

- Kinematická viskozita při 25 °C, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky odpovídá spektru *silikonového oleje CRL*. Nevyžaduje se shoda v oblasti spektra  $850 \text{ cm}^{-1}$  až  $750 \text{ cm}^{-1}$ , neboť se zde mohou projevit malé rozdíly závislé na stupni polymerace.
- Asi 0,5 g se ve zkumavce zahřívá nad malým plamenem do vzniku bílého dýmu. Zkumavka se nakloní nad druhou zkumavku obsahující 1 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (1 g/l) v *kyselině sírové R* tak, aby se dým dostal k roztoku. Druhá zkumavka se 10 s protřepává a 5 min se zahřívá na vodní lázni; roztok se zbarví fialově.
- V platinovém kelímku se připraví síranový popel (2.4.14) za použití 50 mg zkoušené látky. Zbytek je bílý prášek, který vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Kyselce reagující látky.** Ke 2,0 g se přidá 25 ml směsi stejných objemových dílů *ethanolu R* a *etheru R* předem zneutralizované na 0,2 ml *modří bromthymolové RS1* a protřepe se. Ke změně zbarvení roztoku na modré se spotřebuje nejvýše 0,15 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Viskozita (2.2.10).** Změří se dynamická viskozita při 25 °C. Kinematická viskozita se vypočítá za použití hodnoty relativní hustoty 0,97. Hodnota kinematické viskozity je 95 % až 105 % jmenovité hodnoty uvedené v označení na obalu.

**Minerální oleje.** 2 ml ve zkumavce se pozorují v ultrafialovém světle při 365 nm. Fluorescence není intenzivnější než fluorescence roztoku *chininiumsulfatu R* (0,1 µg/ml) v *kyselině sírové 0,005 mol/l RS* pozorovaná za stejných podmínek.

**Fenylované látky.** Index lomu (2.2.6) je nejvýše 1,410.

**Těžké kovy.** 1,0 g se smíchá s *dichlormethanem R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml. Přidá se 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R*, 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: k 20 ml *dichlormethanu R* se přidá 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R*, 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). Oba roztoky se ihned důkladně 1 min protřepávají. Červené zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku (5 µg/g).

**Těkávé látky.** Nejvýše 2,0 %; 2,00 g se suší 24 h v sušárně při 150 °C na předem zvážené misce o průměru 60 mm a hloubce 10 mm.

## Označování

V označení na obalu se uvede za názvem výrobku číslo udávající jmenovitou viskozitu a informace, že látka se používá jako mazivo.

### 3.1.9 Silikonový elastomer pro uzávěry a hadičky

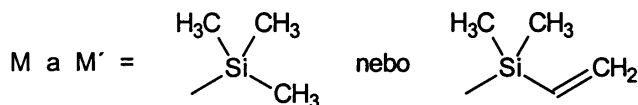
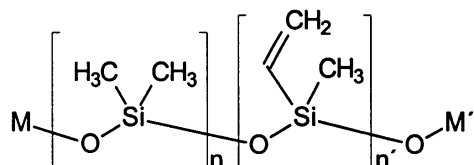
2000



Silikonový elastomer vyhovující následujícím požadavkům je vhodný pro výrobu uzávěrů a hadiček.

Získává se zesítováním lineárního polysiloxanu tvořeného zejména dimethylsiloxanovými jednotkami s malým podílem methylvinylsiloxanových skupin; konce řetězců jsou blokovány trimethylsiloxanovými nebo dimethylvinylsiloxanovými skupinami.

Obecný vzorec polysiloxanu je:



Zesítování se provádí za horka buď:

- 2,4-dichlorbenzoylperoxidem pro vytlačované výrobky,
- 2,4-dichlorbenzoylperoxidem nebo dikumylperoxidem nebo OO-terc.butyl-O-isopropylmono-peroxidkarbonatem nebo 2,5-bis(terc.butylodioxy)-2,5-dimethylhexanem pro lité výrobky nebo
- hydrosilylací polysiloxanem se skupinami –SiH za použití platiny jako katalyzátoru.

Vždy se používají vhodné přísady, jako oxid křemičitý a někdy malá množství organokřemičitých přísad ( $\alpha,\omega$ -dihydroxypolydimethylsiloxan).

## Vlastnosti

Průhledný nebo průsvitný materiál. Je prakticky nerozpustný v organických rozpouštědlech, z nichž některé způsobují vratné bobtnání materiálu, např. cyklohexan, hexan a dichlormethan.

## Zkoušky totožnosti

- A. Změří se infračervené absorpční spektrum metodou mnohonásobné reflexe pro tuhé látky (2.2.24). Spektrum zkoušené látky odpovídá spektru *silikonového elastomeru CRL*.
- B. 1,0 g se ve zkumavce zahřívá nad malým plamenem do vzniku bílého dýmu. Zkumavka se nakloní nad druhou zkumavku obsahující 1 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (1 g/l) v *kyselině sírové R* tak, aby se dým dostal k roztoku. Druhá zkumavka se 10 s protřepává a 5 min se zahřívá na vodní lázni; roztok se zbarví fialově.
- C. 50 mg zbytku po spálení vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

*V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu nařežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.*

**Roztok S.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem. Přidá se 500 ml *vody R* a vaří se 5 h pod zpětným chladičem. Nechá se ochladit a roztok se sleje.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S se přidá 0,15 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 2,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. K dalším 100 ml roztoku S se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Relativní hustota (2.2.5).** 1,05 až 1,25; stanoví se pyknometrem s *ethanolem R* jako imerzní tekutinou.

**Redukující látky.** Ke 20 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Nechá se 15 min stát. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška s 20 ml *vody R* místo roztoku S. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku při titraci a slepé zkoušce je nejvýše 1,0 ml.

**Látky rozpustné v hexanu.** 25 ml roztoku ze zkoušky Fenylované látky se odpaří v předem zvážené skleněné odpařovací misce na vodní lázni a suší se 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Hmotnost zbytku je nejvýše 15 mg (3 %).

**Těkavé látky.** 10,0 g zkoušené látky předem 48 h uchovávané v exsikátoru nad *chloridem vápenatým bezvodým R* se zahřívá 4 h v sušárně při 200 °C. Nechá se ochladit v exsikátoru a znovu se zváží. U silikonových elastomerů vyrobených za použití peroxidů je obsah těkavých látek nejvýše 0,5 %. U silikonových elastomerů vyrobených za použití platin je obsah těkavých látek nejvýše 2,0 %.

**Minerální oleje.** 2 g se převedou do 100ml kuželové baňky obsahující 30 ml směsi objemových dílů *amoniaku 17,5% RS* a *pyridinu R* (5 + 95). Nechá se 2 h stát za častého třepání. Pyridinový roztok se sleje a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Fluorescence roztoku není intenzivnější než za stejných podmínek pozorovaná fluorescence roztoku *chininiumsulfatu R* (1 µg/ml) v *kyselině sírové 0,005 mol/l RS*.

**Fenylované látky.** Ke 2,0 g v baňce z borokřemičitého skla se zabroušeným hrdlem se přidá 100 ml *hexanu R*. Vaří se 4 h pod zpětným chladičem. Ochladí se a pak se rychle zfiltruje filtrem ze slinutého skla (16). Nádoba s filtrem se ihned uzavře, aby se zabránilo odpařování. Absorbance měřená při 250 nm až 340 nm (2.2.25) je nejvýše 0,4.

*Silikonové elastomery vyrobené za použití peroxidů vyhovují této dodatečné zkoušce.*

**Zbytkové peroxidy.** K 5 g v baňce z borokřemičitého skla se přidá 150 ml *dichlormethanu R*, baňka se uzavře a obsah se 16 h míchá mechanickým míchadlem. Rychle se zfiltruje do baňky se zabroušeným hrdlem, proudem *dusíku prostého kyslíku R* se odstraní vzduch a přidá se 1 ml roztoku *jodidu sodného R* (200 g/l) v *kyselině octové bezvodé R*. Baňka se uzavře, důkladně protřepe a nechá 30 min stát chráněna před světlem. Přidá se 50 ml *vody R* a ihned se titruje *thiosíranem*

sodným 0,01 mol/l VS za použití 0,25 ml škrobu RS jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 2,0 ml (0,08 %, počítáno jako dichlorbenzoylperoxid).

*Silikonové elastomery vyrobené za použití platiny vyhovují následující dodatečné zkoušce.*

**Platina.** 1,0 g se spálí v křemenném kelímku za pozvolného zvyšování teploty do získání bílého zbytku, který se převede do grafitového kelímku. Do křemenného kelímku se přidá 10 ml čerstvě připravené směsi objemových dílů *kyseliny dusičné R* a *kyseliny chlorovodíkové R* (1 + 3), zahřívá se 1 min až 2 min na vodní lázni a převede se do grafitového kelímku. Přidá se 5 mg *chloridu draselného R* a 5 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a odpaří se na vodní lázni do sucha. Přidá se 5 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a znovu se odpaří do sucha. Tento postup se opakuje ještě dvakrát. Zbytek se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. Nechá se ochladit a roztok se přidá k 1 ml roztoku *chloridu cínatého R* (250 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS*. Grafitový kelímek se opláchne několika mililitry *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředí se stejnou kyselinou na 10,0 ml. Současně se připraví porovnávací roztok: k 1 ml roztoku *chloridu cínatého R* (250 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* se přidá 1,0 ml základního roztoku *platiny* (30 µg Pt/ml) a zředí se *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na 10,0 ml. Roztok zkoušené látky se nezbarví intenzivněji než porovnávací roztok (30 µg/g).

### Označování

V označení na obalu se uvede, zda látka byla vyrobena za použití peroxidů nebo platiny.

“

18. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.1 Materiály pro výrobu obalů, se za kapitolu 3.1.11 doplňují kapitoly 3.1.12, 3.1.13 a 3.1.14, které znějí:

”

2000



### 3.1.12 Pryž pro uzávěry obalů na vodné a práškové parenterální přípravky

Pryž se vyrábí z materiálů získaných vulkanizací (zesíťováním) makromolekulárních organických látek, které obsahují příslušné přísady. Tento článek se netýká materiálů na uzávěry ze silikonového elastomeru (viz 3.1.9 *Silikonový elastomer pro uzávěry a hadičky*) nebo materiálů na lakované uzávěry. Pryž se vyrábí z přírodních nebo syntetických látek polymerací, polyadící nebo polykondenzací. Povaha základních složek a různých přísad (např. vulkanizační látky, urychlovače, změkčovačla, stabilizátory, barviva) umožňují získat materiál s požadovanými vlastnostmi.

Rozlišují se dva druhy pryže: typ I splňuje nejpřísnější požadavky a je mu dáвана přednost; pryž typu II má mechanické vlastnosti vhodné pro zvláštní použití (např. umožňuje vícenásobný vpich) a vzhledem ke svému chemickému složení nemusí vyhovovat přísným požadavkům pro první kategorii.

Pryž zvolená pro výrobu nějakého uzávěru musí vyhovovat popisu v článku 3.2.2.

### Vlastnosti

Pryž je elastická průsvitná nebo neprůhledná a nemá žádné charakteristické zbarvení, které závisí na použitých přísadách. Je prakticky nerozpustná v tetrahydrofuranu, v němž však může docházet ke značnému vratnému bobtnání, je homogenní.

## Zkoušky totožnosti

- A. Proužek materiálu o průřezu 1 mm<sup>2</sup> až 5 mm<sup>2</sup> lze rukou protáhnout nejméně na dvojnásobek původní délky. Po 1 min natažení na dvojnásobek délky se proužek za 30 s od uvolnění smrští nejméně na 1,2násobek původní délky.
- B. 1 g až 2 g v tepelně odolné zkumavce se ohřejí nad přímým plamenem do vysušení vzorku a v ohřevu se pokračuje až páry pyrolyzátu kondenzují v blízkosti horního okraje zkumavky. Několik kapek pyrolyzátu se nanese na tabletu z *bromidu draselného R* a změří se infračervené spektrum (2.2.24), které odpovídá spektru typového vzorku.
- C. Celkový popel (2.4.16) je v rozmezí ±10 % hodnoty stanovené u typového vzorku.

## Zkoušky na čistotu

*Zkoušené vzorky mohou být před použitím opláchnuty a sterilizovány.*

**Roztok S.** Vzorek pryže o celkovém povrchu asi 100 cm<sup>2</sup> se ve vhodné skleněné nádobě zcela převrství vodou na *injekci R* a vaří se 5 min. Potom se pětikrát opláchne studenou vodou na *injekci R* a převede se do širokohrdlé baňky (sklo třídy I, 3.2.1). Přidá se 200 ml vody na *injekci R* a zváží se. Hrdlo baňky se zakryje kádinkou z borokřemičitého skla. Baňka se umístí do autoklávu a teplota se během 20 min až 30 min zvyšuje na (121 ± 2) °C a při této teplotě se zahřívá 30 min. Baňka se nechá pozvolna (asi 30 min) chladnout na pokojovou teplotu a doplní se vodou na *injekci R* na původní hmotnost. Obsah se protřepe a výluh se ihned sleje. Před každou zkouškou se roztok S znovu protřepe.

**Kontrolní roztok.** Získá se při slepé zkoušce provedené stejným způsobem jako příprava roztoku S za použití 200 ml vody na *injekci R*.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II pro pryž typu I a ne více než porovnávací suspenze III pro pryž typu II (2.2.1). Roztok S není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok ZŽ<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kyselé nebo zásadité reagující látky.** Ke 20 ml roztoku S se přidá 0,1 ml modře *bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení na modré se spotřebuje nejvýše 0,3 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* a ke změně zbarvení na žluté se spotřebuje nejvýše 0,8 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance.** Zkouška se provede do 5 h od přípravy roztoku S. Roztok S se zfiltruje membránovým filtrem o velikosti pórů asi 0,45 μm. Prvních několik mililitrů filtrátu se odstraní. Změří se absorbance (2.2.25) filtrátu při 220 nm až 360 nm proti kontrolnímu roztoku. V uvedené oblasti je absorbance výluhu z pryže typu I nejvýše 0,2 a z pryže typu II nejvýše 4,0. V případě potřeby se filtrát před měřením zředí a naměřená hodnota se přepočítá na původní roztok.

**Redukující látky.** Zkouška se provede do 4 h od přípravy roztoku S. Ke 20,0 ml roztoku S se přidá 1 ml kyseliny sírové zředěné RS a 20,0 ml manganistanu draselného 0,002 mol/l VS. Vaří se 3 min a potom se ochladí. Přidá se 1 g jodidu draselného R a ihned se titruje thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS za použití 0,25 ml škrobu RS jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška s 20,0 ml kontrolního roztoku. Rozdíl spotřeb odměrného roztoku je nejvýše 3,0 ml pro pryž typu I a nejvýše 7,0 ml pro pryž typu II.

**Extrahovatelný zinek.** Roztok S obsahuje nejvýše 5 μg Zn/ml; stanoví se atomovou absorpční spektrofotometrií (2.2.23, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** 10,0 ml roztoku S se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se za použití základního roztoku zinku (10 μg Zn/ml) zředěním kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Amonium (2.4.1).** 5 ml roztoku S se zředí vodou R na 14 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce A na amonium (2 μg/ml).

**Extrahovatelné těžké kovy (2.4.8).** Roztok S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (2 μg/ml). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 μg Pb/ml).

**Zbytek po odpaření.** 50,0 ml roztoku S se odpaří na vodní lázni do sucha a vysuší se při 100 °C až 105 °C. Hmotnost zbytku je nejvýše 2,0 mg pro pryž typu I a nejvýše 4,0 mg pro pryž typu II.



**Těkavé sulfidy.** Vzorek pryže o celkovém povrchu  $(20 \pm 2)$  cm<sup>2</sup>, v případě potřeby rozřezaný, se převede do kuželové baňky na 100 ml a přidá se 50 ml roztoku *kyseliny citronové R* (20 g/l). Na ústí baňky se přiloží *papír s octanem olovnatým R* a upevní se přiložením obrácené misky. Zahřívá se 30 min v autoklávu při  $(121 \pm 2)$  °C. Černá skvrna na papíru není intenzivnější než skvrna porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem za použití 0,154 mg *sulfidu sodného R* a 50 ml roztoku *kyseliny citronové R* (20 g/l).



2000

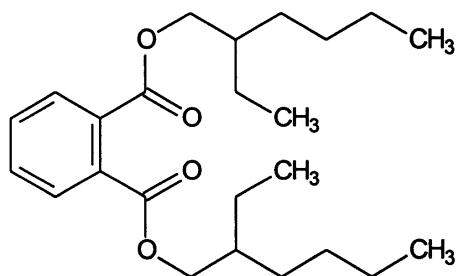
## 3.1.13 Přísady polymerů

PP 01

C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>

CAS 117-81-7

PM 74640

(2*RS*)-bis(2-ethylhexyl)-1,2-benzendikarboxylat

synonyma: bis(2-ethylhexyl)-ftalat

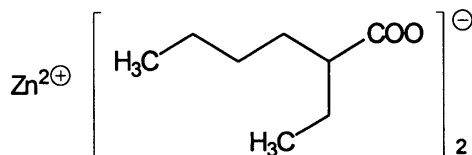
bis(2-ethylhexyl)ftalat (viz stat' 4.1.1)

PP 02

C<sub>16</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>Zn

CAS 136-53-8

PM 54120

zinkium-di[(2*RS*)-2-ethylhexanoat]

synonyma: zinkium-oktanoat

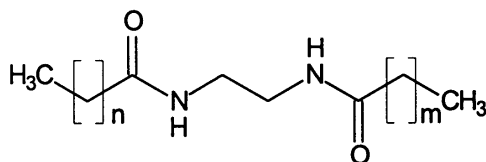
zinečnatá sůl kyseliny 2-ethylhexanové

zinkium-di(2-ethylkapronat)

PP 03

CAS 5518-18-3/110-30-5

PM 53440/53520



N,N'-ethylendialkanamid (n a m = 14 nebo 16)

synonyma: N,N'-diacylethylendiaminy

N,N'-diacylethylendiamin (v této souvislosti acyl znamená palmitoyl a stearoyl)

PP 04

CAS 8013-07-8

PM 88640

epoxidovaný sójový olej

PP 05  
epoxidovaný lněný olej

CAS 8016-11-3

PM 64240

PP 06  
modř ultramarinová

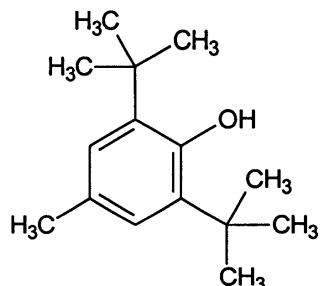
CAS 57455-37-5 (TSCA)/101357-30-6  
(EINECS)/modř pigmentová 29 (Colour Index 77007)

PP 07

C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>O

CAS 128-37-0

PM 46640



2,6-di-terc.butyl-4-methylfenol

synonyma: **butylhydroxytoluen**

butylhydroxytoluenum (viz článek *Butylhydroxytoluenum*)

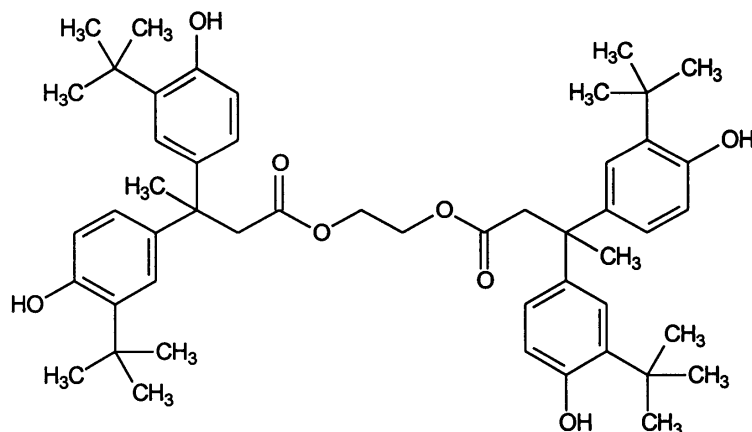
2,6-di-terc.butyl-*p*-kresol

PP 08

C<sub>50</sub>H<sub>66</sub>O<sub>8</sub>

CAS 32509-66-3

PM 53670



ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butanoat]

synonyma: **ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butanoat]**

ethylen-bis[3,3-bis(3-terc.butyl-4-hydroxyfenyl)butyrat]

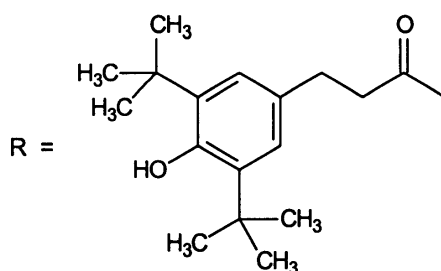
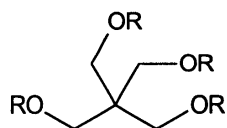
stabilizátor polymerů R1 (viz stať 4.1.1)

PP 09

 $C_{73}H_{108}O_{12}$ 

CAS 6683-19-8

PM 71680



(methantetrayltetramethyl)-tetrakis[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propanoat]

*synonyma:* (pentaerytrityl)-tetrakis[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propionat]

2,2-bis{[[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propanoyl]oxy]methyl}propan-1,3-diyl-

-bis[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propanoat]

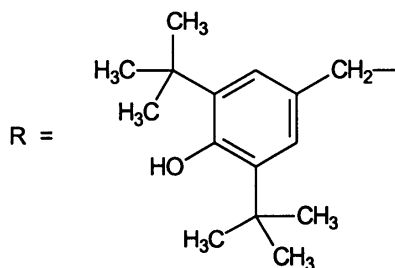
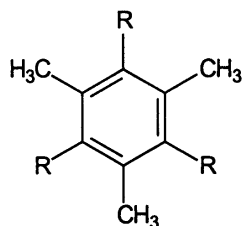
stabilizátor polymerů R3 (viz stať 4.1.1)

PP 10

 $C_{54}H_{78}O_3$ 

CAS 1709-70-2

PM 95200



4,4',4''-[2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzentriyl-tris(methylen)]tris(2,6-di-terc. butylfenol)

*synonyma:* 2,2',2'',6,6',6''-hexa-terc. butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzentriyl)trismethylen]trifenol

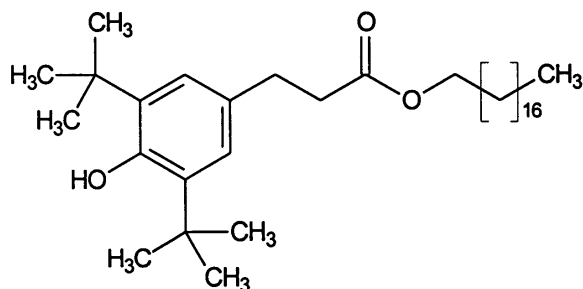
stabilizátor polymerů R2 (viz stať 4.1.1)

PP 11

 $C_{35}H_{62}O_3$ 

CAS 2082-79-3

PM 68320



oktadecyl-[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propanoat]

*synonyma:* oktadecyl-[3-(3,5-di-terc. butyl-4-hydroxyfenyl)propionat]

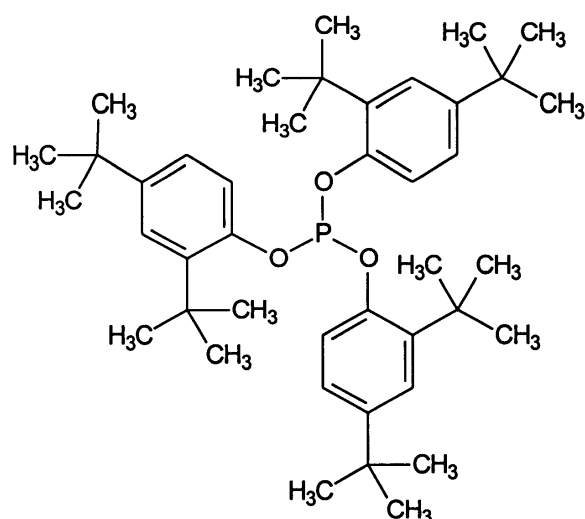
stabilizátor polymerů R4 (viz stať 4.1.1)

PP 12

C<sub>42</sub>H<sub>63</sub>O<sub>3</sub>P

CAS 31570-04-4

PM 74240

tris(2,4-di-*tert.*butylfenyl)-fosfit*synonyma:* tris(2,4-di-*tert.*butylfenyl)fosfit

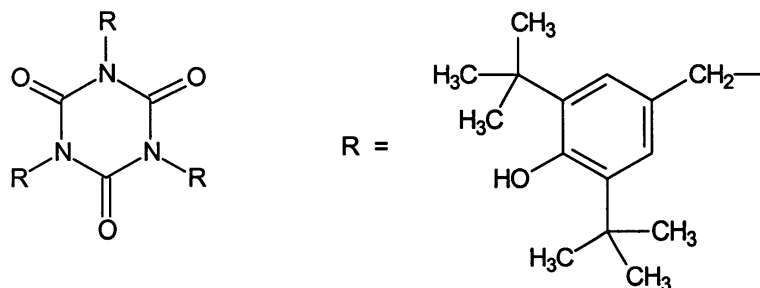
stabilizátor polymerů R9 (viz stať 4.1.1)

PP 13

C<sub>48</sub>H<sub>69</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>

CAS 27676-62-6

PM 95360

1,3,5-tris(3,5-di-*tert.*butyl-4-hydroxybenzyl)-1,3,5-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion*synonyma:* 1,3,5-tris(3,5-di-*tert.*butyl-4-hydroxybenzyl)-*s*-triazin-2,4,6-(1*H*,3*H*,5*H*)-trion

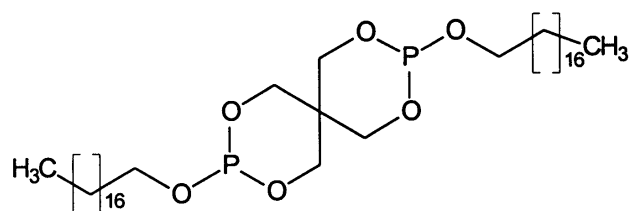
stabilizátor polymerů R5 (viz stať 4.1.1)

PP 14

C<sub>41</sub>H<sub>82</sub>O<sub>6</sub>P<sub>2</sub>

CAS 3806-34-6

PM 50080



3,9-bis(oktadecyloxy)-3,9-difosfa-2,4,8,10-tetraoxaspiro[5,5]undekán

*synonyma:* 2,2'-bis(oktadecyloxy)-5,5'-spirobi(1,3,2-dioxafosfinan)

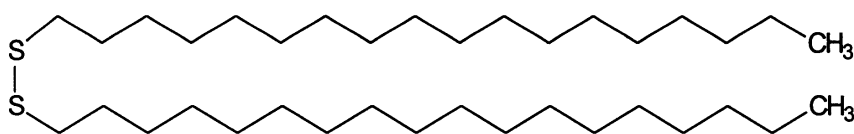
stabilizátor polymerů R6 (viz stať 4.1.1)

PP 15

 $C_{36}H_{74}S_2$ 

CAS 1844-09-3

PM 49840



1,1'-disulfandiyl-dioktadekan

synonyma: **dioktadecyl-disulfid** (viz stať 4.1.1)

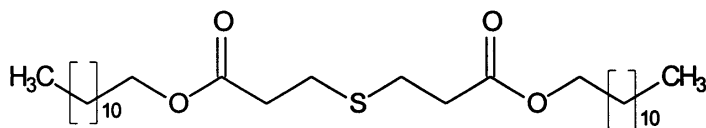
1,2-dioktadecyl-disulfan

PP 16

 $C_{30}H_{58}O_4S$ 

CAS 123-28-4

PM 93120



didodecyl-3,3'-thiodipropionát

synonyma: **didodecyl-3,3'-thiodipropionát**

didodecyl-3,3'-sulfandiyl-dipropionát

dilauryl-3,3'-thiodipropionát

didodecyl-(3,3'-thiodipropionát)

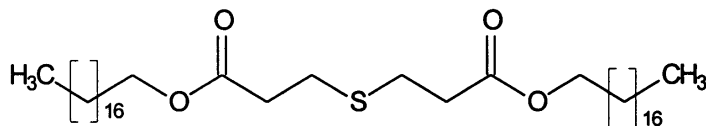
stabilizátor polymerů R7 (viz stať 4.1.1)

PP 17

 $C_{42}H_{82}O_4S$ 

CAS 693-36-7

PM 93280



dioktadecyl-3,3'-thiodipropionát

synonyma: **dioktadecyl-3,3'-thiodipropionát**

dioktadecyl-(3,3'-thiodipropionát)

dioktadecyl-3,3'-sulfandiyl-dipropionát

distearyl-3,3'-thiodipropionát

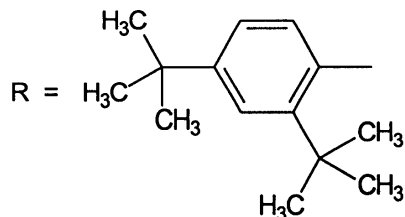
stabilizátor polymerů R8 (viz stať 4.1.1)

PP 18

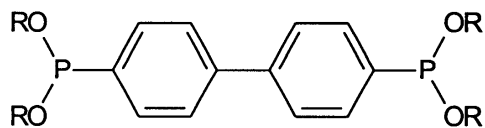
CAS 119345-01-6

PM 92560

Směs sedmi produktů odpovídajících reakčnímu produktu di-terc.butylfosfonitu s chloridem fosforitým, reakčním produktům s bifenylem a 2,4-di-terc.butylfenolem:

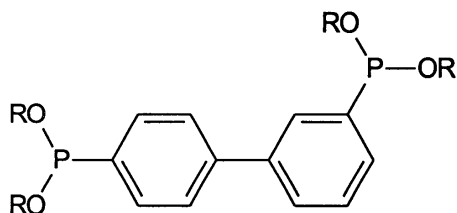


složka I



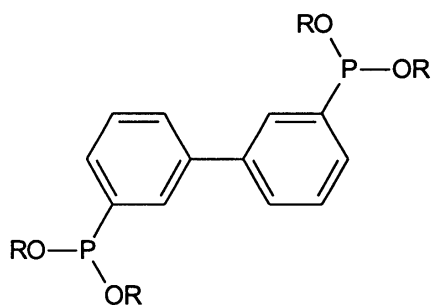
tetrakis(2,4-di-terc.butylfenyl)-bifenyl-4,4'-diylbisfosfonit

složka II



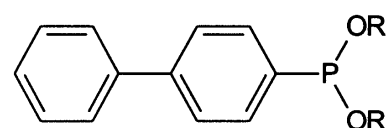
tetrakis(2,4-di-terc.butylfenyl)-bifenyl-3,4'-diyldifosfonit

složka III



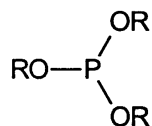
tetrakis(2,4-di-terc.butylfenyl)-bifenyl-3,3'-diyldifosfonit

složka IV



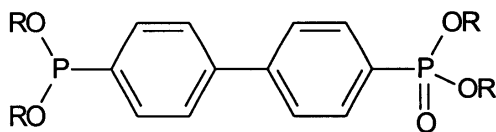
bis(2,4-di-terc.butylfenyl)-bifenyl-4-ylfosfonit

složka V



tris(2,4-di-terc.butylfenyl)-fosfit

složka VI



bis(2,4-di-terc.butylfenyl)-{4'-[bis(2,4-di-terc.butylfenoxy)fosfanyl]bifenyl-4-yl}fosfonat

složka VII

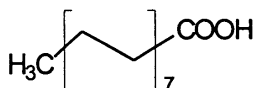
R-OH: 2,4-di-terc.butylfenol

PP 19

C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>

CAS 57-11-4

PM 24550



kyselina oktadekanová

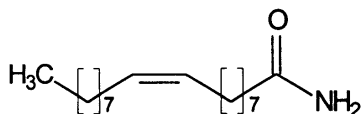
synonyma: **kyselina stearová** (viz stať 4.1.1)acidum stearicum (viz článek *Acidum stearicum*)

PP 20

C<sub>18</sub>H<sub>35</sub>NO

CAS 310-02-0

PM 68960



(Z)-9-oktadecenamid

synonyma: **oleamid** (viz stať 4.1.1)

9-cis-oleamid

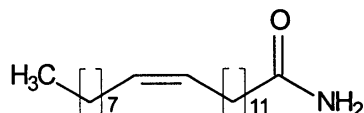
(Z)-oktadec-9-enamid

PP 21

C<sub>22</sub>H<sub>43</sub>NO

CAS 112-84-5

PM 52720



(Z)-13-dokosenamid

synonyma: **erukamid** (viz stať 4.1.1)

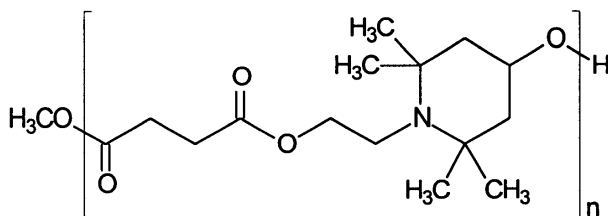
13-cis-dokosenamid

(Z)-dokos-13-enamid

PP 22

CAS 65447-77-0

PM 60800



kopolymer dimethyl-butandioátu a 1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-olu

*synonymum*: kopolymer dimethyl-sukcinátu a (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl)ethanolu

### 3.1.14 Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly na vodné roztoky k intravenózní infuzi

2000



*Poznámka: Tento text nahrazuje odpovídající části textu 3.1.1 publikovaného v ČL 97, týkající se vodných roztoků k intravenózní infuzi.*

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu obsahují nejméně 55 % polyvinylchloridu a kromě vysokomolekulárního polymeru získaného polymerací vinylchloridu obsahují ještě různé přísady.

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu pro obaly (vaky) na vodné roztoky k intravenózní infuzi jsou definovány povahou a poměry složek použitých při jejich výrobě.

#### Výroba

Materiály na bázi měkčeného polyvinylchloridu se vyrábějí polymeračními metodami zaručujícími, že obsah zbytkového vinylchloridu je menší než 1 µg v jednom gramu polymeru. Použitý výrobní postup je validován, aby se prokázalo, že výrobek vyhoví 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 mikrostříkačkou do 20,0 ml *dimethylacetamidu R* tak, aby špička jehly byla ponořena do rozpouštědla. Těsně před použitím se 1 ml tohoto roztoku zředí *dimethylacetamidem R* na 1000 ml.

**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, uzávěr se zajistí a protřepe se, aniž by došlo ke smočení zátky kapalinou. Lahvička se temperuje 2 h ve vodní lázni při (60 ± 1) °C.

**Základní roztok vinylchloridu.** *Připravuje 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 plyným *vinylchloridem R*. Plyn se nechá ve stříkačce asi 3 min, stříkačka se vyprázdní a opět se naplní 50 ml plyného *vinylchloridu R*. Na stříkačku se nasadí podkožní 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). Nechá se stát 2 h. Základní roztok se uchovává v chladničce.

**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 obvykle se provádí 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  $45 ^\circ\text{C}$ , teplota nástřikového prostoru na  $100 ^\circ\text{C}$  a teplota detektoru na  $150 ^\circ\text{C}$ .

Provede se head-space nástřik po 1 ml z každé lahvičky. Vypočte se obsah vinylchloridu.

## Přísady

Do polymerů se pro optimalizaci jejich chemických, fyzikálních a mechanických vlastností přidává určitý počet přísad, aby se přizpůsobily pro určené použití. Všechny tyto přísady se volí z následujícího seznamu, který specifikuje pro každý výrobek nejvyšší povolený obsah:

- nejvýše 40 % bis(2-ethylhexyl)-ftalatu (přísada polymerů 01),
- nejvýše 1 % zinkium-oktanoatu (přísada polymerů 02),
- nejvýše 1 % stearanu vápenatého nebo stearanu zinečnatého nebo 1 % jejich směsi,
- nejvýše 1 % N,N'-diacylethylendiaminů (přísada polymerů 03),
- nejvýše 10 % jednoho z následujících epoxidovaných olejů nebo 10 % jejich směsi:
  - epoxidovaný sójový olej (přísada polymerů 04) s obsahem 6 % až 8 % oxiranového kyslíku a číslem jodovým nejvýše 6,
  - epoxidovaný lněný olej (přísada polymerů 05) s obsahem oxiranového kyslíku nejvýše 10 % a číslem jodovým nejvýše 7.

Pokud jsou přidávána barviva, použije se ultramarinová modř. Jiná organická barviva je možno přidat pouze pod podmínkou, že oprávněné autoritě byla prokázána bezpečnost takového materiálu. V polymeru může být zjištěno velmi malé množství antioxidantů přidávaných do monomerního vinylchloridu.

Dodavatel materiálu musí být schopen prokázat, že kvalitativní a kvantitativní složení typového vzorku je vyhovující v každé výrobní šarži.

## Vlastnosti

Bezbarvý nebo světle žlutý materiál ve formě prášku, kuliček, granulí nebo, po zpracování, průsvitných fólií různé tloušťky se slabým pachem. Při spalování se vyvíjí hustý černý dým.

## Zkoušky totožnosti

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu před použitím rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.

Ke 2,0 g zkoušeného materiálu se přidá 200 ml etheru prostého peroxidických látek R a vaří se 8 h pod zpětným chladičem. Zbytek B a roztok A se oddělí filtrací.

Roztok A se odpaří do sucha za sníženého tlaku ve vodní lázni při  $30 ^\circ\text{C}$ . Zbytek po odpaření se rozpustí v 10 ml toluenu R (roztok A1). Zbytek B se rozpustí zahříváním na vodní lázni pod zpětným chladičem v 60 ml dichlorethanu R a zfiltruje se. Filtrát se přidá po kapkách a za silného třepání k 600 ml heptanu R zahřátého téměř k varu. Horká směs se zfiltruje horkým filtrem, aby se oddělil koagulát B1 a organický roztok. Organický roztok se ochladí na pokojovou teplotu, oddělí se vzniklá sraženina B2 a zfiltruje se zváženým filtrem ze slinutého skla (40).

A. Koagulát B1 se rozpustí v 30 ml tetrahydrofuranu R a za stálého třepání se přidá po malých dávkách 40 ml ethanolu R. Filtrací se oddělí sraženina B3 a suší se ve vakuu při teplotě nejvýše  $50 ^\circ\text{C}$  nad oxidem fosforečným R. Několik miligramů sraženiny B3 se rozpustí v 1 ml tetrahydrofuranu R. Několik kapek získaného roztoku se nanese na tabletu chloridu sodného a odpaří se do sucha v sušárně při  $100 ^\circ\text{C}$  až  $105 ^\circ\text{C}$ . Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) látky odpovídá spektru polyvinylchloridu CRL.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku C získaného ve zkoušce Přísady polymerů 01, 04 a 05 odpovídá spektru přísady polymerů 01 CRL.

## Zkoušky na čistotu

V případě potřeby se vzorky zkoušeného materiálu před použitím rozřežou na kousky, jejichž největší rozměr nepřevyšuje 1 cm.

**Roztok S1.** 5,0 g se převede do spalovací baňky, přidá se 30 ml *kyseliny sírové R* a zahřívá se do vzniku černé sirupovité hmoty. Ochladí se a opatrně se přidá 10 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*. Směs se mírně zahřeje, nechá se ochladit a přidá se 1 ml *peroxidu vodíku koncentrovaného R*; opakuje se střídavě odpařování a přidávání peroxidu vodíku do získání bezbarvé tekutiny. Objem tekutiny se sníží asi na 10 ml, ochladí se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

**Roztok S2.** 25 g se převede do baňky z borokřemičitého skla, přidá se 500 ml *vody na injekci R* a hrdlo baňky se překryje hliníkovou fólií nebo kádinkou z borokřemičitého skla. Zahřívá se 20 min v autoklávu na  $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Po zchladnutí se roztok sleje.

**Vzhled roztoku S2.** Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselce nebo zásadité reagující látky.** Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,15 ml *indikátoru směsného BMF RS*. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*. Ke 100 ml roztoku S2 se přidá 0,2 ml *oranže methylové RS*. K dosažení počátku změny žlutého zbarvení indikátoru na oranžové se spotřebuje nejvýše 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Absorbance (2.2.25).** 100,0 ml roztoku S2 se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 5,0 ml *hexanu R*. Absorbance při 250 nm až 310 nm je nejvýše 0,25.

**Redukující látky.** Zkouška se provádí do 4 h od přípravy roztoku S2. Ke 20,0 ml roztoku S2 se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*. Vaří se pod zpětným chladičem 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška s 20 ml *vody na injekci R*. Rozdíl mezi spotřebami odměrného roztoku je nejvýše 2,0 ml.

**Primární aromatické aminy.** Ke 2,5 ml roztoku A1 připraveného pro zkoušky totožnosti se přidá 6 ml *vody R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Důkladně se protřepe, horní vrstva se oddělí a odstraní. K vodné vrstvě se přidá 0,4 ml čerstvého připraveného roztoku *dusitanu sodného R* (10 g/l), promíchá se a nechá 1 min stát. Přidá se 0,8 ml roztoku *amidosíranu amonného R* (25 g/l), nechá se stát 1 min a přidají se 2 ml roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (5 g/l). Po 30 min není zbarvení roztoku intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně a stejným způsobem za použití 1 ml roztoku *naftylaminu R* (0,01 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*, 5 ml *vody R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* místo vodné vrstvy (20 µg/g).

**Přísady polymerů 01, 04 a 05.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R* (tloušťka 1 mm).

**Porovnávací roztoky.** Připraví se roztoky 0,1 mg/ml *přísady polymerů 01 CRL*, *přísady polymerů 04 CRL* a *přísady polymerů 05 CRL* v *toluenu R*.

0,5 ml roztoku A1 získaného při zkouškách totožnosti se nanese na vrstvu do pruhu 30 mm × 3 mm. Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého porovnávacího roztoku a vyvíjí se *toluenem R* po dráze 15 cm. Vrstva se opatrně usuší a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Určí se pruh odpovídající přísadě polymerů 01 ( $R_F$  asi 0,4). Tento pruh silikagelu se sejme a třepe se 1 min se 40 ml *etheru R*. Zfiltruje se a filtr se propláchne ještě dvakrát 10 ml *etheru R*. Promývací tekutina se spojí s filtrátem a odpaří se do sucha. Hmotnost zbytku C je nejvýše 40 mg.

Vrstva se vystaví na 5 min působení par jodu. Na chromatogramu se určí pruh odpovídající přísadám polymerů 04 a 05 ( $R_F = 0$ ). Tento pruh silikagelu se sejme a podobně se sejme odpovídající oblast silikagelu jako kontrolní vzorek. Oba vzorky se odděleně třepou 15 min se 40 ml *methanolu R*, zfiltrují se a filtr se propláchne ještě dvakrát 10 ml *methanolu R*. Promývací tekutina se spojí s filtrátem a odpaří se do sucha. Rozdíl hmotností mezi oběma zbytky není větší než 10 mg.

**Přísada polymerů 03.** Sraženina B2 připravená při zkoušce totožnosti a nacházející se ve zváženém filtru se slinutého skla (40) se promyje *ethanolem R*. Vysuší se do konstantní hmotnosti nad *oxidem fosforečným R* a zváží se. Hmotnost sraženiny je nejvýše 20 mg.

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku odpovídá spektru *přísady polymerů 03 CRL*.

**Baryum.** Nejvýše 5 µg Ba/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 1,0 g se žihá v křemenném kelímku. Zbytek se převede do 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a na vodní lázni se odpaří do sucha. Tento zbytek se převede do 20 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*.

**Porovnávací roztok.** Roztok obsahující 0,25 µg Ba/ml se připraví za použití základního roztoku barya (50 µg Ba/ml) zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se emisní intenzita při 455,40 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 455,30 nm. Ověří se nepřítomnost barya v použité kyselině chlorovodíkové.

**Kadmium.** Nejvýše 0,6 µg Cd/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 10 ml roztoku S1 se odpaří do sucha. Zbytek se převede do 5 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (10 ml/l), zfiltruje se a filtrát se zředí stejným roztokem kyseliny na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se ze základního roztoku kadmia (1 mg Cd/ml) zředěním roztokem *kyseliny chlorovodíkové R* (10 ml/l).

Změří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost kadmia v použité kyselině chlorovodíkové.

**Vápník.** Nejvýše 0,07 % Ca; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok připravený pro stanovení barya.

**Porovnávací roztok.** Roztok obsahující 50,0 µg Ca/ml se připraví ze základního roztoku vápníku (400 µg Ca/ml) zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Měří se emisní intenzita při 315,89 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 315,60 nm. Ověří se nepřítomnost vápníku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Cín.** Nejvýše 20 µg Sn/g; stanoví se atomovou emisní spektrometrií v argonovém plazmatu (2.2.22, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 1 ml roztoku S1 se bezprostředně před použitím zředí vodou R na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** Bezprostředně před použitím se do baňky na 50 ml obsahující 5 ml roztoku *kyseliny sírové R* 20 % (V/V) přidají 2 ml základního roztoku cínu (5 µg Sn/ml) a zředí se vodou R na 50 ml.

Měří se emisní intenzita při 189,99 nm; použije se hodnota spektrálního pozadí při 190,10 nm. Ověří se nepřítomnost cínu v použité kyselině chlorovodíkové.

**Zinek.** Nejvýše 0,2 % Zn; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** 1 ml roztoku S1 se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS* na 100 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se ze základního roztoku zinku (100 µg Zn/ml) zředěním *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS*.

Změří se absorbance při 213,9 nm za použití zinkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen. Ověří se nepřítomnost zinku v použité kyselině chlorovodíkové.

**Těžké kovy (2.4.8).** K 10 ml roztoku S1 se přidá 0,5 ml *fenoltaleinu RS* a tolik *hydroxidu sodného koncentrovaného RS* až roztok mírně zružoví a zředí se vodou R na 25 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (50 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (2 µg Pb/ml).

**Látky extrahovatelné vodou.** 50 ml roztoku S2 se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se suší při 100 °C až 105 °C do konstantní hmotnosti. Provede se slepá zkouška s vodou na injekci R. Hmotnost zbytku po korekci na slepou zkoušku je nejvýše 7,5 mg (0,3 %).

## Stanovení obsahu

S 50,0 mg se provede spalování organických látek v kyslíku (2.5.10). Spalné produkty se absorbují 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.

19. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.2 Obaly, kapitola 3.2.2 zní:

”



2000

### 3.2.2 Obaly a uzávěry z plastů pro farmaceutické použití

Jsou to výrobky z plastu určené k ochraně a uchovávání léčiv a zdravotnických prostředků, se kterými jsou, nebo mohou být v přímém styku. Uzávěr je součástí obalu.

Obaly a uzávěry z plastů pro farmaceutické použití se vyrábějí z materiálů, které mohou obsahovat určité přísady. Tyto materiály neobsahují žádné látky, které by mohly být vyluhovány obsahem obalu v takovém množství, které by mohlo změnit účinnost nebo stabilitu léčiva nebo zdravotnického prostředku nebo představovalo riziko toxického účinku.

Nejčastěji používanými polymery jsou polyethylen (s přísadami a bez přísad), polypropylen, polyvinylchlorid, polyethylentereftalat a polyethylenvinylacetat.

Povaha a množství přísad jsou dány typem polymeru, technologií výroby obalu z polymeru a určeným použitím obalu. Jako přísady se používají antioxidanty, stabilizátory, změkčovadla, maziva, barvicí látky a přísady pro zvýšení rázové houževnatosti. Antistatická činidla a separační přísady se smějí používat pouze pro obaly na přípravky pro perorální podání nebo k vnějšímu použití, pro které jsou schváleny. Přípustné přísady jsou uvedeny v typové specifikaci pro každý materiál popsany v lékopise. Jiné přísady se smějí použít pouze tehdy, jestliže jsou jmenovitě schváleny oprávněnou autoritou zodpovědnou za schválení nebo registraci přípravku.

Při volbě vhodného plastového obalu je třeba znát úplné složení plastu, včetně všech materiálů přidávaných při výrobě obalu z plastu, aby bylo možno posoudit potenciální riziko. Obal z plastu vybraný pro nějaký určitý přípravek musí vyhovovat těmto požadavkům:

- složky přípravku ve styku s plastovým materiálem se na jeho povrch významně neadsorbují a nedochází k jejich pronikání do stěny a přes stěnu obalu,
- plastový materiál neuvolňuje žádné látky v takovém množství, které by mohlo změnit účinnost nebo stabilitu přípravku nebo představovalo riziko toxického účinku.

Za použití materiálu nebo materiálů, které splňují uvedené požadavky se definovaným výrobním postupem vyrobí určitý počet shodných typových vzorků obalu. Tyto vzorky se podrobí praktickým zkouškám za podmínek reprodukcí- cích podmínky skutečného použití, včetně, pokud je třeba, podmínek sterilizace. Pro potvrzení snášenlivosti obalu s jeho obsahem a pro zajištění, že nedochází k žádným změnám zhoršujícím jakost přípravku se provádějí různé zkoušky. Mezi tyto zkoušky patří např. ověření neměnnosti fyzikálních vlastností, posouzení úbytku nebo přírůstku obsahu v důsledku propustnosti stěny obalu, zjištění změn hodnot pH, posouzení změn účinkem světla, chemické zkoušky a, kde je to vhodné, biologické zkoušky.

Výrobní postup zajišťuje reprodukovatelnost následné hromadné výroby a výrobní podmínky jsou voleny tak, aby byla vyloučena možnost kontaminace jinými polymerními materiály nebo jejich přísadami. Výrobce obalu musí zajistit, že hromadně vyrobené obaly jsou ve všech parametrech shodné s typovými vzorky.

Pro platnost výsledků zkoušení typových vzorků je důležité, aby:

- nedocházelo ke změnám složení materiálu definovaného pro typové vzorky,
- nedocházelo ke změnám výrobního postupu definovaného pro typové vzorky, zvláště pokud jde o teploty při zpracování polymerního materiálu a při následných operacích jako je sterilizace,
- nebyl používán odpadový materiál.

Po příslušné validaci je možno povolit recyklaci určitých podílů dobře charakterizovaného přebytečného materiálu z výroby.

Za podmínky vyhovujících výsledků zkoušek snášenlivosti každé příslušné kombinace obalu a obsahu jsou materiály uvedené v lékopise uznány jako vhodné pro specifické účely definované výše.

“

20. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.2 se za kapitolu 3.2.2 doplňuje kapitola 3.2.2.1, která zní:

”



2000

### 3.2.2.1 Obaly z plastů na vodné roztoky pro infuzi

*Poznámka: Tento text nahrazuje text stati 3.2.7 v ČL 97.*

Obaly z plastů na vodné roztoky pro infuzi jsou vyráběny z jednoho nebo více polymerů, které v případě potřeby obsahují přísady. Obaly popsané v tomto článku nejsou vždy vhodné pro emulze. Nejčastěji používanými polymery jsou polyetylen, polypropylen a polyvinylchlorid. Specifikaci uvedenou v tomto článku je třeba číst v souvislosti se statí 3.2.2 Obaly a uzávěry z plastů pro farmaceutické použití.

Obaly mohou být ve formě vaků nebo lahví. Na obalech je místo vhodné pro připojení infuzní soupravy, které je provedeno tak, aby spojení bylo bezpečné. Obaly mají také umožňovat nástřik injekce v průběhu použití. Obvykle je také obal přizpůsoben pro zavěšení, přičemž závěsné části musí snášet namáhání obalu v zavěšené poloze. Obaly musí snášet podmínky sterilizace. Provedení obalu a zvolený postup sterilizace jsou takové, aby všechny části obalu, které přijdou do styku s obsahem, byly sterilizovatelné. Obaly jsou po uzavření nepropustné pro mikroorganismy. Po naplnění jsou obaly odolné proti poškození při náhodném zmrznutí, ke kterému může dojít při přepravě konečného přípravku. Obaly jsou a zůstávají dostatečně průhledné, aby bylo možno kdykoliv kontrolovat vzhled jejich obsahu, pokud není uvedeno a schváleno jinak.

Prázdné obaly nemají žádné známky poškození, které by mohlo způsobovat netěsnosti a naplněné a uzavřené obaly nesmějí vykazovat žádné netěsnosti.

Pro vyhovující uchovávání některých přípravků se vyžaduje, aby obal byl uzavřen v ochranném přebalu. Výchozí hodnocení vlivu uchovávání přípravku se proto provádí s obalem v ochranném přebalu.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Obal se naplní na jmenovitý objem *vodou R* a uzavře se pokud možno obvyklým uzávěrem; jinak se obal uzavře fólií z čistého hliníku. Zahřívá se v autoklávu tak, aby teplota ( $121 \pm 2$ ) °C byla dosažena v průběhu 20 min až 30 min a tato teplota se udržuje dalších 30 min. Pokud by při 121 °C docházelo k poškození obalu, zahřívá se 2 h při teplotě 100 °C. *Roztok S se použije do 4 h od jeho přípravy.*

**Kontrolní roztok.** Připraví se zahříváním *vody R* v baňce z borokřemičitého skla uzavřené fólií z čistého hliníku při shodné teplotě a době zahřívání jako při přípravě roztoku S.

**Vzhled roztoku S.** Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Kyselý nebo zásaditý reagující látka.** K množství roztoku S odpovídajícímu 4 % jmenovitého objemu obalu se přidá 0,1 ml *fenolfaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je růžový. Přidá se 0,8 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 0,1 ml *červeně methylové RS*; roztok je oranžovočervený nebo červený.

**Absorbance (2.2.25).** Změří se absorbance roztoku S při 230 nm až 360 nm proti kontrolnímu roztoku, viz roztok S. Absorbance je nejvýše 0,20.

**Redukující látka.** Ke 20,0 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 20,0 ml *manganistanu draselného 0,002 mol/l VS*, vaří se 3 min a rychle se ochladí. Přidá se 1 g *jodidu draselného R* a ihned se titruje *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití 0,25 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Proveďte se slepá zkouška za použití 20,0 ml kontrolního roztoku. Rozdíl spotřeb odměrného roztoku je nejvýše 1,5 ml.

**Průhlednost.** Obal použitý k přípravě roztoku S se naplní na jmenovitý objem zředěnou suspenzí pro opalescenci. Základní suspenze pro opalescenci (2.2.1) se zředí 1 : 200 pro obaly z polyethylenu nebo polypropylenu a 1 : 400 pro ostatní obaly. Zákal suspenze je zřetelný při pohledu přes obal a při porovnání se stejným obalem naplněným *vodou R*.

### Označování

V označení na obalu každé šarže prázdných obalů se uvede:

- jméno a adresa výrobce,
- číslo šarže, z něhož lze zjistit postup výroby obalu, včetně použitých plastových materiálů.

21. V příloze části 3 Obaly a obalový materiál, kapitola 3.2 Obaly, kapitola 3.2.7 se zrušuje.
22. V příloze části 4 Zkoumadla, kapitola 4.1, 4.1.1, 4.1.2, 4.1.3, 4.2, 4.2.1, 4.2.2 a kapitola Seznam referenčních látek použitých v národních člancích znějí:

”

#### 4.1 Zkoumadla, roztoky pro limitní stanovení nečistot, tlumivé roztoky



Zkoumadla jsou chemikálie a jejich roztoky používané 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 ve znění zákona č. 352/1999 Sb., zákona č. 132/2000 Sb. a zákona č. 258/2000 Sb. Pokud je zkoumadlo omamnou nebo psychotropní látkou, je nutno dodržovat zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, včetně změn uvedených v zákonech č. 354/1999 Sb. a č. 117/2000 Sb. 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 odděleně 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:

- presné označení lékárny (zdravotnického zařízení),
- datum přípravy zkoumadla a jméno (zkratka) osoby, která zkoumadlo připravila,
- presný název při předpisu „Signa suo nomine“ a složení při předpisu „Signa cum formula“,
- je-li zkoumadlo omamná látka, zvláště nebezpečný jed, žiravina nebo hořlavina, uvede se v označení příslušný symbol.

##### 4.1.1 Zkoumadla

###### *Acetal R*


 $M_r$  118,2

CAS 105-57-7

1,1-Diethoxyethan, diethylacetal acetaldehydu

Čirá bezbarvá těkává 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*


 $M_r$  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 *Acetonom*.

### Acetonitril R

$C_2H_3N$

$M_r$  41,05

CAS 75-05-8

Methylkyanid

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  $C_2H_3N$ .

*Absorbance* (2.2.25). *Absorbance* při 200 nm za použití *vody R* jako kontrolní kapaliny je nejvýše 0,10.

**Acetylacetamid R**

$C_4H_7NO_2$

$M_r$  101,1

CAS 5977-14-0

3-Oxobutanamid

*TT*: 53 °C až 56 °C.

**Acetylaceton R**

$C_5H_8O_2$

$M_r$  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

$C_{20}H_{33}N_3O_4$

$M_r$  379,5

Bílý krystalický prášek.

**Acetyleugenol 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 píků.

**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<sub>8</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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'-ethylidenbistryptofan a jiné příbuzné látky, viz článek *Tryptophanum*. Plocha hlavního píku na chromatogramu je nejméně 99,0 % plochy všech píků.

***Acetyltyrosinethylester R***C<sub>13</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 269,3

CAS 36546-50-6

Monohydrát N-acetyl-L-tyrosinethylesteru; monohydrát ethyl-(S)-2-acetamido-3-(4-hydroxyfenyl)-propionatu

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*. $A_{1\text{cm}}^{1\%}$ : 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<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 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

Síťovaná 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 . 10<sup>4</sup> až 20 . 10<sup>6</sup> a k dělení polysacharidů s  $M_r$  3 . 10<sup>3</sup> až 5 . 10<sup>6</sup> metodou vylučovací chromatografie.

**Agarosa síťovaná 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 . 10<sup>4</sup> až 20 . 10<sup>6</sup> a k dělení polysacharidů s  $M_r$  3 . 10<sup>3</sup> až 5 . 10<sup>6</sup> metodou vylučovací chromatografie.

**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 . 10<sup>4</sup> až 40 . 10<sup>6</sup> a polysacharidů s  $M_r$  1 . 10<sup>5</sup> až 2 . 10<sup>7</sup> metodou vylučovací chromatografie.

**Agarosa síťovaná polyakrylamidem R**

Je to agarosa síťovaná polyakrylamidem. Je vhodná pro dělení globulinů s  $M_r$  2 . 10<sup>4</sup> až 35 . 10<sup>4</sup>.

**Akonitin R**C<sub>34</sub>H<sub>47</sub>NO<sub>11</sub> $M_r$  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 R**C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO $M_r$  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 R***C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 89,1

CAS 107-95-9

**Kyselina 3-aminopropionová**Obsahuje nejméně 99,0 % C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>.

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 tetrakosaktidu je prostý pyrogenních látek, bez proteolytické aktivity přezkoušené vhodnou metodou, např. za použití chromogenního 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. pH tohoto roztoku se upraví *kyselinou octovou ledovou R* na hodnotu 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<sub>14</sub>H<sub>7</sub>NaO<sub>7</sub>S · H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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).***Allylisothiokyanat R***C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>NSM<sub>r</sub> 99,2

CAS 57-06-7

Bezbarvá čirá kapalina, silně dráždicí, těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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-( $\beta$ -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.

**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 popsaných v článku *Chlordiazepoxidi 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*.

$A_{1cm}^{1\%}$ : 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

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**

$NH_3$

$M_r$  17,03

CAS 7664-41-7

Obsahuje nejméně 32,0 %  $NH_3$ .

Čirá bezbarvá kapalina.

$d_{20}^{20}$ : 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 směsného indikátoru RS*.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* odpovídá 17,03 mg  $NH_3$ .

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 NH<sub>3</sub> (*M<sub>r</sub>* 17,03).

*Příprava.* 67,0 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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 NH<sub>3</sub> (*M<sub>r</sub>* 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 NH<sub>3</sub> (*M<sub>r</sub>* 17,03).

*Příprava.* 14 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

**Amoniak zředěný RS3**

Obsahuje 1,6 g/l až 1,8 g/l NH<sub>3</sub> (*M<sub>r</sub>* 17,03).

*Příprava.* 0,7 g amoniaku 26% R se zředí vodou R na 100 ml.

**(1R)-(-)-Amonium-10-kafrsulfonat R**

C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S *M<sub>r</sub>* 249,3

Obsahuje nejméně 97,0 % sloučeniny C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>4</sub>S.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: -18° ± 2°; měří se roztok (50 g/l) ve vodě R.

**Amonium-1-pyrrolidinyldithiokarbamat R**

Viz odstavec *Pyrrolidinyldithiokarbamat 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 RS**

Roztok α-amylasy R s účinností 800 FAU/g.

**Amylen R**C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>10</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>D</sub><sup>25</sup>: 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 piků.**cis-Anethol R**C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 148,2

## (Z)-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, dobře rozpustný v etheru, ethylacetatu a v etheru petrolejovém.

n<sub>D</sub><sup>25</sup>: 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 piků.**Anex R**Je to iontoměnič v Cl<sup>-</sup> cyklu obsahující kvartérní amoniové skupiny [-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>] 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 uhlíčitým.**Anex pro chromatografii silně zásaditý R**

Pryskyřice s kvartérními aminoskupinami připojenými k mřížce latexu zesíťovaného s divinylbenzenem.

**Anex silně zásaditý R**Pryskyřice gelového typu v OH<sup>-</sup> cyklu obsahující kvartérní amoniové skupiny.-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, 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** $C_4H_2O_3$  $M_r$  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 esteru, velmi těžce rozpustné v etheru petrolejovém.

TT: asi 52 °C.

Zbytky nerozpustné v toluenu. Nejvýše 5 % (kyselina maleinová).

**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  $C_7H_9NO$ .



**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<sub>14</sub>H<sub>10</sub>

M<sub>r</sub> 178,2

CAS 120-12-7

Bílý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v chloroformu.

TT: asi 218 °C.

**Anthron R**

C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O

M<sub>r</sub> 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 trometamolovým 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 trometamolovým s chloridem sodným o pH 7,4* tak, aby 1 ml obsahoval 0,5 m.j.

**Apigenin R**

C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>

M<sub>r</sub> 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 % NH<sub>3</sub>.**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<sub>n</sub>, dokud roztok není čirý.

Uchovává se v polyethylenových 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).

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/m<sup>3</sup>).

**Arsenitan sodný RS**0,50 g *oxidu arsenitého R* se rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, přidají se 2,0 g *hydrogenuhlíčitánu 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 vlihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

**Azomethin H R** $C_{17}H_{12}NNaO_8S_2$   $M_r$  445,4

CAS 5941-07-1

*Natrium-hydrogen-4-hydroxy-5-(2-hydroxybenzylidenamino)-2,7-naftalendisulfonat*

**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.

**Barbital R**

Viz článek *Barbitalum*.

**Barbital sodná sůl R** $C_8H_{11}N_2NaO_3$   $M_r$  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* (1,25 g/l) ve směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *methanolu R* a *vody R* (1 + 4 + 5). Zfiltruje se.

**Benzaldehyd R** $C_7H_6O$   $M_r$  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** $C_6H_6$   $M_r$  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**C<sub>27</sub>H<sub>42</sub>ClNO<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 466,1

CAS 121-54-0

Benzyl-dimethyl-(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**C<sub>14</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 210,2

CAS 134-81-6

Žlutý krystalický prášek, nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, ethylacetatu a toluenu.

TT: 95 °C.

**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 ethanolom, 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 % předestiluje při 35 °C až 100 °C, do 50 °C smí předestilovat nejvýše 15 ml.

Pro farmaceutické a lékařské účely vyhovuje požadavkům ČSN 65 6544.

**Benzofenon R**C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 182,2

CAS 119-61-9

Difenylmethanon

Hranolovité krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96% a etheru.

TT: asi 48 °C.

**1,4-Benzochinon R**C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 108,1

CAS 106-51-4

2,5-Cyklohexadien-1,4-dion

Obsahuje nejvýše 98,0 % C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.**Benzoin R**C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 212,3

CAS 579-44-2

2-Hydroxy-1,2-difenyloethanon

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<sub>15</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>7</sub>H<sub>5</sub>ClOM<sub>r</sub> 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.

***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 *Balsamum peruvianum*. Nanáší se 20 µl 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 µl roztoku (3 g/l) v *ethylacetatu R*. Po postřiku a zahřátí je na chromatogramu 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-3β,28-diol

Bílý krystalický prášek.

TT: 248 °C až 251 °C.

***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-Bifenyloł R** $C_{12}H_{10}O$  $M_r$  170,2

CAS 90-43-7

4-Fenyłfenol

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-piperazinył)-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  $\mu$ l 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<sub>3</sub> $M_r$  280,0

CAS 12232-99-4

Obsahuje nejméně 85,0 % NaBiO<sub>3</sub>.

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<sub>3</sub>.**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.

**Blokační roztok RS**

Roztok kyseliny octové R 10% (V/V).

**Boldin R** $C_{19}H_{21}NO_4$  $M_r$  327,31,10-Dimethoxy-6 $\alpha$ -aporfin-2,9-diol

Bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a ve zředěných roztocích kyselín.

 $[\alpha]_D^{25}$ : asi +127°; měří se roztok (1 g/l) v *ethanolu R*.

TT: asi 163 °C

**Chromatografie.** Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Boldo folium*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**Stanovení obsahu.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem uvedeným v článku *Boldo folium* za použití zkoušené látky jako zkoušeného roztoku.

Plocha hlavního píku je nejméně 99,0 % celkové plochy píků.

**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.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10  $\mu$ 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.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu G R* se nanese 10  $\mu$ 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.**Brom RS**

30 g *bromu R* a 30 g *bromidu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

**Bromelíny 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 R**KBrO<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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 výlisek látky sušený 1 h při 250 °C má téměř rovnou základní linii v oblasti při 4000 cm<sup>-1</sup> až 620 cm<sup>-1</sup>. Nevykazuje žádné maximum absorpce vyšší než 0,02 nad touto linií s výjimkou maxim při 3440 cm<sup>-1</sup> a 1630 cm<sup>-1</sup> (voda).

**Bromid jodný R**

IBr

M<sub>r</sub> 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 R**HgBr<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 360,4

CAS 7789-47-1

Bílé nebo slabě žluté krystaly nebo krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

**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 třepou se 100 ml vody R.

Uchovává se chráněna před světlem a je použitelná nejdéle 1 týden.



**5-Brom-2'-deoxyuridin R**C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>BrN<sub>2</sub>O<sub>5</sub>M<sub>r</sub> 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 μl roztoku 0,25 g/l. Získaný chromatogram vykazuje jenom jednu hlavní skvrnu.

**Brucin R**C<sub>23</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>4</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 74,1

CAS 71-36-3

n-Butanol

Čirá bezbarvá kapalina mísitelná s lihem 96%.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,81.

TV: 116 °C až 119 °C.

**2-Butanol RI**C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 74,1

CAS 78-92-2

Sek.butylalkohol

Obsahuje nejméně 99,0 % C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O.

Čirá bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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 popsanych v článku *Alcohol isopropylicus*.**2-Butanon R**C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>OM<sub>r</sub> 72,1

CAS 78-93-3

Ethylmethylketon

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96 % a s etherem.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,81.

TV: 79 °C až 80 °C.

**Butansulfonan sodný R**C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>NaO<sub>3</sub>SM<sub>r</sub> 160,2

CAS 2386-54-1

Bílý krystalický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

TT: vyšší než 300 °C.

**Butylacetat R**C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 116,2

CAS 123-86-4

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,88.n<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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.**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 R**Viz článek *Butylparabenum*.**Butyrolakton R** $C_4H_6O_2$  $M_r$  86,1

CAS 96-48-0

Dihydro-2(3*H*)-furanon,  $\gamma$ -butyrolakton

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou, dobře rozpustná v methanolu a etheru.

 $n_D^{25}$  : asi 1,435.

TV: asi 204 °C.

**Butylhydroxytoluen R**Viz článek *Butylhydroxytoluenum*.**Cefaěлиндihydrochlorid 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  $\mu$ m.

**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.

#### **Celulosa pro chromatografii R1**

Mikrokrystalická celulosa. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30  $\mu\text{m}$ .

**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 F<sub>254</sub> R**

Mikrokrystalická celulosa F<sub>254</sub>. Jemný bílý homogenní prášek o průměrné velikosti částic menší než 30  $\mu\text{m}$  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**

C<sub>19</sub>H<sub>42</sub>BrN

*M*<sub>r</sub> 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**

C<sub>10</sub>H<sub>18</sub>O

*M*<sub>r</sub> 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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 0,922 až 0,927.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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.

*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*. 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 % z celkové plochy píků.

**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).

**Cítral R** $C_{10}H_{16}O$  $M_r$  152,2

CAS 5392-40-5

Směs (2*E*)- a (2*Z*)-3,7-dimethyl-2,6-oktadienalů.

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 GF<sub>254</sub> R. Na vrstvu se nanese 10 µl 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 siranu měďnatého R, 50 g kyseliny citronové R a 144 g uhličitanu 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 uhličitanu 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.

$n_D^{20}$ : 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  $GF_{254}$  R se nanese 10  $\mu$ l roztoku (1,0 g/l) v toluenu R a vyvíjí se směs 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 R1**

Vyhovuje požadavkům předepsaným pro cyklohexan R a následujícímu požadavku:

Fluorescence měřená při 460 nm za budícího 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<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NM<sub>r</sub> 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<sub>10</sub>H<sub>14</sub>M<sub>r</sub> 134,2

CAS 99-87-6

1-Isopropyl-4-methylbenzen

Bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru.

 $d_{20}^{20}$ : 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. Proveďte 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<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>SM<sub>r</sub> 121,1

CAS 52-90-4

Prášek, snadno rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v kyselině octové, prakticky nerozpustný v acetonu.

**Cysteiniumchlorid R**

Viz článek *Cysteini hydrochloridum*.

**L-Cystin R**C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>22</sub>H<sub>14</sub>N<sub>6</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>9</sub>S<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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 RS**

Roztok amidočerně 10B R (5 g/l) ve směsi objemových dílů kyseliny octové R a methanolu R (10 + 90).

**Čerň brilantní BN R**C<sub>28</sub>H<sub>18</sub>N<sub>5</sub>Na<sub>4</sub>O<sub>14</sub>S<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 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-acetamidonaftalen-3,5-disulfonové

**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 zřídloví.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

**Červeně 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.

**Červeně 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).

**Červeně fenolová R**

Viz článek Phenolsulfonphthaleinum.

**Červeně 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 červeno-fialové zbarvení.

Barevný přechod: pH 6,8 (žlutá) až pH 8,4 (červenofialová).

**Červeně fenolová RS2**

Roztok I. 33 mg červeně fenolové R se rozpustí v 1,5 ml hydroxidu sodného zředěného RS a zředí se vodou R na 100 ml.

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.

**Červeně fenolová RS3**

Roztok I. 33 mg červeně fenolové R se rozpustí v 1,5 ml hydroxidu sodného zředěného RS a zředí se vodou R na 50 ml.

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 hodnotu 4,7.

**Červeň chinaldinová R** $C_{21}H_{23}IN_2$  $M_r$  430,3

CAS 117-92-0

2-{2-[4-(Dimethylamino)fenyl]vinylen}-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'-bifeny]-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 vloží do roztoku *červeně Kongo R* (20 g/l) v roztoku *lihu R* 90% (V/V) a nechá se stát přes noc. 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.*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-nitrobenzondiazoniová 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** $Cl_6H_4N_{14}O_2Ru_3 \cdot 4H_2O$  $M_r$  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.

**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  $\mu$ 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, tuhnoucí 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 951-78-0

1-(2-Deoxy- $\beta$ -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  $\mu$ l roztoku (0,25 g/l). Získaný chromatogram vykazuje jen jednu hlavní skvrnu.

#### **Deska s vrstvou silikagelu pro TLC R**

Skleněná, kovová nebo plastová podložka, která je potažena vrstvou silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2  $\mu$ m až 10  $\mu$ m pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5  $\mu$ m až 40  $\mu$ m 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.

Vrstva může obsahovat organické pojivo.

**Chromatografické dělení.** Na vrstvu se nanese přiměřený objem (10  $\mu$ l v tenkovrstvé chromatografii a 1  $\mu$ l až 2  $\mu$ l ve vysoce účinné tenkovrstvé chromatografii) roztoku pro test způsoblosti 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 zřetelně 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 $F_{254}$ 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  $\mu$ l až 10  $\mu$ l pro normální TLC desky a 0,2  $\mu$ l až 2  $\mu$ l 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  $\mu$ g a větší. Na deskách pro HPTLC jsou tmavé skvrny *kyseliny benzoové* na fluoreskujícím pozadí přibližně ve středu chromatogramu pro množství 0,2  $\mu$ g a větší.

#### **Deska s vrstvou silikagelu $GF_{254}$ 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  $F_{254}$  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.

#### **Deska s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R**

Skleněná, kovová nebo plastová podložka, která je potažena vrstvou silanizovaného silikagelu vhodné tloušťky a velikosti částic [obvykle 2  $\mu$ m až 10  $\mu$ m pro desky používané pro vysoce účinnou tenkovrstvou chromatografii (HPTLC) a 5  $\mu$ m až 40  $\mu$ m 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.

Vrstva 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 pokaždé s 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  $\mu$ l pro normální TLC desky a asi 1  $\mu$ l až 2  $\mu$ l pro HPTLC desky) *dichlormethanového roztoku* na každý ze tří oddělených bodů. Využívá 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, nechá se 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 zřetelně oddělené a dobře vymezené skvrny.

**Deska s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub>* 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-*d*<sub>3</sub>

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.

**Deuterizovaný aceton R**

$\text{C}_3^2\text{H}_6\text{O}$   $M_r$  64,1 CAS 666-52-4

( $^2\text{H}_6$ )-Aceton; aceton-*d*<sub>6</sub>

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**

$\text{C}_2^2\text{H}_6\text{OS}$   $M_r$  84,2 CAS 2206-27-1

( $^2\text{H}_6$ )-Dimethylsulfoxid; dimethylsulfoxid-*d*<sub>6</sub>

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.

**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  $\mu$ m až 80  $\mu$ m.

**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  $\mu$ m až 120  $\mu$ m.

**3,3'-Diamoniumbenzidiniumtetrachlorid R** $M_r$  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** $M_r$  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 škrobu 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** $C_{16}H_{22}O_4$  $M_r$  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** $C_{12}H_{23}N$  $M_r$  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.

**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 naplněné difenylfenylenoxid-polymerem R o velikosti částic 180 μm až 250 μm,

- dusíku pro chromatografii R jako nosného 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 nástřikového 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**

Aniontoměníčová 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 rozpustné 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

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

Nažloutlý až žlutý krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v etheru.

TT: asi 248 °C.

#### **Difenylnazid R**

$C_{24}H_{20}N_2$

$M_r$  336,4

CAS 531-91-9

N,N'-Difenylnazid; N,N'-difenylnazid-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.

**Difenyloboryloxyethylamin 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.

**Difenylenoxid-polymer R**

Poly(2,6-difenyloxy-p-fenyloxid)

Bílé nebo téměř bílé porézní kuličky. Velikost kuliček je uvedena za názvem zkoumadla v příslušné zkoušce.

**Difenylnitrid R** $C_{13}H_{14}N_4O$  $M_r$  242,3

CAS 140-22-7

1,5-Difenylnitrid

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.

**Difenylnitrid RS**

0,20 g difenylnitridu R se rozpustí v 10 ml kyseliny octové ledové R a zředí se ethanolem R na 100 ml. Připraví se v čas potřeby.

**Difenylnitroz R** $C_{13}H_{12}N_4O$  $M_r$  240,3

CAS 538-62-5

1,5-Difenylnitroz

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.

$A_{1cm}^{1\%}$ : 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]-(25R)-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** $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$  $M_r$  115,0

CAS 7722-76-1

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný 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*.**Dihydrogenfosforečnan sodný bezvodý R** $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  $M_r$  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** $C_6H_4Cl_2$  $M_r$  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** $C_2H_4Cl_2$  $M_r$  99,0

CAS 107-06-2

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 % předestiluje 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 etafosforečné 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.

Fluorescence (2.2.21): Fluorescence látky při budicím záření 365 nm měřená při 460 nm v 10 mm 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-Dichlorovinyl 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.

**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, nedestiluje se.*

*Peroxidy.* 8 ml *škrobu s jodidem draselným RS* se přenesou 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 chráněná 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** $M_r$  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** $M_r$  87,1

CAS 127-19-5

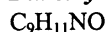
N,N-Dimethylacetamid

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** $M_r$  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**

Rozpusť se 0,25 g *dimethylaminobenzaldehydu R* ve směsi 5 g *kyseliny fosforečné R*, 45 g *vody R* a 50 g *kyseliny octové bezvodé R*. Připraví se v čas potřeby.

**4-Dimethylaminocinnamaldehyd R** $C_{11}H_{13}NO$  $M_r$  175,2

CAS 6203-18-5

3-(4-Dimethylaminofenyl)-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.

**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.

**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

N,N'-Dimethylethylmočovina

 $n_D^{20}$ : 1,4720

TV: asi 224 °C.

**Dimethylkarbonat R** $C_3H_6O_3$  $M_r$  90,1

CAS 616-38-6

Dimethylester kyseliny uhličité

Kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

 $d_4^{17}$ : 1,065. $n_D^{20}$ : 1,368.

TV: asi 90 °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.

***Dimethylpiperazin R*** $C_6H_{14}N_2$  $M_r$  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*** $C_{20}H_{41}NO$  $M_r$  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*** $C_2H_6O_2S$  $M_r$  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*** $C_2H_6OS$  $M_r$  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*** $C_{20}H_{18}BrN_3$  $M_r$  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.

**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 sirové 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.

**Dinitrofenylhydraziniumchlorid s kyselinou octovou RS**

0,2 g *dinitrofenylhydrazinu R* se rozpustí ve 20 ml *methanolu R* a přidá se 80 ml směsi stejných objemových dílů *kyseliny octové RS* a *kyseliny chlorovodíkové RS*. 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.

*Kysele 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 %.



**Dioktadecylidisulfid 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, nedediluje 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 RS**50,0 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 vzduchotěsných obalech.

**Dithioničitan sodný R** $Na_2S_2O_4$  $M_r$  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 obalech.

**Dithiothreitol R** $C_4H_{10}O_2S_2$  $M_r$  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** $C_{13}H_{12}N_4S$  $M_r$  256,3

CAS 60-10-6

1,5-Difenylothiokarbazon

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). Připraví 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  $\mu g$   $Hg/ml$ ). 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 necha-jí 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** $C_{13}H_{12}N_4S$  $M_r$  256,3

CAS 60-10-6

1,5-Difenylothiokarbazon

Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_{13}H_{12}N_4S$ .

Modročerný, hnědočerný nebo černý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem.

**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

Bílý 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  $\alpha$ -tokoferolacetat stanovených plynovou chromatografií za podmínek předepsaných v článku *Tocoferoli alfa acetat*.

**Doxazosinmesilat 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, větřající, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Dusičnan amonný R1** $\text{NH}_4\text{NO}_3$  $M_r$  80,0

CAS 6484-52-2

Vyhovuje požadavkům uvedeným pro *Dusičnan amonný R* a následujícím dodatečným požadavkům:*Kyselé 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** $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  434,3

CAS 10294-41-4

Bezbarvý až slabě žlutý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě a lihu 96%.

**Dusičnan draselný R** $\text{KNO}_3$  $M_r$  101,1

CAS 7757-79-1

Bezbarvé krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

**Dusičnan hlinitý R** $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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** $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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 hořečnatý RS**17,3 g *dusičnanu hořečnatého R* se rozpustí za mírného zahřátí v 5 ml *vody R* a přidá se 80 ml *lihu 96% R*. Ochladí se a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.**Dusičnan kobaltnatý R** $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  291,0

CAS 10026-22-9

Malé červené krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.

**Dusičnan lanthanitý R** $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  433,0

CAS 10277-43-7

Bezbarvé rozpadající se krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

**Dusičnan lanthanitý RS**

Roztok 50 g/l.

**Dusičnan měďnatý R** $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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** $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$  $M_r$  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** $4\text{BiNO}_3(\text{OH})_2 \cdot \text{BiO}(\text{OH})$  $M_r$  1462

CAS 1304-85-4

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě.

**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 ( $\text{N}_2\text{O}_5$ ).**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  $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ .

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** $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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** $\text{NaNO}_3$  $M_r$  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 *Argentii 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.

**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  $\text{HNO}_3$ ).**Dusík R** $\text{N}_2$  $M_r$  28,01

CAS 7727-37-9

Promytý a vysušený dusík.

**Dusík R1**Nejméně 99,999 %  $\text{N}_2$  (V/V).Kyslík. Méně než 5 ml/m<sup>3</sup>.Oxid uhelnatý. Méně než 5 ml/m<sup>3</sup>.**Dusík pro chromatografii R**Nejméně 99,95 %  $\text{N}_2$  (V/V).**Dusík prostý kyslíku R**

Je to dusík R zbavený kyslíku probubláním přes pyrogallol zásaditý RS.

**Dusitan sodný R** $\text{NaNO}_2$  $M_r$  69,0

CAS 7632-00-0

Obsahuje nejméně 97,0 %  $\text{NaNO}_2$ .

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.

**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.

**Emetiniumchlorid R**Viz 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-methylanthrachinon

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 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<sub>n</sub>. Erythrocyty se třikrát promyjí 30 ml roztoku chloridu sodného R (9 g/l). 1,6 ml této suspenze 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.

**Eskulin R** $C_{15}H_{16}O_9 \cdot 1\frac{1}{2} H_2O$  $M_r$  367,3

CAS 531-75-9

6-(β-D-glukopyranosyloxy)-7-hydroxy-2H-chromen-2-on

Bílý nebo téměř bílý prášek nebo bezbarvé krystaly. Je mírně rozpustný ve vodě a v lihu 96%, snadno rozpustný v horké vodě a v horkém lihu 96%.

*Chromatografie (2.2.27).* Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Eleutherococcus radix*. Na získaném chromatogramu je jen jedna hlavní skvrna.

**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:* 220 °C až 223 °C.

**Estragol R**C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>2</sub>H<sub>7</sub>NOM<sub>r</sub> 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.

**Ethanol R**Viz článek *Ethanolum anhydricum*.**Ethanol R1**Vyhovuje požadavkům předepsaným v článku *Ethanolum anhydricum* 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, nástřikového prostoru na 150 °C a detektoru na 200 °C. Vstříkuje 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 ve (V/V) procentech v porovnávacím roztoku,*b* - plochu píku odpovídajícího methanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,*c* - plochu píku odpovídajícího methanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku.**Ether R**C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 74,1

CAS 60-29-7

Čirá bezbarvá těkáva velmi pohyblivá snadno zápalná kapalina, je hygroskopická. Je dobře rozpustný ve vodě a mísitelný s lihem 96%.

 $d_{20}^{20}$ : 0,713 až 0,715.

TV: 34 °C až 35 °C.

*Ether, který nevyhovuje zkoušce na peroxidy se nedestiluje.*

*Peroxidy.* Do 12ml válce se zabroušenou zátkou o průměru 1,5 cm se převede 8 ml škrobu s jodidem draselným RS. Doplní se zkoušeným etherem po značku, silně se protřepe a nechá se 30 min stát chráněn před světlem. Přitom nevznikne žádné zbarvení.

V označení na obalu se uvede název a množství přidaného stabilizátoru.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem při teplotě nepřevyšující 15 °C.

### ***Ether prostý peroxidických látek R***

Viz článek *Ether anestheticus*.

### ***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 nekálí 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 nekálí při 0 °C.

### ***Ether petrolejový R3***

Ether petrolejový 40 °C až 80 °C. Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Ether petrolejový R* a následujícími 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-benzendiyldiaminmonohydrochlorid

Načervenalý 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.



**Ethoxyethanol R** $C_4H_{10}O_2$  $M_r$  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** $C_4H_8O_2$  $M_r$  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** $C_5H_8O_2$  $M_r$  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** $C_8H_{12}N_2$  $M_r$  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** $C_8H_{10}$  $M_r$  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<sub>2</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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.

*Kyselý reagující látka.* 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<sub>2</sub>H<sub>4</sub>OM<sub>r</sub> 44,05

CAS 75-21-8

Oxiran

Bezbarvý hořlavý plyn, velmi dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Teplota zkapaňení: asi 12 °C.

**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<sub>EO</sub>). 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). Připraví 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. Připraví 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 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). Připraví 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**

$C_3H_6O_2$

$M_r$  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'-Etylidenbistryptofan R**

$C_{24}H_{26}N_4O_4$

$M_r$  434,5

CAS 132685-02-0

Kyselina 3,3'-[etylidenbis(1*H*-indol-1,3-diyl)]bis[(2*S*)-2-aminopropanová, kyselina 1,1'-etylidenbistryptofanová

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'-etylidenbistryptofan 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**

$C_8H_{18}O_2$

$M_r$  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.

**Ethylkyanacetat R**C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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**C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 125,1

CAS 128-53-0

1-Ethyl-1H-pyrrol-2,5-dion

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.

**Ethylmethylketon R**

Viz odstavec 2-Butanon R.

**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 m<sup>2</sup>/g až 600 m<sup>2</sup>/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**C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,07.

TV: asi 250 °C.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující zkoušce:

Stanovení obsahu. Proveďte 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 (například roztoku citronanu sodného). Nepoužije se hemolyzovaná krev. Odstředí se při nejméně 1500 g<sub>n</sub> až 1800 g<sub>n</sub> 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 odstředí se při 1500 g<sub>n</sub> až 1800 g<sub>n</sub> 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 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 odsáním, sraže-

nina 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 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. Zaznamenaná se čas mezi přidáním roztoku hovězích euglobulinů a rozpuštěním vlákna. 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. Odstředuje 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 síranu barnatého R a třepe se 30 min. Odstředuje 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. Zaznamenaná se čas mezi přidáním roztoku lidských euglobulinů a rozpuštěním vlákna. 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 šfavelanové hovězí plazmy frakcionací při 4 °C 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 zmiije.

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 *Vinan 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  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

#### **Fenanthroliumchlorid R**

 $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  $M_r$  234,7

CAS 3829-86-5

Monohydrát 1,10-fenanthroliumchloridu

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

TT: asi  $215\text{ }^{\circ}\text{C}$ , za rozkladu.

#### **Fenazon R**

Viz článek *Phenazonum*.

#### **Fenchon R**

 $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$  $M_r$  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.

$TV_{15\text{ mm}}$ : asi  $66\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

*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 píků.

#### **Fenolftalein R**

 $\text{C}_{20}\text{H}_{14}\text{O}_4$  $M_r$  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 RS**

0,1 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.

**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 %; suší se 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.

 **$\alpha$ -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. Přípravuje 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.

**Fenylisothiokyanat R** $C_7H_5NS$  $M_r$  135,2

CAS 103-72-0

Kapalina, nerozpustná ve vodě a dobře rozpustná v lihu 96%.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,13.

$n_D^{20}$ : asi 1,65.

TV: asi 221 °C.

TT: asi -21 °C.

Použije se stupeň jakosti vhodný pro dělení bílkovin.

**Ferocypfen R** $C_{26}H_{16}FeN_6$  $M_r$  468,3

CAS 14768-11-7

Železnatý komplex dikyanobis(1,10-fenantrolinu).

Fialově bronzový krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

Uchovává se chráněn před světlem a vlhkostí.

**Feroin R**

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 změní barva z červené na světle modrou.

**Fibrinogen R**

Viz článek *Fibrinogenum humanum cryodesiccatum*.

**Fixační roztok RS**

K 250 ml *methanolu R* se přidá 0,27 ml *formaldehydu R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

**Floroglucinol R** $C_6H_6O_3 \cdot 2H_2O$  $M_r$  162,1

CAS 6099-90-7

Dihydrát 1,3,5-benzotriolu

Bílé nebo nažloutlé krystaly, těžce rozpustné ve vodě, dobře rozpustné v lihu 96%.

TT: (2.2.16): asi 223 °C.

**Floroglucin R**

Viz odstavec *Floroglucinol R*.

**Floroglucinol RS**

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.



**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 boritý v methanolu RS**

Roztok fluoridu boritého R (140 g/l) v methanolu R.

**Fluorid sodný R**Viz 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 R**Viz článek *Formaldehydi solutio 35%*.

**Formaldehyd v kyselině sírové RS**

2 ml formaldehydu R se smíchají se 100 ml kyseliny sírové R.

**Formamid R**

CH<sub>3</sub>NO

M<sub>r</sub> 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 R1**

Vyhovuje požadavkům předepsaným v odstavci *Formamid R* a následující dodatečné zkoušce:

*Voda*, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se se stejným objemem *methanolu bezvodého R*.

**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 objemy 2V směsi dvou objemových dílů *etheru petrolejového R2* a tří 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 objemu 0,2V *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<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 380,1

CAS 10101-89-0

Tetraoxofosforečnan sodný dodekahydrát

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

**Fosforan sodný R**

NaH<sub>2</sub>PO<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 106,0

CAS 10039-56-2

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Fruktosa R**

Viz článek *Fructosum*.

**Ftalanhydrid R**

C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 148,1

CAS 85-44-9

Isobenzofuran-1,3-dion

Obsahuje nejméně 99,0 % C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>.

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 C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>O<sub>3</sub>.

#### **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**

C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>N<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 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**

C<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 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**

C<sub>32</sub>H<sub>32</sub>N<sub>2</sub>O<sub>12</sub> · nH<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> bezvodého 637

CAS 2411-89-4

Kyselina *o*-kresolftalein- 3',3"-bis(methyleniminodiocetová) 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%.

**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**

C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 323,8

CAS 632-99-5

Fuchsin, Colour Index 42510, Schultz 780 (rosaniliniumchlorid)

C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 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 předeřhátého 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 ( $\text{CH}_2\text{O}$ ;  $M_r$  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 chlazení 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**

$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_5$   $M_r$  164,2 CAS 6696-41-9

6-Deoxy-L-galaktosa

Bílý prášek, dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

$[\alpha]_D^{20}$ : 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 nahnědlá 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.

$[\alpha]_D^{20}$ : +79° až +81°; měří se roztok (100 g/l) ve vodě R obsahující asi 0,05 %  $\text{NH}_3$ .

#### **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<sub>25</sub>: 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.

**Gitoxin R**C<sub>41</sub>H<sub>64</sub>O<sub>14</sub>M<sub>r</sub> 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 R**C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>ClNO<sub>5</sub>M<sub>r</sub> 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 R**C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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.

*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 (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

**Glyoxalbishydroxyanil R**C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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 R**

$C_{15}H_{18}$

$M_r$  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 R**

$CH_6ClN_3$

$M_r$  95,5

CAS 50-01-1

Krystalický prášek, snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

**Guanin R**

$C_5H_5N_5O$

$M_r$  151,1

CAS 73-40-5

2-Amino-1,7-dihydro-6H-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.

**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 vzduchotěsných obalech.

**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 %.

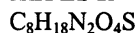
Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 2 %.

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 kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS na hodnotu (1,6 ± 0,1) (2.2.3). Roztok se kvantitativně převede do odměrné baňky na 100 ml pomocí kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2. Přidá se 25 mg thio-mersalu R. Připravuje se denně, uchovává se při (5 ± 3) °C a před použitím se znovu upraví pH na hodnotu 1,6.

Uchovává se při 2 °C až 8 °C.

**Heparin R**Viz článek *Heparinum natricum*.**HEPES R** $M_r$  238,3

CAS 7365-45-9

Kyselina 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl]ethansulfonová

Bílý prášek.

TT: asi 236 °C, za rozkladu.

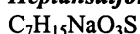
**Heptan R** $M_r$  100,2

CAS 142-82-5

Bezbarvá hořlavá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a s etherem.

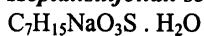
 $d_{20}^{20}$ : 0,683 až 0,686. $n_D^{20}$ : 1,387 až 1,388.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 97 °C až 98 °C.

**Heptansulfonan sodný R** $M_r$  202,3

CAS 22767-50-6

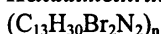
Bílá nebo téměř bílá krystalická hmota, snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v methanolu.

**Heptansulfonan sodný monohydrát R** $M_r$  220,3Počítáno 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).

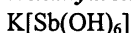
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 20,22 mg  $C_7H_{15}NaO_3S$ .**Hexadimethriniumdibromid R**

CAS 28728-55-4

1,5-Dimethyl-1,5-diazaundekamethylenpolymethobromid, poly(N,N,N',N'-tetramethyl-N-trimethylenhexamethylen-diamoniumdibromid)

Bílý amorfni hygrokopický prášek, dobře rozpustný ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Hexahydroxoantimoničnan draselný R** $M_r$  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** $M_r$  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 propláchně 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** $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$  $M_r$  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** $C_6H_{19}NSi_2$  $M_r$  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.

**Hexamethylentetramin R**

Viz odstavec Methenamin R.

**Hexanitratoceričitan amonný R** $(NH_4)_2Ce(NO_3)_6$  $M_r$  548,2

CAS 16774-21-3

Oranžově žlutý krystalický prášek nebo oranžové průsvitné krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

**Hexanitrokobaltitan sodný R** $Na_3[Co(NO_2)_6]$  $M_r$  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** $C_6H_{14}$  $M_r$  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.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % predestiluje při 67 °C až 69 °C.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následujícímu požadavku:

Transmitance (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/l 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.

**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** $H_6N_2O_4S$  $M_r$  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** $Na_2HASO_4 \cdot 7H_2O$  $M_r$  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**

$C_6H_{14}N_2O_7$

$M_r$  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 roztok (22,6 g/l).

**Hydrogencitronan sodný R**

$C_6H_6Na_2O_7 \cdot 1,5H_2O$

$M_r$  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**

$(NH_4)_2HPO_4$

$M_r$  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.

**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<sub>3</sub>S*M<sub>r</sub>* 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.

**Hydrogenuhlíčan amonný R**NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 79,1

CAS 1066-33-7

Obsahuje nejméně 99 % NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>.

**Hydrogenuhlíčan draselný R**KHCO<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 100,1

CAS 298-14-6

Průsvitné bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

**Hydrogenuhlíčan 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.

**Hydrogenuhlíčan sodný R**

Viz článek *Natrii hydrogenocarbonas*.

**Hydrogenuhlíčan sodný RS**

Roztok 42 g/l.

**Hydrogenvínan draselný R**C<sub>4</sub>H<sub>5</sub>KO<sub>6</sub>*M<sub>r</sub>* 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**C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 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 R**

Viz článek *Hydrocortisoni acetat*.

**Hydroxid barnatý R**Ba(OH)<sub>2</sub> · 8H<sub>2</sub>O*M<sub>r</sub>* 315,5

CAS 12230-71-6

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

**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 ± 0,04).

Tento roztok je komerčně dostupný.

**Hydroxid draselný R**

Viz článek *Kalii hydroxidum*.

**Hydroxid draselný v lihu 2 mol/l RS**

12 g *hydroxid 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 *hydroxid 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 *hydroxid 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 *hydroxid draselného R* se rozpustí ve 100 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml.

**Hydroxid lithný R**

LiOH . H<sub>2</sub>O

*M<sub>r</sub>* 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 *hydroxid sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

**Hydroxid sodný RS**

20,0 g *hydroxid 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.

**Hydroxid sodný zředěný RS**

8,5 g *hydroxid sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml.

**Hydroxid sodný 4 mol/l RS**

16,0 g *hydroxid sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Hydroxid sodný v methanolu RS**

40 mg *hydroxid 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 *hydroxid 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)<sub>2</sub>

*M<sub>r</sub>* 74,1

CAS 1305-62-0

Bílý prášek, téměř zcela rozpustný v 600 dílech *vody*.

**Hydroxid vápenatý RS**

Čerstvě připravený nasycený roztok.

**Hydroxychinolin R**

C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO

M<sub>r</sub> 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**

H<sub>4</sub>CINO

M<sub>r</sub> 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.

**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 oranžové 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<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 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** $C_{21}H_{20}O_{12}$  $M_r$  464,42-(3,4-Dihydroxyfenyl)-3- $\beta$ -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.**Hypoxanthin R** $C_5H_4N_4O$  $M_r$  136,1

CAS 68-94-0

1*H*-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 R** $C_{12}H_{10}O_4$  $M_r$  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 R** $C_{20}H_{24}N_2O_2$  $M_r$  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.

 $[\alpha]_D^{20}$  : 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 R** $C_{20}H_{24}N_2O_2$  $M_r$  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.

 $[\alpha]_D^{20}$  : asi -167°; měří se roztok (10 g/l) v *ethanolu R*.

TT: asi 175 °C.

Uchovává se chráněn před světlem.

**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*.**2-Chlor-6,7-dimethoxy-4-chinazolinylamin 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 zna. 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 R**Viz článek *Ammonii chloridum*.**Chlorid amonný RS**

Roztok 107 g/l.

**Chlorid antimonitý R** $SbCl_3$  $M_r$  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 RSI**

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 R**BaCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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 R**BCl<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 117,2

CAS 10294-34-5

Bezbarvý plyn. Reaguje bouřlivě s vodou. Použitelný je ve formě roztoků ve vhodných rozpouštědlech (2-chloroethanol, dichlormethan, hexan, heptan, methanol).

Varování: jed, žiravina.

TV: asi 12,6 °C.

n<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,420.

**Chlorid boritý v methanolu RS**

Roztok BCl<sub>3</sub> (120 g/l) v methanolu R.

Uchovává se chráněn před světlem při -20 °C, nejlépe v zatavených trubičkách.

**Chlorid cesný R**

CsCl

M<sub>r</sub> 168,4

CAS 7647-17-8

Bílý prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

**Chlorid cínatý R**SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 225,6

CAS 10025-69-1

Obsahuje nejméně 97,0 % SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>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 SnCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>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 °C. 15 min se probublává proudem dusíku R. Přípravuje 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 °C má prakticky rovnou základní linii v oblasti 4000 cm<sup>-1</sup> až 620 cm<sup>-1</sup>. Nad touto linií nejsou žádná maxima s absorbcí vyšší než 0,02, s výjimkou maxim vody při 3440 cm<sup>-1</sup> a 1630 cm<sup>-1</sup>.

**Chlorid draselný 0,1 mol/l RS**

Roztok obsahuje chlorid draselný R v množství odpovídajícím 7,46 g KCl v 1000,0 ml.

**Chlorid hlinitý R**

AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O

*M*<sub>r</sub> 241,4

CAS 7784-13-6

Chlorid hlinitý hexahydrát

Obsahuje nejméně 98,0 % AlCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>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 R**

Viz článek *Magnesii chloridum hexahydricum*.

**Chlorid chromitý hexahydrát R**

[Cr(H<sub>2</sub>O)<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>]Cl · 2H<sub>2</sub>O

*M*<sub>r</sub> 266,5

CAS 10060-12-5

Tmavě zelený krystalický prášek, hygroskopický, velmi toxický.

Uchovává se chráněn před vlhkostí a oxidačními činidly.

**Chlorid kobaltnatý R**

CoCl<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O

*M*<sub>r</sub> 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*<sub>r</sub> 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.

**Chlorid měďnatý R**CuCl<sub>2</sub> · 2H<sub>2</sub>O*M<sub>r</sub>* 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 R**NiCl<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 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 R**PdCl<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 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* a zředí se 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.

**Chlorid titanitý R**TiCl<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,19.

**Chlorid uhličitý R**

$\text{CCl}_4$   $M_r$  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 R**

$\text{CaCl}_2$   $M_r$  111,0 CAS 10043-52-4

Obsahuje nejméně 98,0 %  $\text{CaCl}_2$ , 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 R1**

$\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$   $M_r$  183,1

Obsahuje nejvýše 0,05  $\mu\text{g}$  Fe/g.

**Chlorid vápenatý RS**

Roztok chloridu vápenatého R 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  $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$ .Obsahuje nejméně 96,0 %  $ZrCl_2O \cdot 8H_2O$ .

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 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 přenese 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.

**Chlornicergolin R** $C_{24}H_{26}ClN_3O_3$  $M_r$  440,010 $\alpha$ -methoxy-1,6-dimethylergolin-8 $\beta$ -ylmethyl-(5-chlornikotinát)

Bílý až téměř bílý prášek, snadno rozpustný v chloroformu a v ethanolu, mírně rozpustný v etheru, prakticky nerozpustný ve vodě a hexanu.

TT: 130 °C až 132 °C.

 $[\alpha]_D^{20}$ : -21,27°; měří se roztok (1 g/l) v pyridinu R.**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<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 119,4

CAS 67-66-3

Trichlormethan

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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*<sub>1</sub> ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS*). Současně se provede slepá zkouška (*n*<sub>2</sub> 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 potřebu.

**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 %.

*Transmitance (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<sub>3</sub>; stanoví se plynovou chromatografií.**3-Chlorpropan-1,2-diol R**C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>ClO<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 110,5

CAS 96-24-2

Bezbarvá kapalina, dobře rozpustná ve vodě, lihu 96% a v etheru.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,322.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,480.

TV: asi 213 °C.

**Chlorothiazid R**Viz článek *Chlorothiazidum*.**Chlortrimethylsilan R**C<sub>3</sub>H<sub>9</sub>ClSi*M<sub>r</sub>* 108,6

CAS 75-77-4

Čirá bezbarvá, na vzduchu dýmající kapalina.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,86.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,388.

TV: asi 57 °C.

**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  $\mu$ 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- $\alpha$ -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.

**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 ve vodě za vzniku žlutočerveného roztoku, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Chromotropin 2 B RS**

Roztok (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 RS**

Ke 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 RS1**

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.

Standardizace: Do 100ml kuželové baňky se širokým hrdlem se převede 10,0 ml základního roztoku dusičnanů (100  $\mu$ g  $NO_3$ /ml), 10 ml vody R, 0,05 ml indigokarmínu RS1 a potom se opatrně najednou přidá 30 ml kyseliny sírové R. Roztok se ihned titruje indigokarmínem RS1 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** $C_8H_5NO_2$  $M_r$  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**C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 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**C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 290,4

CAS 481-29-8

Epiandrosteron, 3β-hydroxy-5α-androstan-17-on

Bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v organických rozpouštědlech.

TT: 172 °C až 174 °C.

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: +88°; měří se roztok (20 g/l) v methanolu R.ΔA (2.2.41): 14,24 · 10<sup>3</sup>; měří se roztok (1,25 g/l) při 304 nm.**Isobutanol R**C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,80.n<sub>D</sub><sup>15</sup>: 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<sub>6</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 100,2

CAS 108-10-1

4-Methyl-2-pentanon

Čirá bezbarvá kapalina, těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s většinou organických rozpouštědel.

d<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>10</sub>H<sub>20</sub>OM<sub>r</sub> 156,3

CAS 23283-97-8

(+) - Isomenthol: (1S,2R,5R)-2-isopropyl-5-methylcyklohexanol

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96 % a etheru.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : asi +24°; měří se roztok (100 g/l) v lihu 96% R.

TT: asi 80 °C.

TV: asi 218 °C.

(±)-Isomenthol: směs stejných dílů (1S,2R,5R)- a (1R,2S,5S)-2-isopropyl-5-methylcyklohexanolu

TT: asi 53 °C.

TV: asi 218 °C.

#### **Isomenthon R**

$\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}$

$M_r$  154,2

(1R)-cis-p-Menthan-3-on; (1R)-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.

$n_{\text{D}}^{20}$ : asi 1,453.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ : +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.

#### **Isopropylamin R**

$\text{C}_3\text{H}_9\text{N}$

$M_r$  59,1

CAS 75-31-0

2-Propanamin

Bezbarvá velmi těkává hořlavá kapalina.

$n_{\text{D}}^{20}$ : asi 1,374.

TV: 32 °C až 34 °C.

#### **4-Isopropylfenol R**

$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}$

$M_r$  136,2

CAS 99-89-8

Obsahuje nejméně 98 %  $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}$ .

TV: asi 212 °C.

TT: 59 °C až 61 °C.

#### **Isopropylmyristat R**

Viz 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. Přípravuje 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.

**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.

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 Tetrajodortuťnatan draselný RS.

**Jodid rtuťnatodraselný zásaditý RS**

Viz odstavec *Tetraiodortuťnatan draselný zásaditý RS*.

**Jodid rtuťnatý R**

HgI<sub>2</sub> *M<sub>r</sub>* 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*.

**Jodid zinečnatý a škrob RS**

K roztoku 2 g *chloridu zinečnatého R* v 10 ml *vody R* se přidá 0,4 g *škrobu rozpustného R* a zahřívá se do rozpuštění škrobu. Po ochlazení na pokojovou teplotu se přidá 1,0 ml bezbarvého roztoku obsahujícího 0,10 g *pilin zinku R* a 0,2 g *jodu R* ve *vodě R*. Vzniklý roztok se zředí *vodou R* na 100 ml a zfiltruje se. Uchovává se chráněn před světlem.

*Zkouška citlivosti.* 0,05 ml *dusitanu sodného RS* se zředí *vodou R* na 50 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 0,1 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 0,05 ml roztoku *jodidu zinečnatého* a škrobu a promíchá se. Roztok se zbarví modře.

**Jodistan draselný R**

KIO<sub>4</sub> *M<sub>r</sub>* 230,0 CAS 7790-21-8

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný 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**

NaIO<sub>4</sub> *M<sub>r</sub>* 213,9 CAS 7790-28-5

Obsahuje nejméně 99,0 % NaIO<sub>4</sub>.

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).

**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 mechanic-ky 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**

C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>IN<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 238,0

CAS 696-07-1

5-Jod-1H,3H-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<sub>r</sub> 112,4

CAS 10108-64-2

Stříbřitý lesklý kov, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v kyselině dusičné a horké kyselině chlorovodíkové.

**Kafr R**

CAS 76-22-2

Viz článek *Camphora racemica*.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28), jak je předepsáno v článku *Lavandulae etheroleum*.

Zkoušený roztok. Roztok (10 g/l) v hexanu R.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % z celkové plochy všech píků na získaném chromatogramu. Nepřihlíží se k píku hexanu.

**Kalium tetraoxalat R**

C<sub>4</sub>H<sub>3</sub>KO<sub>8</sub> · 2H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 254,2

CAS 6100-20-5

Trihydrogenbisšřávelan draselný dihydrát

Bílý krystalický prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v vroucí vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**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 přenese 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 rozčepení 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-Kaprolaktam R***C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>NO*M<sub>r</sub>* 113,2

CAS 105-60-2

6-Hexanlaktam

Hygroskopické šupinky, snadno rozpustné ve vodě, v methanolu a v ethanolu.

TT: asi 70 °C.

***Karbazol R***C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>N*M<sub>r</sub>* 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 R***C<sub>11</sub>H<sub>16</sub>ClO<sub>2</sub>PS<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 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*<sub>4</sub><sup>25</sup>: asi 1,27.***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 · 10<sup>6</sup>.

Hodnota pH (2.2.3). Asi 3; měří se suspenze 10 g/l.

***Karvakrol R***C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O*M<sub>r</sub>* 150,2

CAS 499-75-2

5-Isopropyl-2-methylfenol

Hnědá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,975.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O*M<sub>r</sub>* 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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 0,965.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,500.[α]<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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<sub>15</sub>H<sub>24</sub>

M<sub>r</sub> 204,4

CAS 87-44-5

(*E*)-(1*R*,9*S*)-4,11,11-Trimethyl-8-methylenbicyclo[7,2,0]undec-4-en

Olejovitá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a s etherem.

$d_4^{17}$ : asi 0,905.

$n_D^{20}$ : asi 1,492.

$[\alpha]_D^{15}$ : asi -5,2°.

TV<sub>14</sub>: 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 piků.

#### **Kasein R**

CAS 9000-71-9

Směs příbuzných fosfoproteinů z mléka.

Bílý amorfni 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<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>6</sub> · nH<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 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 μl zkoušeného roztoku (1 mg/ml) v *methanolu R*. Na získaném chromatogramu je po postřiku jen jedna hlavní skvrna o *R<sub>F</sub>* asi 0,7.

#### **Katex R**

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 8 % divinylnbenzenu. Dodává se ve formě kuliček, jejichž průměr je uveden za názvem zkoumadla u příslušných zkoušek.

#### **Katex R1**

Měníč iontů v protonové formě. Obsahuje sulfonové skupiny vázané na síťovaném polymeru, jehož základ tvoří polystyren s 4 % divinylnbenzenu. 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 % divinylnbenzenu. 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 %.

**Příprava sloupce.** Pokud není uvedeno jinak, použije se skleněná trubice o délce 400 mm a o vnitřním průměru 20 mm se zatavenou destičkou ze slinutého skla. 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 oranžové methylové RS spotřebuje nejvýše 0,05 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS. Jestliže se měnič iontů nachází ve formě Na<sup>+</sup> 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**

C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>ClFO<sub>5</sub>

M<sub>r</sub> 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]<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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.

#### **Kortisonacetat R**

Viz článek Cortisoni acetat.

#### **Kresol R**

C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O

M<sub>r</sub> 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*<sub>20</sub><sup>20</sup>: asi 1,05.

*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: 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 pěti-setnásobném zvětšení.

#### **Křemelina G R**

Je to křemelina propraná kyselinou chlorovodíkovou a vyžíhaná; obsahuje 15 % síranu vápenatého hemihydrátu.

Jemný šedobílý prášek; šedá barva se stane zřetelnější při navhčení 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.* Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Připraví se vrstva křemeliny 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 čtyři 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*).

*Kysele 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 pětinásobném zvětšení. Látka je čištěna *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 pětinásobném zvětšení. Látka je čištěna *kyselinou chlorovodíkovou R* a potom promývána *vodou R*.

*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 m<sup>2</sup>/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 promývá *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**

$C_{21}H_{20}O_6$   $M_r$  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**

$C_2H_4N_4$   $M_r$  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- $\alpha$ -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  $-36^\circ$ , měří se roztok (10 g/l).TT: Asi  $186^\circ\text{C}$ , za rozkladu.**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  $152^\circ\text{C}$ .**Kyselina akrylová R** $C_3H_4O_2$  $M_r$  72,1

CAS 79-10-7

Kyselina 2-propenová, kyselina vinylmravenčí.

Obsahuje nejméně 99 %  $C_3H_4O_2$ . Je stabilizována 0,02 % 4-methoxyfenolu.

Korozivní kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%, rychle polymeruje v přítomnosti kyslíku.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,05. $n_D^{20}$ : asi 1,421.TV: asi  $141^\circ\text{C}$ .TT:  $12^\circ\text{C}$  až  $15^\circ\text{C}$ .**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  $101^\circ\text{C}$ .**Kyselina amidosírová R** $H_3NO_3S$  $M_r$  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  $205^\circ\text{C}$ , 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  $187^\circ\text{C}$ .Chromatografie. Zkouší se za podmínek popsanych 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 6-aminohexanová R** $C_6H_{13}NO_2$  $M_r$  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** $C_9H_{10}N_2O_3$  $M_r$  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** $C_{10}H_9NO_4S$  $M_r$  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 disířičitanu sodného.

Uchovává se chráněna před světlem.

**Kyselina aminohydroxynaftalensulfonová RS**

5,0 g siřičitanu sodného bezvodého R se smíchá s 94,3 g hydrogensířičitanu 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 aminomethylalizarindioctová R** $C_{19}H_{15}NO_8 \cdot 2H_2O$  $M_r$  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 aminomethylalizarindioctová RS**

0,192 g kyseliny aminomethylalizarindioctové R se rozpustí v 6 ml čerstvě připraveného hydroxidu sodného l mol/l RS. Přidá se 750 ml vody R, 25 ml tlumivého roztoku jantaranového o pH 4,6 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

1*H*,3*H*,5*H*-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 47% R**47% roztok kyseliny bromovodíkové ve *vodě R*.**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.

**Kyselina bromovodíková zředěná RS1**

Obsahuje 7,9 g/l HBr.

16,81 g *kyseliny bromovodíkové 47% R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml.**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 3-cyklohexylpropionová R** $C_9H_{16}O_2$  $M_r$  156,2

CAS 701-97-3

Čirá kapalina.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,998. $n_D^{20}$ : asi 1,4648.

TV: asi 130 °C.

**Kyselina deoxyribonukleová sodná sůl R**

CAS 73049-39-5

Asi 85 % látky má  $M_r$  2 · 10<sup>7</sup> 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 HClO<sub>4</sub>); 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 HClO<sub>4</sub>); 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) měřená 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 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** $C_2H_2Cl_2O_2$  $M_r$  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** $C_7H_4N_2O_6$  $M_r$  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** $C_{14}H_8N_2O_8S_2$  $M_r$  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 slabě nažloutlá kapalina, na vzduchu dýmající.

 $d_{20}^{20}$ : asi 1,5.**Kyselina dusičná R** $HNO_3$  $M_r$  63,0

CAS 7697-37-2

Obsahuje 63,0 % až 70,0 %  $HNO_3$ .

Čirá bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina, mísitelná s vodou.

 $d_{20}^{20}$ : 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  $Z_6$  (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  $\mu$ g Cl/ml) a 0,3 ml dusičnanu stříbrného RS2 (0,5  $\mu$ g/g).*Sírany* (2.4.13). K 10 g se přidá 0,20 g uhličitanu sodného R. Odpaří se do sucha a zbytek se rozpustí v 15 ml vody destilované R. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (2  $\mu$ g/g). Připraví se porovnávací roztok smícháním 2 ml základního roztoku síranů (10  $\mu$ g  $SO_4$ /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  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku arsenu (1  $\mu$ g 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  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2  $\mu$ g 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  $\mu$ g/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  $HNO_3$ .

Uchovává se chráněna před světlem.

**Kyselina dusičná zředěná RS**Obsahuje asi 125 g/l  $HNO_3$  ( $M_r$  63,0).

20 g kyseliny dusičné R se zředí vodou R na 100 ml.

**Kyselina dusičná prostá olova a kadmia R**

Vyhovuje požadavkům odstavce Kyselina dusičná R a následujícím zkouškám:

*Zkoušený roztok.* Ke 100 g se přidá 0,1 g uhličitanu 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**

Vyhovuje požadavkům odstavce *Kyselina dusičná R* a následující zkoušce:

Ke 100 g se přidá 0,1 g *uhličitanu 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**

$C_{10}H_{16}N_2O_8$

$M_r$  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**

$C_8H_{16}O_2$

$M_r$  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**

$C_7H_{12}O_4$

$M_r$  160,2

CAS 631-31-2

Kyselina 2-ethyl-2-methylbutandiová

TT: 104 °C až 107 °C.

**Kyselina fenoxyoctová R**

$C_8H_8O_3$

$M_r$  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.

**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-(trifluoromethyl)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<sub>3</sub> · H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · nH<sub>2</sub>O 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<sub>8</sub>H<sub>6</sub>O<sub>4</sub>  $M_r$  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<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>5</sub> · H<sub>2</sub>O  $M_r$  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 D-glukuronová**C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>  $M_r$  194,1 CAS 6556-12-3Obsahuje nejméně 96,0 % C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub>, počítáno na vysušenou látku ve vakuu (2.2.32).

Je dobře rozpustná ve vodě a v lihu 96%.

Vykazuje mutarotaci:  $[\alpha]_D^{24}$  : +11,7° → +36,3°.

**Stanovení obsahu.** 0,150 g se rozpustí v 50 ml *methanolu bezvodého R* mícháním pod dusíkem. Titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Rozpouštění a titrace se provádí za ochrany roztoku před atmosférickým oxidem uhličitým.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 19,41 mg  $C_6H_{10}O_7$ .

#### **Kyselina glutamová R**

Viz článek *Acidum glutamicum*.

#### **Kyselina glycyrrhetinová R**

$C_{30}H_{46}O_4$

$M_r$  470,7

CAS 471-53-4

Enoxolon

Směs  $\alpha$ - a  $\beta$ -glycyrrhetinových kyselin, kde převládá  $\beta$ -izomer. Kyselina 12,13-didehydro-3 $\beta$ -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 GF<sub>254</sub> R* připravené za použití roztoku *kyseliny fosforečné R 0,25% (V/V)* se nanese 5  $\mu$ 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  $\beta$ -glycyrrhetinové a menší skvrna o  $R_F$  asi 0,5 odpovídající kyselině  $\alpha$ -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.

#### **Kyselina hexachloroplatičitá R**

$H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$

$M_r$  517,9

CAS 18497-13-7

Hexahydrát kyseliny chloroplatičité

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 zváží.

Uchovává se chráněna před světlem.

#### **Kyselina 4-hydroxybenzoová R**

$C_7H_6O_3$

$M_r$  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**

$C_8H_6O_5$

$M_r$  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** $C_{18}H_{36}O_3$  $M_r$  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.

**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 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 popsáním ve zkoušce totožnosti A uvedeným v článku *Belladonnae foliis 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 1% RS**

Obsahuje 10 g/l HCl. 4 g kyseliny chlorovodíkové RS 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.

**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 ± 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 prostá olova R**

Vyhovuje požadavkům odstavce *Kyselina chlorovodíková R* a následující dodatečné zkoušky:

*Olovo*. Nejvýše 20 µg/g Pb; stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok*. 200 g se v křemenném kelímku odpaří téměř do sucha. Zbytek se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné*, připravené přečištěním *kyseliny dusičné R* destilací pod bodem varu (sub-boiling distillation) a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí v 5 ml *kyseliny dusičné přečištěné destilací kyseliny dusičné R* pod bodem varu.

*Porovnávací roztoky*. Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku *olova (0,1 µg Pb/ml)*, zředěným přečištěnou *kyselinou dusičnou* připravenou destilací *kyseliny dusičné R* pod bodem varu.

Měří se emisní intenzita při 220,35 nm.

**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*

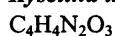
Nažloutlý bílý prášek, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

**Kyselina chromotropová sodná sůl RS**

0,60 g *kyseliny chromotropové sodné soli R* se rozpustí v asi 80 ml *vody R* a zředí se jí na 100 ml. Tento roztok se používá do 24 h.

**Kyselina chromsírová**

Nasycený roztok *oxidu chromového R* v *kyselině sírové R*.

**Kyselina isobarbiturová R** $M_r$  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** $M_r$  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** $M_r$  248,0

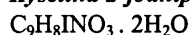
CAS 88-67-5

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 *celulosity pro chromatografii F<sub>254</sub> R* se nanese 20 µl 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.

**Kyselina 2-jodhippurová R** $M_r$  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 *celulosity pro chromatografii F<sub>254</sub> R* se nanese 20 µl 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.

**Kyselina jodistá R** $M_r$  227,9

CAS 10450-60-9

Krystaly snadno rozpustné ve vodě a dobře rozpustné v lihu 96%.

*TT*: asi 122 °C.

**Kyselina jodoctová R** $C_2H_3IO_2$  $M_r$  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 proudu *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 parafínem.

**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-dimet-hyl-2-oxobicyklo-[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.

 $[\alpha]_D^{20}$  :  $+(20 \pm 1^\circ)$ ; měří se roztok (43 g/l) ve vodě R. $\Delta A$  (2.2.41):  $10,2 \cdot 10^3$ ; stanoví se při 290,5 nm v roztoku 1,0 g/l.**Kyselina kalkonkarboxylová R** $C_{21}H_{14}N_2O_7S \cdot 3H_2O$  $M_r$  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** $C_9H_8O_4$  $M_r$  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.

**Kyselina křemičitowolframová R** $H_4O_{40}SiW_{12} \cdot nH_2O$ 

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** $C_3H_3NO_2$  $M_r$  85,1

CAS 372-09-8

Bílé až nažloutlé hygroskopické krystaly, velmi snadno rozpustné ve vodě.  
Uchovává se ve vzduchotěsném obalu.

**Kyselina laktobionová R** $C_{12}H_{22}O_{12}$  $M_r$  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** $C_4H_8O_2$  $M_r$  88,1

CAS 107-92-6

Kyselina butanová

Olejovitá kapalina, mísitelná s vodou a s lihem 96%.

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny  $C_4H_8O_2$ .

$d_{20}^{20}$ : asi 0,96.

$n_D^{20}$ : asi 1,398.

TV: asi 163 °C.

**Kyselina metafosforečná R** $(HPO_3)_n$ 

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 sirové 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 sirové 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** $C_4H_6O_2$  $M_r$  86,1

CAS 79-41-4

Kyselina 2-methyl-2-propenová; kyselina metakrylová

Bezbarvá kapalina.

$n_D^{20}$ : asi 1,431.

TV: asi 160 °C.

TT: asi 16 °C.

**Kyselina methansulfonová R**CH<sub>4</sub>O<sub>3</sub>SM<sub>r</sub> 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 methoxyfenyloctová R**C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 166,2

CAS 7021-09-2

Kyselina (RS)-2-methoxy-2-fenyloctová

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**CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 46,03

CAS 64-18-6

Obsahuje nejméně 98,0 % CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

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 CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.**Kyselina octová bezvodá R**C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 60,1

CAS 64-19-7

Obsahuje nejméně 99,6 % C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>.

Bezbarvá kapalina nebo bílé, lesklé, kapradovitě 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.

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<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 60,1

CAS 64-19-7

Viz článek *Acidum aceticum 99%***Kyselina octová RS**Obsahuje 290 g/l až 310 g/l C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub> (M<sub>r</sub> 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 odstavec *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.

$d_{20}^{20}$ : 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 R**

Viz článek *Acidum salicylicum*.

**Kyselina seleničitá R**
 $M_r 129,0$ 

CAS 7783-00-8

Rozplývavé krystaly, snadno rozpustné ve vodě.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Kyselina sialová R**

Viz odstavec *kyselina N-acetylneuraminová R*.

**Kyselina sírová R**
 $M_r 98,1$ 

CAS 7664-93-9

Obsahuje 95,0 % až 97,0 %  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

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 sirany (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 µg Cl/ml)*, 19 ml *vody R* a 0,5 ml *dusičnanu stříbrného RS2 (0,5 µg/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 µg NO<sub>3</sub>/ml)* a 0,2 ml roztoku *brucinu R (50 g/l)* v *kyselině octové ledové R (0,5 µg/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 *tetraodortuňnanu draselného zásaditého RS*. Roztok není zbarven silněji než směs 5 ml základního roztoku *amoniaku (1 µg NH<sub>4</sub>/ml)*, 15 ml *vody R*, 10 ml *hydroxidu sodného R (200 g/l)* a 1 ml *tetraodortuňnanu draselného zásaditého RS (2 µg/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 µg As/ml). Na přípravu porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku *arsenu (1 µg 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 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok *olova (2 µg 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 µg/g).

*Zbytek po spálení.* Nejvýše 0,001 %. 100 g se opatrně odpaří v malém kelímku nad plamenem a zbytek se žihá v červeném 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 *červeně methylové RS* se titruje *hydroxidem sodným 1 mol/l VS*.

1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS* odpovídá 49,04 mg  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Uchovává se ve skleněných obalech se zabroušenou zátkou nebo v jiných nádobách z materiálů odolných vůči kyselině sírové.

**Kyselina sírová zředěná RS**

Obsahuje 98 g/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**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 je 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**

C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 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**

C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>S

M<sub>r</sub> 173,2

CAS 121-57-3

Kyselina 4-aminobenzensulfonová

Bezbarvé krystaly, mírně rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

**Kyselina sulfanilová diazotovaná RS**

0,9 g kyseliny sulfanilové R se rozpustí zahřátím v 9 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou R na 100 ml. 10 ml tohoto roztoku se ochladí ve vodě s ledem a přidá se 10 ml ledem ochlazeného roztoku dusitanu sodného R (4,5 g/100 ml). Nechá se stát 15 min při 0 °C (při uchovávání za této teploty je roztok stabilní 3 dny) a v čas potřeby se přidá 20 ml roztoku uhličitanu sodného R (10 mg/100 ml).

**Kyselina sulfosalicylová R**

C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>S · 2H<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 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.

**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

Monohydrát 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 odtahem.

Provedou se další zkoušky podle PNY-CH 81-28-96.

Obsah. 98 % až 101,5 %  $C_{15}H_{14}O_2S$ .*p*-Thiokresol. Nejvýše 0,4 %.

Příbuzné látky. Nejvýše 1 %.

Uchovává se v dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

Je použitelná do 1 roku.

**Kyselina trifluorocetová 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 bílkovin.

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  $(40 \pm 1)$  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/m<sup>3</sup>.

Oxid uhličitý. Méně než 10 ml/m<sup>3</sup>.

Oxid uhelnatý. Méně než 5 ml/m<sup>3</sup>.

**Lakmus R**

CAS 1393-92-6

Schultz 1386

Indigově modrá barviva získaná z různých druhů lišejníků, např. *Rocella*, *Lecanora* aj. Je dobře rozpustný ve vodě a prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Barevný přechod. pH 5 (červená) až 8 (modrá).

**Laktosa R**

Viz článek *Lactosum*.

**Laurylalkohol R** $C_{12}H_{26}O$  $M_r$  186,3

1-Dodekanol

$d_{20}^{20}$ : asi 0,820.

TT: 24 °C až 27 °C.

**Laurylsírán sodný R**Viz článek *Natrii laurilsulfas*.**Lavandulol R** $C_{10}H_{18}O$  $M_r$  154,2

CAS 498-16-8

2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-ol, (*R*)-5-methyl-2-(1-methylethenyl)-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 píků na získaném chromatogramu.

**Lavandulylacetat R** $C_{12}H_{20}O_2$  $M_r$  196,3

CAS 50373-59-6

 $(\pm)$ -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.

**Leucín R**Viz článek *Leucinum*.**Lih 96% R** $C_2H_6O$  $M_r$  46,07

CAS 64-17-5

Viz článek *Ethanolum 96% (V/V)*.**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 hydroxi-*du 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 stereoisomerů (likareol a koriandrol).

Kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v etheru.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,860.

$n_D^{20}$ : 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 % 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 přemísí 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.

**Makrogol 300 R**

Polyethylenglykol 300

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 400 R**

Polyethylenglykol 400

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 1000 R**

Polyethylenglykol 1000

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 1500 R**

Polyethylenglykol 1500

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 6000 R**

Polyethylenglykol 6000

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 20 000 R**

Polyethylenglykol 20 000

Viz článek *Macrogola*.

**Makrogol 20 000 2-nitrotereftalat R**

Polyethylenglykol 20 000 2-nitrotereftalat

*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.



**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.

$[\alpha]_D^{20}$ : 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), jak je předepsáno ve zkoušce Příbuzné látky v článku *Mentholum racemicum*.

Plocha hlavního píku je nejméně 98,0 % celkové plochy píků, nepřihlíží se k píku rozpouštědla.

#### **Menthon R**

$C_{10}H_{18}O$

$M_r$  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**

$C_{12}H_{22}O_2$

$M_r$  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.

#### **2-Merkaptoethanol R**

$C_2H_6OS$

$M_r$  78,1

CAS 60-24-2

Kapalina mísitelná s vodou.

$d_{20}^{20}$ : asi 1,116.

*TV*: asi 157 °C.

#### **Merkaptopurin R**

Viz článek *Mercaptopurinum*.

#### **Mesityloxid R**

$C_6H_{10}O$

$M_r$  98,1

CAS 141-79-7

4-Methyl-3-penten-2-on

Bezbarvá olejovitá tekutina, dobře se rozpouští ve 30 dílech vody a je mísitelná s většinou organických rozpouštědel.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,858.

*TT*: 129 °C až 130 °C.

#### **Metaboritan lithný bezvodý R**

$LiBO_2$

$M_r$  49,75

CAS 13453-69-5

**Methanol R**CH<sub>4</sub>OM<sub>r</sub> 32,04

CAS 67-56-1

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina mísitelná s vodou a s líhem 96%.

$d_{20}^{20}$ : 0,791 až 0,793.

TV: 64 °C až 65 °C.

**Methanol R1**

Vyhovuje 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 kontrolní kapalině.

**Methanol R2**

Při použití pro kapalinovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Obsahuje nejméně 99,8 % sloučeniny CH<sub>4</sub>O (M<sub>r</sub> 32,04).

Absorbance (2.2.25) měřená při 225 nm za použití vody R jako kontrolní kapaliny je nejvýše 0,17.

**Methanol bezvodý R**

CAS 67-56-1

K 1000 ml methanolu R se přidá 5,0 g hořčiku 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 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**CH<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>NaM<sub>r</sub> 118,1

CAS 2386-57-4

Bílý krystalický hygroskopický prášek.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Methenamin R**C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>N<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 140,2

CAS 100-97-0

Hexamin; hexamethylentetramin

Bezbarvý krystalický prášek, velmi snadno rozpustný ve vodě.

**L-Methionin R**

Viz článek Methioninum.

**(RS)-Methotrexat R**

Obsahuje nejméně 96,0 % C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>.

TT: asi 195 °C.

**Methoxyethanol R** $C_3H_8O_2$  $M_r$  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** $C_3H_6O_2$  $M_r$  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** $C_8H_9NO_2$  $M_r$  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.

*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

Methylkosanoat

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

Methyldokosanoat

TT: 54 °C až 55 °C.

**Methylbenzothiazolinonhydrazonhydrochlorid R** $C_8H_{10}ClN_3S \cdot H_2O$  $M_r$  233,7

CAS 38894-11-0

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  $\mu$ 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

acetone *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 kontrolní 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 %.

*Zbytek po odpaření*. Nejvýše 0,0003 %.

*Transmitance* (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

Methylkaprinat, methyl-n-dekanoat

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*. Provede se plynová chromatografie (2.2.28), nastříkují se stejné objemové díly každého z následujících roztoků: roztok (I) - roztok (0,02 g/l) v *sirouhliku R*, roztok (II) - roztok (2 g/l) v *sirouhliku R* a roztok (III) - *sirouhlik R*. Chromatografický postup se provede za podmínek uvedených ve zkoušce Butylhydroxytoluen v článku *Adeps lanae*. Na chromatogramu roztoku (II) celková plocha žádného z píků, kromě píku rozpouštědla a hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu roztoku (I).

**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.

*Chromatografie (2.2.27).* Chromatografický postup se provede za podmínek uvedených v článku *Dopamini hydrochloridum*. Nanáší se 10  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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 R**Viz 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 kapalinovou scintilaci má odpovídající analytickou jakost.***Methylkosenoat R** $C_{20}H_{38}O_2$  $M_r$  310,5

Methyl-cis-11-ikosenoat

**Methylkapronat R** $C_7H_{14}O_2$  $M_r$  130,2

CAS 106-70-7

Methylhexanoat

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,885. $n_D^{20}$ : asi 1,405.

TV: 150 °C až 151 °C.

**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.

**Methylignocerat R**

$C_{25}H_{50}O_2$

$M_r$  382,7

CAS 557-59-5

Methyltetrakosanoat

Listky.

$TT$ : asi 58 °C.

**Methylinolat R**

$C_{19}H_{34}O_2$

$M_r$  294,5

CAS 112-63-0

Methyl-*cis,cis*-9,12-oktadekadienoat

$d_{20}^{20}$ : asi 0,888.

$n_D^{20}$ : asi 1,466.

$TV$ : 207 °C až 208 °C.

**Methylinolenat R**

$C_{19}H_{32}O_2$

$M_r$  292,5

CAS 301-00-8

Methyl-*cis,cis,cis*-9,12,15-oktadekatrienoat

$d_{20}^{20}$ : asi 0,901.

$n_D^{20}$ : asi 1,471.

$TV$ : asi 207 °C.

**Methylmargarat R**

$C_{18}H_{36}O_2$

$M_r$  284,5

CAS 1731-92-6

Methylheptadekanoat

$TT$ : 32 °C až 34 °C.

**Methylmetakrylat R**

$C_5H_8O_2$

$M_r$  100,1

CAS 80-62-6

Methylester kyseliny 2-methyl-2-propenové; methylmetakrylat

Bezbarvá kapalina.

$n_D^{20}$ : 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

Methyltetradekanoat

Obsahuje 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.

**2-Methyl-5-nitroimidazol R** $M_r$  127,1

CAS 88054-22-2

Bílý až světle žlutý prášek.

TT: 252 °C až 254 °C.

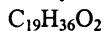
**Methyloktanoat R** $M_r$  158,2

CAS 111-11-5

Methylkaprylat

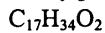
 $d_{20}^{20}$ : asi 0,876. $n_D^{20}$ : asi 1,417.

TV: 193 °C až 194 °C.

**Methyloleat R** $M_r$  296,4

CAS 112-62-9

(Z)-Methyl-9-oktadekanoat

Obsahuje 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.**Methylpalmitat R** $M_r$  270,5

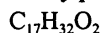
CAS 112-39-0

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.

**Methylpalmitooleat R** $M_r$  268,4

CAS 1120-25-8

Methyl-cis-9-hexadecenoat

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,876. $n_D^{20}$ : asi 1,451.**Methylparaben R**Viz článek *Methylparabenum*.**4-Methylpentan-2-ol R** $M_r$  102,2

CAS 108-11-2

Čirá bezbarvá těkává kapalina.

 $d_4^{20}$ : asi 0,802. $n_D^{20}$ : asi 1,411.

TT: asi 132 °C.

**Methylpiperazin R** $M_r$  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.

**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-Methylpropanol**Viz odstavec *Isobutylalkohol R*.**2-Methyl-2-propanol**Viz odstavec *Terc.butylalkohol R*.**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.**Methyltridekanoat R** $C_{14}H_{28}O_2$  $M_r$  228,4

CAS 1731-88-0

Bezbarvá nebo slabě žlutá kapalina, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,86. $n_D^{20}$ : asi 1,441. $TT$ : asi 6 °C.**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

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''-tetrabromfenolsulfonftalein

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 *modře 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

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 dextranu 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**

$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{11}S_3$   $M_r$  620 CAS 63451-35-4  
Trisodná sůl kyseliny 2,2'-dihydroxy-1,1'-azonaftalen-3',4,6'-trisulfonové

**Modř indofenolová R**

$C_{18}H_{16}N_2O$   $M_r$  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.

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 R**

$C_{45}H_{44}N_3NaO_7S_2$   $M_r$  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 R**

$C_{47}H_{48}N_3NaO_7S_2$   $M_r$  854,0 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 při 577 nm.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 5,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Modř kyselá 92 R**

$C_{26}H_{16}N_3Na_3O_{10}S_3$   $M_r$  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 R**C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S · nH<sub>2</sub>O*M<sub>r</sub>* bezvodé 319,9CAS 61-73-4 (bezdodé)  
CAS 7220-79-3 (trihydrátu)

Colour Index 52015, Schultz 1038

Methylthioniumchlorid, tj. n-hydrát 3,7-bis(dimethylamino)fenothiazin-5-iumchloridu

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%.

**Modř nilská A R**C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S*M<sub>r</sub>* 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<sub>40</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>O<sub>6</sub>*M<sub>r</sub>* 818

CAS 298-83-9

3,3'-(3,3'-Dimethoxybifenylyl-4,4'-diyl)bis[2-(4-nitrofenyl)-5-fenyl-2H-tetrazolium]dichlorid, modř *p*-nitrotetrazoliová

Krystaly, dobře rozpustné v methanolu na čirý žlutý roztok.

TT: asi 189 °C, za rozkladu.

**Modř oracetová B R**Je to směs 1-methylamino-4-anilinoanthrachinonu (C<sub>21</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; *M<sub>r</sub>* 328,4) a 1-amino-4-anilinoanthrachinonu (C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>; *M<sub>r</sub>* 314,3).

Tmavě modrofialový prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a kyselině octové bezvodé.

**Modř oracetová 2R R**C<sub>20</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 314,3

CAS 4395-65-7

Colour Index 61110

1-Amino-4-(fenylamino)anthrachinon

TT: asi 194 °C.

**Modř pravá B R**C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 339,2

CAS 84633-94-3

Colour Index 37235; Schultz 490

3,3'-Dimethoxydifenylyl-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<sub>27</sub>H<sub>31</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 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.

**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'-bifeny]-4,4'-diy)bis(2,5-difenyl-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 0,15 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 sirové 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.

**Monomethylether ethylenglykol R**

Viz Methoxyethanol R.

**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.

Destilační rozmezí (2.2.11). Nejméně 95 % předestiluje při 126 °C až 130 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Mravenčan amonný R**

$\text{CH}_3\text{NO}_2$

$M_r$  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 vzduchotěsných obalech.

**Mravenčan sodný R**

$\text{CHNaO}_2$

$M_r$  68,0

CAS 141-53-7

Bílý krystalický prášek nebo rozplývavá zrna. Je dobře rozpustný ve vodě a v glycerolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

TT: asi 253 °C.

**Myosmin**

$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2$

$M_r$  146,2

CAS 532-12-7

3-(4,5-Dihydro-3H-pyrrol-2-yl)pyridin

Bezbarvé krystaly.

TT: asi 45 °C.

***β-Myrcen R***C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>M<sub>r</sub> 136,2

CAS 123-35-3

7-Methyl-3-methylen-1,6-oktadien

Olejovitá kapalina s příjemným pachem, 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 píků získaných na chromatogramu.

***Myristicin R***C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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.

***Myristylalkohol R***C<sub>14</sub>H<sub>30</sub>OM<sub>r</sub> 214,4

1-Tetradekanol

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,823.

TT: 38 °C až 40 °C

***Naftalen R***C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>10</sub>H<sub>5</sub>NaO<sub>5</sub>SM<sub>r</sub> 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<sub>27</sub>H<sub>20</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 392,5

CAS 6948-88-5

 $\alpha,\alpha$ -Bis(4-hydroxy-1-naftyl)benzylalkohol;  $\alpha$ -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

$\alpha$ -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.

**2-Naftol R**

$C_{10}H_8O$

$M_r$  144,2

CAS 135-19-3

$\beta$ -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 nažloutlé bílý prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**Natriumdokusat R**

Viz článek *Docusatium natricum*.



**Natriumrhodisonat R** $C_6Na_2O_6$  $M_r$  214,0

CAS 523-21-7

Dinatrium-3,4,5,6-tetraoxo-1-cyklohexen-1,2-diolat

Fialové krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě na oranžovožlutý roztok. Roztoky jsou nestabilní a musí být připraveny v den potřeby.

**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 lilích 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 piků.

**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 piků.

**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 rozmělní na prášek (180).

Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v minerálních kyselinách.

**Nikl Raneyův prostý halogenů R**

Obsahuje 48 % až 52 % hliníku (Al,  $A_r$  26,98) a 48 % až 52 % niklu (Ni,  $A_r$  58,71).

Jemný šedý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v minerálních kyselinách za vzniku solí.

*Chloridy.* Nejvýše 10 µg/g. 2,00 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny dusičné R*. Roztok se odpaří do téměř sucha. Zbytek se rozpustí ve *vodě R* a zředí se stejným rozpouštědlem na 20,0 ml. K jedné polovině roztoku se přidá 1,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l RS*. Po 15 min se roztok zfiltruje a k filtrátu se přidá 0,25 ml roztoku chloridu sodného (obsahujícího 40 µg chloridů v mililitru). Po 5 min roztok opalizuje intenzivněji než směs druhé poloviny roztoku s 1,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l RS*.

**Nikotinamid-adenin-dinukleotid R** $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$  $M_r$  663,4

CAS 53-84-9

NAD

Bílý prášek, velmi hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě.

**Nikotinamid-adenin-dinukleotid RS**

40 mg nikotinamid-adenin-dinukleotidu R se rozpustí ve vodě R a doplní se jí na 10 ml. Přípravuje se v čas potřeby.

**Ninhydrin R** $M_r$  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).

**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** $M_r$  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** $M_r$  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 na prášek rozmělněného nitrobenzaldehydu R. 10 min se nechá stát za občasného protřepání, potom se zfiltruje. Přípravuje se v čas potřeby.

**Nitrobenzen R** $M_r$  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** $M_r$  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

Světle žluté krystaly, slzotvorné, prakticky nerozpustné ve vodě, velmi snadno rozpustné v lihu 96% a v etheru.

**4-(4-Nitrobenzyl)pyridin R**

$C_{12}H_{10}N_2O_2$

$M_r$  214,2

CAS 1083-48-3

Žlutý prášek.

*TT*: asi 70 °C.

**Nitroethan R**

$C_2H_5NO_2$

$M_r$  75,1

CAS 79-24-3

Čirá olejovitá, bezbarvá kapalina.

*TV*: asi 114 °C.

**Nitrofurantoin R**

Viz článek *Nitrofurantoinum*.

**(5-Nitro-2-furyl)methylendiacetat R**

$C_9H_9NO_7$

$M_r$  243,2

CAS 92-55-7

Nitrofurfuraldiacetat; 5-nitrofurfuridendiacetat

Žluté krystaly.

*TT*: asi 90 °C.

**Nitromethan R**

$CH_3NO_2$

$M_r$  61,0

CAS 75-52-5

Čirá bezbarvá olejovitá kapalina. Je těžce rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s etherem.

$d_{20}^{20}$ : 1,132 až 1,134.

$n_D^{20}$ : 1,381 až 1,383.

*Destilační rozmezí (2.2.11)*. Nejméně 95 % předestiluje při 100 °C až 103 °C.

**Nitroprussid sodný R**

$Na_2[Fe(CN)_5NO] \cdot 2H_2O$

$M_r$  298,0

CAS 13755-38-9

Pentakyno-nitrosylželezitan sodný dihydrát

Červenohnědý prášek nebo krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

**Nitrosodipropylamin R**

$C_6H_{14}N_2O$

$M_r$  130,2

CAS 621-64-7

Dipropylnitrosamin

Kapalina dobře rozpustná v ethanolu, v etheru a v silných kyselinách.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,915.

*TV*: asi 78 °C.

Pro chemiluminiscenční stanovení se použije vhodná jakost.

**Nitrosodipropylamin RS**

78,62 g *ethanolu R* se vstříkne přes zátku lahvičky s hliníkovým uzávěrem obsahující *nitrosodipropylamin R*. Zředí se 1 : 100 *ethanolem R* a rozplní se po 0,5 ml do uzavřených lahviček s hliníkovým uzávěrem.

Uchovává se v temnu při 5 °C.

**Nonan R**

$C_9H_{20}$

$M_r$  128,3

CAS 111-84-2

Bezbarvá čirá kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s ethanolem a etherem.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,718.

$n_D^{20}$ : 1,405 až 1,417.

$TV$ : 150 °C až 151 °C.

**Nordazepam R**

$C_{13}H_{11}ClN_2O$

$M_r$  270,7

CAS 340-57-8

Demethyl diazepam; 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**

$C_6H_{13}NO_2$

$M_r$  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**

$C_9H_{14}ClNO$

$M_r$  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**

$C_2H_7NO_2$

$M_r$  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.

**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**

$C_2H_3KO_2$

$M_r$  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**

$C_4H_6MgO_4 \cdot 4H_2O$

$M_r$  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** $C_4H_6CuO_4 \cdot H_2O$  $M_r$  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** $C_4H_6O_4Pb \cdot 3H_2O$  $M_r$  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.

**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 acetas*.

**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 ledové R, methanolu R a vody R (1+ 4 +5).

**Oktanol R**
 $M_r$  130,2

CAS 111-87-5

1-Oktanol; n-kaprylalkohol

Bezbarvá kapalina, nerozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96% a etherem.

 $d_{20}^{20}$ : asi 0,828.

 $TV$ : asi 195 °C.
**3-Oktanon R**
 $M_r$  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**
 $M_r$  216,3

CAS 5324-84-5

Obsahuje nejméně 98,0 %  $\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S}$ .

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.

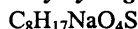
**Oktoxinol 10 R**
 $M_r$  647

CAS 9002-93-1

 $\alpha$ -[4-(1,1,3,3-Tetramethylbutyl)fenyl]- $\omega$ -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**
 $M_r$  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**
 $M_r$  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.

#### **Olej kukuřičný R**

Viz článek *Maydis oleum raffinatum*.

#### **Olej olivový R**

Viz článek *Olivae oleum raffinatum*.

#### **Olej řepkový R**

Viz článek *Rappae oleum raffinatum*.

#### **Olej slunečnicový R**

Viz článek *Helianthi oleum raffinatum*.

#### **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

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-fenyl)metyleniminobisocetové

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<sub>7</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub> · H<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 197,8

CAS 1327-53-3

Krystalický prášek nebo bílá hmota. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný ve vroucí vodě.

**Oxid dusný R**N<sub>2</sub>OM<sub>r</sub> 44,01

CAS 10024-97-2

Obsahuje nejméně 99,99 % (V/V) N<sub>2</sub>O.Oxid dusnatý. Méně než 1 ml/m<sup>3</sup>.Oxid uhelnatý. Méně než 1 ml/m<sup>3</sup>.**Oxid dusnatý R**

NO

M<sub>r</sub> 30,01

CAS 10102-43-9

Obsahuje nejméně 98,0 % (V/V) NO.

**Oxid fosforečný R**P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>M<sub>r</sub> 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**Viz odstavec *Oxid hlinitý bezvodý R*.**Oxid hlinitý bezvodý R**

CAS 1344-28-1

Oxid hlinitý obsahující γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, dehydratovaný a aktivovaný tepelným zpracováním.

Velikost částic 75 μm až 150 μm.

**Oxid hlinitý neutrální R**Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 102,0

Bílý zrnitý prášek.

*Výměnná kapacita.* 1,00 g *prokainiumchloridu R* se rozpustí v *lihu R 90% (V/V)* a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml. 20,0 ml tohoto roztoku a 5,0 g zkoušené látky se převede do 100ml baňky se zabroušenou zátkou. Nechá se stát 15 min za občasného protřepání a zfiltruje se. K 10,0 ml filtrátu se přidá 10 ml *vody R* a 0,05 ml *modři bromfenolové RS1*. Titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS*. Ke změně zbarvení indikátoru na zelené se spotřebuje nejvýše 1,4 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

*Látky rozpustné ve vodě.* Použije se chromatografická kolona 40 cm dlouhé o vnitřním průměru 1 cm s nálevkovitě zúženým dnem o průměru 2 mm až 3 mm, které je opatřeno destičkou ze slinutého skla (100) nebo bavlněnou zátkou nad úzkou částí. Kolona se naplní směsí 10,0 g zkoušené látky a 25 ml *vody R* a promývá se *vodou R*, dokud se nezíská 20 ml čirého eluátu. Eluát se odpaří a suší se při 150 °C. Hmotnost odparku není větší než 20 mg (0,2 %).

*Roztok S.* Zbytek získaný ze zkoušky *Látky rozpustné ve vodě* se rozpustí zahřátím ve *vodě R*, zfiltruje se a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml.

*Chloridy (2.4.4).* 1 ml roztoku S zředěného *vodou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,05 %).

*Sírany (2.4.13).* 1 ml roztoku S zředěného *vodou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,1 %). Kontrolní roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *síranů (10 μg SO<sub>4</sub>/ml)*.



**Oxid hlinitý zásaditý R**

*Oxid hlinitý bezvodý R* vhodné jakosti pro sloupcovou chromatografii.

*Hodnota pH (2.2.3)*. 9 až 10. Měří se suspenze připravená 5 min protřepáváním 1 g s 10 ml vody prosté oxidu uhličitého R.

**Oxid holmitý R**

Ho<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

*M<sub>r</sub>* 377,9

CAS 12055-62-8

Nazloutlý 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 µg/g).

*Těžké kovy (2.4.8)*. 1,0 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 20 ml. Je-li třeba, filtruje se. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 5 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml) a 5 ml vody R.

*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**

CrO<sub>3</sub>

*M<sub>r</sub>* 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**

I<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

*M<sub>r</sub>* 333,8

CAS 12029-98-0

Obsahuje nejméně 99,5 % I<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Bílý krystalický prášek nebo bílá až šedobílá zrna. Je hygroskopický, velmi snadno rozpustný ve vodě za tvorby HIO<sub>3</sub>.

*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 I<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

**Oxid lanthanitý R**

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

*M<sub>r</sub>* 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**

PbO<sub>2</sub>

*M<sub>r</sub>* 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 šťavelové nebo jiných redukujících látek, dobře rozpustný za tepla v koncentrovaných roztocích alkalických hydroxidů.

**Oxid osmičelý R**

OsO<sub>4</sub> *M<sub>r</sub>* 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.

**Oxid rtuťnatý R**

HgO *M<sub>r</sub>* 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**

SO<sub>2</sub> *M<sub>r</sub>* 64,1 CAS 7446-09-5

Bezbarvý plyn, který stlačením tvoří bezbarvou kapalinu.

**Oxid siřičitý R1**

SO<sub>2</sub> *M<sub>r</sub>* 64,1 CAS 7446-09-5

Obsahuje nejméně 99,9 % (V/V) SO<sub>2</sub>.

**Oxid stříbrný R**

Ag<sub>2</sub>O *M<sub>r</sub>* 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<sub>r</sub>* 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) CO<sub>2</sub>.

*Oxid uhelnatý*. Méně než 5 ml/m<sup>3</sup>.

*Kyslík*. Méně než 25 ml/m<sup>3</sup>.

**Oxid vanadičný R**

V<sub>2</sub>O<sub>5</sub> *M<sub>r</sub>* 181,9 CAS 1314-62-1

Obsahuje nejméně 98,5 % V<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

Žlutohnědý až zrzavohnědý prášek, těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v silných minerálních kyselinách a v roztocích alkalických hydroxidů za tvorby solí.

**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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) se změní 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 indikátoru 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<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

#### **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<sub>r</sub> 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*. Lih 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 zčerveneá.

#### **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 pásky 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/m<sup>2</sup>, filtrační rychlost 40 s až 60 s<sup>1)</sup>) rozměr 1,5 x 20 cm (dvakrát složena). Páska se nechá okapat a vysuší ve tmě zavěšená na nekovovém vlákně. Odstřihne 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.

**Papír se zelení methylovou R**

Úzké pásy 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). Pásy 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 minut 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/m<sup>2</sup>) se ponoří do směsi objemových dílů *kyseliny octové zředěné RS* a *octanu olovnatého RS* (1 + 10). Po vysušení se papír rozstříhá na malé pásy o rozměru 15 mm x 40 mm.

**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 *Paracetamolum*.

**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*.

<sup>1)</sup> Filtrační rychlost je vyjádřena dobou, ve které se přefiltruje 100 ml vody při 20 °C přes filtrační plochu 10 cm<sup>2</sup> za konstantního tlaku 6,7 kPa.

**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.

**Penicilinas 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 roztokem hydroxidu sodného R (200 g/l) na hodnotu 7,2 a zředí se vodou R na 1000 ml. 0,41 g siranu hořečnatého R se rozpustí v 5 ml vody R, přidá se 1 ml roztoku siranu 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 penicilinasy obsahuje při 30 °C a pH 7,0 nejméně 0,4 mikrokatalu (což odpovídá hydrolýze 500 mg benzylpenicilinu na kyselinu benzylpenicilovou za hodinu) za předpokladu, že koncentrace benzylpenicilinu neklesne pod úroveň potřebného enzymatického nasycení. Michaelisova konstanta penicilinasy v roztoku pro benzylpenicilin je asi 12 µg/ml.

Sterilita (2.6.1). Roztok penicilinasy 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 ethanolom 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:

Transmitance (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*.

**Peroxid vodíku koncentrovaný R**

Viz článek *Hydrogenii peroxidum 30%*.

**Peroxid vodíku zředěný RS**

Viz článek *Hydrogenii peroxidum 3%*.

**Peroxodisíran diamonný R**

$(NH_4)_2S_2O_8$

$M_r$  228,2

CAS 7727-54-0

Bílý krystalický prášek nebo zrnité krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

**Peroxodisíran didraselný R**

$K_2S_2O_8$

$M_r$  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*.

**$\alpha$ -Pinen R**

$C_{10}H_{16}$

$M_r$  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.

**$\beta$ -Pinen R**

$C_{10}H_{16}$

$M_r$  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: 164 °C až 166 °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 piků.

**Piperazin hexahydrát R**

Viz článek *Piperazinum hexahydricum*.

**Piperidin R**

C<sub>5</sub>H<sub>11</sub>N

*M*, 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 nažedlá 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 odstředuje 30 min při 10 °C až 15 °C při 1000 g<sub>n</sub> až 2000 g<sub>n</sub>. Supernatantní kapalina se oddělí a odstředuje se 30 min při 5000 g<sub>n</sub>. (Na vyčerení plazmy se může použít rychlejší odstředování, např. při 20 000 g<sub>n</sub> 30 min, a již se 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 °C (např. ponořením do tekutého dusíku) a uchovávají se při teplotě nižší než -30 °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 °C za pomalého míchání až do úplného rozmrazení. Jednou rozmrazená plazma se udržuje při 10 °C až 20 °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 °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 odstředí 30 min při 1550  $g_n$  a 4 °C. Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny a ihned se odstředí 30 min při 3500  $g_n$  a 4 °C. Injekční stříkačkou z plastů se odeberou dvě třetiny supernatantní kapaliny, která se rychle zmrazí ve vhodném množství ve zkumavkách z plastů na -40 °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 °C až 20 °C odstředováním 30 min při 1500  $g_n$  až 1800  $g_n$ .

Uchovává se při 0 °C až 6 °C. Použije se během 4 h po přípravě.

**Plazma substrát prostá faktoru V R**

Upřednostňuje se plazma s vrozeným deficitem faktoru 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 °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, plazma se inkubuje znovu 12 h až 24 h.

Uchovává se v malých množstvích, při teplotě -20 °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.

**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)]; dimetikon

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,

$\eta_1$  = viskozita zkoušeného roztoku v mPa.s,

$\eta_2$  = 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 ( $\eta$ ) 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 ( $\eta$ ) 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  $3053 \text{ cm}^{-1}$  absorpci odpovídající vinylovým skupinám.

*Ztráta sušením (2.2.32)*. Nejvýše 2,0 %; 1,000 g se suší 15 min ve vakuu při  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ . Nejvýše 0,8 %; 2,000 g se suší 2 h při  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ .

#### ***Polyetherhydroxylovaný gel pro chromatografii R***

Gel s malou velikostí částic a hydrofilním povrchem s hydroxylovými skupinami. Hranice vyloučení pro dextran je relativní molekulová hmotnost  $2 \times 10^5$  až  $2,5 \times 10^6$ .

#### ***Polyethylenglykol 1500 R***

Viz odstavec *Makrogol 1500 R*.

#### ***Poly[(fenyl)(kyanpropyl)][dimethyl]siloxan R***

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii. Obsahuje 6 % (kyanpropylových) (fenylových) skupin a 94 % metylových skupin.

#### ***Poly(fenyl)(7)(kyanpropyl)(7)(methyl)(86)siloxan R***

Polysiloxan substituovaný 7 % fenylových skupin, 7 % kyanpropylových skupin a 86 % metylových skupin. Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

#### ***Poly[fenyl(5)methyl(94)vinyl(1)]siloxan R***

Polysiloxan obsahující 5 % fenylových skupin, 94 % metylových skupin a 1 % vinylových skupin.

#### ***Poly[fenyl(5)methyl(95)]siloxan R***

Viz odstavec *Poly(difenyl)(dimethyl)siloxan R*.

#### ***Poly(fenylmethyl)(kyanpropyl)siloxan R***

90 % kyanpropylových a 10 % fenylmetylových skupin. Stacionární fáze pro plynovou chromatografii.

#### ***Polyfenylmethylsiloxan R***

Střední  $M_r$  4000. Obsahuje 50 % metylových skupin, 50 % fenylových skupin. Velmi viskózní kapalina (viskozita asi  $1300 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ ). 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 % kyanetylových skupin a 75 % metylových skupin.

Stacionární fáze pro plynovou chromatografii (např. XE 60). Náhradní fáze může být např. OV-225 [poly(kyanpropylmethyl)(fenyl)(methyl)siloxan].

***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)(methylfenylmethyl)siloxan R***

Viz odstavec *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***

CAS 9003-53-6

Organický standard používaný pro kalibraci v plynové chromatografii.

$M_w$ : asi 950.

$M_w/M_n$ : 1,10.

***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, červeně 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

***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 % předestiluje 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.

**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 R**

Viz článek Propylenglycolum.

**Propylenoxid R** $C_3H_6O$  $M_r$  58,1

Bezbarvá kapalina mísitelná s lihem 96%.

**Propylparaben R**Viz článek *Propylparabenum*.**Protaminiumsulfat R**

(salmin)

CAS 53597-25-4

(klupein)

CAS 9007-31-2

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.

**Purpur m-kresolový R** $C_{21}H_{18}O_3S$  $M_r$  382,44

CAS 2303-01-7

*m*-Kresolsulfonftalein

Olivově zelený krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, v kyselině octové ledové a v methanolu.

**Purpur m-kresolový RS**0,1 g purpuru *m*-kresolového R se rozpustí ve 13 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l RS a zředí se vodou R na 100 ml a promíchá se.*Barevný přechod.* pH 1,2 (červená) až pH 2,8 (žlutá);  
pH 7,4 (žlutá) až pH 9,0 (purpurová).**Pyridin bezvodý R**

CAS 110-86-1

Pyridin R se vysuší nad uhličitánem sodným bezvodým R, filtruje se a destiluje.

Voda (2.5.12). Nejvýše 0,01 %.

**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-Benzotriol; 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. Na vzduchu hnědnou absorpcí kyslíku vodné roztoky a ještě rychleji roztoky alkalické.

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.

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 uhličitánem 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. Připraví 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;  $\alpha$ -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)- $\beta$ -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.

**Rhenistan draselný R**

$KReO_4$

$M_r$  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 R**

$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$

$M_r$  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 R**

$C_5H_{10}O_5$

$M_r$  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.

**Rohovnická 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 *acetone* 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*.

**Rtuť R**

Hg  $A_r$  200,6 CAS 7439-97-6

Stříbrosíká kapalina, která při rozetření na papír tvoří kuličky nezanechávající kovovou stopu.

$d_{20}^{20}$ : asi 13,5.

TV: asi 357 °C.

**Rutin R**

$C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$   $M_r$  665 CAS 153-18-4

Rutosid; 3-(O-6-deoxy- $\alpha$ -L-mannopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glukopyranosyloxy)-2-(3,4-dihydroxyfenyl)-5,7-dihydroxy-4H-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.

**Salicyldazín 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 skvrna.

**Salicylaldehyd R** $C_7H_6O_2$  $M_r$  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 R**Viz 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.

**Santonin R** $C_{15}H_{15}O_3$  $M_r$  246,3 $\alpha$ -Santonin; 3,5a,9-trimethyl-3a,5,5a,9b-tetrahydro-3H,4H-nafto[1,2]furan-2,8-dion

Bezbarvé lesklé krystaly, na světle žloutnoucí. Je velmi těžce rozpustný v vodě, snadno rozpustný v horkém ethanolu a mírně rozpustný v ethanolu.

TT: 174 °C až 176 °C.

 $[\alpha]_D^{18}$ : -173° v ethanolu.

**Chromatografie.** Provede se zkouška totožnosti C za podmínek předepsaných v článku *Arnicae flos*. Na chromatogramu s 10  $\mu$ l roztoku je fluoreskující skvrna s hodnotou  $R_f$  asi 0,5. Po postříkání *anisaldehydem RS* a zahřívání 5 min až 10 min při 105 °C se na denním světle nejdříve žlutá fluoreskující skvrna rychle změní na fialovočervenou.

**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, 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.

**SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro vzorek pro redukční podmínky RS**

3,78 g *trometamolu R*, 10,0 g *dodecylsíranu sodného R*, 100 mg *modři bromfenolové R* a 50,0 ml *glycerolu R* se rozpustí v 200 ml *vody R*. Přidá se 25,0 ml *2-merkptoethanolu R*, pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 6,8 a zředí se *vodou R* na 250,0 ml.

Alternativně může být použit dithiothreitol jako redukční činidlo místo 2-merkptoethanolu. V tomto případě se roztok pro vzorek připraví následujícím způsobem: 3,78 g *trometamolu R*, 10,0 g *dodecylsíranu sodného R*, 100 mg *modři bromfenolové R* a 50,0 ml *glycerolu R* se rozpustí v 200 ml *vody R*. pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 6,8 a zředí se *vodou R* na 250,0 ml. V čas potřeby se přidá *dithiothreitol R* do výsledné koncentrace 0,1 mol/l.



**Selen R**

Se A<sub>r</sub> 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 R**

Viz článek *Serinum*.

**Silice citronová R**

Viz článek *Citri etheroleum*.

**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 amorfni zpolymerovaná kyselina křemičitá. Má schopnost absorbovat vodu při 20 °C asi 30 % své hmotnosti. Jako indikátor obsahuje chlorid kobaltnatý. Je prakticky nerozpustný ve vodě, částečně rozpustný v roztoku hydroxidu sodného.

**Silikagel butylsilanizovaný R**

Viz odstavec *Silikagel butylsilanizovaný pro chromatografii R*.

**Silikagel butylsilanizovaný pro chromatografii 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. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%.

*Kuličky oxidu křemičitého:* 30 nm.

*Objem pórů:* 0,6 cm<sup>3</sup>/g.

*Specifický povrch:* 80 m<sup>2</sup>/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 m<sup>2</sup>/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.

Jemný bílý homogenní prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu.

*Kuličky oxidu křemičitého:* 8 nm.

*Specifický povrch:* 180 m<sup>2</sup>/g.

*Obsah uhlíku:* 5,5 %.

**Silikagel GF<sub>254</sub> 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.* Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27). Na vrstvu *silikagelu GF<sub>254</sub> 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 (CaSO<sub>4</sub> · 0,5 H<sub>2</sub>O).

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 CaSO<sub>4</sub> · 0,5H<sub>2</sub>O.

*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 HF<sub>254</sub> silanizovaný R*.

*Dělicí schopnost.* Vyhovuje zkoušce předepsané v odstavci *Silikagel HF<sub>254</sub> 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%.

**Silikagel HF<sub>254</sub> 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 pro svůj hydrofobní charakter.

*Příprava tenké vrstvy.* 30 g *silikagelu silanizovaného HF<sub>254</sub>* 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 zabroušenou zátkou 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, okyseli 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 HF<sub>254</sub> 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 HF<sub>254</sub> 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 GF<sub>254</sub>*.

#### **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.

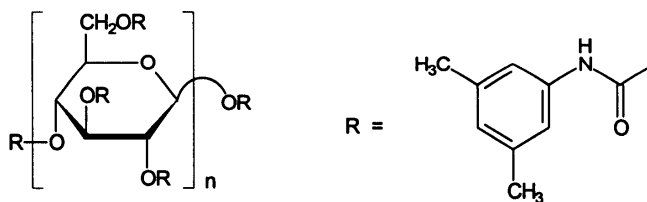
#### **Silikagel nitrilovaný pro chromatografii R2**

Ultračistý silikagel na povrchu chemicky upravený navázáním kyanpropylsilanových skupin. Obsahuje nejvýše 20 µg/g kovů. 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 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ), upravený před zavedením oktadecylsilanových skupin opatrným vymytím a hydrolyzou 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{g/g}$ .

***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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) 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  $\mu\text{m}$  až 10  $\mu\text{m}$ ) 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 µg/g.

**Silikagel oktylsilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R**

Velmi jemný silikagel (3 µm až 10 µm) na povrchu chemicky upravený navázáním oktylsilanových 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 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 bílkovin 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<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>

3',4',5,6,7-Pentamethoxyflavon

M<sub>r</sub> 372,37

CAS 2306-27-6

**Síra R**

Viz článek *Sulfur ad usum externum*.

**Síran amonno-železitý R** $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  482,2

CAS 7783-83-7

Síran amonno-železitý dodekahydrát

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** $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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** $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  $M_r$  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 *Barii sulfas*.**Síran ceričitý R** $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  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** $\text{KCr}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  $M_r$  499,4

CAS 7788-99-0

**Síran draselno-chromitý dodekahydrát**

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** $\text{K}_2\text{SO}_4$  $M_r$  174,3

CAS 7778-80-5

Bezbarvé krystaly, dobře rozpustné ve vodě.

**Síran hořečnatý R**

Viz článek *Magnesii sulfas*.

**Síran lithný R**

$\text{Li}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

$M_r$  128,0

CAS 10102-25-7

Síran lithný monohydrát

Bezbarvé krystaly, snadno rozpustné ve vodě, prakticky nerozpustné v lihu 96%.

**Síran manganatý R**

$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

$M_r$  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**

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  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**

$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  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%.

**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 vyžháný 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 thallný R**

$\text{Tl}_2\text{SO}_4$

$M_r$  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 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.

**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.

**Sírouhlik R**

$\text{CS}_2$   $M_r$  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 R**

$\text{H}_2\text{S}$   $M_r$  34,08 CAS 7783-06-4

Sulfan

Plyn těžce rozpustný ve vodě.

**Sirovodík R1**

$\text{H}_2\text{S}$   $M_r$  34,08 CAS 7783-06-4

Obsahuje nejméně 99,7 % ( $V/V$ )  $\text{H}_2\text{S}$ .

**Sirovodík RS**

Čerstvě připravený roztok *sirovodíku R* ve *vodě R*. Roztok nasycený při 20 °C obsahuje asi 0,4 % až 0,5 %  $\text{H}_2\text{S}$ .

**Sířičitan sodný bezvodý R**

Viz 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 *hydrazinium-sulfatu R* a 5,0 g *chloridu sodného R*.

**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 uhlíčan 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.

Viz též přísada polymerů 08 (3.1.13).

**Stabilizátor polymerů R2**

$C_{54}H_{78}O_3$   $M_r$  775 CAS 1709-70-2  
4,4',4''-[2,4,6-Trimethyl-1,3,5-benzotriyl-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.

Viz též přísada polymerů 10 (3.1.13).

**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.

$\alpha$  forma: 120 °C až 125 °C.

$\beta$  forma: 110 °C až 115 °C.

Viz též přísada polymerů 09 (3.1.13).

#### **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.

Viz též přísada polymerů 11 (3.1.13).

#### **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.

Viz též přísada polymerů 13 (3.1.13).

#### **Stabilizátor polymerů R6**

$C_{41}H_{82}O_6P_2$

$M_r$  733

3,9-bis(oktadecyloxy)-2,4,8,10-tetraoxa-3,9-difosfospiro[5,5]undekán (dioxafosfan)

Bílá voskovitá látka, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v uhlovodících.

*TT*: 40 °C až 70 °C.

Viz též přísada polymerů 14 (3.1.13).

#### **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.

Viz též přísada polymerů 16 (3.1.13).

#### **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.

Viz též přísada polymerů 17 (3.1.13).

#### **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.

Viz též přísada polymerů 12 (3.1.13).

**Streptomyciniumsulfat R**

Viz 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 mikrokrytalický 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  $\mu$ l roztoku (1 mg/ml) v lihu 96% R. Na získaném chromatogramu je po postřiku v ultrafialovém světle při 254 nm jen jedna skvrna.

**Styrendivinybenzen-kopolymer R**

Síťovaný polymer, porézni 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.

**Sulfathiazol R**

$C_9H_9N_3O_2S_2$   $M_r$  255,3 CAS 72-14-0

4-Amino-N-(2-thiazolyl)benzonsulfonamid

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 uhličitanů.

TT: asi 200 °C.

**Sulfid sodný R**

$Na_2S \cdot 9H_2O$   $M_r$  240,2 CAS 1313-84-4

Bezbarvé rychle žlutnoucí 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* nejdříve 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.

*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** $C_4H_{10}O$  $M_r$  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** $C_4H_{11}N$  $M_r$  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** $C_4H_{10}O_2$  $M_r$  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** $C_5H_{12}O$  $M_r$  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**C<sub>5</sub>H<sub>12</sub>OM<sub>r</sub> 88,1

CAS 75-85-4

Terc.amylalkohol; 2-methyl-2-butanol

Těkkavá hořlavá kapalina, snadno rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%, s etherem a s glycerolem.

 $d_{20}^{20}$ : 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<sub>10</sub>H<sub>18</sub>OM<sub>r</sub> 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. Proveďte 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<sub>10</sub>H<sub>18</sub>OM<sub>r</sub> 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. Proveďte 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<sub>10</sub>H<sub>16</sub>M<sub>r</sub> 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.

Při použití pro plynovou chromatografii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Stanovení obsahu. Proveďte 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.

Obsahuje nejméně 98,0 %  $C_{16}H_{37}NO \cdot 30H_2O$ .

*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  $C_{16}H_{37}NO \cdot 30H_2O$ .

**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)

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.

**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:*

*Transmitance (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.

**Tetrajordortu'natan 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.

**Tetrajordortu'natan 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.

**Tetramethylamoniumhydroxid R** $C_4H_{13}NO \cdot 5 H_2O$  $M_r$  181,2

Pentahydrát tetramethylamoniumhydroxidu

Vhodná jakost pro kapalinovou chromatografii (HPLC).

**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.

**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.

**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.

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 odstupe 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.

**Thiodiethylenglykol R** $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$  $M_r$  119,2

Bis(2-hydroxyethyl)sulfid

Bezbarvá nebo žlutá viskózní kapalina. Obsahuje nejméně 99,0 %  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{S}$ . $d_{20}^{20}$ : asi 1,18.**Thioglykolan sodný R** $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2\text{S}$  $M_r$  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<sub>4</sub>SCN*M<sub>r</sub>* 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<sub>r</sub>* 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)<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 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<sub>9</sub>H<sub>9</sub>HgNaO<sub>2</sub>S*M<sub>r</sub>* 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.

**Thiomočovina R**CH<sub>4</sub>N<sub>2</sub>S*M<sub>r</sub>* 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*.**Thorin R**C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>AsN<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>10</sub>S<sub>2</sub>*M<sub>r</sub>* 576,3

CAS 132-33-2

Dinatrium-1-[(2-arsonofenyl)azo]-2-hydroxynaftalen-3,6-disulfonat, naftarson

Červený prášek, dobře rozpustný ve vodě.

**Thorin RS**

Roztok (0,58 g/l).

**Zkouška citlivosti.** K 50 ml lihu 96% R se přidá 20 ml vody R, 1 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l RS a 1 ml roztoku thorinu. Titruje se chloristanem barnatým 0,025 mol/l RS; zbarvení se změní z oranžovožlutého na oranžovorůžové.

Uchovává se chráněn před světlem, použitelný je 1 týden.

**Threonin R**

Viz článek *Threoninum*.

**Thujon R**

$C_{10}H_{16}O$

$M_r$  152,2

CAS 546-80-5

1-Isopropyl-4-methylbicyklo[3,1,0]hexan-3-on; (-)- $\alpha$ -thujon

Bezbarvá nebo téměř bezbarvá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v mnoha dalších organických rozpouštědlech.

$n_D^{20}$ : asi 1,455.

$d_{20}^{20}$ : asi 0,925.

$[\alpha]_D^{20}$ : asi  $-15^\circ$ .

$TV$ : asi  $86^\circ C$ .

**Thymin R**

$C_5H_6N_2O_2$

$M_r$  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 R**

$C_{28}H_{30}O_4$

$M_r$  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 píků 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/cm<sup>3</sup>.

***o-Tolidin R***

C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>

*M<sub>r</sub>* 212,3

CAS 119-93-7

3,3'-Dimethylbenzidin

Obsahuje nejméně 97,0 % C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>.

Světle hnědý krystalický prášek.

*TT*: 130 °C.

***o-Tolidin RS***

0,16 g *o-tolidinu R* se rozpustí v 30,0 ml *kyseliny octové ledové R*, přidá se 1,0 g *jodidu draselného R* a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

***o-Tolidin RI***

Vyhovuje požadavkům uvedeným pro *o-Tolidin R* a následujícímu dodatečnému požadavku:

*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 RS1***

0,10 g *o-tolidinu RI* 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***

C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>

*M<sub>r</sub>* 92,1

CAS 108-88-3

Methylbenzen

Čirá bezbarvá hořlavá kapalina, velmi těžce rozpustná ve vodě, mísitelná s lihem 96%.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 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 5 min stání vodná vrstva neztmavne.

*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<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>S

*M<sub>r</sub>* 171,2

CAS 88-19-7

2-Methylbenzensulfonamid

Bílý krystalický prášek, těžce rozpustný ve vodě a v etheru, dobře rozpustný v lihu 96% a roztocích alkalických hydroxidů.

*TT*: asi 156 °C.

***p-Toluensulfonamid R***

C<sub>7</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>S

*M<sub>r</sub>* 171,2

CAS 70-55-3

4-Methylbenzensulfonamid, 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.

***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 °C.

***Tosylargininiummethylesterchlorid RS***

98,5 mg *tosylargininiummethylesterchloridu R* se třepe s 5 ml *tlumivého roztoku trometamolového 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 °C.

***Tosyllysylchlormethanhydrochlorid 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 °C, za rozkladu.

**Tragant R**Viz článek *Tragacantha*.**Triacetin R** $M_r$  218,2

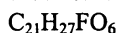
CAS 102-76-1

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 °C.

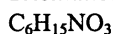
**Triamcinolon R** $M_r$  394,4

CAS 124-94-7

9-Fluor-11 $\beta$ ,16 $\alpha$ ,17,21-tetrahydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion

Krystalický prášek.

TT: 262 °C až 263 °C.

**Triethanolamin R** $M_r$  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** $M_r$  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** $M_r$  112,2

1,4-Diazabicyklo[2,2,2]oktan

Velmi hygroskopické krystaly, které při pokojové teplotě snadno sublimují, snadno se rozpouštějí ve vodě, v acetonu a v ethanolu.

TT: asi 158 °C.

TV: asi 174 °C.

Uchovává se ve vzduchotěsných obalech.

**Trifenylmethanol R** $M_r$  260,3

CAS 76-84-6

Trifenylkarbinol

Bezbarvé krystaly, prakticky nerozpustné ve vodě, snadno rozpustné v lihu 96%.



**Trifenyltetrazoliumchlorid R** $C_{19}H_{15}ClN_4$  $M_r$  334,8

CAS 298-96-4

2,3,5-Trifenyl-2H-tetrazoliumchlorid

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.

**Trichlortrifluorethan R** $C_2Cl_3F_3$  $M_r$  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** $C_{23}H_{48}$  $M_r$  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** $C_8H_{18}$  $M_r$  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 % předestiluje při 98 °C až 100 °C.

Při použití pro spektrofotometrii vyhovuje následující dodatečné zkoušce:

Transmittance (2.2.25). Nejméně 98 % při 250 nm až 420 nm; měří se proti vodě R jako kontrolní kapalině.

**Trimethylpentan RI**

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** $C_6H_{12}N_2Si$  $M_r$  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.

**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 RS1**

100 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 světle 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 trometamolovým o pH 7,4* na koncentraci 5 m.j. v mililitru.

#### **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 RS1**

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  $-30^\circ$ , 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 vrocím 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.

**Uhličitan amonný R**

CAS 506-87-6

Je to směs proměnného množství hydrogenuhlčitanu amonného ( $NH_4HCO_3$ ,  $M_r$  79,1) a amoniumkarbamatu ( $H_2NCOONH_4$ ,  $M_r$  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 oranžové 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%. Nasycený 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).

**Uhličitan sodný RSI**

Roztok uhličitanu sodného bezvodého R (20 g/l) v hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS.

**Uhličitan strontnatý R**SrCO<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 147,6

CAS 1633-05-2

Bílý krystalický prášek.

Obsahuje nejméně 99,5 % SrCO<sub>3</sub>.**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 C<sub>9</sub> o velikosti částic 400 µm až 850 µm.*Hustota*. 0,72.*Specifický povrch*. 10 m<sup>2</sup>/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**C<sub>11</sub>H<sub>24</sub>*M<sub>r</sub>* 156,3

CAS 1120-21-4

Bezbarvá čirá kapalina, prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s ethanolem a etherem.

*d*<sub>20</sub><sup>20</sup>: 0,740 až 0,742.*n*<sub>D</sub><sup>20</sup>: asi 1,4172.*TV*: asi 195 °C.**Uridin R**C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>*M<sub>r</sub>* 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**NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>*M<sub>r</sub>* 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 kyselě.

**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.

**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 *hydrogenuhličitanu 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%.

**Vinylacetat 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<sub>2</sub>H<sub>3</sub>ClM<sub>r</sub> 62,5

CAS 75-01-4

Bezbarvý plyn, těžce rozpustný v organických rozpouštědlech.

**Vinylpolymer oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R**

Kulovité částice (5 µm) kopolymeru vinylalkoholu navázaného na oktadecylsilan. Obsahuje 17 % uhlíku.

**2-Vinylpyridin R**C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>NM<sub>r</sub> 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<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NOM<sub>r</sub> 111,1

CAS 88-12-0

Obsahuje nejméně 99,0 % sloučeniny C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO.

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:

- kolony z křemenného skla 30 m dlouhé, vnitřního průměru 0,5 mm a vnitřní stěnou pokrytou vrstvou makrogolu 20 000 R; tloušťka vrstvy je 1,0 µm,
- helia 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 C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>NO se stanoví metodou vnitřní normalizace.

**Violet' krystalová R**C<sub>25</sub>H<sub>30</sub>ClN<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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 RS**

0,50 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 měrným 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.

**Voda prostá oxidu uhličitého R**

Je to voda R několik minut vařená a při chlazení a uchovávání 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<sub>2</sub> *M<sub>r</sub>* 2,016 CAS 1333-74-0

Obsahuje nejméně 99,95 % (V/V) H<sub>2</sub>.

**Vyvíjecí roztok RS**

2,5 ml roztoku kyseliny citronové R (20 g/l) a 0,27 ml formaldehydu R se zředí vodou R na 500,0 ml.

**Wolframan sodný R**

Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O *M<sub>r</sub>* 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%.

**Xanthydrol R**

C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub> *M<sub>r</sub>* 198,2 CAS 90-46-0  
9-Xanthenol

Obsahuje nejméně 90,0 % C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>. Dodává se také ve formě methanolického roztoku obsahujícího 90 g/l až 110 g/l xanthydrolu.

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 xanthydrolu 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 xanthydrolu.

Uchovává se chráněný před světlem. Methanolický roztok se uchovává v malých zatavených ampulích a v případě potřeby se před použitím zfiltruje.

**Xanthydrol R1**

Vyhovuje požadavkům uvedeným v odstavci *Xanthydrol R* a následujícímu dodatečnému požadavku.

Obsahuje nejméně 98,0 % C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>.



**Xanthyrol RS**

K 0,1 ml roztoku *xanthyrolu 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**

Viz článek *Xylosum*.

**Zeleň bromkresolová R** $C_{21}H_{14}Br_4O_5S$  $M_r$  698

CAS 76-60-8

4,4'-(3H-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<sub>23</sub>H<sub>25</sub>ClN<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 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<sub>26</sub>H<sub>33</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 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 opláchně a ihned vysuší.

*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, 65,4).

Šedý velmi jemný prášek, dobře rozpustný v kyselině chlorovodíkové zředěné RS.

**Zinek R**

Zn

A, 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 fialové R a 0,30 g kyseliny aminohippurové R se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100 ml.

**Zkoumadlo aminomethylalazarindioctové 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 aminomethylalazarindioctové 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 aminomethylalazarindioctového 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 draselno-sodného R se rozpustí v 500 ml vody R. Přidá se 300 ml roztoku hydroxidu sodného R (100 g/l) prostého uhlíčanů 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 uje při 500 g<sub>n</sub> a supernatantní kapalina se dekantuje. Zbytek se vysuší ve vakuu, 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 nejdéle 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.

**Zkoumadlo ftaldialdehydové R**

2,47 g kyseliny borité R se rozpustí v 75 ml vody R, pH se upraví 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 pH se upraví 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 jodoplatičité 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.

**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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)*. 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 *ilumivého roztoku o pH 5,5* (roztok b). V čas potřeby se smíchají stejné objemové díly 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.

#### **Zkoumadlo resorcinolové R**

K 80 ml *kyseliny chlorovodíkové RS* 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 100,0 ml. Roztok se připraví nejméně 4 h před použitím.

Uchovává se při teplotě 2 °C až 8 °C a je použitelné jeden týden.

#### **Zkoumadlo s dusičnanem stříbrným R**

Ke směsi 3 ml *amoniaku 26% R* a 40 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* se přidá po kapkách a za míchání 8 ml roztoku *dusičnanu stříbrného R* (200 g/l). Zředí se *vodou R* na 200,0 ml.

#### **Zkoumadlo s kyselinou mléčnou R**

*Roztok A.* K 60 ml *kyseliny mléčné R* se přidá 45 ml předem zfiltrované *kyseliny mléčné R* nasycené za studena *červení sudanovou G R*. Kyselina mléčná se bez zahřátí sytí pomalu, a proto je třeba použít nadbytek barviva.

*Roztok B.* 10 ml nasyceného roztoku *anilinu R*; roztok se zfiltruje.

*Roztok C.* 75 mg *jodidu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 70 ml. Přidá se 10 ml *lihu 96% R* a 0,1 g *jodu R* a protřepe se.

Roztoky A a B se smíchají a přidá se roztok C.

#### **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 směsí 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 *hověziho 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.

**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.

**Žlutí dimethylová R**

$C_{14}H_{15}N_3$   $M_r$  225,3 CAS 60-11-7

Colour Index 11020, Schultz 28

4-Dimethylaminoazobenzen; žlutí 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  $\mu$ 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.

**Žlutí dimethylová a modří oracetová RS**

10 mg *žlutí dimethylové R* a 10 mg *modří oracetové B R* se rozpustí ve 300 ml *dichlormethanu R*.

**Žlutí 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.

**Žlutí 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 žlutí 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.

*Chromatografie (2.2.27).* Zkouší se za podmínek předepsaných v článku *Plantaginis folium*. Na vrstvu se nanese 20  $\mu$ 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 hořčičku (10  $\mu$ g Mg/ml) a 1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l VS*. V porovnání se současně stejným způsobem připraveným kontrolním roztokem bez přidání roztoku hořčičku se směs zbarví zřetelně růžově.

**4.1.2 Základní roztoky pro limitní stanovení nečistot****Roztok acetaldehydu (100  $\mu$ g  $C_2H_4O$ /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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok acetaldehydu (100  $\mu$ g  $C_2H_4O$ /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 se zředí *vodou R* na 500,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok amonia (100  $\mu$ g  $NH_4$ /ml)**

Množství *chloridu amonného R* odpovídající 0,741 g  $NH_4Cl$  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  $\mu$ g  $NH_4$ /ml)**

Množství *chloridu amonného R* odpovídající 0,741 g  $NH_4Cl$  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  $\mu$ g  $NH_4$ /ml)**

2,0 ml roztoku amonia (2,5  $\mu$ g  $NH_4$ /ml) se zředí *vodou R* na 5,0 ml. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok antimonu (1  $\mu$ g 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 připravují v čas potřeby.

**Roztok arsenu (10  $\mu$ g 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  $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  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 siranu draselného R odpovídající 0,446 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  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 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. Přípravuje se v čas potřeby.

**Roztok dusičnanů (100 µg  $\text{NO}_3$ /ml)**

Množství dusičnanu draselného R odpovídající 0,815 g  $\text{KNO}_3$  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  $\text{NO}_3$ /ml)**

1,0 ml roztoku dusičnanů (100 µg  $\text{NO}_3$ /ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Přípravuje se v čas potřeby.

**Roztok dusičnanů (2 µg  $\text{NO}_3$ /ml)**

1,0 ml roztoku dusičnanů (10 µg  $\text{NO}_3$ /ml) se zředí vodou R na 5,0 ml. Přípravuje 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. Přípravuje se v čas potřeby.

**Roztok formaldehydu (5 µg  $\text{CH}_2\text{O}$ /ml)**

Množství formaldehydu R odpovídající 1,0 g  $\text{CH}_2\text{O}$  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 PO<sub>4</sub>/ml)**

Množství *dihydrogenfosforečnanu draselného R* odpovídající 0,716 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 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 C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ml)**

Do 100ml odměrné baňky se odváží množství *glyoxalu RS* odpovídající 0,200 g C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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)<sub>6</sub>/ml)**

Množství *hexakynoželezitanu draselného R* odpovídající 0,78 g K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] 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 hexakynoželeznatanu (100 µg Fe(CN)<sub>6</sub>/ml)**

Množství *hexakynoželeznatanu draselného R* odpovídající 0,20 g K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] · 3H<sub>2</sub>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 hliníku (200 µg Al/ml)**

Množství *síranu draselno-hlinitého R* odpovídající 0,352 g KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>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 µg 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 Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> · 9H<sub>2</sub>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 KAl(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>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 MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>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. Připravuje 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 (1 mg Cr/ml)**

Množství dichromanu draselného *R* odpovídající 2,83 g  $K_2Cr_2O_7$  se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

**Roztok chromu (100 µg Cr/ml)**

Množství dichromanu draselného *R* odpovídající 0,283 g  $K_2Cr_2O_7$  se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 1000,0 ml.

**Roztok chromu (0,1 µg Cr/ml)**

1,0 ml roztoku chromu (100 µg Cr/ml) se zředí vodou *R* na 1000,0 ml. Připravuje 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok mědi (1 mg Cu/ml)**

Množství síranu měďnatého *R* odpovídající 0,393 g  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  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. Připravuje 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok niklu (10 µg Ni/ml)**

Množství síranu nikelnatého *R* odpovídající 4,780 g  $NiSO_4 \cdot 7H_2O$  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. Připravuje 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok olova (1 mg Pb/ml)**

Množství dusičnanu olovnatého *R* odpovídající 0,400 g  $Pb(NO_3)_2$  se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 250,0 ml.

**Roztok olova (100 µg Pb/ml)**

1,0 ml roztoku olova (1 mg Pb/ml) se zředí vodou R na 10,0 ml. Připravuje 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. Připravuje 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. Připravuje 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. Připravuje 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. Připravuje 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 (20 µg Pd/ml)**

0,333 g chloridu palladnatého R se rozpustí ve 2 ml teplé kyseliny chlorovodíkové R. Tento roztok se zředí směsí stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vody R na 1000,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 10,0 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 HgCl<sub>2</sub> se rozpustí v 50 ml kyseliny dusičné zředěné RS a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

**Roztok rtuti (10 µg Hg/ml)**

Množství chloridu rtuťnatého R odpovídající 0,338 g HgCl<sub>2</sub> se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 250,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí vodou R na 100,0 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. 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  $\text{H}_2\text{SeO}_3$  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  $\text{SO}_4$ /ml)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  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  $\text{SO}_4$ /ml)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  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  $\text{SO}_4$ /ml) (1)**

Množství *síranu draselného R* odpovídající 0,181 g  $\text{K}_2\text{SO}_4$  se rozpustí v *lihu R 30% (V/V)* a zředí se jím na 100,0 ml. V čas potřeby se 1,0 ml tohoto roztoku zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

**Roztok siřičitanů (1,5 µg  $\text{SO}_2$ /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  $\text{NaCl}$  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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok stroncia (10 mg Sr/ml)**

Množství *uhličitanu strontnatého R* odpovídající 1,6849 g  $\text{SrCO}_3$  se překryje *vodou R*. Opatrně se přidává *kyselina chlorovodíková R* do rozpuštění pevné fáze a není-li zřejmé další šumění. Zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

**Roztok stříbra (5 µg Ag/ml)**

Množství *dusičnanu stříbrného R* odpovídající 0,790 g  $\text{AgNO}_3$  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 thallia (10 µg Tl/ml)**

Množství *síranu thallného R* odpovídající 0,1235 g  $\text{Tl}_2\text{SO}_4$  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.

**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  $\text{NH}_4\text{VO}_3$  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  $\text{CaCO}_3$  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  $\text{CaCO}_3$  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  $\text{CaCl}_2$  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 líhu**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 2,50 g  $\text{CaCO}_3$  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 *líhem 96% R* na 10,0 ml.

**Roztok vápníku (10 µg Ca/ml)**

Množství *uhličitanu vápenatého R* odpovídající 0,624 g  $\text{CaCO}_3$  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  $\text{ZnO}$  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.

**Roztok zinku (10 µg Zn/ml)**

1 ml roztoku zinku (100 µg Zn/ml) se zředí *vodou R* na 10,0 ml. Připravuje 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. Připravuje se v čas potřeby.

**Roztok zirkonu (1 mg Zr/ml)**

Množství *dusičnan-oxidu zirkoničitého R* odpovídající 0,293 g  $\text{ZrO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  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 objemových dílů *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  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  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  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  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.

**Základní roztok pro atomovou spektrometrii 1,000 g/l**

Tento standardní roztok se obvykle připravuje v kyselém prostředí z prvku nebo soli prvku, jehož minimální obsah je nejméně 99,0 %. Množství v litru roztoku je větší než 0,995 g během celé doby použitelnosti, pokud lahvička nebyla otevřena. Výchozí látka (prvek nebo sůl) a vlastnosti konečného rozpouštědla (povaha, kyselost atd.) jsou uvedeny v označení na obalu.

**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 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) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 2,5 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)**

Viz odstavec *Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,0*.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,0**

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.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,0 (1)**

3,40 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*. pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,0 a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**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 tohoto 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 podle 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 % RS* 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.

**Tlumivý roztok s octanem sodným o pH 4,5**

63 g octanu sodného bezvodého R se rozpustí ve vodě R, přidá se 90 ml kyseliny octové R. pH (2.2.3) se upraví na hodnotu 4,5 a zředí se vodou R na 1000,0 ml.

**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 dithizonu R (0,10 g/l) v chloroformu R. Potom se třepe s chloridem uhličitým R do získání bezbarvé organické vrstvy. Vodná vrstva se zfiltruje, 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 pH se upraví roztokem kyseliny octové RS (6 g/l) nebo hydroxidem draselným 0,1 mol/l RS na hodnotu 5,0 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*, je-li třeba, pH (2.2.3) se upraví *amoniakem 17,5% RS* 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*, je-li třeba, pH (2.2.3) se upraví *diethylaminem R* nebo *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu  $6 \pm 0,05$  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*. Je-li třeba, pH (2.2.3) se upraví *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* nebo *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu 6,4 a 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) *hydroxidem sodným koncentrovaným RS*.

**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 *siranu 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 R* (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*, 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 hodnotu 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 *dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS* se smíchá se 148,2 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (8,0 g/l). Je-li třeba, upraví se 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 hodnotu  $7,0 \pm 0,1$ .

**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*. pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* nebo *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 7,0, zředí se *vodou R* na 1000,0 ml a promíchá se.

**Tlumivý roztok fosforečnanový o pH 7,0 (4)**

28,4 g *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* a 18,2 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 500,0 ml.

**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 (0,03 mol/l)**

5,2 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve 900 ml *vody pro chromatografii R*. pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu  $7,0 \pm 0,1$  a zředí se *vodou pro chromatografii R* na 1000,0 ml.

**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 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 RS* 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).

**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 barbitolový 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 o pH 7,4**

Viz odstavec *Tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 7,4*.

**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*, pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou 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).

**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*, pH (2.2.3) se upraví roztokem *hydroxidu draselného R* (300 g/l) na hodnotu 7,5 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*. pH se upraví *hydroxidem sodným RS* na hodnotu 7,5 a zředí 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*, pH (2.2.3) se upraví *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*. pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**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*, pH (2.2.3) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

**Tlumivý roztok o pH 8,0 (1)**

20 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou* 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, pH (2.2.3) se upraví kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS na hodnotu 8,4 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, pH (2.2.3) se upraví kyselinou chlorovodíkovou R na hodnotu 8,4 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, pH (2.2.3) se upraví 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, pH (2.2.3) se upraví hydroxidem draselným 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.

**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 cyklohexylendinitrilotetraoctové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml. pH (2.2.3) se upraví roztokem hydroxidu sodného R (335 g/l) na hodnotu 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. pH (2.2.3) se upraví amoniakem 26% R na hodnotu 7,0 a zředí se vodou destilovanou R na 1000,0 ml.

Roztok (b). 132 g hydrogenufosforečnanu 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. pH (2.2.3) se upraví amoniakem 26% R na hodnotu 6 až 7 a zředí se vodou destilovanou R na 1000,0 ml.

Smíchají se stejné objemové díly 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<sub>3</sub> $M_r$  167,0

CAS 7758-01-2

Připravuje se překrytím bromičnanu draselného R z vroucí vody R. Krystaly se oddělí a suší se při 180 °C do konstantní hmotnosti.

**Hydrogenftalan draselný VR**C<sub>8</sub>H<sub>5</sub>KO<sub>4</sub> $M_r$  204,2

CAS 877-24-7

Hydrogenftalan draselný R se překrytím 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** $C_7H_6O_2$  $M_r$  122,1

CAS 65-85-0

Připravuje se sublimací *kyseliny benzoové R* ve vhodném zařízení.

**Kyselina sulfanilová VR** $C_6H_7NO_3S$  $M_r$  173,2

CAS 121-57-3

Připravuje se překrytím *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 zfiltruje 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, 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 %.

Stanovení titru odměrných roztoků se provádí postupy uvedenými dále. Když se odměrný roztok použije pro stanovení, ve kterém se určí bod ekvivalence elektrochemickým postupem (např. ampérometricky 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.

Zředěnější odměrné roztoky se připravují z roztoků popsaných 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 člancích 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 *vodou R* 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.** 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).

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 přenese do 500ml kuželové baňky a zředí se vodou R na 200 ml. Dále se přidá asi 50 mg oranžové xylolové 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 (2,5 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.

**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 0,5 mol/l VS**

500,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 1000,0 ml.

*Stanovení titru.* Provede se způsobem popsáním v odstavci Hydroxid sodný 1 mol/l VS za použití kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS.

**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 popsáním 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 thymolfaleinu RS jako indikátoru. Titr se stanoví v čas potřeby.

1 ml hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS odpovídá 12,21 mg C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>.

**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 mg faleinpurpuru 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 kyselinou chloristou R na hodnotu 3 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.

**Chloristan barnatý 0,025 mol/l VS**

500,0 ml chloristanu barnatého 0,05 mol/l VS se zředí tlumivým roztokem o pH 3,7 na 1000,0 ml.

**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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

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<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

Uchovává se chráněn před světlem.

#### **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 2 min stát. 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 upráškováného jodu R předem vysušeného nad oxidem fosforečným R. Míchá se do rozpuštění jodu (asi 30 min). Roztok se ochladí na -10 °C a rychle za stálého míchání se přidá 190 g kapalného oxidu siřičitého R, přičemž teplota nesmí překročit 30 °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.

#### **Karbethopendeciniumbromid 0,01 mol/l VS**

Množství karbethopendeciniumbromidu R odpovídající 4,2250 g C<sub>21</sub>H<sub>44</sub>BrNO<sub>2</sub>, vysušeného při 105 °C do konstantní hmotnosti, se rozpustí v odměrné baňce ve vodě R a zředí 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<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

#### **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 *uhlčitanu 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 0,5 mol/l VS**

500,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l VS* se zředí *vodou R* na 1000,0 ml.

*Stanovení titru.* Asi 1,0900 g *trometamolu R* se rozpustí ve 30,0 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml *červeně methylové RS* a titruje se roztokem kyseliny chlorovodíkové do fialově červeného zbarvení. Faktor  $f$  se vypočítá podle vzorce:

$$f = \frac{q}{m \cdot a},$$

v němž značí:

$q$  - navážku *trometamolu R* v gramech,

$m$  - množství *trometamolu* v gramech, odpovídající 1 mililitru odměrného roztoku,

$a$  - spotřebu připraveného roztoku při titraci v ml.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS* odpovídá 0,06057 g  $C_4H_{11}NO_3$ .

#### **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 navážkou 0,100 g *uhlčitanu 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*.

#### **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 *uhlčitanu sodného VR* se rozpustí v 50 ml *vody R*, přidá se 0,1 ml *oranže 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  $Na_2CO_3$ .

**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 navázkou 0,100 g uhličitanu sodného VR, který se rozpustí ve 20 ml vody R.

1 ml kyseliny sírové 0,05 mol/l VS odpovídá 5,30 mg Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.

**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 C<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>.

**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 čersvě 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<sub>7</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>.

**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<sub>4</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 12H<sub>2</sub>O.

**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 RS 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 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.

**N****Seznam referenčních látek použitých v národních člancích***Amara tinctura CRL**5-Aminoimidazol-4-karboxamid hydrochlorid CRL (AICA)**2-Azahypoxanthin CRL (AHX)**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**Nicergolin CRL**Ornidazol CRL**Suxamethoniumjodid CRL**Silybinin CRL**Trimekainiumchlorid CRL**Troxerutin CRL**Xanthinolumnikotinat CRL*

“

23. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, kapitola 5.1, kapitola 5.1.4 zní:

”

#### 5.1.4 Mikrobiologická jakost léčivých přípravků

2000



*Tato stať se uvádí jen pro informaci a jako vodítko; netvoří závaznou součást lékopisu.*

Při výrobě, balení, uchovávání a distribuci léčivých přípravků se k zajištění jejich mikrobiologické jakosti použijí vhodné prostředky. Léčivé přípravky mají vyhovovat dále uvedeným požadavkům.

##### Kategorie 1

*Přípravky, u nichž je v platném článku na lékovou formu předepsána sterilita, nebo jiné přípravky, jež jsou označeny jako sterilní.*

Zkouška na sterilitu (2.6.1).

##### Kategorie 2

*Přípravky k místnímu použití nebo k použití v dýchacím ústrojí s výjimkou přípravků, u nichž je předepsána sterilita a transdermální náplasti.*

Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12). Nejvýše  $10^2$  mikroorganismů (aerobních bakterií a hub) v gramu nebo v mililitru nebo náplasti (včetně adhezivní a zadní vrstvy).

Transdermální náplasti: nepřítomnost enterobakterií a některých jiných gramnegativních bakterií stanovená z jedné náplasti (včetně adhezivní a zadní vrstvy). Jiné přípravky nejvýše  $10^1$  enterobakterií a některých jiných gramnegativních bakterií v gramu nebo v mililitru (2.6.13).

Nepřítomnost *Pseudomonas aeruginosa* stanovená v gramu (1 g), v mililitru (1 ml) nebo v jedné náplasti (včetně adhezivní a zadní vrstvy) (2.6.13).

Nepřítomnost *Staphylococcus aureus* stanovená v gramu (1 g), v mililitru (1 ml) nebo v jedné náplasti (včetně adhezivní a zadní vrstvy) (2.6.13).

##### Kategorie 3

A. *Přípravky k perorálnímu a rektálnímu použití.*

Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12). Nejvýše  $10^3$  aerobních bakterií a nejvýše  $10^2$  hub v gramu nebo v mililitru.

Nepřítomnost *Escherichia coli* (v 1 g nebo v 1 ml) (2.6.13).

B. *Přípravky k perorálnímu podání obsahující suroviny přírodního (živočišného, rostlinného nebo nerostného původu), které nelze protimikrobně ošetřit a pro něž oprávněná autorita připouští mikrobiologické znečištění suroviny převyšující  $10^3$  živých mikroorganismů v gramu nebo v mililitru. Nevztahuje se na přípravky z rostlin popsané ve 4. kategorii.*

Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12). Nejvýše  $10^4$  bakterií a nejvýše  $10^2$  hub v gramu nebo v mililitru.

Nejvýše  $10^2$  enterobakterií a některých jiných gramnegativních bakterií v gramu nebo v mililitru (2.6.13).

Nepřítomnost *Salmonella* (v 10 g nebo v 10 ml) (2.6.13).

Nepřítomnost *Escherichia coli* (v 1 g nebo v 1 ml) (2.6.13).

Nepřítomnost *Staphylococcus aureus* (v 1 g nebo v 1 ml) (2.6.13).

##### Kategorie 4

*Přípravky z rostlin složené jen z jedné nebo více rostlinných drog (celých, rozdrobněných nebo práškových).*

**A. Přípravky z rostlin, k nimž se před použitím přidává vroucí voda.**

Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12). Nejvýše  $10^7$  bakterií a nejvýše  $10^5$  hub v gramu nebo v mililitru.

Nejvýše  $10^2$  *Escherichia coli* v gramu nebo v mililitru (2.6.13), za použití vhodných zředění.

**B. Přípravky z rostlin, k nimž se před použitím vroucí voda nepřidává.**

Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12). Nejvýše  $10^5$  bakterií a nejvýše  $10^4$  hub v gramu nebo v mililitru.

Nejvýše  $10^3$  enterobakterií a některých jiných gramnegativních bakterií v gramu nebo v mililitru (2.6.13).

Nepřítomnost *Escherichia coli* (v 1 g nebo v 1 ml) (2.6.13).

Nepřítomnost *Salmonella* (v 10 g nebo v 10 ml) (2.6.13).

“

24. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, kapitola 5.2, se za kapitolu 5.2.7 doplňuje kapitola 5.2.8, která zní:

”

**5.2.8. Minimalizace rizika přenosu původců zvířecí spongiformní encefalopatie léčivými přípravky<sup>1)</sup>**

1. Obecné poznámky
2. Rozsah obecné stati
3. Výroba (včetně sběru výchozích materiálů)
  - 3.1 Zvířata jako zdroj materiálu
  - 3.2 Části zvířecích těl, tělní tekutiny a sekrety jako výchozí materiály
  - 3.3 Validace postupu
  - 3.4 Stáří zvířat
  - 3.5 Specifické výrobky
4. Závěrečné poznámky

**1. Obecné poznámky**

Přenosné spongiformní encefalopatie (TSE) zahrnují scrapie ovcí a koz, syndrom chronického chřadnutí jelenů a losů, bovinní spongiformní encefalopatii (BSE) skotu, stejně jako kuru a Creutzfeldtovu-Jakobovu chorobu (CJD) lidí. Původci těchto onemocnění se pomnožují v nakažených jedincích bez známek infekce prokazatelné *in vivo* dostupnými diagnostickými metodami. Po uplynutí inkubační doby, která může trvat až několik let, vyvolá původce onemocnění končící smrtí. Není znám způsob léčby.

Diagnóza je založena na klinických příznacích s posmrtným histopatologickým potvrzením charakteristických mozkových lézí nebo detekcí fibrilárních bílkovin specifických pro spongiformní encefalopatie. Pro potvrzení se rovněž může použít prokázání infekce inokulací suspektní tkáně na vnímavých cílových druzích nebo laboratorních zvířatech, inkubační doba je však několik měsíců až roků. Byl zaznamenán iatrogenní přenos spongiformních encefalopatií. Náhodný přenos scrapie u ovcí způsobilo použití vakcíny proti louping ill připravené ze směsi formaldehydem ošetřeného mozku a sleziny ovcí, do níž se nedopatřením dostaly tkáně ovce nakažené scrapie. U člověka byly popsány případy přenosu CJD, které se přisuzují opakovanému parenterálnímu podání růstového hormonu a gonadotropinu získaných

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 48 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

z hypofýz zemřelých. Případy CJD byly také přisouzeny použití kontaminovaných nástrojů v mozkové chirurgii a při transplantacích lidských meningů a rohovky.

Informace o vlastnostech těchto původců jsou omezené. Jsou extrémně odolné vůči většině chemických a fyzikálních postupů inaktivujících běžné viry a nevyvolávají detegovatelnou imunitní odpověď. Existují přirozené bariéry, které omezují mezidruhové šíření infekce, ale za určitých okolností mohou být překonány. To obvykle závisí na kmenech, dávce, cestě expozice a velikosti druhové bariéry. Studie na laboratorních zvířatech ukázaly, že nejúčinnější cestou je intracerebrální inokulace.

Lidé byli přirozeně vystavováni původci scrapie ovci po nejméně 200 let, ale navzdory rozsáhlým epidemiologickým studiím nebyly známky přenosu scrapie na člověka zjištěny. BSE byla poprvé rozpoznána ve Velké Británii v roce 1986. Bylo postiženo velké množství skotu a jednotlivých stád. Je jasné, že BSE je infekce přenosná krmivem. V ostatních zemích se vyskytly ojedinělé případy BSE buď u zvířat dovezených z Velké Británie, nebo u tuzemských zvířat. Tak, jak se liší biologické vlastnosti původce BSE od vlastností původce scrapie, je možné si představit i odlišnosti druhových bariér. Existují přesvědčivé důkazy, že nová varianta CJD je způsobena původcem, který je zodpovědný za BSE u skotu.

Výskyt nové variantní formy lidské CJD vyvolal další znepokojení z možného přenosu původce BSE na člověka. Se skutečnou obezřetností je třeba postupovat v případech, kdy jsou pro výrobu léčivých přípravků používány biologické materiály od druhů postižených těmito chorobami jinak, než po experimentální čelenži, především od bovinních druhů.

Pro minimalizaci rizika kontaminace by se tudíž mělo postupovat podle níže uvedených doporučení. Přesto, že je tato stať obecná, mělo by se zdůraznit, že možná rizika spojená s podáváním léčivých přípravků mají být posuzována samostatně podle specifických okolností a dostupných znalostí.

## 2. Rozsah obecné státi

Tato obecná stať bere v úvahu důsledky TSE pro léčivé přípravky a zaměřuje se na opatření k minimalizaci rizika přenosu jejich použitím. Týká se to materiálů živočišného původu, zvláště materiálů pocházejících z přežvýkavců použitých pro výrobu:

- léčivých látek,
- pomocných látek,
- surovin nebo vstupních materiálů a zkoumadel používaných ve výrobě (např. hovězí sérový albumin, enzymy, živná média, včetně médií určených pro přípravu bank pracovních buněk nebo nových bank základních buněk).

Tato stať se také týká materiálů, které přicházejí do přímého styku s výrobním zařízením a které jsou proto možnými zdroji kontaminace, např. ve zkušebních médiích používaných při validaci výrobních prostor a zařízení.

Tato stať se vztahuje na materiál ze všech přežvýkavců. Navržená opatření platí zvláště pro bovinní materiál s možností přizpůsobení na materiál z ovci, koz a ostatních druhů, u kterých je známa vnímavost k TSE, vyvolaná jinak než po experimentální čelenži.

Tato stať by se měla číst spolu s různými rozhodnutími Komise Evropského Společenství postupně zaváděnými od roku 1991. Kde je to vhodné, jsou odkazy uvedeny přímo v textu.

## 3. Výroba (včetně sběru výchozích materiálů)

Kde mají výrobci možnost si vybrat mezi použitím materiálu z přežvýkavců nebo nepřežvýkavců, má přednost použití materiálu z nepřežvýkavců. Nahradit zdroje materiálu z přežvýkavců materiálem jiných druhů, o nichž je známo, že mohou být nakaženy TSE nebo které mohou být experimentálně nakaženy perorální cestou, není normálně přijatelné.

V žádosti o registraci léčivého přípravku má žadatel uvést údaje o zdroji materiálů (včetně geografického původu zvířat) a ostatních opatřeních vedoucích k minimalizaci rizika přenosu původců TSE. Výrobce léčiv by měl provést audit u dodavatele těchto materiálů, aby se ujistil, že zdroje těchto materiálů i manipulace s nimi jsou v souladu s touto obecnou státi a s odpovídajícími systémy kontroly jakosti.

Riziko přenosu původců infekce může být velmi sníženo kontrolou určitého počtu parametrů.

K těmto parametrům patří:

- zdroj zvířat,
- povaha živočišné tkáně používané ve výrobě,
- výrobní postup(y).

Žádný jednotlivý přístup sám nezajistí bezpečnost výrobku. Z toho důvodu je třeba, aby se pro minimalizaci rizika kontaminace tři výše uvedené přístupy vzájemně doplňovaly.

### 3.1 Zvířata jako zdroj materiálu

Pečlivý výběr zdroje vstupních materiálů je nejdůležitějším kritériem pro zajištění bezpečnosti léčivých přípravků.

#### 3.1.1 Nejspokojivější zdroj materiálů je ze zemí, ve kterých nebyly hlášeny případy BSE a které mají:

- povinné hlášení,
- povinné klinické a laboratorní ověřování u podezřelých případů.  
Měly by být dostupné oficiální certifikace. Dále by mělo být zajištěno, že riziko infekce BSE není vnášeno následujícími faktory:
- dovoz skotu ze zemí s vysokou incidencí BSE,
- dovoz potomstva napadených samic,
- použití krmiva z masa a kostí obsahující bílkoviny přežvýkavců, které pocházejí ze zemí s vysokým i nízkým výskytem BSE nebo neznámého původu.

#### 3.1.2 Materiály mohou také pocházet ze zemí, kde byl zaznamenán nízký počet původních případů, když současně s faktory uvedenými v 3.1.1 ještě platí, že:

- těla všech uhynulých nakažených zvířat byla zničena,
- potomstvo nakažených samic nebylo použito,
- je zakázáno krmit přežvýkavce bílkovinami pocházejícími ze savců.  
Zvířata sloužící jako zdroj by se měla narodit po zavedení zákazu tohoto krmení. Pokud není datum narození zvířat známo, může být bezpečnost zdrojů zvažována z dat zavedení zákazu tohoto krmení a inkubační doby TSE.  
Stáda s ohlášenými případy výskytu BSE se nepoužívají jako zdroj vstupních materiálů.

#### 3.1.3 Nemohou být použity vstupní materiály pocházející ze zemí s vysokým výskytem BSE.

Současně s těmito opatřeními by měli žadatelé o registraci léčivého přípravku vysvětlit strategii získávání zdrojů ve vztahu ke kategoriím materiálů, k množství výchozího materiálu a k zamýšlenému použití hotových léčivých přípravků u lidí. V dodávajících zemích mohou výchozí materiály s mimořádným stupněm bezpečnosti poskytovat dobře monitorovaná stáda.

### 3.2 Části zvířecích těl, tělní tekutiny a sekrety jako výchozí materiály

U zvířat nakažených TSE mají různé orgány a sekrety různý stupeň nakažlivosti. Na základě údajů z přirozené scrapie se orgány, tkáň a tekutiny třídí do čtyř hlavních skupin, nesoucích různá potenciální rizika, jak je uvedeno v tabulce níže. Ačkoliv je nyní známo, že rozdělení nakažlivosti u skotu postiženého BSE se zdá být mnohem omezenější, mělo by se pro výběr vstupního materiálu v klasifikaci tkání a tělesných tekutin podle tabulky i dále pokračovat. Kategorie v tabulce jsou pouze indikativní a je důležité věnovat pozornost následujícím bodům:

- Klasifikace tkání uvedená v příložené tabulce je založena na titraci nakažlivosti na myších při intracerebrálním podání. V experimentálních modelech, používajících kmeny adaptované na laboratorní zvířata, se mohou vyskytnout vyšší titry a mírně odlišné třídění tkání.
- Za určitých situací může dojít ke křížové kontaminaci tkání různé kategorie nakažlivosti. Možné riziko bude ovlivněno okolnostmi, za nichž se tkáň odebírají, zejména stykem materiálu málo rizikové skupiny s materiálem ze skupiny vysoce rizikové. Křížová kontaminace některých tkání se může zvýšit, jsou-li nakažená zvířata porážena omráčením prostupujícím do mozku (upoutaný projektil) nebo když se mozek a mícha rozřezávají pilou. Riziko křížové kontaminace se sníží, jestliže se tělesné tekutiny odebírají s minimálním poškozením tkáně a buněčné složky se odstraní a jestliže se fetální krev odebírá, aniž by došlo ke kontaminaci ostatními mateřskými i fetálními tkáněmi, včetně placenty, amniotické a alantoidní tekutiny.
- Riziko způsobené křížovou kontaminací závisí na několika doplňujících se faktorech, včetně:
  - přijetí opatření k vyloučení kontaminace v průběhu odběru tkání (viz výše),
  - úrovně kontaminace (množství kontaminované tkáně),
  - postupů, jimž bude materiál vystaven v průběhu výroby.  
Výrobci mají uvést odhad výše rizika.

**Tab. 5.2.8-1** Relativní titry nakažlivosti scrapie ve tkáních a tělních tekutinách přirozeně nakažených ovcí a koz s klinickými příznaky scrapie<sup>1</sup>

<b>Kategorie I</b>	vysoká nakažlivost	mozek, mícha, (oko)
<b>Kategorie II</b>	střední nakažlivost	ileum, mízní uzliny, proximální kolon, slezina, mandle, (tvrdá plena, epifýza, placenta), mozkomíšní mok, hypofýza, nadledviny
<b>Kategorie III</b>	nízká nakažlivost	distální kolon, nosní sliznice, periferní nervy, kostní dřeň, játra, plíce, slinivka břišní, brzlík
<b>Kategorie IV</b>	nezjištěná nakažlivost <sup>2</sup>	krevní sraženiny, výkaly, srdce, ledviny, mléčná žláza, mléko, vaječníky, sliny, slinné žlázy, semenné vajíčky, krevní sérum, kosterní svalovina, varlata, štítná žláza, děloha, fetální tkáň, (žluč, kosti <sup>3</sup> , chrupavčitá tkáň, vlasy, kůže, moč)

### Validace postupu

Kontrolované zdroje jsou nejdůležitějším kritériem pro dosažení dostatečné bezpečnosti přípravků vzhledem k prokázané rezistenci původců TSE na většinu inaktivačních postupů.

Validační studie postupů na odstranění/inaktivaci jsou nesnadno interpretovatelné, neboť je nezbytné vzít v úvahu přirozené vlastnosti materiálu použitého k zátěži ve vztahu k přirozené infekci, projekt studie (včetně průběhu pokusu) a metodu detekce původce (stanovení *in vitro* nebo *in vivo*) po přidání zátěže a po ošetření. Pro vývoj a pochopení nejdůležitějších metodik validačních studií je nezbytný další výzkum. Z toho důvodu nejsou validační studie v současné době obecně požadovány. Jsou-li však ve výrobě uvedeny postupy k odstranění nebo inaktivaci původce TSE, je nutno je doložit validační studií. Validační studie jsou pro jednotlivé výrobní postupy specifické.

Kromě dílčích omezení, která jsou uvedena u TSE validačních studií a jejich interpretace, je nejméně snadné identifikovat kroky k účinnému odstranění nebo inaktivaci původce TSE v průběhu výroby biologických léčivých přípravků. Výrobci jsou podněcováni k pokračování svých výzkumů v metodách na odstraňování nebo inaktivaci, aby určili kroky/postupy, které by přispěly k bezpečnému odstranění nebo inaktivaci původců TSE.

V každém případě má, pokud možno, výrobní postup podat vhodné informace o metodách, jež jsou uvažovány pro inaktivaci nebo odstranění původce TSE.

Určité výrobní postupy mohou významně přispět ke snížení rizika kontaminace TSE, např. postupy používané při zpracování loje a jeho derivátů, viz dále.

### 3.4 Stáří zvířat

Nakažlivost TSE vzrůstá v průběhu několikaleté inkubační doby, proto je vhodnější používat jako zdroje mladá zvířata.

### 3.5 Specifické výrobky

- V mléce a jeho derivátech nejsou pravděpodobně přítomna rizika kontaminace.
- V ostatních materiálech a jejich derivátech, jako jsou srst a vlna, užívaných při výrobě alkoholů z vlny a lanolinu, nejsou při zajištění odpovídajícího sběru a zpracování pravděpodobně přítomna rizika kontaminace.
- Lůj používaný jako výchozí materiál pro výrobu lojových derivátů by měl být vyráběn důkladnou přísnou a bezpečnou metodou, jako jsou metody uvedené v mezinárodních předpisech. Lojové deriváty, jako glycerol a mastné kyseliny, které jsou vyráběny z loje jisticími postupy, byly předmětem specifického zvažování a jsou považovány za pravděpodobně neinfekční. Příklady jisticích postupů jsou:
  - transesterifikace nebo hydrolyza: nejméně 20 min při nejméně 200 °C pod tlakem (výroba glycerolu, mastných kyselin a jejich esterů),

<sup>1</sup> Tkáň uvedené v závorkách nebyly v původních studiích titrovány, ale jejich relativní nakažlivost je dána jinými údaji o spongiformních encefalopatiích. Materiály, které nejsou uvedeny, se klasifikují analogicky podle uvedených materiálů na základě jejich složení.

<sup>2</sup> V biologických zkouškách nebyla přenesena infekce při aplikaci tkáň v množství do 5 mg do mozku hlodavců.

<sup>3</sup> Pro lebky a obratle viz též bod 3.2 týkající se křížové kontaminace.

- zmýdelnění roztokem hydroxidu sodného 12 mol/l (výroba glycerolu a mýdla):
  - výroba v šaržích: nejméně 3 h při nejméně 95 °C,
  - kontinuální výroba: nejméně 8 min nebo ekvivalentní, při nejméně 140 °C a tlaku 2 barů (2000 hPa).

#### **Želatina:**

- Pro výrobu želatiny z hovězích kostí<sup>4</sup> je nutné pro dosažení bezpečnosti výrobku dodržet všechny následující parametry:
  - geografický původ zdroje zvířat,
  - lebky a míchy by měly být ze vstupního materiálu odstraněny<sup>5</sup>,
  - doporučuje se vyloučit také obratle, zvláště v závislosti na geografickém původu,
  - běžně upřednostňovanou metodou výroby je alkalický postup,
  - pro monitorování výrobních postupů a pro popis šarží (např. definice šarže, oddělení šarží, čištění mezi šaržemi ...) se mají použít systémy, jako je certifikace ISO 9000 a HACCP (analýza rizik a kritických kontrolních bodů),
  - mají se zavést vhodné postupy pro zajištění výsledovatelnosti a provést audit dodavatelů vstupních materiálů.
- Pro želatinu z hovězí kůže:
  - je třeba se vyvarovat křížové kontaminaci s možným infekčním materiálem.Výrobci mají předložit odhad rizika.

#### **Závěrečné poznámky**

Odhad rizika spojeného s TSE vyžaduje pečlivé zvážení všech citovaných parametrů a zejména u přípravků vyráběných farmaceutickým průmyslem se má vyloučit použití materiálů ze zvířat, o nichž je známo, že jsou vnímavá na TSE (jinak než experimentální čelenží). Přijatelnost jednotlivých léčivých přípravků, které tyto materiály obsahují nebo které mohou takové materiály v důsledku výroby obsahovat, bude záviset na řadě faktorů, včetně:

- zdokumentování a zaznamenání zdroje zvířat,
- povahy zvířecích tkání použitých ve výrobě,
- postupu (postupů) výroby,
- způsobu podání,
- množství tkáně používané pro léčivé přípravky,
- nejvyšší terapeutické dávky (denní dávky a trvání léčby),
- zamýšleného užití výrobku.

Výrobci léčiv a výrobci léčivých přípravků z materiálů živočišného původu jsou odpovědní za výběr a ověření přiměřených opatření. V úvahu se musí vzít stav vědy a technologie.

Nicméně posláním této obecné státi je osvětlit, že potenciální rizika spojená s daným léčivým přípravkem se mají individuálně posuzovat na základě specifických okolností a současných znalostí.

Tato doporučení se mají také použít při posuzování jednotlivých výrobků na principu hodnocení rizika a užitku.

“

<sup>4</sup> Za výchozí materiál jsou považovány kosti před odmaštěním.

<sup>5</sup> Budoucí geografické rozšíření BSE/TSE nelze předpovědět. Mohou nastat jakékoliv změny v geografickém rozšíření BSE/TSE podle nejhoršího scénáře se stažením léčivých přípravků obsahujících želatinu. Vzhledem k tomu, že želatinu obsahuje velký počet léčivých přípravků jako látku pomocnou, a k délce doby, která uplyne u želatiny od výroby do konce doby použitelnosti léčivých přípravků, jakékoliv vyřazení by muselo mít dramatické důsledky pro zásobování základními léčivými přípravky. Proto by měly být lebky a mícha odstraňovány z výchozích materiálů pro želatinu z hovězích kostí, ať už je geografický původ zdroje zvířat jakýkoliv.

25. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, kapitola 5.3 zní:

”

## 5.3 Statistické analýzy výsledků biologických zkoušek



Obsah

### 1 Úvod

1.1 Obecný plán zkoušky a přesnost

### 2 Náhodnost a nezávislost jednotlivých ošetření

### 3 Zkoušky závislé na kvantitativní odpovědi

3.1 Statistické modely

3.1.1 Obecné principy

3.1.2 Rutinní zkoušky

3.1.3 Výpočty a omezení

3.2 Model rovnoběžnosti

3.2.1 Úvod

3.2.2 Plány zkoušky

3.2.2.1 Úplné znáhodnění

3.2.2.2 Náhodné bloky

3.2.2.3 Latinské čtverce

3.2.2.4 Křížová zkouška

3.2.3 Analýza rozptylu

3.2.4 Test validity

3.2.5 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

3.2.6 Chybějící hodnoty

3.3 Model poměru sklonů

3.3.1 Úvod

3.3.2 Plán zkoušky

3.3.3 Analýza rozptylu

3.3.3.1 Plán ( $hd + 1$ )

3.3.3.2 Plán ( $hd$ )

3.3.4 Test validity

3.3.5 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

3.3.5.1 Plán ( $hd + 1$ )

3.3.5.2 Plán ( $hd$ )

### 4 Kvantální zkoušky

4.1 Úvod

4.2 Probitová metoda

4.3.1 Zapisování výsledků

4.3.2 Testy validity

4.3.3 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

4.3.4 Chybné zkoušky

4.3 Logitová metoda

4.4 Jiné tvary křivek

4.5 Medián efektivní dávky

### 5 Příklady

5.1 Model rovnoběžnosti



- 5.1.1 Dvoudávková vícenásobná zkouška úplně znáhodněná
- 5.1.2 Třídávková zkouška s latinskými čtverci
- 5.1.3 Třídávková zkouška s náhodnými bloky
- 5.1.4 Dvojitě křížová zkouška
- 5.2 Model poměru sklonů
  - 5.2.1 Úplně znáhodněný plán (0,3,3)
  - 5.2.1 Úplně znáhodněný plán (0,4,4,4)
- 5.3 Kvantální zkoušky
  - 5.3.1 Probitová analýza, test přípravku proti referenčnímu vzorku
  - 5.3.2 Logitová analýza a jiné typy analýzy testu přípravku proti referenčnímu vzorku
  - 5.3.3 Stanovení  $ED_{50}$  přípravku pomocí probitové metody
- 6 **Kombinace výsledků zkoušky**
  - 6.1 Úvod
  - 6.2 Vážený průměr výsledků zkoušek
    - 6.2.1 Výpočet váhových koeficientů
    - 6.2.2 Homogenita odhadů účinnosti
    - 6.2.3 Výpočet vážených průměrů a mezi spolehlivosti
    - 6.2.3 Vážený průměr a meze spolehlivosti založené na vnější a vnitřní individuální variabilitě zkoušky
  - 6.3 Nevážená kombinace výsledků zkoušek
  - 6.4 Příklad vážené průměrné účinnosti a jejích mezi spolehlivosti
- 7 **Další postupy**
  - 7.1 Obecný lineární model
  - 7.2 Heterogenita rozptylů
  - 7.3 Odlehlá pozorování a robustní metody
  - 7.4 Korelace chyb
- 8 **Tabulky a algoritmy**
  - 8.1 Tabulka kritických hodnot  $F$  rozdělení
  - 8.2 Tabulka kritických hodnot  $t$  rozdělení
  - 8.3 Tabulka kritických hodnot  $\chi^2$ -rozdělení
  - 8.4 Tabulka kritických hodnot  $\Phi$ -rozdělení
  - 8.5 Náhodné permutace
  - 8.6 Latinské čtverce
- 9 **Slovník symbolů**
- 10 **Literatura**

## 1 Úvod

Tato stať provádí problematiku plánování a hodnocení biologických zkoušek předepsaných v lékopise. Je určena těm, kteří nejsou profesionální statistici a nezodpovídají za metodiku statistických analýz, ale zodpovídají za analýzu a interpretaci výsledků zkoušek, často prováděných bez pomoci nebo spoluúčasti statistika. Metody popsané v této příloze nejsou závazné pro analýzu výsledků biologických zkoušek, které jsou obsaženy v závazné části lékopisu. Mohou být používány i jiné metody, pokud nejsou méně spolehlivé než ty, které jsou zde popsány. V současné době je dostupné velké množství počítačových programů, jejichž použití je užitečné v závislosti na dostupných možnostech a zkušenosti analytika.

Odborné statistické návrhy řešení by měly být použity, pokud:

- je vhodné provést podrobnou analýzu pro účely výzkumu nebo vývoje nového přípravku;
- je požadována analýza obecné nelineární závislosti odpovědi na dávce, např. při hodnocení imunoesejí;

- nejsou splněny požadavky stati na plán zkoušky uvedené v této stati, např. dílčí laboratorní omezení mohou vyžadovat speciální plán zkoušky, nebo není možno dodržet požadavek stejných počtů opakování pro ekvidistanční dávky podnětu stejných dávek zkoušky.

### 1.1 Obecný plán zkoušky a přesnost

Biologické metody jsou určeny pro zkoušení látek a přípravků, jejichž účinnost se nedá spolehlivě zjistit chemickými nebo fyzikálními metodami. Všude, kde je to možné, se ve zkouškách užívá princip porovnání se standardním přípravkem. Určuje se množství zkoušeného přípravku, které vyvolá stejný biologický efekt jako dané množství, jednotka referenčního přípravku. Pro tyto metody biologických zkoušek je nezbytné, aby zkouška standardního a zkouška zkoušeného přípravku byly provedeny ve stejném čase a za stejných podmínek.

V některých zkouškách (např. při určení titru virů) není účinnost zkoušeného vzorku vyjádřena relativně vzhledem ke standardu. Tento typ zkoušek je popsán v části 4.5.

Každý odhad účinnosti určený biologickou zkouškou má náhodnou chybu, tkívá v biologické variabilitě odpovědí. Tato chyba by se měla, je-li to možné, stanovit z výsledků každé zkoušky, i pokud je použita oficiální metoda. Metody plánování zkoušek a výpočet jejich chyb jsou proto popsány níže. Vždy před zavedením statistické metody je nutné pomocí předběžné zkoušky stanovit dostatečný rozsah zkoušky (tj. dostatečné množství vzorků).

Interval spolehlivosti pro účinnost udává přesnost, s jakou byla sledovaná účinnost ve zkoušce odhadnuta. Je sestaven s ohledem na plán a rozsah zkoušky. V biologických zkouškách bývají obvykle používány 95% intervaly spolehlivosti. Pro výpočet hranic intervalů spolehlivosti bývají používány metody matematické statistiky, které zajišťují, že s 95% pravděpodobností tento interval obsahuje skutečnou hodnotu účinnosti. To, zda je tato přesnost přijatelná pro lékopis, závisí na požadavcích popsáných v příslušném lékopisném článku.

Pojmy „průměr“ a „směrodatná odchylka“ jsou zde použity tak, jak jsou definovány v běžných biometrických učebnicích.

Výrazy „udaná účinnost“ nebo „deklarovaná účinnost“, „referenční účinnost“, „předpokládaná účinnost“, „relativní účinnost“ a „stanovená účinnost“ jsou použity v tomto smyslu:

- „udaná účinnost“ nebo „deklarovaná účinnost“ označují u předepsaného přípravku jmenovitou hodnotu, určenou ze znalosti účinnosti materiálu, u hromadně vyrobeného materiálu z účinnosti stanovené výrobcem,
- „referenční účinnost“ - účinnost referenčního přípravku;
- „předpokládaná účinnost“ - dočasně předpokládaná účinnost zkoušeného přípravku, používá se pro výpočet dávky, jejíž účinek by měl být odpovídající s použitou dávkou referenčního přípravku;
- „relativní účinnost“ přípravku o neznámé účinnosti je podíl stejně účinných dávek referenčního a zkoušeného přípravku;
- „stanovená účinnost“ je účinnost vypočítaná z výsledků zkoušky.

V části 9 (Slovník symbolů) je seznam nejdůležitějších symbolů použitých v této příloze. Tam, kde jsou v textu použity symboly, které nejsou popsány v této kapitole nebo jsou použity v jiném smyslu, je to uvedeno v dané části textu.

## 2 Náhodnost a nezávislost jednotlivých ošetření

Výběr různých ošetření pro různé pokusné jednotky (zvířata, zkumavky atd.) by se měl provést čistě náhodně. Náhodně by se měl provést i každý jiný výběr pokusných podmínek, nebyl-li pokusným plánem úmyslně jinak stanoven. Příkladem je výběr polohy klecí v laboratoři a pořadí, v němž se provede ošetření. Konkrétně: skupina zvířat, která obdrží stejnou dávku, by neměla být ošetřena společně (ve stejném čase a místě), pokud není spolehlivý důkaz, že tyto zdroje nehomogenity (např. rozdíly v čase nebo místě) jsou zanedbatelné. Náhodné uspořádání může být vytvořeno pomocí v počítačích zabudovaných generátorů náhodných čísel. Analytik si musí ověřit, zda při každém použití příslušného programu získá jinou řadu čísel.

Příprava všech pokusných jednotek má být nezávislá, jak je to nejvíce možné. V každé pokusné skupině nemá být ředění přidělené ke každému ošetření vytvořeno dělením stejné dávky, ale má být připraveno individuálně. Bez tohoto předpokladu by nebyla variabilita tvořená přípravou vzorku plně obsažena ve variabilitě prováděné zkoušky. Výsledkem by bylo podhodnocení reziduální chyby, což má za následek:

1. neoprávněný nárůst přesnosti zkoušky v analýze rozptylu (viz části 3.2.3 a 3.2.4),

2. podhodnocení skutečných mezí spolehlivosti pro zkoušku, pro kterou byl použit odhad reziduálního rozptylu  $s^2$  (viz část 3.2.5).

### 3 Zkoušky závislé na kvantitativní odpovědi

#### 3.1 Statistické modely

##### 3.1.1 Obecné principy

Biologické zkoušky obsažené v lékopise jsou založeny na principu „ředění“. O neznámém zkoušeném přípravku se předpokládá, že obsahuje stejnou aktivní složku jako referenční přípravek, ale s jiným poměrem aktivní a neúčinné složky. Teoreticky je v tomto případě neznámý přípravek pouze ředěním referenčního přípravku pomocí nějaké neúčinné látky. Má-li se ověřit, zda se konkrétní právě prováděná zkouška řídí tímto modelem, je nutné porovnat závislost odpovědi na ředění přípravku i standardu. Pokud se v prováděné zkoušce výrazně liší průběh závislosti na dávce referenčního a neznámého přípravku, není tento model, užívající princip ředění pro tuto konkrétní zkoušku, vhodný. Významný rozdíl v závislosti na dávce u standardu a zkoušených přípravků může znamenat, že některý z přípravků obsahuje další aktivní složku, která není inertní, ale která ovlivňuje měřenou odpověď.

Aby bylo možno lépe analyzovat vliv ředění na biologickou odpověď, je vhodné transformovat závislost dávka-odpověď na lineární funkci na nejširším možném rozsahu dávek. Pro statistickou analýzu biologických zkoušek jsou určeny dva modely: model rovnoběžnosti a model poměru sklonů.

Jejich použití je závislé na následujících podmínkách:

1. pokusným jednotkám jsou náhodně přidělena jednotlivá ošetření,
2. odpověď každého ošetření má normální rozdělení,
3. směrodatná odchylka odpovědi v jednotlivých skupinách, jak standardu, tak i neznámého přípravku, se navzájem statisticky významně neliší.

Při navrhování metodiky konkrétní zkoušky musí analytik zajistit, aby data sbíraná v mnoha zkouškách splňovala tyto teoretické předpoklady.

Podmínku 1 lze splnit správným použitím návodu z části 2.

Podmínka 2 je v praxi téměř vždy splněna. Pokud je provedeno více opakování pro každé ošetření, nezpůsobí malé odchylky od tohoto předpokladu obecně vážné selhání těchto metod hodnocení. Při podezření může být proveden test odchylky od normality (např. Shapiro-Wilk test<sup>1</sup>).

Podmínka 3 může být ověřena testem homogenity rozptylů (např. Bartlettův test<sup>2</sup> nebo Cochranův test<sup>3</sup>). Pro tyto účely je též velmi užitečné použít grafického zobrazení dat (viz příklady v části 5).

Pokud nejsou splněny podmínky 2 a/nebo 3, může se splnění těchto podmínek zlepšit vhodnou transformací. Příkladem je např.  $\ln y$ ,  $\sqrt{y}$  nebo  $y^2$ .

- Logaritmická transformace odpovědi  $y$  na  $\ln y$ , pokud není splněn předpoklad homogenity rozptylů. Transformace též vylepší shodu s předpokladem normality, pokud je rozložení skloněné doprava.
- Transformace  $y$  na  $\sqrt{y}$  je užitečná, pokud pozorování mají Poissonovo rozdělení, tj. pokud pozorované hodnoty představují počty.
- Transformace  $y$  na  $y^2$  je vhodná, pokud např. odpověď více odpovídá ploše inhibiční zóny než jejímu průměru.

Existuje ještě další skupina zkoušek, u kterých není možno měřit odpověď každé pokusné jednotky, ale je možné zjistit pouze procento jednotek reagujících na každé testované ošetření. Tyto zkoušky jsou popsány v části 4.

<sup>1</sup> Wilk, M. B. and Shapiro, S. S. (1968). The joint assessment of normality of several independent samples, *Technometrics* 10, 825-839.

<sup>2</sup> Bartlett, M. S. (1937). Properties of sufficiency and statistical tests, *Proc. Roy. Soc. London, Series A* 160, 280-282.

<sup>3</sup> Cochran, W. G. (1951). Testing a linear relation among variances, *Biometrics* 7, 17-32.

### 3.1.2 Rutinní zkoušky

Pokud je již zkouška prováděna rutinně, lze zřídka možno systematicky ověřovat splnění podmínek 1 až 3, protože omezené množství pozorování ve zkoušce může ovlivnit citlivost statistických testů. Statisticy však prokázali, že při symetrickém uspořádání zkoušky neovlivní malé odchylky od předpokladu normality a shody rozptylů výrazně výsledky hodnocení zkoušky. Pokud řada zkoušek dává pochybné výsledky, je nutno opětovně posoudit vhodnost použitého statistického modelu. Pak je nutno provést novou sérii předběžných hodnocení, jak je diskutováno v části 3.1.1.

Další dvě nezbytné podmínky závisí na zvoleném statistickém modelu:

Pro model rovnoběžné lineární závislosti:

- 4A) Závislost odpovědi na logaritmu dávky je možno popsat pomocí přímky v rozsahu všech použitých dávek.  
5A) Pro každý neznámý přípravek musí být přímka závislosti odpovědi na logaritmu dávky rovnoběžná s přímkou závislosti standardu.

Pro model poměru sklonů:

- 4B) Závislost odpovědi na dávce pro každý přípravek ve zkoušce je možno v rozsahu všech použitých dávek popsat pomocí regresní přímky.  
5B) Pro všechny zkoušené přípravky musí regresní přímky protínat osu  $y$  (v dávce nula) ve stejném bodě jako přímka referenčního přípravku (tj. regresní funkce všech přípravků ve zkoušce musí mít stejný průsečík s osou  $y$  jako regresní přímka standardu).

Podmínky 4A a 4B je možno v rámci zkoušky ověřit pouze, pokud je každý přípravek ve zkoušce testován alespoň ve třech ředěních. Provádění zkoušek, v kterých jsou použita pouze dvě nebo jedno ředění, je možné pouze, jsou-li předpoklady linearit, rovnoběžnosti nebo stejného průsečíku prověřeny minulou zkušeností.

Po získání dat zkoušky (ale před výpočtem relativní účinnosti každého zkoušeného přípravku) musí být proveden výpočet analýzy rozptylu, která ověřuje splnění předpokladů 4A a 5A (nebo 4B a 5B). K tomuto účelu je rozdělen součet čtverců na dílčí součty, které odpovídají požadavku splnění jednotlivých podmínek. Zbývající součet čtverců odpovídá reziduální chybě, která umožní pomocí skupiny dílčích  $F$ -testů hodnotit jednotlivé zdroje variability.

Pokud je ověřena použitelnost metody, je možno vypočítat účinnost každého zkoušeného přípravku v porovnání se standardem a vyjádřit ji buďto jako relativní účinnost, nebo v jednotkách vhodných pro zkoušený přípravek, např. v mezinárodních jednotkách (m.j.) (IU International Units). Z každé skupiny dat zkoušky je možno vypočítat i meze spolehlivosti.

Zkoušky založené na modelu rovnoběžnosti jsou popsány v části 3.2 a na modelu poměru sklonů v části 3.3.

Když není splněna některá z pěti podmínek (1, 2, 3, 4A, 5A nebo 1, 2, 3, 4B, 5B), jsou zde popsané metody nepoužitelné a mělo by se prověřit technické provedení zkoušky.

Analytik by neměl použít jinou transformaci, není-li prokázáno, že nesplnění předpokladů není náhodné, ale že je způsobeno systematickou změnou laboratorních podmínek. V tomto případě by mělo být před použitím nové transformace v rutinním provozu znovu provedeno testování tak, jak je popsáno v části 3.1.1.

Pokud se při provádění rutinních zkoušek pro porovnání podobných materiálů vyskytuje zvýšený počet zkoušek nepatných kvůli nerovnoběžnosti a nelinearitě, je možnou příčinou to, že plán zkoušky dostatečně neodráží danou situaci. Tento nedostatek je často způsoben neschopností určit všechny zdroje variability, které ovlivňují zkoušku. To může způsobit podhodnocení reziduální chyby, což vede k vysokým hodnotám testovací statistiky  $F$ -testu.

V jedné zkoušce není vždycky možné uvažovat všechny možné zdroje variability (např. rozdíly mezi dny). V tom případě se intervaly spolehlivosti získané opakováním zkoušky mohou výrazněji lišit a je třeba opatrnosti při používání dílčích intervalů spolehlivosti. K získání spolehlivějšího odhadu intervalů spolehlivosti se musí provést více nezávislých zkoušek a z těch pak kombinovat jeden odhad účinnosti a jeho interval spolehlivosti (viz část 6).

Pro účely kontroly kvality rutinních zkoušek se doporučuje zaznamenávat hodnoty sklonu regresní přímky a reziduální chyby pro zobrazení v grafu kontroly kvality zkoušek.

- Výjimečně vysoké hodnoty reziduální chyby mohou poukazovat na technické problémy. To by mělo být prověřeno a pokud došlo k evidentnímu pochybení v průběhu pokusu, musí být zkouška opakována. Neobvykle vysoká reziduální chyba může také indikovat přítomnost odlehlého nebo vychýleného pozorování. Odpověď, která je v průběhu zkoušky podezřelá z důvodu, že neodpovídá průběhu zkoušky, musí být vyřazena. Je-li odlehlá hodnota zjištěna až po zaznamenání naměřených hodnot, ale je možno vystopovat neregulérnosti zkoušky, může být vynechání této hodnoty oprávněné. Libovolné vypouštění naměřených hodnot ze zpracování může ale způsobit vážné zkreslení. Obecně lze pozorování bez obav vyloučit pouze, pokud je test odlehlých pozorování statisticky významný.

- Někdy se mohou objevit i výjimečně nízké hodnoty reziduální chyby. Ty pak způsobí, že  $F$ -hodnota snadno překročí kritickou hodnotu. V této situaci může být oprávněné nahradit reziduální chybu vypočtenou v této zkoušce průměrnou reziduální chybou z historických dat v grafu kontroly kvality zkoušek.

### 3.1.3 Výpočty a omezení

Z pohledu obecných principů optimálního plánování zkoušek se obvykle kladou tři požadavky, které zjednodušují výpočet a zvyšují přesnost výsledků.

- Každý přípravek ve zkoušce musí být testován na stejném počtu ředění;
- V modelu rovnoběžnosti musí být podíl sousedních dávek konstantní pro všechna ošetření ve zkoušce; v modelu poměru sklonů musí být vzdálenost mezi sousedními dávkami konstantní pro všechna ošetření.
- Pro každé ošetření musí být použit stejný počet pokusných jednotek.

Pokud je použit plán, splňující tato omezení, zjednoduší se algoritmus výpočtu - příslušné vzorce jsou v části 3.2 a 3.3. Doporučuje se však využití programů vyvinutých speciálně pro tyto účely. Existuje mnoho programů, které umí jednoduše pracovat se všemi plány zkoušek obsažených v tomto textu. Ne všechny programy používají identické algoritmy, ale měly by poskytovat stejné výsledky.

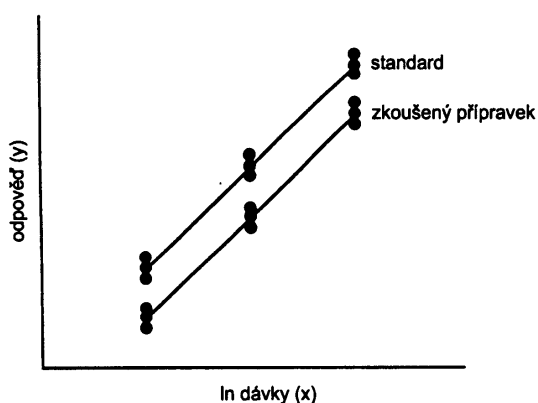
Plán zkoušky, který nesplňuje výše zmíněné požadavky, je také použitelný, ale vzorce potřebné pro výpočet jsou příliš komplikované pro prezentaci v tomto textu. Jejich krátký popis je zmíněn v části 7.1. Mohou být použity pro zjednodušený plán zkoušky. Pak poskytují stejné výsledky jako zjednodušené algoritmy.

Vzorce pro zjednodušený plán zkoušek popsáné v tomto textu mohou být použity např. pro vytvoření vlastních programů v tabulkových kalkulátorech. Příklady v části 5 pak mohou být použity pro ověření, zda vytvořený program poskytuje správné výsledky.

## 3.2 Model rovnoběžnosti

### 3.2.1 Úvod

Model rovnoběžnosti je zobrazen na obrázku 3.2.1-1. Na horizontální ose jsou vyneseny hodnoty logaritmu dávky (vlevo nejnižší a vpravo nejvyšší koncentrace). Na svislé ose jsou zobrazeny hodnoty příslušných odpovědí. Jednotlivé odpovědi jsou pro každou koncentraci zobrazeny pomocí černých bodů. Zobrazené dvě přímky představují vypočtenou lineární závislost odpovědi na dávce pro zkoušený a referenční přípravek.



Obr. 3.2.1-I Model rovnoběžnosti pro zkoušku 3 + 3

Poznámka: V této stati je používán přirozený logaritmus ( $\ln$  nebo  $\log_e$ ). Kdekoliv je použito slovo „antilogaritmus“ nebo „odlogaritmování“, je tím míněna funkce  $e^x$ . Může být ale použit i „Birggův“ neboli dekadický logaritmus ( $\log$  nebo  $\log_{10}$ ), odpovídající antilogaritmus je  $10^x$ .

Pro uspokojivě dobrý plán zkoušky je nutné, aby předpokládaná účinnost byla blízko skutečné účinnosti. Na základě předpokládané a stanovené účinnosti referenčního přípravku jsou připravena navzájem odpovídající ředění, tj. jsou připravena ředění standardu a zkoušeného přípravku tak, aby dávala stejnou odpověď. Pokud není k dispozici informace o předpokládané účinnosti, musí se provést předběžná zkouška v širokém rozsahu dávek, aby se stanovil obor, kde je závislost lineární.

Čím přesněji aproximuje předpokládaná účinnost neznámého přípravku jeho skutečnou hodnotu, tím blíže jsou obě přímky; srovnatelné dávky by měly dávat i srovnatelnou odpověď. Vodorovná vzdálenost přímek představuje odchylku „skutečné“ účinnosti od předpokládané. Čím větší je vzdálenost mezi oběma přímkami, tím horší je odhad původní předpokládané účinnosti zkoušeného přípravku. Pokud je přímka neznámého přípravku vpravo od přímky standardu, je předpokládaná účinnost nadhodnocena a výpočtem byla získána nižší hodnota odhadované účinnosti, než se předpokládalo. Podobně, jestliže je přímka zkoušeného přípravku vlevo od přímky standardu, je předpokládaná účinnost podhodnocena a výpočet poskytne vyšší odhadovanou účinnost, než je předpokládaná.

### 3.2.2 Plány zkoušky

Pro optimalizaci plánu zkoušky jsou užitečné následující úvahy:

- 1) poměr mezi sklonem regresní přímky a reziduální chybou by měl být pokud možno co největší,
- 2) rozsah dávek by měl být pokud možno co největší,
- 3) regresní přímky by měly být pokud možno co nejblíže, tj. předpokládaná účinnost by měla být dobrým odhadem skutečné účinnosti.

Přiřazení pokusných jednotek (zvířat, zkumavek apod.) jednotlivým ošetřením může být provedeno různým způsobem.

#### 3.2.2.1 Úplné znáhodnění

Pokud je soubor pokusných jednotek (zvířat, zkumavek apod.) dostatečně homogenní a pokud nelze předem nalézt části souboru s menší variabilitou odpovědí, může být ošetření jednotlivým pokusným jednotkám přiřazeno náhodně.

Když jsou podskupiny jednotek homogennější než celek, např. vlivem tělesného stavu nebo pokusného dne, může být přesnost zkoušky zvýšena zavedením dalších omezení v pokusném plánu. Pečlivé vyvážení plánu s ohledem na tyto okolnosti zajistí eliminaci vedlejších zdrojů variability.

#### 3.2.2.2 Náhodné bloky

Pomocí tohoto plánu se mohou vyloučit známé zdroje variability, jako např. rozdíl mezi jednotlivými vrhy pokusných zvířat nebo rozdíl mezi jednotlivými Petriho miskami v difuzních mikrobiologických zkouškách. Tento plán vyžaduje, aby počty ošetření v jednotlivých blocích (vrzích, Petriho miskách) byly stejné a tak velké, aby jednotlivé bloky mohly zahrnout všechna ošetření. To je ilustrováno v části 5.1.3. Může být použit i znáhodněný plán s opakováním. Algoritmus pro získání náhodných permutací je popsán v části 8.5.

#### 3.2.2.3 Latinské čtverce

Tento plán zkoušky je vhodný, ovlivňují-li odpověď dva různé rušivé vlivy nabývající  $k$  různých úrovní. Např. mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik se provádí na destičce rozdělené do  $k \times k$  polí tak, že každé z  $k$  ošetření je právě jednou v každém sloupci a v každém řádku destičky. Tento plán pokusu je použitelný při stejném počtu sloupců, řádků i ošetření. Výsledky jsou zaznamenávány do tabulky  $k \times k$ , nazývané latinský čtverec. Variabilita odpovědi způsobená rozdíly v poloze ošetření na destičce (mezi  $k$  sloupci a  $k$  řádky) je rovnoměrně rozdělena a tím je tedy snížena chyba. V části 5.1.2 je uveden příklad latinských čtverců. Algoritmus pro vytvoření latinských čtverců je v části 8.6.

#### 3.2.2.4 Křížová zkouška

Tento plán je užitečný, je-li možné pokus rozdělit do bloků, z nichž každý obsahuje pouze dvě ošetření, např. tvoří-li blok jedna pokusná jednotka ošetřená dvakrát při různých podnětech. Tento plán pokusu sleduje zvýšení přesnosti omezením vlivu rozdílu mezi pokusnými jednotkami tím, že vyvažuje efekt rozdílu odpovědí na oba podněty. Pokus, ve kterém se testují dvě dávky standardu proti dvěma dávkám přípravku, se nazývá dvoudávkový křížový pokus a podobně pro test se třemi dávkami obou podnětů se používá název třídávkový křížový pokus. Pokus je rozdělen do dvou částí provedených ve vhodných časových intervalech. Pokusné jednotky jsou rozděleny do čtyř (případně šesti) skupin

a ošetřeny nejprve jednou ze čtyř (šesti) dávek. Později jsou tytéž jednotky ošetřeny tak, že ty jednotky, které byly ošetřeny menší dávkou, se ošetří dávkou větší a naopak. U jednotlivých pokusných jednotek se též zamění aplikace standardu za přípravek a naopak. Rozložení dávek je zobrazeno v tabulce 3.2.2-I. Příklad použití je možno nalézt v části 5.1.5.

**Tab. 3.2.2-I** Uspořádání dávek v křížovém pokusu

Skupina	Čas I	Čas II
1	$S_1$	$T_2$
2	$S_2$	$T_1$
3	$T_1$	$S_2$
4	$T_2$	$S_1$

### 3.2.3 Analýza rozptylu

V této části jsou uvedeny vzorce, které je potřeba použít při výpočtu analýzy rozptylu. K jejich pochopení pomohou příklady zpracované v části 5.1. K pochopení vzorců slouží i slovníček použitých symbolů (část 9).

Vzorci jsou vhodné pro symetrické zkoušky, ve kterých je porovnáván jeden nebo více zkoušených přípravků ( $T$ ,  $U$  atd.) se standardem ( $S$ ). Je nutno zdůraznit, že tyto vzorce jsou použitelné pouze při ekvidistantních dávkách podnětů, stejném počtu ošetření pro všechny přípravky a stejném počtu pozorování u všech ošetření.

Bez ohledu na některé úpravy chybového členu je základ analýzy výsledků zkoušek stejný pro plány s úplným znárodním, náhodnými bloky a latinskými čtverci. Vzorce pro vyhodnocení křížových pokusů nelze plně schematizovat, analýza jednoho takového pokusu je obsažena v příkladě 5.1.5.

Vezmou-li se v úvahu body diskutované v části 3.1 a v případě potřeby se transformují odpovědi, mohou se hodnoty  $y$  sečíst pro každé ošetření a každý přípravek, jak je to patrné v tabulce 3.2.3-I. Dále by měl být vypočten lineární kontrast odpovídající sklonu závislosti odpovědi na logaritmu dávky. V tabulce 3.2.3-II jsou další tři vzorce, potřebné pro výpočet analýzy rozptylu.

Celková variabilita odpovědí, kterou způsobují různá ošetření, se rozkládá na složky uvedené v tabulce 3.2.3-III. Součty čtverců se vypočtou z hodnot v tabulkách 3.2.3-I a 3.2.3-II. Součet čtverců pro test nelinearity je možno počítat pouze, pokud jsou ve zkoušce pro každý přípravek alespoň tři dávky.

Reziduální chyba zkoušky se získá odečtením složek variability tvořených modelem od celkové variability odpovědi (tabulka 3.2.3-IV). Symbol  $\bar{y}$  je používán pro průměrnou odpověď v celé zkoušce. Pro latinské čtverce je počet opakovaných odpovědí ( $n$ ) stejný jako počet řádků, sloupců a ošetření ( $dh$ ).

Nyní se dokončí analýza rozptylu. Průměrné čtverce se vypočtou vydělením součtu čtverců jejich stupni volnosti. Tyto čtverce testovaných veličin se vydělí reziduální chybou ( $s^2$ ) a tak získané testovací charakteristiky se porovnají s odpovídajícími hodnotami tabulky 8.1 nebo se použije vhodný počítačový program.

### 3.2.4 Test validity

Výsledky zkoušky se pokládají za „statisticky validní“ při těchto výsledcích:

- 1) Lineární složka variability (směrnice regresní přímky) je významná, tj. vypočtená pravděpodobnost je menší než 0,05. Není-li tato podmínka splněna, není možno vypočíst 95% meze spolehlivosti.
- 2) Nerovnoběžnost není statisticky významná, tj. vypočtená pravděpodobnost není menší než 0,05. To indikuje, že je splněna podmínka 5A části 3.1.
- 3) Nelineární složky variability nejsou statisticky významné, tj. vypočtená pravděpodobnost není menší než 0,05. To indikuje, že je splněna podmínka 4A části 3.1.

Statisticky významné odchylky od předpokladu rovnoběžnosti ve vícenásobných zkouškách mohou být způsobeny tím, že je do plánu zkoušky zahrnut přípravek, který má jiný sklon lineární závislosti odpovědi na logaritmu dávky než ostatní zkoušené přípravky. Místo odmítnutí této zkoušky jako chybné se mohou odstranit všechny údaje o tomto přípravku a zopakovat výpočet pro zbylé přípravky.

Pokud se prokáže statistická validita dat, mohou být dále popsáním způsobem vypočteny účinnosti a meze spolehlivosti.

### 3.2.5 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

Jestliže je  $I$  rozdíl logaritmů sousedních dávek každého přípravku, pak společný sklon ( $b$ ) všech  $d$ -dávkových zkoušek je:

$$b = \frac{H_L(L_S + L_T + \dots)}{Inh} \quad (3.2.5-1)$$

a logaritmus relativní účinnosti zkoušeného přípravku (např.  $T$ ) pak je:

$$M'_T = \frac{P_T - P_S}{db} \quad (3.2.5-2)$$

Vypočtená účinnost je odhadem „skutečné účinnosti“ zkoušeného přípravku. Interval spolehlivosti (který s 95% pravděpodobností obsahuje skutečnou hodnotu účinnosti) se vypočte jako antilogaritmus výrazu:

$$CM'_T \pm \sqrt{(C-1)(CM'_T)^2 + 2V}, \quad (3.2.5-3)$$

$$\text{kde: } C = \frac{SS_{reg}}{SS_{reg} - s^2 t^2} \quad \text{a} \quad V = \frac{SS_{reg}}{b^2 dn}$$

Hodnoty  $t$  je možno získat z tabulky 8.2 pro  $p = 0,05$  a počet stupňů volnosti rovný stupňům volnosti reziduální chyby. Odhadovanou účinnost ( $R_T$ ) a jí odpovídající meze spolehlivosti se získají odlogaritmováním získaných hodnot a následným vynásobením hodnotou  $A_T$ . Nemají-li základní roztoky přesně danou účinnost podle referenční a předpokládané účinnosti, je nutno použít korekční faktor (viz příklady 5.1.2 a 5.1.3).

Tab. 3.2.3-I Vzorce pro zkoušky model rovnoběžnosti s  $d$  dávkami pro každý přípravek

	Standard ( $S$ )	1. zkoušený přípravek ( $T$ )	2. zkoušený přípravek ( $U$ atd.)
průměrná odpověď, nejnížší dávka	$S_1$	$T_1$	$U_1$
průměrná odpověď, druhá dávka	$S_2$	$T_2$	$U_2$
...	...	...	...
průměrná odpověď, nejvyšší dávka	$S_d$	$T_d$	$U_d$
celkem pro přípravky	$P_S = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = \dots$ atd.
lineární kontrast	$L_S = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d - \frac{1}{2}(d+1)P_S$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d - \frac{1}{2}(d+1)P_T$	$L_U = \dots$ atd.

Tab. 3.2.3-II Další vzorce pro výpočet analýzy rozptylu

$H_P = \frac{n}{d}$	$H_L = \frac{12n}{d^3 - d}$	$K = \frac{n(P_S + P_T + \dots)^2}{hd}$
---------------------	-----------------------------	---



Tab. 3.2.3-III Vzorce pro výpočet součtu čtverců a stupňů volnosti

Zdroj variability	Stupně volnosti ( $f$ )	Součet čtverců
přípravek	$h - 1$	$SS_{přip} = H_p(P_s^2 + P_T^2 + \dots) - K$
lineární regrese	1	$SS_{reg} = \frac{1}{h} H_L(L_S + L_T + \dots)^2$
nerovnoběžnost	$h - 1$	$SS_{rovnob} = H_L(L_S^2 + L_T^2 + \dots) - SS_{reg}$
nelinearita (*)	$h(d - 2)$	$SS_{lin} = SS_{ošetř} - SS_{přip} - SS_{reg} - SS_{rovnob}$
Ošetření	$hd - 1$	$SS_{ošetř} = n(S_1^2 + \dots + S_d^2 + T_1^2 + \dots + T_d^2) - K$

(\*) nelze počítat pro dvoudávkové zkoušky

Tab. 3.2.3-IV Odhad reziduální chyby

Zdroj variability	Stupně volnosti ( $f$ )	Součet čtverců
bloky (řádky) (*)	$n - 1$	$SS_{blok} = h(R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
sloupce (**)	$n - 1$	$SS_{sl} = hd(C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
reziduální chyba (***) úplné znáhodnění	$hd(n - 1)$	$SS_{res} = SS_{celk} - SS_{ošetř}$
náhodné bloky	$(hd - 1)(n - 1)$	$SS_{res} = SS_{celk} - SS_{ošetř} - SS_{blok}$
latinské čtverce	$(hd - 2)(n - 1)$	$SS_{res} = SS_{celk} - SS_{ošetř} - SS_{blok} - SS_{sl}$
celkem	$nhd - 1$	$SS_{celk} = \sum (y - \bar{y})^2$

(\*) není počítán pro úplné znáhodněný plán

(\*\*) počítá se pouze pro latinské čtverce

(\*\*\*) závisí na typu plánu zkoušky

### 3.2.6 Chybějící hodnoty

Ve vyvážených zkouškách se může přihodit, že v souvislosti s ošetřením dojde ke ztrátě jedné nebo více odpovědí, např. tak, že některá zvířata uhynou. Pokud lze předpokládat, že selhání nikterak nesouvisí se složením podávaných přípravků, je možno použít úplnou statistickou analýzu, ale vzorce pro její výpočet jsou mnohem složitější a jsou pouze krátce zmíněny v pasáži o obecném lineárním modelu (viz část 7.1). Nicméně pokud je prokazatelné, že výskyt chybějící hodnoty nijak nesouvisí s přidělením pokusných jednotek do jednotlivých skupin, může být zachována jednoduchost vyhodnocení vyváženého plánu zkoušky tak, že se nahradí chybějící hodnota hodnotou vypočtenou na základě ostatních pozorovaných hodnot. Ztráta informace se pak vezme v úvahu zmenšením počtu stupňů volnosti celkového a součtu čtverců o jeden a použitím vzorce pro výpočet chybějící hodnoty (viz níže). Je třeba si uvědomovat, že tato metoda je pouze přibližná a že by měla být dána přednost přesným metodám.

Pokud chybí více než jedno pozorování, může se použít stejný vzorec. Postup je takový, že se hrubě odhadnou všechny chybějící hodnoty kromě jedné, která se vypočte podle uvedeného vzorce ze všech ostatních hodnot, včetně těch hrubě odhadnutých. Vypočtená hodnota se vezme za pozorovanou a pokračuje se stejným postupem pro všechny další chybějící hodnoty. Po vypočtení všech chybějících hodnot se tímto postupem provede cyklus znovu od začátku, přičemž se místo hrubých odhadů použijí poslední vypočtené hodnoty pro všechny chybějící odpovědi. To vše se opakuje několikrát, až se získají ve dvou po sobě následujících cyklech stejné hodnoty. Konvergence tohoto postupu je obvykle rychlá.

Pokud je počet nahrazovaných hodnot relativně malý v porovnání s celkovým rozsahem zkoušky (menší než 5 %), je použitá aproximace chybějících hodnot a redukce stupňů volnosti o počet chybějících hodnot obvykle uspokojivá. Nicméně výsledky by se měly interpretovat velmi opatrně, obzvláště pokud chybějící hodnoty v některém ošetření nebo bloku převažují. Pak by měl biometr uvážit, zda nepůsobily v průběhu zkoušky nějaké další nežádoucí vlivy. Nahrazení chybějících hodnot ve zkoušce bez jejího opakování je vždy choulostivé.

**Úplné znáhodnění**

Při úplném znáhodnění se za odhad chybějící hodnoty bere aritmetický průměr všech ostatních odpovědí daného ošetření.

**Plán náhodných bloků**

Chybějící hodnota ( $y'$ ) se vypočte podle vzorce:

$$y' = \frac{nB' + kT' - G'}{(n-1)(k-1)}, \quad (3.2.6-1)$$

kde  $B'$  je součet odpovědí v bloku obsahujícím příslušné chybějící pozorování,  $T'$  je součet odpovědí při příslušném ošetření a  $G'$  součet všech odpovědí ve zkoušce.

**Latinské čtverce**

Chybějící hodnota ( $y'$ ) se nahradí podle vzorce:

$$y' = \frac{k(B' + C' + T') - 2G'}{(k-1)(k-2)}, \quad (3.2.6-2)$$

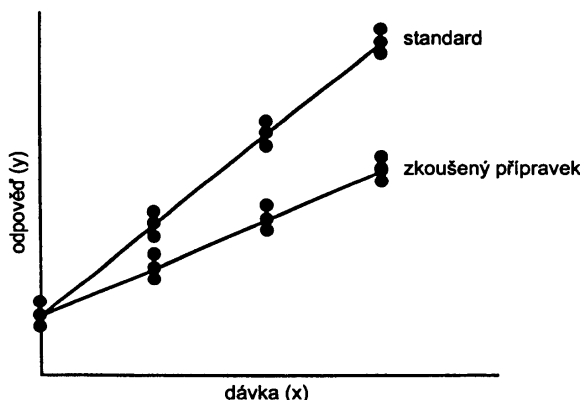
kde  $B'$  a  $C'$  jsou součty odpovědí v řádce a sloupci s chybějícím pozorováním. V tomto případě je  $k = n$ .

**Dvoudávková křížová zkouška**

Vyskytne-li se chybějící pozorování v dvoudávkové křížové zkoušce, je důležité konzultovat situaci se statistikem, protože vyhodnocení závisí na konkrétní kombinaci ošetření.

**3.3 Model poměru sklonů****3.3.1 Úvod**

Tento model je vhodný např. pro některé mikrobiologické zkoušky, v nichž je nezávisle proměnnou koncentrace růstového faktoru půdy. Model poměru sklonů, graficky zobrazen na obrázku 3.3.1-I.



Obr. 3.3.1-I Model poměru sklonů zkoušky 2 x 3 + 1

Dávka s nulovou koncentrací je na vodorovné ose zobrazena vlevo a dávky s nejvyššími koncentracemi vpravo. Odpověď je zobrazena na vertikální ose. Odpovědi na tyto dávky jsou v grafu zobrazeny pomocí černých bodů. Dvě zobrazené přímky představují vypočtenou lineární závislost referenčního a zkoušeného přípravku na dávce za předpokladu, že se protínají v nulové dávce. Na rozdíl od modelu rovnoběžnosti nejsou dávky transformovány logaritmem.

Stejně jako ve zkouškách založených na modelu rovnoběžnosti má být předpokládaná účinnost blízká skutečné hodnotě účinnosti a mají být použita (pokud je to možné) stejně účinná ředění zkoušeného a referenčního přípravku. Čím blíže je předpokládaná účinnost skutečné hodnotě, tím blíže budou i obě přímky. Poměr sklonů představuje „skutečnou“ účinnost zkoušeného přípravku vztaženou k předpokládané účinnosti. Je-li sklon zkoušeného přípravku strmější než sklon standardu, je účinnost podhodnocena a výpočet naznačuje, že odhadovaná účinnost je větší než předpokládaná. Podobně, pokud je sklon zkoušeného přípravku mírnější než sklon standardu, je účinnost nadhodnocena a výpočet naznačuje, že odhadovaná účinnost je menší než předpokládaná.

Při přípravě zkoušky by mělo být ověřeno, zda všechny odpovědi splňují podmínky 1, 2 a 3 z části 3.1. V rámci rutinního zpracování analýzy rozptylu, které je popsáno v části 3.3.3, by mělo být ověřeno splnění podmínek 4B a 5B.

### 3.3.2 Plán zkoušky

Pro použití dále popsaných statistických metod je nutno klást na zkoušku následující omezení:

- pro zkoušený a referenční přípravek musí být použit stejný počet ekvidistantních ředění,
- je možno testovat i zvláštní skupinu pokusných jednotek, které nemají žádné ošetření (nulová dávka),
- pro každé ošetření musí být použit stejný počet pokusných jednotek.

Jak již bylo konstatováno v části 3.1.3, nemusí pokusné plány splňovat tato omezení, pak ale nejsou použitelné zde popsané jednoduché metody statistické analýzy a je nutno vyhledat radu experta nebo použít vhodný program.

Obvykle bývá dána přednost plánu s dvěma dávkami pro přípravek a se společnou nulovou dávkou (plán  $(2h + 1)$ ), protože poskytuje vysokou přesnost a možnost ověřit platnost výše zmíněných podmínek. Ne vždy je ale možno předpokládat linearitu až k nulové koncentraci. S malou ztrátou přesnosti je možno použít i plán bez nulové dávky. Pak je ale dávana přednost plánu se třemi dávkami na přípravek „plán  $(3h)$ “ před dvoudávkovým plánem. Dávky jsou tedy vytvářeny takto:

- standard je použit v nejvyšší dávce blízké ale nepřesahující oblast, kde je závislost odpovědi na dávce ještě lineární,
- další dávky jsou rovnoměrně rozloženy mezi touto hodnotou a nulovou dávkou,
- pro zkoušený přípravek jsou použity dávky založené na předpokládané účinnosti materiálu.

Podobně jako v části 3.2.2. je možno použít plány s úplným náhodněním, náhodnými bloky nebo latinskými čtverci. Použití kteréhokoliv z těchto plánů vyžaduje podobnou úpravu postupu pro odhad reziduálního součtu čtverců jako u modelu rovnoběžnosti. Dále je popsána analýza zkoušky jednoho nebo více neznámých přípravků v porovnání se standardem.

### 3.3.3 Analýza rozptylu

#### 3.3.3.1 Plán $(hd + 1)$

Nejprve je nutno ověřit odpovědi, jak je to popsáno v části 3.1, a pokud je to nutné, vhodně je transformovat. Dále se vypočtou průměrné odpovědi pro jednotlivé dávky a přípravky, jako je uvedeno v tabulce 3.3.3.1-I, a průměrná odpověď na nulovou dávku (B).

Podle tabulek 3.3.3.1-I až 3.3.3.1-III se pro analýzu rozptylu vypočte součet čtverců. Součet čtverců pro test nelinearity je možno vypočíst pouze pokud zkouška obsahuje alespoň tři dávky pro každý přípravek. Reziduální chyba se získá odečtením zdrojů variability příslušného plánu od celkové variability (viz 3.3.3.1-IV).

Analýza rozptylu se dokončí vydělením příslušných součtů čtverců jejich stupni volnosti, čímž se získají průměrné čtverce. Ty se pak vydělí reziduálním rozptylem ( $s^2$ ). Získané hodnoty testovací statistiky  $F$  se porovnají s kritickými hodnotami z tabulky 8.1 nebo vhodným počítačovým programem.

#### 3.3.3.2 Plán $(hd)$

Vzorci jsou až na drobné rozdíly stejné jako v případě plánu  $(hd + 1)$ .

- Veličina  $B$  se ve vzorcích nevyskytuje.

$$K = \frac{n(P_s + P_r + \dots)^2}{hd}$$

- $SS_{nul}$  není obsažena ve vzorcích pro analýzu rozptylu.
- Počet stupňů volnosti pro ošetření je  $hd - 1$ .

- Počet stupňů volnosti reziduální chyby a celkový rozptyl je počítán stejně jako v modelu rovnoběžnosti (viz tabulka 3.2.3-IV).  
Validita zkoušky, účinnost a interval spolehlivosti jsou popsány v části 3.3.4 a 3.3.5.

### 3.3.4 Test validity

Zkouška je „statisticky validní“, pokud jsou získány následující výsledky analýzy rozptylu:

- kontrast nulové dávky zkoušky s plánem  $(2h + 1)$  nesmí být statisticky významný, tj. vypočtená pravděpodobnost nesmí být menší než 0,05. To indikuje, že odpověď na nulovou dávku se statisticky významně neliší od společného průsečíku přímek a předpoklad lineární závislosti platí až do nuly,
- kontrast průsečíků není statisticky významný, tj. vypočtená pravděpodobnost nesmí být menší než 0,05. To naznačuje splnění podmínky 5B z části 3.1,
- ve zkouškách s alespoň třemi dávkami na přípravek není statisticky významný kontrast nelinearity, tj. vypočtená pravděpodobnost nesmí být menší než 0,05. To indikuje splnění podmínky 5B z části 3.1.

Statisticky významný kontrast nulové dávky indikuje, že hypotéza linearit neplatí v okolí nuly. Pokud je pro tento typ zkoušky takovýto výsledek spíše systematický než výjimečný, je vhodnější použití  $(hd)$  plánu. V tomto případě nemusí být požadována odpověď na nulovou dávku.

Prokázali-li příslušné testy validitu zkoušky, může být vypočtena účinnost a její meze spolehlivosti postupem popsaným v části 3.3.5.

Tab. 3.3.3.1-I Vzorce pro model sklonů pro plán  $(2h + 1)$

	Standard ( $S$ )	1. zkoušený přípravek $T$	2. zkoušený přípravek $U$ , <i>atd.</i>
průměrná odpověď, nejnižší dávka	$S_1$	$T_1$	$U_1$
průměrná odpověď, druhá dávka	$S_2$	$T_2$	$U_2$
...	...	...	...
průměrná odpověď, nejvyšší dávka	$S_d$	$T_d$	$U_d$
celkem pro přípravky	$P_s = S_1 + S_2 + \dots + S_d$	$P_T = T_1 + T_2 + \dots + T_d$	$P_U = \dots atd.$
lineární kontrast	$L_s = 1S_1 + 2S_2 + \dots + dS_d$	$L_T = 1T_1 + 2T_2 + \dots + dT_d$	$L_U = \dots atd.$
průsečík	$a_s = (4d + 2)P_s - 6L_s$	$a_T = (4d + 2)P_T - 6L_T$	$a_U = \dots atd.$
sklon	$b_s = 2L_s - (d + 1)P_s$	$b_T = 2L_T - (d + 1)P_T$	$b_U = \dots atd.$
ošetření	$G_s = S_1^2 + \dots + S_d^2$	$G_T = T_1^2 + \dots + T_d^2$	$G_U = \dots atd.$
nelinearita*	$J_s = G_s - \frac{P_s^2}{d} - \frac{3b_s^2}{d^3 - d}$	$J_T = G_T - \frac{P_T^2}{d} - \frac{3b_T^2}{d^3 - d}$	$J_U = \dots atd.$

\* Nelze počítat pro dvoudávkové zkoušky.

Tab. 3.3.3.1-II Další vzorce pro výpočet analýzy rozptylu

$H_B = \frac{nhd^2 - nhd}{hd^2 - hd + 4d + 2}$	$H_L = \frac{n}{4d^3 - 2d^2 - 2d}$	$a = \frac{a_s + a_T + \dots}{h(d^2 - d)}$	$K = \frac{n(B + P_s + P_T + \dots)^2}{hd + 1}$
--	------------------------------------	--	---

Tab. 3.3.3.1-III Vzorce pro výpočet součtů čtverců a stupně volnosti

Zdroj variability	Stupně volnosti ( $f$ )	Součet čtverců
regrese	$h$	$SS_{reg} = SS_{ošetř} - SS_{nul} - SS_{pru} - SS_{lin}$
nulová dávka	1	$SS_{nul} = H_B(B-a)^2$
průsečík	$h-1$	$SS_{pru} = H_L((a_S^2 + a_T^2 + \dots) - h(d^2 - d)^2 a^2)$
nelinearita (*)	$h(d-2)$	$SS_{lin} = n(J_S + J_T + \dots)$
ošetření	$hd$	$SS_{ošetř} = n(B^2 + G_S + G_T + \dots) - K$

(\*) Nelze počítat pro dvoudávkové zkoušky.

Tab. 3.3.3.1-IV Odhad reziduální chyby

Zdroj variability	Stupně volnosti ( $f$ )	Součet čtverců
bloky (řádky) (*)	$n-1$	$SS_{blok} = hd(R_1^2 + \dots + R_n^2) - K$
sloupce (**)	$n-1$	$SS_{sl} = hd(C_1^2 + \dots + C_n^2) - K$
reziduální chyba (***)	$(hd+1)(n-1)$	$SS_{rez} = SS_{celk} - SS_{ošetř}$
úplně znáhodnění	$hd(n-1)$	$SS_{rez} = SS_{celk} - SS_{ošetř} - SS_{blok}$
náhodné bloky	$(hd-1)(n-1)$	$SS_{rez} = SS_{celk} - SS_{ošetř} - SS_{blok} - SS_{sl}$
latinské čtverce		
celkem	$nhd + n - 1$	$SS_{celk} = \sum (y - \bar{y})^2$

(\*) Není počítán pro úplně znáhodněný plán.

(\*\*) Počítá se pouze pro latinské čtverce.

(\*\*\*) Závisí na typu plánu zkoušky.

### 3.3.5 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

#### 3.3.5.1 Plán ( $hd+1$ )

Společný průsečík  $a'$  se vypočítá podle vzorce:

$$a' = \frac{(2d+1)B + (2d-3)ha}{h(2d-3) + 2d+1} \quad (3.3.5.1-1)$$

Sklon pro standard (podobně i pro ostatní přípravky):

$$b'_s = \frac{6L_s - 3d(d+1)a'}{2d^3 + 3d^2 + d} \quad (3.3.5.1-2)$$

Relativní účinnost každého přípravku se pak vypočte jako podíl:

$$R'_T = \frac{b'_T}{b'_s} \quad (3.3.5.1-3)$$

Vynásobením relativní účinnosti  $R_T$  očekávanou účinností  $A_T$  se dostane odhadovaná účinnost  $R_T (= R'_T A_T)$ . Jsou-li rozdíly mezi sousedními dávkami referenčního přípravku ( $I_S$ ) a zkoušeného přípravku ( $I_T$ ) různé, je nutno účinnost  $R_T$  vynásobit podílem  $I_S/I_T$ . Na rozdíl od modelu rovnoběžnosti se při výpočtech v modelu sklonu nepoužívá antilogaritmus.

Interval spolehlivosti pro  $R'_T$  se vypočítá:

$$CR'_T - K' \pm \sqrt{(C-1)(CR'^2_T + 1) + K'(K' - 2CR'_T)}, \quad (3.3.5.1-4)$$

$$\text{kde je } C = \frac{b_s^2}{b_s^2 - s^2 t^2 V_1} \quad \text{a} \quad K' = (C-1)V_2.$$

$V_1$  a  $V_2$  jsou čísla vztahující se k rozptylu a kovarianci čitatele a jmenovatele  $R'_T$ .

$$V_1 = \frac{6}{n(2d+1)} \left( \frac{1}{d(d+1)} + \frac{3}{2(2d+1) + hd(d-1)} \right) \quad (3.3.5.1-5)$$

$$V_2 = \frac{3d(d+1)}{(3d+1)(d+2) + hd(d-1)} \quad (3.3.5.1-6)$$

Meze spolehlivosti se vynásobí faktorem  $A_T$  a pokud je to třeba i  $I_S/I_T$ .

### 3.3.5.2 Plán ( $hd$ )

Vzorce jsou stejné jako v plánu  $(hd+1)$  pouze s následující modifikací:

$$a' = a \quad (3.3.5.2-1)$$

$$V_1 = \frac{6}{nd(2d+1)} \left( \frac{1}{d+1} + \frac{3}{h(d-1)} \right) \quad (3.3.5.2-2)$$

$$V_2 = \frac{3(d+1)}{3(d+1) + h(d-1)} \quad (3.3.5.2-3)$$

## 4 Kvantální zkoušky

### 4.1 Úvod

V některých zkouškách je nemožné nebo extrémně náročné měřit působení přípravku na každou pokusnou jednotku na stupnici. Místo toho je pozorován nějaký efekt působení přípravku na pokusné jednotky, jako např. uhytní nebo hypoglykemický symptom pokusných jednotek. Výsledek pak závisí na počtu jednotek, u kterých se projeví tento efekt. Takové zkoušky se nazývají kvantální nebo „vše nebo nic“.

Situace je velmi podobná kvantitativní zkoušce popsané v části 3.1, ale místo  $n$  různých odpovědí v každé ošetřené skupině se získá pouze jediná hodnota, tj. procento jednotek s pozitivní odpovědí. Grafem závislosti tohoto procenta na logaritmu dávky je zpravidla spíše křivka tvaru S než přímka. K odhadu křivky závislosti odpovědi na dávce se používají matematické funkce modelující tuto závislost tvaru S. Nejčastěji je používána kumulativní distribuční funkce normálního rozdělení. Tato funkce má několik teoretických výhod a je snad nejlepší volbou, pokud je odpověď zatížena chybou pokusných jednotek. Pokud odpověď více závisí na růstovém procesu, je vhodnější použití logistické regrese. Rozdíl výsledků obou modelů je ale obvykle velmi malý.

Maximálně věrohodný odhad sklonu a polohy těchto křivek je možno získat pouze iteračními metodami. Je mnoho postupů k dosažení stejných výsledků, ty se ale liší svou efektivitou z pohledu rychlosti konvergence. Jedna z nejrychlejších metod je přímá maximalizace věrohodnostní funkce (viz část 7.1). Ta se dá snadno implementovat do počítačových programů jako standardní postup. Většina z těchto postupů však neposkytuje odhady intervalů spolehlivosti a metody jejich výpočtu jsou na tento text velmi složité. Dále popsaná metoda není nejrychlejší, ale je zvolena jako alternativa pro svoji jednoduchost. Může se použít při provádění zkoušek, ve kterých se porovnává jeden nebo více přípravků se standardem. Musí být ale navíc splněny následující požadavky:

- 1) závislost odpovědi na logaritmu dávky má tvar, který je možno popsat pomocí kumulativní distribuční funkce normálního rozdělení,
- 2) křivky standardu a zkoušeného přípravku jsou rovnoběžné, tj. mají stejný tvar a liší se pouze posunutím,
- 3) teoreticky na extrémně nízkou dávku je odpověď negativní a na extrémně vysokou je naopak vždy pozitivní odpověď.

## 4.2 Probitová metoda

Funkci tvaru  $S$  lze převést na lineární tvar, pokud se nahradí odpovědi (tj. podíl pozitivních odpovědí ve skupině) odpovídající hodnotou kumulativní distribuční funkce standardního normálního rozdělení. Tato hodnota se obvykle nazývá „normit“ a nabývá hodnot od  $-\infty$  do  $\infty$ . Dříve bylo doporučováno přičíst 5 a tato získaná hodnota byla nazývána „probit“. Tato úprava zjednodušila ruční provádění výpočtů tím, že se vyhnula záporným hodnotám. S rozvojem výpočetní techniky ztratila tato potřeba přičítat k normitům 5 praktický význam. Pro dále popsanou metodu tedy bude vhodnější používat název „normitová metoda“. Pojem probitová analýza je široce rozšířen, a proto se v této stati z historických důvodů tento název používá.

Po linearizaci odpovědi by se mohlo k hodnocení použít metody pro model rovnoběžného sklonu, popsané v části 3.2. Není však splněn požadavek na homogenitu rozptylů pro každou dávku. Rozptyl je minimální pro normit = 0 a zvětšuje se vzdalováním normitu od nuly na obě strany. Proto je nutno použít pro odpovědi v prostřední části větší váhy a nižší váhy pro okrajové části číselné osy normitů. Dále je popsána takováto metoda analýzy rozptylu, odhadu účinnosti a intervalů spolehlivosti.

Tab. 4.2.1-I První pracovní tabulka

	(1) Dávka	(2) $n$	(3) $r$	(4) $x$	(5) $p$	(6) $Y$	(7) $\Phi$	(8) $Z$	(9) $y$	(10) $w$	(11) $wx$	(12) $wy$	(13) $wx^2$	(14) $wy^2$	(15) $wxz$
$S$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
$T$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
										$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$	$\Sigma =$
atd.															

Tab. 4.2.1-II Druhá pracovní tabulka

	(1) $\Sigma w$	(2) $\Sigma wx$	(3) $\Sigma wy$	(4) $\Sigma wx^2$	(5) $\Sigma wy^2$	(6) $\Sigma wxy$	(7) $S_{xx}$	(8) $S_{xy}$	(9) $S_{yy}$	(10) $\bar{x}$	(11) $\bar{y}$	(12) $a$
$S$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
$T$	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
atd.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
							$\Sigma =$	$\Sigma =$				

### 4.2.1 Zapisování výsledků

Tabulka 4.2.1-I se používá pro zápis dat do sloupců označených čísly.

- (1) Dávka standardu nebo zkoušeného přípravku.
- (2) Počet vyšetřených jednotek  $n$  pro příslušné ošetření.
- (3) Počet jednotek  $r$ , které měly pozitivní odpověď na toto ošetření.
- (4) Logaritmus  $x$  dávky.

(5) Podíl  $p = \frac{r}{n}$  pozitivních odpovědí ve skupině.

Zde začíná iterační cyklus.

(6) Sloupec  $Y$  je při prvním iteračním kroku vyplněn nulami.

(7) Odpovídající hodnoty  $\Phi = \Phi(Y)$  kumulativní distribuční funkce normálního rozložení (viz tabulka 8.4).

Pro výpočet sloupců (8) až (10) jsou použity vzorce:

$$(8) Z = \frac{e^{-Y^2/2}}{\sqrt{2\pi}} \quad (4.2.1-1)$$

$$(9) y = Y + \frac{p - \Phi}{Z} \quad (4.2.1-2)$$

$$(10) w = \frac{nZ^2}{\Phi - \Phi^2} \quad (4.2.1-3)$$

Sloupce (11) až (15) se jednoduše vypočtou ze sloupců (4), (9) a (10) jako  $wx$ ,  $wy$ ,  $wx^2$ ,  $wy^2$  a  $wxy$ . Dále se vypočtou pro každý přípravek zvlášť součty  $\sum$  sloupců (10) až (15).

Součty z tabulky 4.2.1-I se přepíší do sloupců (1) až (6) tabulky 4.2.1-II. a 6 dalších sloupců (7) až (12) se vypočte pomocí vzorců:

$$(7) S_{xx} = \sum wx^2 - \frac{(\sum wx)^2}{\sum w} \quad (4.2.1-4)$$

$$(8) S_{xy} = \sum wxy - \frac{(\sum wx)(\sum wy)}{\sum w} \quad (4.2.1-5)$$

$$(9) S_{yy} = \sum wy^2 - \frac{(\sum wy)^2}{\sum w} \quad (4.2.1-6)$$

$$(10) \bar{x} = \frac{\sum wx}{\sum w} \quad (4.2.1-7)$$

$$(11) \bar{y} = \frac{\sum wy}{\sum w} \quad (4.2.1-8)$$

Společný sklon  $b$  se pak vypočte jako:

$$b = \frac{\sum S_{xy}}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.1-9)$$

a průsečík  $a$  přímek pro referenční a zkoušený přípravek je

$$(12) a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (4.1.2-10)$$



Sloupec (6) první pracovní tabulky se teď může nahradit hodnotami  $Y = a + bx$  a cyklus tak dlouho opakovat, dokud nebude rozdíl dvou po sobě následujících cyklů dostatečně malý, tj. např. pokud maximální rozdíl  $Y$  ve dvou po sobě následujících cyklech nebude menší než  $10^{-8}$ .

#### 4.2.2 Testy validity

Před výpočtem účinností a jejich intervalů spolehlivosti je třeba ověřit validitu, tj. linearitu závislosti transformované veličiny  $y$  (4.2.1-2) na logaritmu dávky  $x$  a rovnoběžnost přímk vyjadřujících tento vztah pro všechny přípravky. Odchylka od linearity pro všechny přípravky podané nejméně ve třech dávkách se vypočte takto: Do tabulky 4.2.1-II se připojí sloupec číslo (13) obsahující hodnoty veličiny:

$$S_{yy} - \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} \quad (4.2.2-1)$$

Součet hodnot ve třináctém sloupci  $\chi_L^2$  je mírou odchylky od linearity. Zkoušku je třeba zamítnout, když  $\chi_L^2$  překročí na hladině významnosti 0,05 kritickou hodnotu  $\chi^2$  rozdělení s  $(N - 2h)$  stupni volnosti. Tato kritická hodnota se najde v tabulce 8.3 nebo se vypočte pomocí vhodného počítačového programu.  $N$  je počet všech podaných dávek a  $h$  je počet všech přípravků zahrnutých do zkoušky. Je-li hodnota významná na hladině významnosti 0,05 je nutno zkoušku zamítnout (viz část 4.2.4).

Pokud výše zmíněný test neindikuje významnou odchylku od linearity, je třeba dále na hladině významnosti 0,05 otestovat rovnoběžnost. K tomu se použijí kritéria  $\chi_R^2$  s  $h - 1$  stupni volnosti:

$$\chi_R^2 = \sum \frac{S_{xy}^2}{S_{xx}} - \frac{(\sum S_{xy})^2}{\sum S_{xx}} \quad (4.2.2-2)$$

(součet  $\Sigma$  se provede přes všechny přípravky).

Když hodnota  $\chi_R^2$  překročí příslušnou kritickou hodnotu rozdělení  $\chi^2$ , pokládá se odchylka od rovnoběžnosti za statisticky významnou. Pokud odchylky od linearity a rovnoběžnosti nejsou statisticky významné, je zkouška validní.

#### 4.2.3 Odhad účinnosti a její meze spolehlivosti

Pokud nebyly nalezeny žádné odchylky od předpokladu linearity a rovnoběžnosti, je možno vypočítat logaritmus relativní účinnosti:

$$M'_T = \frac{a_T - a_S}{b} \quad (4.2.3-1)$$

a dále tento výraz odlogaritmovat. Dále se položí  $t = 1,96$  a  $s = 1$ . Meze spolehlivosti se pak získají odlogaritmováním výrazu:

$$CM'_T - (C-1)(\bar{x}_S - \bar{x}_T) \pm \sqrt{(C-1)(V \sum S_{xx} + C(M'_T - \bar{x}_S + \bar{x}_T)^2)}, \quad (4.2.3-2)$$

kde

$$C = \frac{b^2 \sum S_{xx}}{b^2 \sum S_{xx} - s^2 t^2}$$

a

$$V = \frac{1}{\sum_S w} + \frac{1}{\sum_T w}.$$

#### 4.2.4 Chybné zkoušky

Je-li test odchylky od linearity, viz část 4.2.2, statisticky významný, měla by se příslušná zkouška zamítnout jako nevyhovující. Někdy může být důvod předpokládat, že k této odchylce přispívají další v průběhu zkoušky nekontrolovatelné nebo nekontrolované vlivy. Pak je možné zkoušku zachovat s mírnou modifikací hodnocení jejích výsledků. Za  $t$  se položí kritická hodnota  $t$ -rozdělení ( $p = 0,05$ ) se stejným počtem stupňů volnosti jako v testu linearity ( $N - 2h$ ) a  $s$  se změní tak, že je:

$$s^2 = \frac{\chi_L^2}{(N - 2h)}$$

(tato hodnota bude obvykle větší než 1).

Testové kritérium pro test rovnoběžnosti je pak podíl

$$F = \frac{\chi_R^2}{(h-1)s^2},$$

který má  $F$  rozdělení s  $h - 1$  a  $N - 2h$  stupni volnosti. Statistická významnost podílu  $F$  se otestuje na hladině významnosti 0,05.

#### 4.3 Logitová metoda

Jak již bylo řečeno v části 4.1, je někdy vhodnější použít logitovou metodu. Jméno je odvozeno od logitové funkce, která je inverzní k logistickému rozložení. Postup odhadu je podobný, jako byl popsán u probitové metody, pouze s následující modifikací funkcí  $\Phi$  a  $Z$ :

$$\Phi = \frac{1}{1 + e^{-Y}} \quad (4.3-1)$$

$$Z = \frac{e^{-Y}}{(1 + e^{-Y})^2} \quad (4.3-2)$$

#### 4.4 Jiné tvary křivek

Probitová a logitová metoda prakticky vždy postačují pro analýzu kvantálních dat požadovanou v lékopise. Nicméně pokud je zřejmé, že závislost odpovědi na logaritmu dávky má jiný tvar než zmíněné křivky, je možno změnit tvar funkcí  $\Phi$  a  $Z$ . Funkce  $Z$  je první derivací funkce  $\Phi$ . Např. pokud je prokazatelné, že funkce není symetrická, může být vhodným modelem Gompertzovo rozdělení (metoda gompit); v tom případě je  $\Phi = 1 - e^{-e^Y}$  a  $Z = e^{Y-e^Y}$ .

#### 4.5 Medián efektivní dávky

U některých typů zkoušek je požadováno získání odhadu mediánu efektivní dávky, což je dávka, na kterou odpoví 50 % jednotek. Probitovou metodu je možno použít i pro stanovení mediánu efektivní dávky ( $ED_{50}$ ), ale protože není potřeba tuto dávku vyjádřit relativně vzhledem ke standardu, jsou příslušné vzorce mírně odlišné.

Poznámka: Standard by měl být do zkoušky nezávazně též zahrnut, aby bylo možno ověřit validitu zkoušky. Obvykle se zkouška považuje za validní, pokud je vypočtená hodnota  $ED_{50}$  standardu dostatečně blízko jeho předpokládané hodnotě. Co to znamená „dostatečně blízko“, závisí na požadavcích uvedených v jednotlivých člácích.

Tabulky pro odpovědi zkoušeného vzorku a nezávazně i standardu jsou v části 4.2.1. Test linearity je popsán v části 4.2.2. Test rovnoběžnosti není pro tento typ zkoušky nutný. Odhad  $ED_{50}$  zkoušeného přípravku  $T$ , podobně i pro ostatní přípravky, se získá podle popisu v části 4.2.3, ale s následující modifikací vzorců 4.2.3-1 a 4.2.3-2:

$$M'_T = \frac{-a_T}{b} \quad (4.5-1)$$

a

$$CM'_T - (C-1)\bar{x}_T \pm \sqrt{(C-1)(V\sum S_{xx} + C(M'_T - \bar{x}_T)^2)} \quad (4.5-2)$$

kde  $V = \frac{1}{\sum_T w}$  a  $C$  zůstane nezměněné.

## 5 Příklady

Tato část ilustruje použití výše popsaných vzorců a postupů na pracovních příkladech, které byly vybrány především pro ilustraci statistických metod a výpočtů. Nejsou zamýšleny jako příklad vhodných metod zkoušek, pokud jsou ve speciální části povoleny i jiné metody. Ke zvýšení jejich užitečnosti pro kontrolu přesnosti výpočtů je použit větší počet desetinných míst, než je nezbytné pro hodnocení výsledků zkoušek. Je nutno poznamenat, že existují i jiné ekvivalentní metody výpočtu. Tyto metody by měly vést k úplně stejným výsledkům jako zde publikované metody.

### 5.1 Model rovnoběžnosti

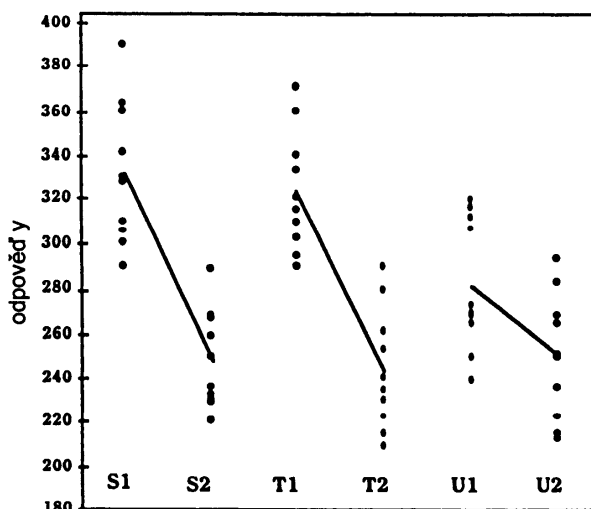
#### 5.1.1 Dvoudávková vícenásobná zkouška úplně znáhodněná

Stanovení účinnosti kortikotropinu podkožním podáním potkanům

Standard se podával v dávkách 0,25 a 1,0 jednotek na 100 g tělesné hmotnosti. Testovaly se dva přípravky, oba o předpokládané účinnosti 1 jednotka na miligram. Přípravky se tedy podávaly ve stejných dávkách jako standard. Jednotlivé odpovědi a jejich průměry jsou v tabulce 5.1.1-I. Grafická prezentace nevzbuzuje žádné pochybnosti o homogenitě rozptylů a normalitě dat, ale otvírá otázku o platnosti předpokladu rovnoběžnosti u přípravku  $U$ .

Tab. 5.1.1-I Odpovědi  $y$  množství kyseliny askorbové (mg) ve 100 g nadledvin

	Standard $S$		Přípravek $T$		Přípravek $U$	
	$S_1$	$S_2$	$T_1$	$T_2$	$U_1$	$U_2$
	300	289	310	230	250	236
	310	221	290	210	268	213
	330	267	360	280	273	283
	290	236	341	261	240	269
	364	250	321	241	307	251
	328	231	370	290	270	294
	390	229	303	223	317	223
	360	269	334	254	312	250
	342	233	295	216	320	216
	306	259	315	235	265	265
průměr	332,0	248,4	323,9	244,0	282,2	250,0



Obr. 5.1.1-I

Vzorce v tabulce 3.2.3-I a 3.2.3-II vedou k hodnotám:

$$\begin{aligned}
 P_S &= 580,4 & L_S &= -41,8 \\
 P_T &= 567,9 & L_T &= -39,95 \\
 P_U &= 532,2 & L_U &= -16,1 \\
 H_p &= \frac{10}{2} = 5 & H_L &= \frac{120}{6} = 20
 \end{aligned}$$

Analýza rozptylu se dokončí za pomoci vzorců z tabulek 3.2.3-III a 3.2.3-IV, viz tabulka 5.1.1-II.

Tab. 5.1.1-II Analýza rozptylu

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F-statistika	Pravděpodobnost
přípravek	2	6256,6	3128,3		
regrese	1	63 830,8	63 830,8	83,38	0,000
nerovnoběžnost	2	8218,2	4109,1	5,37	0,007
ošetření	5	78 305,7			
reziduální chyba	54	41 340,9	765,57		
celkem	59	119 646,6			

Analýza potvrdila silnou lineární závislost. Odchylka od předpokladu rovnoběžnosti je také silně významná ( $p = 0,0075$ ). To se dalo očekávat již z grafické prezentace, kde závislost na dávce není u přípravku *U* paralelní se závislostí na standardu. Tento přípravek se tedy z analýzy vyloučí a výpočet se zopakuje pouze pro přípravek *T* a standard *S*.

Tab. 5.1.1-III Analýza rozptylu bez přípravku *U*

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F-statistika	Pravděpodobnost
přípravek	1	390,6	390,6		
regrese	1	66 830,6	66 830,6	90,5	0,000
nerovnoběžnost	1	34,2	34,2	0,05	0,831
ošetření	3	67 255,5			
reziduální chyba	36	26 587,3	738,54		
celkem	39	93 842,8			

Výsledky analýzy bez přípravku  $U$  jsou v souladu s požadavky linearity a rovnoběžnosti, může se tedy přistoupit k výpočtu účinnosti. Vzorce z části 3.2.5 dají následující výsledky:

Pro společný sklon

$$b = \frac{20 \times (-41,8 - 39,95)}{\ln 4 \times 10 \times 2} = -58,970$$

logaritmus relativní účinnosti

$$M'_T = \frac{567,9 - 580,4}{2 \times (-58,970)} = 0,1060$$

$$C = \frac{66\,830,6}{66\,830,6 - 738,54 \times 2,028^2} = 1,0476$$

$$V = \frac{66\,830,6}{(-58,970)^2 \times 2 \times 10} = 0,9609$$

a logaritmus mezí spolehlivosti

$$1,0476 \times 0,1060 \pm \sqrt{0,0476 \times (1,0476 \times 0,1060^2 + 2 \times 0,9609)} = 0,1110 \pm 0,3034$$

Po odlogaritmování se získá relativní účinnost 1,11 s 95% intervalem spolehlivosti od 0,82 do 1,51.

Po vynásobení předpokládanou účinností přípravku T se získá účinnost 1,11 jednotky/mg s mezemi spolehlivosti od 0,82 do 1,51 jednotek/mg.

### 5.1.2 Třídávková zkouška s latinskými čtverci

Stanovení účinnosti antibiotik difuzní metodou v pravouhlých plotnách

Použitý standard má předpokládanou účinnost 4855 m.j./mg, zkoušený přípravek má stanovenou účinnost 5600 m.j./mg. Jako základní ředění bylo rozpuštěno 25,2 mg standardu v 24,5 ml rozpouštědla a 21,4 mg zkoušeného přípravku v 23,95 ml rozpouštědla. Tento základní roztok byl u obou přípravků ředěn 1 : 20 a dále byl použit ředící poměr 1,5.

Latinské čtverce byly vytvořeny metodou popsanou v části 8.6, viz. tabulka 5.1.2-I. Odpovědi (inhibiční zóny jsou v mm × 10) jsou uvedeny v tabulce 5.1.2-II. Průměry pro jednotlivá ošetření jsou v tabulce 5.1.2-III. Graficky jsou data zobrazena na obrázku 5.1.2-I, který nežadává důvod pochybovat o splnění požadavků normality a homogenity rozptylů.

Tab. 5.1.2-I Rozložení ošetření na plotně

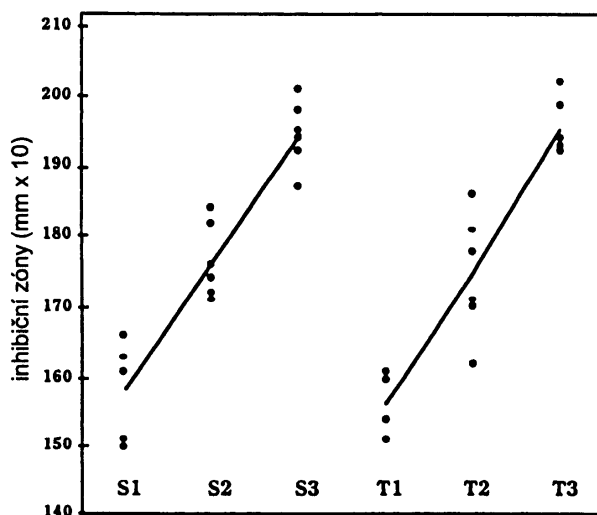
	1	2	3	4	5	6
1	$S_1$	$T_1$	$T_2$	$S_3$	$S_2$	$T_3$
2	$T_1$	$T_3$	$S_1$	$S_2$	$T_2$	$S_3$
3	$T_2$	$S_3$	$S_2$	$S_1$	$T_3$	$T_1$
4	$S_3$	$S_2$	$T_3$	$T_1$	$S_1$	$T_2$
5	$S_2$	$T_2$	$S_3$	$T_3$	$T_1$	$S_1$
6	$T_3$	$S_1$	$T_1$	$T_2$	$S_3$	$S_2$

Tab. 5.1.2-II Změřené inhibiční zóny v mm × 10

	1	2	3	4	5	6	průměry řádků
1	161	160	178	187	171	194	$175,2 = R_1$
2	151	192	150	172	170	192	$171,2 = R_2$
3	162	195	174	161	193	151	$172,7 = R_3$
4	194	184	199	160	163	171	$178,5 = R_4$
5	176	181	201	202	154	151	$177,5 = R_5$
6	193	166	161	186	198	182	$181,0 = R_6$
průměry sloupců	172,8 $= C_1$	179,7 $= C_2$	177,2 $= C_3$	178,0 $= C_4$	174,8 $= C_5$	173,5 $= C_6$	

Tab. 5.1.2-III Průměry

	Standard S			Přípravek T		
	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$T_1$	$T_2$	$T_3$
průměr	158,67	176,50	194,50	156,17	174,67	195,50



Obr. 5.1.2-I

Dosažením do vzorců v tabulkách 3.2.3-I a 3.2.3-II se získá:

$$P_S = 529,667$$

$$L_S = 35,833$$

$$P_T = 526,333$$

$$L_T = 39,333$$

$$H_p = \frac{6}{3} = 2$$

$$H_L = \frac{72}{24} = 3$$

Pomocí vzorců z tabulek 3.2.3-III a 3.2.3-IV se dokončí výpočet analýzy rozptylu. Výsledky jsou v tabulce 5.2.1-IV.

Tab. 5.1.2-IV

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F-statistika	Pravděpodobnost
přípravek	1	11,1111	11,1111		
regrese	1	8475,0417	8475,0417	408,1	0,000
nerovnoběžnost	1	18,3750	18,3750	0,885	0,358
nelinearita	2	5,4722	2,7361	0,132	0,877
ošetření	5	8510			
řádky	5	412	82,40	3,968	0,012
sloupce	5	218,6667	43,73	2,106	0,107
reziduální chyba	20	415,3333	20,7667		
celkem	35	9556			

Výsledky této analýzy ukazují, že jsou statisticky významné rozdíly mezi jednotlivými řádky. To poukazuje na zpřesnění výsledků zkoušky při použití latinských čtverců oproti úplnému znáhodnění plánu zkoušky. Vysoká významnost závislosti na dávce a nevýznamnost odchylky od předpokladu linearity a rovnoběžnosti potvrzují, že je možné pro zkoušku vypočítat účinnost.

Dosažením do vzorců části 3.2.5 se získá:  
společný sklon

$$b = \frac{3 \times (35,833 + 39,333)}{\ln(1,5) \times 6 \times 2} = 46,346,$$

logaritmus relativní účinnosti

$$M'_T = \frac{526,333 - 529,667}{3 \times 46,346} = -0,023974,$$

$$C = \frac{8475,0417}{8475,0417 - 20,7667 \times 2,086^2} = 1,0108,$$

$$V = \frac{8475,0417}{46,346^2 \times 3 \times 6} = 0,2192$$

a logaritmus mezi spolehlivosti je:

$$1,0108 \times (-0,0240) \pm \sqrt{0,0108 \times (1,0108 \times (-0,0240)^2 + 2 \times 0,2192)} = -0,02423 \pm 0,06878.$$

Odlogaritmováním se získá relativní účinnost 0,9763 s 95% mezemi spolehlivosti od 0,9112 do 1,0456.

Je nutno použít korekční faktor  $\frac{4855 \times 25,2/24,5}{5600 \times 21,4/23,95} = 0,99799$ , protože ředění nejsou z pohledu předpokládané účinnosti zcela ekvivalentní. Vynásobením korekčním faktorem a předpokládanou účinností 5600 m.j./mg se získá účinnost zkoušeného přípravku 5456 m.j./mg s 95% intervalem spolehlivosti od 5092 do 5843 m.j./mg.

### 5.1.3 Čtyřdávková zkouška s náhodnými bloky

#### Stanovení účinnosti antibiotik turbidimetrickou metodou

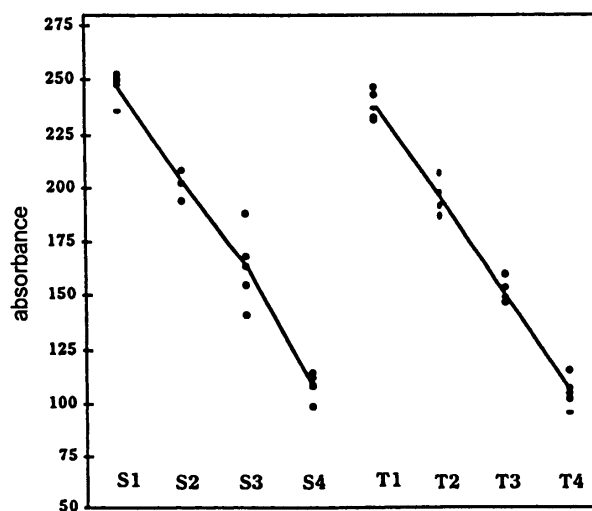
Tato zkouška je navržena pro zjištění účinnosti v mezinárodních jednotkách na lahvičku. Standard má stanovenou účinnost m.j./mg. Zkoušený přípravek má předpokládanou účinnost 20 000 m.j./lahvičku. Na základě těchto informací bylo následujícím způsobem připraveno základní ředění. 16,7 mg standardu bylo rozpuštěno v 25 ml rozpouštědla a obsah jedné lahvičky zkoušeného přípravku ve 40 ml rozpouštědla. Konečné ředění bylo připraveno nejprve zředěním

1 : 40 a dále použitím ředícího faktoru 1,5. Zkumavky byly umístěny do vodní lázně v uspořádání do náhodných bloků, viz část 8.5. Odpovědi (absorbance) jsou uvedeny v tabulce 5.1.3-I.

Pohled na obrázek 5.1.3-I nedává důvod pochybovat o platnosti předpokladů normality a homogenity rozptylů zobrazených dat. Směrodatná odchylka  $S_3$  je poněkud vyšší, ale není důvod ke zvýšení pozornosti.

Tab. 5.1.3-I Absorbance suspenze ( $\times 1000$ )

blok	Standard $S$				Přípravek $T$				Průměr
	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$T_1$	$T_2$	$T_3$	$T_4$	
1	252	207	168	113	242	206	146	115	181,1
2	249	201	187	107	236	197	153	102	179,0
3	247	193	162	111	246	197	148	104	176,0
4	250	207	155	108	231	191	159	106	175,9
5	235	207	140	98	232	186	146	95	167,4
průměr	246,6	203,0	162,4	107,4	237,4	195,4	150,4	104,4	



Obr. 5.1.3-I

Použitím vzorců z tabulky 3.2.3-I a 3.2.3-II se získá:

$$P_S = 719,4 \quad L_S = -229,1$$

$$P_T = 687,6 \quad L_T = -222$$

$$H_P = \frac{5}{4} = 1,25 \quad H_L = \frac{60}{60} = 1$$

Analýza rozptylu je vypočtena pomocí vzorců z tabulek 3.2.3-III a 3.2.3-IV. Výsledky jsou v tabulce 5.1.3-II.

Tab. 5.1.3-II Analýza rozptylu

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F-statistika	Pravděpodobnost
přípravek	1	623,025	623,025		
regrese	1	101 745,6	101 745,6	1887,1	0,000
nerovnoběžnost	1	25,205	25,205	0,467	0,500
nelinearita	4	259,14	64,785	1,202	0,332
ošetření	7	102 662			
bloky	4	876,75	219,188	4,065	0,010
reziduální chyba	28	1509,65	53,916		
celkem	39	105 048,4			



Rozdíl mezi bloky je statisticky významný a to indikuje, že použití náhodných bloků pro plán zkoušky zvýšilo přesnost prováděné zkoušky. Vysoká významnost závislosti na dávce a nevýznamnost odchylky od předpokladu linearity a rovnoběžnosti potvrzují, že je možno pro zkoušku vypočítat účinnost.

Dosažením do vzorců části 3.2.5 se získá:  
společný sklon

$$b = \frac{1 \times (-229,1 - 222)}{\ln(1,5) \times 5 \times 2} = -111,255,$$

logaritmus účinnosti

$$M'_T = \frac{687,6 - 719,4}{4 \times (-111,255)} = 0,071457,$$

$$C = \frac{101\,745,6}{101\,745,6 - 53,916 \times 2,048^2} = 1,00223$$

$$V = \frac{101\,745,6}{(-111,255)^2 \times 4 \times 5} = 0,4110$$

a logaritmus mezí spolehlivosti je:

$$1,00223 \times 0,0715 \pm \sqrt{0,00223 \times (1,00223 \times 0,0715^2 + 2 \times 0,4110)} = 0,07162 \pm 0,04293.$$

Odlogaritmováním se získá relativní účinnost 1,0741 s 95% mezemi spolehlivosti od 1,0291 do 1,1214.

Je nutno použít korekční faktor  $\frac{670 \times 16,7/25}{20\,000 \times 1/40} = 0,89512$ , protože ředění nejsou z pohledu předpokládané účinnosti

zcela ekvivalentní. Vynásobením korekčním faktorem a předpokládanou účinností 20 000 m.j./lahvičku se získá účinnost zkoušeného přípravku 19 228 m.j./lahvičku s 95% intervalem spolehlivosti od 18 423 do 20 075 m.j./lahvičku.

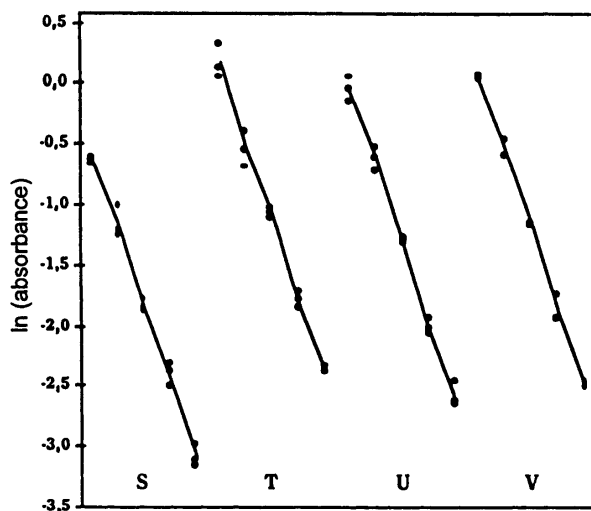
#### 5.1.4 Pětidávková vícenásobná zkouška s úplně znáhodněným plánem

*Zkouška in vitro tří vakcín hepatitidy B v porovnání se standardem*

Pro standard a každou vakcínu byly připraveny tři dvojité řady ředění v pěti různých koncentracích. Po několika dalších krocích byla změřena jejich odpověď (absorbance), viz tabulka 5.1.4-I.

Tabulka 5.1.4-I

Ředění	Standard S			Přípravek T			Přípravek U			Přípravek V		
1 : 16 000	0,043	0,045	0,051	0,097	0,097	0,094	0,086	0,071	0,073	0,082	0,082	0,086
1 : 8000	0,093	0,099	0,082	0,167	0,157	0,178	0,127	0,146	0,133	0,145	0,144	0,173
1 : 4000	0,159	0,154	0,166	0,327	0,355	0,345	0,277	0,268	0,269	0,318	0,306	0,316
1 : 2000	0,283	0,295	0,362	0,501	0,665	0,576	0,586	0,489	0,546	0,552	0,551	0,624
1 : 1000	0,514	0,531	0,545	1,140	1,386	1,051	0,957	0,866	1,045	1,037	1,039	1,068



Obr. 5.1.4-I

O logaritmu optické denzity je známo, že lineárně závisí na logaritmu dávky. Průměrné odpovědi logaritmu optické denzity na jednotlivé dávky jsou v tabulce 5.1.4-II. Na grafickém zobrazení nejsou patrné žádné anomálie.

Tabulka 5.1.4-II

$S_1$	-3,075	$T_1$	-2,344	$U_1$	-2,572	$V_1$	-2,485
$S_2$	-2,396	$T_2$	-1,789	$U_2$	-2,002	$V_2$	-1,874
$S_3$	-1,835	$T_3$	-1,073	$U_3$	-1,305	$V_3$	-1,161
$S_4$	-1,166	$T_4$	-0,550	$U_4$	-0,618	$V_4$	-0,554
$S_5$	-0,635	$T_5$	0,169	$U_5$	-0,048	$V_5$	0,047

Dosažením do vzorců v tabulkách 3.2.3-I a 3.2.3-II se získá:

$$P_S = -9,108 \quad L_S = 6,109$$

$$P_T = -5,586 \quad L_T = 6,264$$

$$P_U = -6,554 \quad L_U = 6,431$$

$$P_V = -6,027 \quad L_V = 6,384$$

$$H_p = \frac{3}{5} = 0,6 \quad H_L = \frac{36}{120} = 0,3$$

Pomocí vzorců z tabulek 3.2.3-III a 3.2.3-IV se dokončí výpočet analýzy rozptylu. Výsledky jsou v tabulce 5.1.4-III.

Tab. 5.1.4-III Analýza rozptylu

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtverec	F-statistika	Pravděpodobnost
přípravek	3	4,475	1,492		
regrese	1	47,58	47,58	7126	0,000
nerovnoběžnost	3	0,0187	0,006	0,933	0,434
nelinearita	12	0,0742	0,006	0,926	0,531
ošetření	19	52,152			
reziduální chyba	40	0,267	0,0067		
celkem	59	52,42			

Vysoká významnost závislosti na dávce a nevýznamnost odchylky od předpokladu linearit a rovnoběžnosti potvrzují, že je možno pro zkoušku vypočítat účinnost.

Dosažením do vzorců části 3.2.5 se získá:  
společný sklon

$$b = \frac{0,3 \times (6,109 + 6,264 + 6,431 + 6,384)}{\ln 2 \times 3 \times 4} = 0,90848,$$

logaritmus relativní účinnosti přípravku  $T$

$$M'_T = \frac{-5,586 - (-9,108)}{5 \times 0,90848} = 0,7752,$$

$$C = \frac{47,58}{47,58 - 0,0067 \times 2,021^2} = 1,00057,$$

$$V = \frac{47,58}{0,9085^2 \times 5 \times 3} = 3,8436$$

a logaritmus mezi spolehlivosti je:

$$1,00057 \times 0,7752 \pm \sqrt{0,00057 \times (1,00057 \times 0,7752^2 + 2 \times 3,8436)} = 0,7756 \pm 0,0689.$$

Odlogaritmováním se získá relativní účinnost 2,171 s 95% mezemi spolehlivosti od 2,027 do 2,327. Všechny vzorky měly předpokládanou účinnost 20  $\mu\text{g}$  proteinu/ml, proto je účinnost přípravku  $T$  rovna 43,4  $\mu\text{g}$  proteinu/ml s 95% mezemi spolehlivosti od 40,5  $\mu\text{g}$  do 46,5  $\mu\text{g}$  proteinu /ml.

Stejně se vypočte odhad účinnosti a mezi spolehlivosti zbylých dvou přípravků. Výsledky jsou v tabulce 5.1.4-IV.

**Tab. 5.1.4-IV**

	Dolní mez	Odhad	Horní mez
vakcína $T$	40,5	43,4	46,5
vakcína $U$	32,9	35,2	37,6
vakcína $V$	36,8	39,4	42,2

### 5.1.5 Dvojitě křížová zkouška

*Stanovení účinnosti insulinu na králících podkožním podáním*

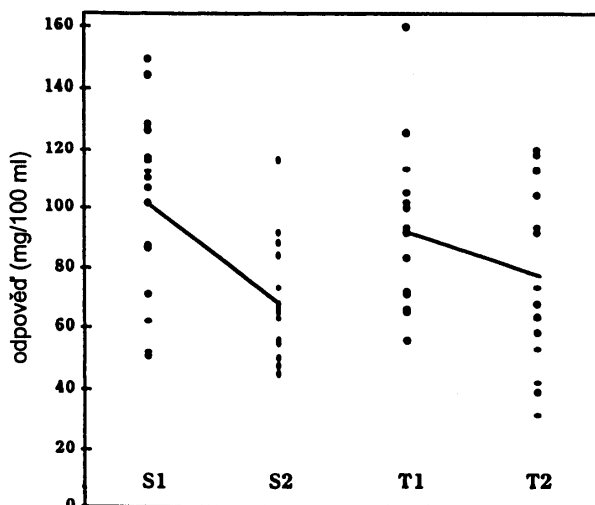
Standardní přípravek se aplikoval v dávkách 1 a 2 jednotky na mililitr. Na základě předpokládané účinnosti neznámého přípravku ( $A_U = 40$  jednotek na mililitr) byly připraveny ekvivalentní dávky přípravku. Jednotliví králíci obdrželi podkožně 0,5 ml odpovídajícího ředění podle plánu v tabulce 5.1.5-I. Výsledné odpovědi jsou v tabulce 5.1.5-II. Velký rozptyl, který je zřejmě způsoben variabilitou mezi jednotlivými zvířaty, ilustruje užitečnost křížového pokusu.

**Tab. 5.1.5-I** Uspořádání ošetření

Skupina králíků				
	1	2	3	4
den I	$S_1$	$S_2$	$T_1$	$T_2$
den II	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$S_1$

Tab. 5.1.5-II Odpovědi y: součty hodnot glukosy v krvi (mg/100 ml) po 1 a 2 1/2 h

	Skupina 1		Skupina 2		Skupina 3		Skupina 4	
	$S_1$	$T_2$	$S_2$	$T_1$	$T_1$	$S_2$	$T_2$	$S_1$
	112	104	65	72	105	91	118	144
	126	112	116	160	83	67	119	149
	62	58	73	72	125	67	42	51
	86	63	47	93	56	45	64	107
	52	53	88	113	92	84	93	117
	110	113	63	71	101	56	73	128
	116	91	50	65	66	55	39	87
	101	68	55	100	91	68	31	71
průměr	95,6	82,8	69,6	93,3	89,9	66,6	72,4	106,8



Obr. 5.1.5-I

Analýza rozptylu pro tento plán zkoušky je složitější než pro jiné plány, protože složka součtu čtverců tvořená odchylkou od rovnoběžnosti není nezávislá na složce tvořené rozdíly mezi králíky. Test rovnoběžnosti regresních přímek vyžaduje výpočet dalšího reziduálního součtu čtverců „uvnitř králíků“, který se získá odečtením složky rovnoběžnosti a dvou „interakcí“ od variability způsobené rozdíly mezi králíky.

Díky opakování v každé skupině obsahuje analýza tři „interakce“:

dny  $\times$  přípravky, dny  $\times$  regrese, dny  $\times$  rovnoběžnost.

Tyto členy reprezentují náchylnost jednotlivých složek (efektu přípravku, regrese a rovnoběžnosti) měnit se den ode dne. Odpovídající  $F$ -test kontroluje platnost modelu se zřetelem na tuto skutečnost. Vysoce statisticky významné výsledky  $F$ -testu je třeba interpretovat opatrně a, pokud je to možné, zkoušku zopakovat.

Analýza rozptylu se provede dosazením do vzorců v tabulkách 3.2.3-I a 3.2.3-III zvlášť pro jednotlivé dny a pro oba dny společně. Výsledky po dosazení vzorců z tabulek 3.2.3-I a 3.2.3-II jsou:

1. den

$$P_S = 165,25 \quad L_S = -13$$

$$P_T = 162,25 \quad L_T = -8,75$$

$$H_P = \frac{8}{2} = 4 \quad H_L = \frac{96}{6} = 16$$

2. den

$$P_S = 173,38 \quad L_S = -20,06$$

$$P_T = 176,00 \quad L_T = -5,25$$

$$H_P = \frac{8}{2} = 4 \quad H_L = \frac{96}{6} = 16$$

oba dny dohromady:

$$P_S = 169,31 \quad L_S = -16,53$$

$$P_T = 169,13 \quad L_T = -7,00$$

$$H_P = \frac{16}{2} = 8 \quad H_L = \frac{192}{6} = 32$$

a ze vzorců z tabulky 3.2.3-III

1. den	2. den	dohromady
$SS_{prip} = 18,000$	$SS_{prip} = 13,781$	$SS_{prip} = 0,141$
$SS_{reg} = 3784,5$	$SS_{reg} = 5125,8$	$SS_{reg} = 8859,5$
$SS_{rovnob} = 144,5$	$SS_{rovnob} = 1755,3$	$SS_{rovnob} = 1453,5$

Složky interakce se vypočtou jako 1. den + 2. den – oba dny dohromady

$$SS_{dny \times prip} = 31,64$$

$$SS_{dny \times reg} = 50,77$$

$$SS_{dny \times par} = 446,27$$

Dále je součet čtverců způsobený rozdíly mezi dny roven:

$$SS_{dny} = \frac{1}{2} H(D_1^2 + D_2^2) - K = 478,52$$

a součet čtverců způsobený rozdíly mezi bloky (mezi králíky) je:

$$SS_{blok} = 2 \sum B_i^2 - K = 39\,794,7$$

kde  $B_i$  je průměrná odpověď králíka.

Výsledky analýzy rozptylu jsou v tabulce 5.1.5-III.

Tab. 5.1.5-III

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný tverec	F-rozložení	Pravděpodobnost
nerovnoběžnost	1	1453,5	1453,5	1,064	0,311
dny × přípravek	1	31,6	31,6	0,023	0,880
dny × regrese	1	50,8	50,8	0,037	0,849
reziduální chyba mezi králíky	28	38 258,8	1366,4		
králík	31	39 794,7	1283,7		
přípravky	1	0,14	0,14	0,001	0,975
regrese	1	8859,5	8859,5	64,532	0,000
dny	1	478,5	478,5	3,485	0,072
dny × nerovnoběžnost	1	446,3	446,3	3,251	0,082
reziduální chyba uvnitř králíků	28	3844,1	137,3		
celkem	63	53 423,2			

Analýza rozptylu potvrdila splnění požadovaných podmínek zkoušky: Závislost na dávce (regrese) je silně významná a odchylka od předpokladu rovnoběžnosti a všechny tři interakce jsou statisticky nevýznamné.

Dosažením do vzorců části 3.2.5 se získá:

společný sklon

$$b = \frac{32 \times (-16,56 - 7)}{\ln 2 \times 16 \times 2} = -33,95,$$

logaritmus účinnosti

$$M'_T = \frac{169,13 - 169,31}{2 \times (-33,95)} = 0,00276,$$

$$C = \frac{8859,5}{8859,5 - 137,3 \times 2,048^2} = 1,0695,$$

$$V = \frac{8859,5}{(-33,95)^2 \times 2 \times 16} = 0,2402$$

a logaritmus mezí spolehlivosti je:

$$1,0695 \times 0,00276 \pm \sqrt{0,0695 \times (1,0695 \times 0,00276^2 + 2 \times 0,2402)} = 0,00295 \pm 0,18279.$$

Odlogaritmováním se získá relativní účinnost 1,003 s 95% mezemi spolehlivosti od 0,835 do 1,204. Vynásobením  $A_T = 40$  se získá účinnost 40,1 jednotek na mililitr s 95% mezemi spolehlivosti od 33,4 do 48,2 jednotek na mililitr.

## 5.2 Model poměru sklonů

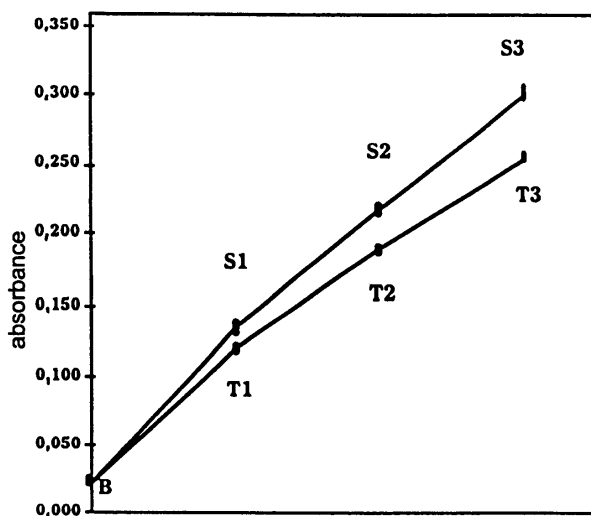
### 5.2.1 Úplně znáhodněný plán (0,3,3)

#### Stanovení účinnosti faktoru VIII

Laboratoř provádí stanovení účinnosti v koncentrátech faktoru VIII chromogenní metodou. Laboratoř nemá zkušenosti s tímto typem zkoušky, ale pokouší se ji provést operativně. Byla připravena tři stejná ředění pro referenční a zkoušený přípravek. Navíc byly připraveny i vzorky s nulovou dávkou, přestože nebyla předpokládána linearita závislosti odpovědi (absorbance  $y$ ) na dávce ( $x$  v m.j.) pro velmi nízké hodnoty. Bylo připraveno osm opakování pro každé ředění, což je více, než bývá používáno u rutinních zkoušek.

Tab. 5.2.1-I Absorbance

koncentrace	Nulová dávka	Standard $S$ (v m.j./ml)			Přípravek $T$ (v m.j./ml)		
	$B$	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$T_1$	$T_2$	$T_3$
		0,01	0,02	0,03	,01	0,02	0,03
	0,022	0,133	0,215	0,299	0,120	0,188	0,254
	0,024	0,133	0,215	0,299	0,119	0,188	0,253
	0,024	0,131	0,216	0,299	0,118	0,190	0,255
	0,026	0,136	0,218	0,297	0,120	0,190	0,258
	0,023	0,137	0,220	0,297	0,120	0,190	0,257
	0,022	0,136	0,220	0,305	0,121	0,191	0,257
	0,022	0,138	0,219	0,299	0,121	0,191	0,255
	0,023	0,137	0,218	0,302	0,121	0,190	0,254
průměr	0,0235	0,1351	0,2176	0,2996	0,1200	0,1898	0,2554



Obr. 5.2.1-I

Grafické zobrazení výsledků potvrzuje vizuálně, že závislost odpovědi na dávce skutečně není pro nízké dávky lineární. Odpověď na nulovou dávku nebude tedy použita pro výpočet (ke zdůvodnění tohoto rozhodnutí bude zapotřebí další zkoušky). Vzorce z tabulek 3.3.3-I a 3.3.3-II jsou:

$$\begin{array}{ll}
 P_S = 0,6524 & P_T = 0,5651 \\
 L_S = 1,4693 & L_T = 1,2656 \\
 a_S = 0,318 & a_T = 0,318 \\
 b_S = 0,329 & b_T = 0,217 \\
 G_S = 0,1554 & G_T = 0,1156 \\
 J_S = 4,17 \times 10^{-8} & J_T = 2,84 \times 10^{-6}
 \end{array}$$

a

$$H_I = 0,09524 \quad a' = 0,05298 \quad K = 1,9764$$

Analýza rozptylu je v tabulkách 5.2.1-II, 3.3.3.1-III a 3.3.3.1-IV.

Tab. 5.2.1-II Analýza rozptylu

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný čtve- rec	F-statistika	Pravděpodob- nost
regrese	2	0,1917	0,0958	24 850	0,000
průsečík	1	$3 \times 10^{-9}$	$3 \times 10^{-9}$	$7 \times 10^{-9}$	0,978
nelinearita	2	$2 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-5}$	2,984	0,061
ošetření	5	0,1917			
reziduální chyba	42	$1,92 \times 10^{-4}$	$3,86 \times 10^{-6}$		
celkem	47	0,1919			

Byla tedy prokázána statisticky velmi významná závislost odpovědi na dávce, na rozdíl od statisticky nevýznamné odchylky od předpokladu linearit a společného průsečíku. Může být tedy vypočten odhad účinnosti.

$$\text{Sklon standardu je } b'_S = \frac{6 \times 1,469 - 36 \times 0,0530}{84} = 0,0822.$$

Sklon zkoušeného přípravku je  $b'_7 = \frac{6 \times 1,266 - 36 \times 0,0530}{84} = 0,0677$ .

Dosazením do vzorce 3.3.5.1-3 se získá  $R = \frac{0,0677}{0,0822} = 0,823$ .

$$C = \frac{0,0822^2}{0,0822^2 - 3,86 \times 10^{-6} \times 2,018^2 \times 0,0357} = 1,000083.$$

$$K' = 0,000083 \times 0,75 = 0,000062$$

a 95% interval je  $0,823 \pm \sqrt{0,000083 \times 1,678 + 0,000062 \times (-1,646)} = 0,823 \pm 0,006$ .

Odhadovaná relativní účinnost je tedy 0,823 s 95% mezemi spolehlivosti od 0,817 do 0,829.

### 5.2.2 Úplně znáhodněný plán (0,4,4,4)

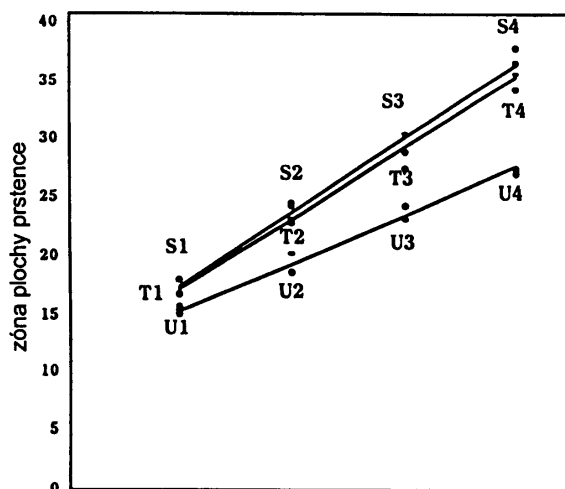
#### Zkouška *in vitro* chřipkové vakcíny

U dvou chřipkových vakcín je zjišťován obsah haemaglutininového antigenu (HA) pomocí jednoduché radiální imunodifuse. Oba přípravky mají deklarovanou účinnost 15  $\mu\text{g}$  HA na dávku, což je ekvivalentní 30  $\mu\text{g}$  HA/ml. Standard má referenční účinnost 39  $\mu\text{g}$  HA/ml.

Standard a zkoušený přípravek byly připraveny ve čtyřech koncentracích po dvou opakováních připravených na základě referenční a deklarované účinnosti. Po ustálení reakcí byla změřena zóna srážení. Výsledky jsou zobrazeny v tabulce 5.2.2-I.

Tabulka 5.2.2-I Zóny srážení ( $\text{mm}^2$ )

Koncentrace ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Standard <i>S</i>		Přípravek <i>T</i>		Přípravek <i>U</i>	
	I	II	I	II	I	II
7,5	18,0	18,0	15,1	16,8	15,4	15,7
15,0	22,8	24,5	23,1	24,2	20,2	18,6
22,5	30,4	30,4	28,9	27,4	24,2	23,1
30,0	35,7	36,6	34,4	37,8	27,4	27,0



Obr. 5.2.2-I



Grafické zobrazení výsledků nenaznačuje žádnou neobvyklost. Výsledky vzorců z tabulek 3.3.3-I a 3.3.3-II dávají tyto výsledky:

$$\begin{array}{lll}
 P_S = 108,2 & P_T = 103,85 & P_U = 85,8 \\
 L_S = 301,1 & L_T = 292,1 & L_U = 234,1 \\
 a_S = 141,0 & a_T = 116,7 & a_U = 139,8 \\
 b_S = 61,2 & b_T = 64,95 & b_U = 39,2 \\
 G_S = 3114,3 & G_T = 2909,4 & G_U = 1917,3 \\
 & J_T = 2,227 & J_U = 0,083
 \end{array}$$

a

$$H_I = 0,0093 \quad a' = 11,04 \quad K = 14\,785,8$$

a dále se vypočte analýza rozptylu, viz tabulka 5.2.2-II, za použití vzorců z tabulek 3.3.3.1-III a 3.3.3.1-IV.

**Tabulka 5.2.2.-II** Analýza rozptylu

Zdroj variability	Stupně volnosti	Součet čtverců	Průměrný tvorec	F-statistika	Pravděpodobnost
regrese	3	1087,7	362,6	339,5	0,000
průsečík	2	3,474	1,737	1,626	0,237
nelinearita	6	5,066	0,844	0,791	0,594
ošetření	11	1096,2			
reziduální chyba	12	12,815	1,068		
celkem	23	1109,0			

Byla tedy prokázána statisticky velmi významná závislost odpovědi na dávce, na rozdíl od statisticky nevýznamné odchylky od předpokladu linearit a společného průsečíku. Může být tedy vypočten odhad účinnosti

$$\text{Sklon standardu je } b'_S = \frac{6 \times 301,1 - 60 \times 11,04}{180} = 6,356.$$

$$\text{Sklon přípravku } T \text{ je } b'_T = \frac{6 \times 292,1 - 60 \times 11,04}{180} = 6,056.$$

$$\text{Sklon přípravku } U \text{ je } b'_U = \frac{6 \times 234,1 - 60 \times 11,04}{180} = 4,123.$$

To vede k odhadu relativní účinnosti  $\frac{6,056}{6,356} = 0,953$  pro vakcínu  $T$  a  $\frac{4,123}{6,356} = 0,649$  pro vakcínu  $U$ .

$$C = \frac{6,356^2}{6,356^2 - 1,068 \times 2,179^2 \times 0,0444} = 1,0056.$$

$$K' = 0,0056 \times 0,625 = 0,0035.$$

A meze spolehlivosti jsou podle vzorce 3.3.5.1-4 rovny:

$$\text{pro vakcínu } T \quad 0,955 \pm \sqrt{0,0056 \times 1,913 + 0,0035 \times (-1,913)} = 0,955 \pm 0,063$$

$$\text{a pro vakcínu } U \quad 0,649 \pm \sqrt{0,0056 \times 1,423 + 0,0035 \times (-1,301)} = 0,649 \pm 0,058.$$

Množství HA na ml se může odhadnout vynásobením relativní účinnosti a jejich mezí spolehlivosti předpokládaným obsahem 30 µg/ml. Výsledky jsou v tabulce 5.2.2-III.

Tab. 5.2.2-III Odhad obsahu HA (µg/ml)

	Dolní mez	Odhad	Horní mez
vakcína T	13,4	14,3	15,3
vakcína U	8,9	9,7	10,6

### 5.3 Kvantální zkoušky

#### 5.3.1 Probitová analýza, zkoušení přípravku proti referenčnímu vzorku

##### Zkouška *in vitro* vakcíny difterie

Vakcína difterie (s předpokládanou účinností 140 m.j./lahvičku) byla testována oproti standardu (s referenční účinností 132 m.j./lahvičku). Na základě této informace byly připraveny ekvivalentní dávky. Ty byly náhodně přiděleny skupinám morčat. Po daném časovém intervalu byla morčata imunizována toxinem difterie a dále byly zaznamenány počty zvířat, které přežily, viz. tabulka 5.3.1-I.

Tab. 5.3.1-I Výchozí data zkoušky difterie na morčatech

Standard (S) stanovená účinnost 140 m.j./ml			Zkoušený přípravek (T) předpokládaná účinnost 140 m.j./ml		
Dávka (m.j./ml)	Počet exponovaných	Počet přeživších	Dávka (m.j./ml)	Počet exponovaných	Počet přeživších
1,0	12	0	1,0	11	0
1,6	12	3	1,6	12	4
2,5	12	6	2,5	11	8
4,0	11	10	4,0	11	10

Pozorování byla přenesena do první pracovní tabulky, kde jsou vypočteny ještě další sloupce tak, jak je popsáno v části 4.2.1. Tabulka 5.3.1-II obsahuje první iterační cyklus.

Jsou vypočteny součty posledních šesti sloupců a přeneseny do druhé pracovní tabulky, viz tabulka 5.3.1-III. Ostatní sloupce jsou vypočteny pomocí vzorců 4.2.1-4 až 4.2.1-10. Odtud se získá i společný sklon  $b = 1,655$  (podle vzorce 4.2.1-9).

Hodnoty  $Y$  v první pracovní tabulce se nyní nahradí hodnotami  $a + bx$  a provede se druhý iterační cyklus, viz tabulka 5.3.1-IV.

Iterační cyklus se opakuje, dokud není rozdíl mezi po sobě následujícími cykly dostatečně malý. Tak se získá druhá pracovní tabulka 5.3.1-V.

Tab. 5.3.1-II První pracovní tabulka v prvním iteračním cyklu

	Dávka	$n$	$r$	$x$	$p$	$Y$	$\Phi$	$Z$	$y$	$w$	$wx$	$wy$	$wx^2$	$wy^2$	$wxy$
S	1,0	12	0	0,000	0,000	0	0,5	0,399	-1,523	7,64	0,00	-9,57	0,00	12,00	0,00
	1,6	12	3	0,470	0,250	0	0,5	0,399	-0,627	7,64	3,59	-4,79	1,69	3,00	-2,25
	2,5	12	6	0,916	0,500	0	0,5	0,399	0,000	7,64	7,00	0,00	6,41	0,00	0,00
	4,0	11	10	1,386	0,909	0	0,5	0,399	1,025	7,00	9,71	7,18	13,46	7,36	9,95
T	1,0	11	0	0,000	0,000	0	0,5	0,399	-1,253	7,00	0,00	-8,78	0,00	11,00	0,00
	1,6	12	4	0,470	0,333	0	0,5	0,399	-0,412	7,64	3,59	-3,19	1,69	1,33	-1,50
	2,5	11	8	0,916	0,727	0	0,5	0,399	0,570	7,00	6,42	3,99	5,88	2,27	3,66
	4,0	11	10	1,386	0,909	0	0,5	0,399	1,025	7,00	9,71	7,18	13,46	7,36	9,95

Tab. 5.3.1-III Druhá pracovní tabulka v prvním iteračním cyklu

	$\sum w$	$\sum wx$	$\sum wy$	$\sum wx^2$	$\sum wy^2$	$\sum wxy$	$S_{xx}$	$S_{xy}$	$S_{yy}$	$\bar{x}$	$\bar{y}$	$a$
<i>S</i>	29,92	20,30	-7,18	21,56	22,36	7,70	7,79	12,58	20,64	0,68	-0,24	-1,36
<i>T</i>	28,65	19,72	-0,80	21,03	21,97	12,11	7,64	12,66	21,95	0,69	-0,03	-1,17

Tab. 5.3.1-IV První pracovní tabulka v druhém iteračním cyklu

	Dávka	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>x</i>	<i>p</i>	<i>Y</i>	$\Phi$	<i>Z</i>	<i>y</i>	<i>w</i>	<i>wx</i>	<i>wy</i>	$wx^2$	$wy^2$	<i>wxz</i>
<i>S</i>	1,0	12	0	0,000	0,000	-1,36	0,086	0,158	-1,911	3,77	0,00	-7,21	0,00	13,79	0,00
	1,6	12	3	0,470	0,250	-0,58	0,279	0,336	-0,672	6,74	3,17	-4,53	1,49	3,04	-2,13
	2,5	12	6	0,916	0,500	0,15	0,561	0,394	-0,001	7,57	6,94	-0,01	6,36	0,00	-0,01
	4,0	11	10	1,386	0,909	0,93	0,824	0,258	1,260	5,07	7,03	6,39	9,75	8,05	8,86
<i>T</i>	1,0	11	0	0,000	0,000	-1,17	0,122	0,202	-1,769	4,20	0,00	-7,43	0,00	13,14	0,00
	1,6	12	4	0,470	0,333	-0,39	0,349	0,370	-0,430	7,23	3,40	-3,11	1,60	1,34	-1,46
	2,5	11	8	0,916	0,727	0,35	0,637	0,375	0,591	6,70	6,14	3,96	5,62	2,34	3,63
	4,0	11	10	1,386	0,909	1,13	0,870	0,211	1,311	4,23	6,03	5,70	8,36	7,48	7,90

Tab. 5.3.1-V Druhá pracovní tabulka po dostatečném počtu cyklů.

	$\sum w$	$\sum wx$	$\sum wy$	$\sum wx^2$	$\sum wy^2$	$\sum wxy$	$S_{xx}$	$S_{xy}$	$S_{yy}$	$\bar{x}$	$\bar{y}$	$a$
<i>S</i>	18,37	14,80	-2,14	14,85	17,81	5,28	2,93	7,00	17,56	0,81	-0,12	-2,05
<i>T</i>	17,96	12,64	-0,55	11,86	18,35	6,76	2,96	7,15	18,34	0,70	-0,03	-1,72

Test linearity je popsán v části 4.2.2. Hodnota  $\chi_L^2$  o 4 stupních volnosti je  $0,836 + 1,069 = 1,905$  a té odpovídá *p*-hodnota 0,780, což neprokazuje statisticky významnou odchylku od linearity.

Protože odchylka od linearity není statisticky významná, je možno provést test rovnoběžnosti popsany ve stejné části.  $\chi_L^2$  s jedním stupněm volnosti je  $(16,724 + 17,271) - \frac{14,15^2}{5,89} = 0,002$ . To odpovídá *p*-hodnotě 0,964, což není statisticky významné.

Z tabulky 5.3.1-V se podle vzorce 4.2.1-9 vypočte:

$$b = \frac{7,00 + 7,15}{2,93 + 2,96} = \frac{14,15}{5,89} = 2,402$$

pomocí vzorců z části 4.2.3 je možno odhadnout logaritmus relativní účinnosti

$$M'_T = \frac{-1,721 - (-2,05)}{2,402} = 0,137,$$

dále

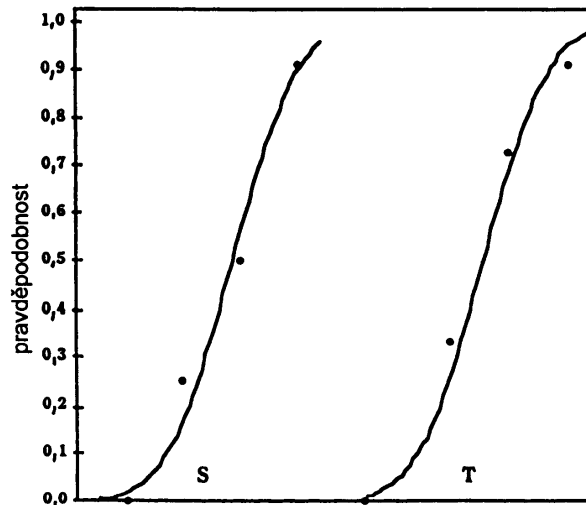
$$C = \frac{2,402^2 \times 5,893}{2,402^2 \times 5,893 - 1^2 \times 1,960^2} = 1,127,$$

$$V = \frac{1}{18,34} + \frac{1}{17,56} = 0,110,$$

takže ln mezi spolehlivosti je:

$$0,155 - 0,013 \pm \sqrt{0,127(0,649 + 1,127 \times 0,036^2)} = 0,142 \pm 0,288.$$

Odlogaritmováním a vynásobením předpokládanou účinností (140 m.j./lahvičku) se získá účinnost a její meze spolehlivosti. Odhad účinnosti je 160,6 m.j./lahvičku s 95% mezemi spolehlivosti od 121,0 do 215,2 m.j./lahvičku.



Obr. 5.3.1-I

### 5.3.2 Logitová analýza a jiné typy analýzy zkoušeného přípravku proti referenčnímu vzorku

V této části jsou uvedeny výsledky analýz dat z části 5.3.1 získané logitovou analýzou a jinými klasickými metodami. Následující příklad by měl být spíše považován za cvičení než za alternativní řešení příkladu v části 5.3.1. Jiný tvar křivky by měl být použit pouze, pokud pro to existují dostatečné empirické nebo teoretické důvody.

Tab. 5.3.2.-I Výsledky použití alternativních křivek

	Logit	Gompit	Sinit <sup>(*)</sup>
$\Phi$	$\frac{1}{1+e^{-Y}}$	$1 - e^{-e^Y}$	$\frac{1}{2} \sin Y + \frac{1}{2}$
Z	$\frac{e^{-Y}}{(1+e^{-Y})^2}$	$e^{Y-e^Y}$	$\frac{1}{2} \cos Y$
sklon b	4,101	2,590	1,717
$\chi^2$ linearity	2,15	3,56	1,50
$\chi^2$ rovnoběžnosti	0,0066	0,168	0,0010
účinnost	162,9	158,3	155,8
dolní mez	121,1	118,7	122,6
horní mez	221,1	213,3	200,7

(\*) Je-li  $Y < -\frac{1}{2}\pi$ , pak  $\Phi = 0$  a  $Z = 0$  a je-li  $Y > \frac{1}{2}\pi$ , pak  $\Phi = 1$  a  $Z = 0$ .

### 5.3.3 Stanovení $ED_{50}$ přípravku pomocí probitové metody

#### *In vitro* zkouška perorální poliomyelitické vakcíny

Pro stanovení  $ED_{50}$  perorální poliomyelitické vakcíny bylo použito 10 ředění s osmi opakováními 50  $\mu$ l na Elisa-plotnách, výsledky zkoušky jsou v tabulce 5.3.3-I.

Tab. 5.3.3-I Ředění ( $10^x$   $\mu$ l původní vakcíny)

-3,5	-4,0	-4,5	-5,0	-5,5	-6,0	-6,5	-7,0	-7,5	-8,0
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
+	+	+	+	-	+	-	-	-	-

Pozorované výsledky jsou převedeny do první pracovní tabulky a v ní jsou vypočteny i ostatní sloupce, jak jsou popsány v části 4.2.1. V tabulce 5.3.3-II je zobrazen první cyklus iterační procedury.

Dále je vypočten součet posledních šesti sloupců a převeden do druhé pracovní tabulky (viz tabulka 5.3.3-III). Pomocí vzorců 4.2.1-4 až 4.2-10 se vypočtou zbylé sloupce a získá se společný sklon  $b = -0,295$ .

Hodnoty  $Y$  v první pracovní tabulce se nahradí hodnota  $a + bx$  a dokončí se druhý iterační cyklus. V iteračním procesu se pokračuje, dokud není rozdíl mezi dvěma po sobě následujícími cykly dostatečně malý. Tabulka 5.3.3-IV obsahuje údaje z druhé pracovní tabulky po ukončení iteračního procesu.

Tab. 5.3.3-I První pracovní tabulka prvního iteračního cyklu

	Dávka	$n$	$r$	$x$	$p$	$Y$	$\Phi$	$Z$	$Y$	$w$	$wx$	$wy$	$wx^2$	$wy^2$	$wxy$
$T$	$10^{-3,5}$	8	0	-8,06	0,000	0,00	0,5	0,399	-1,253	5,09	-41,04	-6,38	330,8	8,00	51,4
	$10^{-4,0}$	8	0	-9,21	0,000	0,00	0,5	0,399	-1,253	5,09	-46,91	-6,38	432,0	8,00	58,8
	$10^{-4,5}$	8	1	-10,36	0,125	0,00	0,5	0,399	-0,940	5,09	-52,77	-4,79	546,8	4,50	49,6
	$10^{-5,0}$	8	2	-11,51	0,250	0,00	0,5	0,399	-0,627	5,09	-58,63	-3,19	675,1	2,00	36,7
	$10^{-5,5}$	8	6	-12,66	0,750	0,00	0,5	0,399	0,627	5,09	-64,50	3,19	816,8	2,00	-40,4
	$10^{-6,0}$	8	7	-13,82	0,875	0,00	0,5	0,399	0,940	5,09	-70,36	4,79	972,1	4,50	-66,1
	$10^{-6,5}$	8	7	-14,97	0,875	0,00	0,5	0,399	0,940	5,09	-76,23	4,79	1140,8	4,50	-71,7
	$10^{-7,0}$	8	8	-16,12	1,000	0,00	0,5	0,399	1,253	5,09	-82,09	6,38	1323,1	8,00	-102,9
	$10^{-8,5}$	8	8	-17,27	1,000	0,00	0,5	0,399	1,253	5,09	-87,95	6,38	1518,9	8,00	-110,2
	$10^{-8,0}$	8	8	-18,42	1,000	0,00	0,5	0,399	1,253	5,09	-93,82	6,38	1728,2	8,00	-117,6

Tab. 5.3.3-II Druhá pracovní tabulka prvního iteračního cyklu

	$\sum w$	$\sum wx$	$\sum wy$	$\sum wx^2$	$\sum wy^2$	$\sum wx$	$S_{xx}$	$S_{xy}$	$S_{yy}$	$\bar{x}$	$\bar{y}$	$a$
$T$	50,93	-674,3	11,17	9484,6	57,50	-312,4	556,92	-164,43	55,05	-13,24	0,219	-3,690

Tab. 5.3.3-III Druhá pracovní tabulka po provedení dostatečného počtu iterací

	$\sum w$	$\sum wx$	$\sum wy$	$\sum wx^2$	$\sum wy^2$	$\sum wx$	$S_{xx}$	$S_{xy}$	$S_{yy}$	$\bar{x}$	$\bar{y}$	$a$
$T$	19,39	-238,2	0,11	2981,1	26,05	-37,45	55,88	-36,11	26,05	-12,28	0,006	-7,931

Linearita se otestuje pomocí vzorců z části 4.2.2. Hodnota  $\chi^2$  o osmi stupních volnosti je 2,711 a tomu odpovídá  $p$ -hodnota 0,951, což není statisticky významné.

Je tedy možno pomocí vzorců z části 4.5 odhadnout relativní účinnost,

$$M' = \frac{-(-7,931)}{-0,646} = -12,273,$$

dále

$$C = \frac{(-0,646)^2 \times 55,883}{(-0,646)^2 \times 55,883 - 1^2 \times 1,96^2} = 1,197,$$

$$V = \frac{1}{19,39} = 0,052.$$

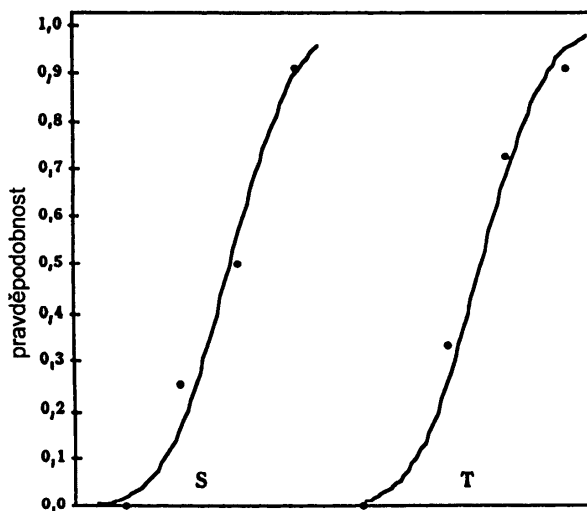
Logaritmus mezí spolehlivosti je tedy roven

$$14,692 - (-2,420) \pm \sqrt{0,197 \times (2,882 + 1,197 \times 0,009^2)} = -12,272 \pm 0,754.$$

Tento odhad je stále ve tvaru  $\ln(\text{ředění})$ . Odhad vyjádřený jako  $\ln(ED_{50})/\text{ml}$  je

$$-M'_T + \ln\left(\frac{1000}{50}\right).$$

Protože je obvyklé vyjadřovat účinnost této vakcíny ve tvaru  $\log_{10}(ED_{50})/\text{ml}$  výsledky musí být vyděleny  $\ln(10)$ . Odhadem účinnosti pak je 6,63  $\log_{10}(ED_{50})/\text{ml}$  s 95% mezemi spolehlivosti od 6,30 do 6,96  $\log_{10}(ED_{50})/\text{ml}$ .



Obr. 5.3.3-I. Závislost pravděpodobnosti pozitivní odpovědi na ředění

## 6 Kombinace výsledků zkoušky

### 6.1 Úvod

Ke splnění požadavků lékopisu je často nutné zkoušku nezávisle opakovat a výsledky kombinovat. Pak se naskytá otázka, zda je vhodné kombinovat takové zkoušky, a pokud ano, jakým způsobem.

Zkoušky lze považovat za navzájem nezávislé, když výsledky jedné zkoušky neovlivňují výsledky jiné. Také náhodné chyby ve všech faktorech ovlivňujících výsledek (např. ředění standardu a zkoušeného přípravku, citlivost biologického ukazatele) v jedné zkoušce musí být nezávislé na stejné chybě ve druhé zkoušce. Zkoušky ve dnech po sobě následujících, používající původní ředění standardu, tedy nezávislé nejsou.

Existuje několik způsobů kombinování výsledků nezávislých zkoušek, ty teoreticky nejvhodnější jsou ale také nejobtížněji použitelné. Dále jsou popsány tři přibližné metody. Mohou být použity i další za předpokladu splnění nutných podmínek.

Před kombinováním odhadů účinnosti získaných pomocí modelu rovnoběžnosti je nutné pracovat s logaritmem účinnosti. Při použití modelu poměru sklonů se pracuje přímo s účinností. Protože v praxi je častěji používán model rovnoběžnosti než model poměru sklonů, je použit v této části symbol  $M$ , označující přirozený logaritmus účinnosti. Při modelu poměru sklonů se použijí stejné vzorce, v nichž se pod  $M$  rozumí účinnost  $R$ , a nikoliv její logaritmus. Před kombinováním musí být všechny odhady účinnosti upraveny na stanovenou účinnost každého zkoušeného přípravku.

### 6.2 Vážený průměr výsledků zkoušek

Podmínky použití této metody:

1. odhady účinnosti jsou z nezávislých zkoušek,
2. v každé zkoušce je  $C$  blízké 1 (menší než 1,1),
3. počet stupňů volnosti jednotlivých reziduálních chyb není menší než 6, pokud možno je větší než 15,
4. jednotlivé odhady účinnosti tvoří homogenní skupinu. Test homogenity je popsán v části 6.2.2.

Pokud tyto podmínky nejsou splněny, metodu nelze použít. Metody v následující části 6.3 mohou sloužit k získání nejlepšího odhadu průměrné účinnosti jako předpokládané účinnosti pro další zkoušky.

#### 6.2.1 Výpočet váhových koeficientů

Po vyhodnocení každé z  $n'$  nezávislých validních zkoušek je k dispozici  $n'$  hodnot  $M$  a příslušných mezí spolehlivosti. Pro každou zkoušku se určí délka intervalu spolehlivosti  $L$  jako rozdíl horní a dolní meze. Váha  $W$  pro každou hodnotu  $M$  se vypočte pomocí vzorce 6.2.1-1, kde  $t$  je stejná hodnota jako při výpočtu mezí spolehlivosti:

$$W = \frac{4t^2}{L^2} \quad (6.2.1-1)$$

#### 6.2.2 Homogenita odhadů účinnosti

Umocněním každé odchylky  $M$  od váženého průměru, vynásobením příslušnou váhou  $W$  a součtem přes všechny zkoušky se získá statistika s přibližně  $\chi^2$  rozdělením. Ta může být použita k testování homogenity odhadů logaritmu účinnosti v  $n'$  nezávislých zkouškách.

$$\chi^2 \approx \sum_{n'} W(M - \bar{M})^2 \quad \text{kde } \bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \quad (6.2.2-1)$$

Je-li vypočtené  $\chi^2$  menší než tabelovaná hodnota pro  $(n' - 1)$  stupňů volnosti, není významně porušena homogenita účinnosti a je možno průměrnou účinností a meze spolehlivosti určit pomocí metody z části 6.2.3.

Je-li  $\chi^2$  větší než tabelovaná hodnota, jsou účinnosti nehomogenní. To znamená, že rozdíly mezi jednotlivými odhady  $M$  jsou významně větší, než odpovídá odhadům jejich mezí spolehlivosti, tj. je statisticky významná variabilita mezi

zkouškami. Rozdíly mezi zkouškami jsou tedy významné, takže podmínka 4 není splněna a není možno použít vzorce z části 6.2.3, místo nich se použijí vzorce ze části 6.2.4.

### 6.2.3 Výpočet vážených průměrů a mezi spolehlivosti

Pro výpočet váženého průměru logaritmu účinnosti se vypočtou součiny  $WM$  pro každou zkoušku a jejich součet se vydělí celkovým součtem vah všech zkoušek.

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \quad (6.2.3-1)$$

Střední chyba  $\ln(\text{průměrné účinnosti})$  je odmocnina převrácené hodnoty součtu všech hmotností.

$$s_{\bar{M}} = \sqrt{\frac{1}{\sum W}} \quad (6.2.3-2)$$

Přibližné meze spolehlivosti se získají odlogaritmováním hodnot:

$$\bar{M} \pm ts_{\bar{M}} \quad (6.2.3-3)$$

kde počet stupňů volnosti  $t$  je roven součtu stupňů volnosti střední chyby jednotlivých zkoušek.

### 6.2.4 Vážený průměr a meze spolehlivosti založené na vnější a vnitřní individuální variabilitě zkoušky

Pokud je kombinováno několik opakování zkoušek, může být hodnota  $\chi^2$  statisticky významná. Pak se pozorovaný rozptyl skládá ze dvou složek:

- intra zkoušková variabilita  $s_M^2 = 1/W$ ,
- inter zkoušková variabilita  $s_{\bar{M}}^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n' - 1)}$ ,

kde  $\bar{M}$  je nevážený průměr. První složka se mění zkoušku od zkoušky, zatímco druhá je společná pro všechna  $M$ .

Pro každé  $M$  se vypočte váhový koeficient

$$W' = \frac{1}{s_M^2 + s_{\bar{M}}^2},$$

který nahradí  $W$  z části 6.2.3, kde je  $t$  aproximováno hodnotou 2.

### 6.3 Nevážená kombinace výsledků zkoušek

Nejjednodušší způsob kombinace  $n'$  odhadů  $M$  z  $n'$  zkoušek je vypočítat průměr  $\bar{M}$  a jeho směrodatnou odchylku odhadnout jako

$$s_{\bar{M}}^2 = \frac{\sum (M - \bar{M})^2}{n'(n' - 1)}. \quad (6.3-1)$$



Meze spolehlivosti pak jsou

$$\bar{M} \pm t s_{\bar{M}} \quad (6.3-2)$$

kde  $t$  má  $(n' - 1)$  stupňů volnosti. Počet  $n'$  odhadů  $M$  je obvykle malý, proto bývá hodnota  $t$  poměrně velká.

#### 6.4 Příklad vážené průměrné účinnosti a jejích mezí spolehlivosti

V tabulce 6.4-I je šest nezávislých odhadů účinnosti stejného přípravku společně s jejich 95% intervaly spolehlivosti a s počtem stupňů volnosti jejich reziduálních směrodatných odchylek. Podmínky 1, 2 a 3 části 6.2 jsou splněny. Logaritmicky účinnosti a váhy jsou vypočteny tak, jak je popsáno v části 6.2.

Tab. 6.4-I Odhady účinnosti a intervaly spolehlivosti šesti nezávislých zkoušek.

Odhad účinnosti (m.j./lahvičku)	Dolní mez (m.j./lahvičku)	Horní mez (m.j./lahvičku)	Stupně volnosti	ln účinnosti $M$	Váhy $W$
18 367	17 755	19 002	20	9,8183	3777,7
18 003	17 415	18 610	20	9,7983	3951,5
18 064	17 319	18 838	20	9,8017	2462,5
17 832	17 253	18 429	20	9,7887	4003,0
18 635	17 959	19 339	20	9,8328	3175,6
18 269	17 722	18 834	20	9,8130	4699,5

Homogenita odhadů účinnosti je hodnocena vzorcem 6.2.2-1, který poskytuje hodnotu  $\chi^2 = 4,42$ , který má 5 stupňů volnosti, což není statisticky významné ( $p = 0,49$ ). Podmínky jsou tedy splněny.

Vážený průměr vypočtený vzorcem 6.2.3-1 je roven 9,8085.

Vzorec 6.2.3-2 poskytuje odhad směrodatné odchylky 0,00673. Přibližně 95% meze spolehlivosti od 9,7951 do 9,8218 se získají ze vzorce 6.2.3-3, kde  $t$  má 120 stupňů volnosti.

Po odlogaritmování je odhad účinnosti rovný 18 187 m.j./lahvičku a 95% meze spolehlivosti od 17 946 do 18 431 m.j./lahvičku.

## 7 Další postupy

Není možné, aby lékopisný text obsahoval úplný popis statistických metod. Nicméně metody popsané v této stati by měly stačit pro většinu lékopisných potřeb. Tato část se pokouší dát abstraktnější přehled alternativních nebo obecnějších metod, které byly vyvinuty. Čtenář zájímající se o tuto problematiku by se měl věnovat studiu další literatury z této oblasti. Použití speciálnějších statistických metod musí být v každém případě prováděno kvalifikovanou osobou.

### 7.1 Obecný lineární model

Metody zmíněné v tomto textu mohou být popsány prostřednictvím obecného lineárního modelu (nebo zobecněný lineární model zahrnuje probitovou a logitovou metodu). Nejprve je nutno definovat lineární strukturální matici  $X$  (nebo matici plánu), ve které každý řádek představuje jedno pozorování a každý sloupec lineární efekt (přípravek, blok, sloupec, dávku). Např. plán latinských čtverců z příkladu 5.1.2 je popsán maticí s 36 řádky a 13 sloupci. Jeden sloupec pro každý přípravek, jeden sloupec pro každou dávku, pět sloupců pro každý blok s výjimkou prvního. Všechny sloupce s výjimkou sloupců pro dávky jsou vyplněny čísly 0 nebo 1 podle toho, zda tomuto pozorování odpovídá příslušný efekt. Vektor  $Y$  obsahuje (transformované) pozorované hodnoty. Efekty jsou odhadovány vzorcem  $(X'X)^{-1}X'Y$  a z nich jako podíl odpovídajících efektů se vypočte odhad účinnosti  $m$ . Intervaly spolehlivosti se vypočtou pomocí Fiellerovy věty:

$$m_L, m_U = \left[ m - \frac{g v_{12}}{v_{22}} \pm \frac{t s}{b} \sqrt{v_{11} - 2m v_{12} + m^2 v_{22} - g \left( v_{11} - \frac{v_{12}^2}{v_{22}} \right)} \right] / (1 - g),$$

$$\text{kde } g = \frac{t^2 s^2 v_{22}}{b^2}$$

a  $v_{11}$ ,  $v_{22}$  a  $v_{12}$  představují rozptyly čitatele, jmenovatele a jejich kovarianci. Ty se získají přímo z  $(X'X)^{-1}$  nebo nepřímo z  $\text{var}(a_1 - a_2) = \text{var}(a_1) + \text{var}(a_2) - 2\text{cov}(a_1, a_2)$  a  $\text{cov}(a_1 - a_2, b) = \text{cov}(a_1, b) - \text{cov}(a_2, b)$ .

Úplná analýza rozptylu, ve které jsou obsaženy všechny komponenty, je poněkud komplikovanější. Matice  $X$  by musela být rozšířena o další sloupce, umožňující testovat předpoklad rovnoběžnosti a linearity. Pro zkoušku závislosti na kvantální odpovědi se najdou lineární efekty (průsečíky  $a_S$ ,  $a_T$  atd. a společný sklon  $b$  se získá maximalizací součtu  $n \ln \Phi(a_i + bx) + (n - r) \ln(1 - \Phi(a_i + bx))$ , kde je  $x$  logaritmus dávky,  $\Phi$  představuje tvar rozložení a  $i \in \{S, T, \dots\}$ .

## 7.2 Heterogenita rozptylů

Heterogenitu rozptylů se vždy nepodaří odstranit jednoduchou transformací odpovědí. Vhodnou cestou k řešení tohoto problému je použití vážené lineární regrese. K získání nevychýlených odhadů se za váhu pozorování použijí převrácené hodnoty rozptylů chyb. Protože skutečná hodnota rozptylu chyby není vždy známa, může být použita iterační metoda opakovaného vážení. Výpočet intervalů spolehlivosti ale přináší další problémy.

## 7.3 Odlehlá pozorování a robustní metody

Metoda nejmenších čtverců, popsaná v tomto textu, má nevýhodu v tom, že je silně ovlivněna případnými odlehlými pozorováními. Jasně odlehlá pozorování mohou zcela znehodnotit celý výpočet. Tento problém se obvykle řeší vyloučením odlehlých hodnot ze zpracovávaných dat. Tento postup může vést k účelovému zamítnutí libovolných dat a to není bez nebezpečí. Je složité dát obecný návod, jak rozhodnout, zda konkrétní pozorování je, či není odlehlé. Pro tyto účely bylo vyvinuto mnoho robustních metod. Tyto metody jsou méně citlivé na odlehlá pozorování, protože kladou menší důraz na hodnoty vzdálené od předpokládaného odhadu. Nové problémy se obvykle objeví při konstrukci intervalu spolehlivosti nebo definici minimalizované ztrátové funkce.

## 7.4 Korelace chyb

Úplné znáhodnění není vždy uskutečnitelné nebo je velmi nežádoucí z praktického důvodu. Pak jednotlivé dávky v ředící řadě vedou ke korelovaným chybám způsobujícím, že meze spolehlivosti jsou mnohem užší. Byly vyvinuty metody, které berou v úvahu tento efekt autokorelace.

## 8 Tabulky a algoritmy

V tabulkách této části jsou otištěny kritické hodnoty pro nejčastěji se vyskytující stupně volnosti. Pokud některé kritické hodnoty zde nejsou uvedeny, je nutno použít rozsáhlejší statistické tabulky. Mnohé počítačové programy v sobě zahrnují statistické funkce, ty pak jsou vhodnější než tabulky v této části. Jinou alternativou jsou dále popsané procedury, které vypočtou pravděpodobnost odpovídající daným statistikám při zadaných stupních volnosti.

8.1 Tabulka kritických hodnot  $F$ -rozdělení

sv1 → sv2 ↓	1	2	3	4	5	6	8	10	12	15	20	∞
10	4,965 10,044	4,103 7,559	3,708 5,994	3,478 5,994	3,326 5,636	3,217 5,386	3,072 5,057	2,978 4,849	2,913 4,706	2,845 4,558	2,774 4,405	2,538 3,909
12	4,747 9,330	3,885 6,927	3,490 5,953	3,259 5,412	3,106 5,064	2,996 4,821	2,849 4,499	2,753 4,296	2,687 4,155	2,617 4,010	2,544 3,858	2,296 3,361
15	4,543 8,683	3,682 6,359	3,287 5,417	3,056 4,893	2,901 4,556	2,790 4,318	2,641 4,004	2,544 3,805	2,475 3,666	2,403 3,522	2,328 3,372	2,066 2,868
20	4,351 8,096	3,493 5,849	3,098 4,938	2,866 4,431	2,711 4,103	2,599 3,871	2,447 3,564	2,348 3,368	2,278 3,231	2,203 3,088	2,124 2,938	1,843 2,421
25	4,242 7,770	3,385 5,568	2,991 4,657	2,759 4,177	2,603 3,855	2,490 3,627	2,337 3,324	2,236 3,129	2,165 2,993	2,089 2,850	2,007 2,699	1,711 2,169
30	4,171 7,562	3,316 5,390	2,922 4,510	2,690 4,018	2,534 3,699	2,421 3,473	2,266 3,173	2,165 2,979	2,092 2,843	2,015 2,700	1,932 2,549	1,622 2,006
50	4,034 7,171	3,183 5,057	2,790 4,199	2,557 3,720	2,400 3,408	2,286 3,186	2,130 2,890	2,026 2,698	1,952 2,563	1,871 2,419	1,784 2,265	1,438 1,683
∞	3,841 6,635	2,996 4,605	2,605 3,782	2,372 3,319	2,214 3,017	2,099 2,802	1,938 2,511	1,831 2,321	1,752 2,185	1,666 2,039	1,571 1,878	1,000 1,000

Pokud je pozorovaná hodnota větší než tabelovaná, je test považován za statisticky významný (horní řádek,  $p = 0,05$ ) nebo vysoce statisticky významný (dolní řádek,  $p = 0,01$ ). sv1 je počet stupňů volnosti čitatele a sv2 jmenovatele.

Počítačový postup: Necht'  $F$  je vypočtená testovací statistika, sv1, sv2 výše popsané stupně volnosti a  $\pi = \pi = 3,14159265358979\dots$ . Následující program vypočte odpovídající  $p$ -hodnotu.

Je-li sv1 sudé	Je-li sv1 liché a sv2 sudé	Je-li sv1 a sv2 liché
<pre>x=sv1/(sv1+sv2/F) s=1:t=1 for i=2 to (sv1-2) step 2   t=t*x*(sv2+i-2)/i   s=s+t next i p=s*(1-x)^(sv2/2)</pre>	<pre>x=sv2/(sv2+sv1*F) s=1:t=1 for i=2 to (sv2-2) step 2   t=t*x*(sv1+i-2)/i   s=s+t next i p=1-s*(1-x)^(sv1/2)</pre>	<pre>x=atn(sqr(sv1*F/sv2)) cs=cos(x):sn=sin(x):x=x/2 s=0:t=sn*cs/2:v=0:w=1 for i=1 to (sv2-1) step 2   s=s+t   t=t*i/(i+1)*cs*cs next i for i=1 to (sv1-2) step 2   v=v+w   w=w*(sv2+i)/(i+2)*sn*sn next i p=1+(t*sv2*v-x-s)/pi*4</pre>

**8.2 Tabulka kritických hodnot  $t$ -rozdělení**

sv	p = 0,05	p = 0,01
1	12,706	63,656
2	4,303	9,925
3	3,182	5,841
4	2,776	4,604
5	2,571	4,032
6	2,447	3,707
7	2,365	3,499
8	2,306	3,355
9	2,262	3,250
10	2,228	3,169
12	2,179	3,055
14	2,145	2,977
16	2,120	2,921
18	2,101	2,878
20	2,086	2,845

sv	p = 0,05	p = 0,01
22	2,074	2,819
24	2,064	2,797
26	2,056	2,779
28	2,048	2,763
30	2,042	2,750
35	2,030	2,724
40	2,021	2,704
45	2,014	2,690
50	2,009	2,678
60	2,000	2,660
70	1,994	2,648
80	1,990	2,639
90	1,987	2,632
100	1,984	2,626
$\infty$	1,960	2,576

Pokud je pozorovaná hodnota větší než tabelovaná, je test považován za statisticky významný (horní řádek,  $p = 0,05$ ) nebo vysoce statisticky významný (dolní řádek,  $p = 0,01$ ).

Počítačový postup:  $p$ -hodnota pro  $t$ -rozdělení s  $sv$  stupni volnosti se vypočte pomocí postupu v části 8.1, kde  $F = t^2$ ,  $sv_1 = 1$  a  $sv_2 = sv$ .

Kritickou hodnotu  $t$ -rozdělení ( $p = 0,05$ ) pro daný počet stupňů volnosti  $sv$  vypočteme pomocí následujícího postupu s přesností na 6 platných míst.

```
t = 1,95994+
    2,37228/sv+
    2,82202/sv^2+
    2,56449/sv^3+
    1,51956/sv^4+
    1,02579/sv^5+
    0,44210/sv^7
```

**8.3 Tabulka kritických hodnot  $\chi^2$ -rozdělení**

sv	p = 0,05	p = 0,01
1	3,841	6,635
2	5,991	9,210
3	7,815	11,345
4	9,488	13,277
5	11,070	15,086
6	12,592	16,812
7	14,067	18,475
8	15,507	20,090
9	16,919	21,666
10	18,307	23,209

sv	p = 0,05	p = 0,01
11	19,675	24,725
12	21,026	26,217
13	22,362	27,688
14	23,685	29,141
15	24,996	30,578
16	26,296	32,000
20	31,410	37,566
25	37,652	44,314
30	43,773	50,892
40	55,758	63,691

Pokud je pozorovaná hodnota větší než tabelovaná, je test považován za statisticky významný (horní řádek,  $p = 0,05$ ) nebo vysoce statisticky významný (dolní řádek,  $p = 0,01$ ).

Počítačový postup: Nechť  $x^2$  je vypočtená hodnota  $\chi^2$  a  $sv$  stupně volnosti, pak  $p$ -hodnotu vypočte postup:

Je-li sv sudé	Je-li sv liché
<pre>s=1 : t=exp(-x2/2) for i=2 to sv step 2   s=s+t   t=t*x2/i next i p=1-s</pre>	<pre>x=sqr(x2) : s=0 t=x*exp(-x2/2)/sqr(pi/2) for i=3 to sv step 2   s=s+t : t=t*x2/i next i p=1-s-2*phi(x)</pre>

kde phi je hodnota kumulativní distribuční funkce normálního rozdělení  $\Phi$  (viz část 8.4).

#### 8.4 Tabulka kritických hodnot $\Phi$ -rozdělení

x	$\Phi$
0,00	0,500
0,05	0,520
0,10	0,540
0,15	0,560
0,20	0,579
0,25	0,599
0,30	0,618
0,35	0,637
0,40	0,655
0,45	0,674
0,50	0,691
0,55	0,709
0,60	0,726
0,65	0,742
0,70	0,758
0,75	0,773
0,80	0,788
0,85	0,802
0,90	0,816
0,95	0,829

x	$\Phi$
1,00	0,841
1,05	0,853
1,10	0,864
1,15	0,875
1,20	0,885
1,25	0,894
1,30	0,903
1,35	0,911
1,40	0,919
1,45	0,926
1,50	0,933
1,55	0,939
1,60	0,945
1,65	0,951
1,70	0,955
1,75	0,960
1,80	0,964
1,85	0,968
1,90	0,971
1,95	0,974

x	$\Phi$
2,00	0,977
2,05	0,980
2,10	0,982
2,15	0,984
2,20	0,986
2,25	0,988
2,30	0,989
2,35	0,991
2,40	0,992
2,45	0,993
2,50	0,994
2,55	0,995
2,60	0,995
2,65	0,996
2,70	0,997
2,75	0,997
2,80	0,997
2,85	0,998
2,90	0,998
2,95	0,998

Pro záporná  $x$  je:  $\Phi(x) = 1 - \Phi(-x)$ .

Počítačový postup: Následující postup vypočte pro  $0 \leq x \leq 8,15$  odpovídající hodnotu funkce  $\Phi$ . Je-li větší než 8,15, pak se položí  $\Phi = 1$ . Pokud je  $x$  záporné, je možno použít výše zmíněný vzorec. Tento postup předpokládá, že počítač pracuje asi s patnácti platnými místy. Pokud je použit jiný počet platných čísel, je nutno provést jistě prosté úpravy postupu.

<pre>s=0 : t=x : i=1 repeat s=s+t : i=i+2 : t=t*x*x/i until t&lt;1E-16 phi=0.5+s*exp(-x*x/2)/sqr(2*pi)</pre>
--

#### 8.5 Náhodné permutace

Pro plán náhodných bloků se potřebují náhodné permutace. Následující algoritmus ukazuje, jak použít zabudovaný generátor náhodných čísel k vytvoření náhodných permutací  $N$  ošetření.

1. Do řádku se запиše všech  $N$  ošetření.
2. Získá se celé náhodné číslo  $r$  z intervalu  $1 \leq r \leq N$ ,
3. V řádku se vymění  $r$ -té ošetření s  $N$ -tým.

4. Položí se  $N = N - 1$  a zopakují se kroky 2 až 4, dokud nebude  $N = 1$ .

Příklad algoritmu pro 6 ošetření

1	$N = 6$	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$T_1$	$T_2$	$T_3$	
2	$r = 2$	→						←
3		$S_1$	$T_3$	$S_3$	$T_1$	$T_2$	$S_2$	
4	$N = 5$							
2	$r = 4$				→			←
3		$S_1$	$T_3$	$S_3$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	
4	$N = 4$							
2	$r = 4$					↓		
3		$S_1$	$T_3$	$S_3$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	
4	$N = 3$							
2	$r = 1$	→				←		
3		$S_3$	$T_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	
4	$N = 2$							
2	$r = 1$	→				←		
3		$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	
4	$N = 1$							

## 8.6 Latinské čtverce

Dále je uvedeno použití tří nezávislých permutací k vytvoření latinského čtverce.

1. Vygeneruje se jedna náhodná permutace  $N$  ošetření (viz část 8.5):

$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$
-------	-------	-------	-------	-------	-------

2. Nyní se dá jednoduchý latinský čtverec vytvořit pomocí „rotace“ této permutace doprava. To se provede následujícím způsobem. Napiše se permutace nalezená při prvním kroku do prvního řádku. Druhý řádek obsahuje tutéž permutaci, ale se všemi ošetřeními posunutými doprava. Ošetření, které bylo nejvíce vpravo, se zapíše do levého volného políčka. Tento postup se zopakuje pro každou řádku tolikrát, aby v každém sloupci byla všechna ošetření, ale pouze jedenkrát.

$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$
$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$
$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$
$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$
$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$
$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$

3. Vygenerují se dvě náhodné permutace čísel 1 až  $N$ :  
jednu pro řádky

2	3	6	1	4	5
---	---	---	---	---	---

a druhou pro sloupce

3	4	6	2	5	1
---	---	---	---	---	---

4. Latinský čtverec se nyní získá seřazením řádků a sloupců latinského čtverce podle těchto dvou permutací pro řádky a sloupce:

	3	4	6	2	5	1
2	$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$
3	$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$
6	$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$	$T_2$
1	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$	$S_1$
4	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$	$S_3$
5	$T_3$	$S_1$	$T_2$	$T_1$	$S_2$	$T_3$

	1	2	3	4	5	6
1	$S_1$	$T_3$	$T_2$	$T_1$	$S_3$	$S_2$
2	$S_2$	$T_2$	$T_3$	$S_3$	$T_1$	$S_1$
3	$T_1$	$S_1$	$S_2$	$T_3$	$T_2$	$S_3$
4	$S_3$	$S_2$	$S_1$	$T_2$	$T_3$	$T_1$
5	$T_3$	$T_1$	$S_3$	$S_1$	$S_2$	$T_2$
6	$T_2$	$S_3$	$T_1$	$S_2$	$S_1$	$T_3$

## 9 Slovník symbolů

### Symbol Definice

- $a$  průsečík lineárních regresních přímek závislosti odpovědi na dávce nebo ln dávky
- $b$  sklon v modelu lineární regrese závislosti odpovědi na dávce nebo logaritmu dávky, společný pro všechny přípravky ve zkoušce
- $d$  počet úrovní dávek pro každý přípravek ve vyvážené zkoušce (bez nulové dávky v modelu sklonu)
- $e$  základ přirozených logaritmů ( $e = 2,71828182845905\dots$ )
- $g$  veličina používaná ve Fiellerově větě
- $$g = \frac{C-1}{C}$$
- $h$  počet přípravků zkoušky včetně standardu
- $m$  odhad účinnosti získaný jako podíl efektů v obecném lineárním modelu
- $n$  počet opakování každého ošetření
- $p$  pravděpodobnost, že daná statistika je větší než pozorovaná hodnota; v probitové analýze je použito též pro podíl  $r/n$
- $r$  počet odpovědí na jednotlivá ošetření v kvantálních zkouškách
- $s$  odhad směrodatné odchylky ( $\sqrt{s^2}$ )
- $s^2$  odhad reziduálního rozptylu určený z analýzy rozptylu
- $t$  Studentova testovací statistika (tabulka 8.2)
- $v_{11}, v_{12}, v_{22}$  rozptyly a kovariance použité ve jmenovateli a čitateli ve Fiellerově větě
- $w$  váhový koeficient
- $x$  logaritmus dávky
- $y$  jednotlivá odpověď nebo transformovaná odpověď
- $A$  předpokládaná účinnost použitá pro přípravu dávek zkoušeného přípravku
- $B$  průměrná odpověď na nulovou dávku v modelu sklonu
- $C$  statistika užívaná pro výpočet mezi spolehlivosti:
- $$C - \frac{1}{1-g}$$
- $C_1, \dots, C_n$  průměrná odpověď v každém sloupci v modelu latinských čtverců
- $D_1, D_2$  průměrná odpověď v čase 1 nebo 2 v křížovém pokuse
- $F$  podíl nezávislých odhadů rozptylů (tabulka 8.1)

$G_S, G_T$	efekty ošetření v analýze rozptylu pro model poměru sklonů
$H_P, H_L$	veličiny použité v analýze rozptylu v modelu rovnoběžnosti
$H_B, H_I$	veličiny použité v analýze rozptylu v modelu poměru sklonů
$I$	v modelu rovnoběžnosti logaritmus poměru sousedních dávek; v modelu poměru sklonů interval mezi sousedními dávkami
$J_S, J_T$	lineární kontrasty používané v analýze rozptylu pro model poměru sklonů
$K$	korekční faktor používaný k výpočtu součtu čtverců v analýze rozptylu
$L$	šířka intervalu spolehlivosti v logaritmech
$L_S, \dots, L_T$	lineární kontrasty standardu a zkoušeného přípravku
$M'$	logaritmus účinnosti daného zkoušeného přípravku
$N$	celkový počet odpovědí zkoušky (= d . h)
$P_S, P_T$	součet pro standard a zkoušený přípravek
$R$	odhadovaná účinnosti daného zkoušeného přípravku
$R'$	relativní účinnost daného zkoušeného přípravku
$R_1, \dots, R_n$	průměrná odpověď v každém řádku v modelu latinských čtverců nebo v každém bloku v modelu náhodných bloků
$S$	standardní přípravek
$S_1, \dots, S_d$	průměrné odpovědi od nejmenší dávky 1 do největší dávky d na standardní přípravek
$SS$	součet čtverců (daného zdroje variability)
$T, U, V$	zkoušené přípravky
$T_1, \dots, T_d$	průměrné odpovědi od nejmenší dávky 1 do největší dávky d zkoušeného přípravku $T$
$V$	variační koeficient používaný pro výpočet mezí spolehlivosti
$W$	statistické váhy používané ke kombinaci výsledků zkoušek
$X$	lineární strukturální matice plánu zkoušky používaná v obecném lineárním modelu
$Y, Y'$	vektor (transformovaných) odpovědí v obecném lineárním modelu
$Z$	první derivace $\Phi$
$\pi$	3,141592653589793238...
$\Phi$	kumulativní distribuční funkce normálního rozložení (tabulka 8.4)
$\chi^2$	testovací statistika chi-kvadrát (tabulka 8.3)

## 10 Literatura

Seznam literatury doporučené pro další studium:

- Finney, D. J. (1971). *Probit analysis*, 3<sup>rd</sup> Ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Nelder, J. A. & Wedderburn, R. W. M. (1972). Generalized linear models, *Journal of the Royal Statistical Society, Series A* 135, 370-384.
- Finney D. J. (1978) *Statistical Method id Biological Assay*, 3<sup>rd</sup> Ed. Griffin, London.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. R. (1981). *Biometry: Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 2<sup>nd</sup> Ed. W. H. Freeman & CO, New York.
- Peace K. E. (1988). *Biopharmaceutical Statistics for Drug Development*, Marcel Dekker Inc., New York/Basel.
- Bowerman, B. L. & O'Connell, R. T. (1990). *Linear Statistical Models an Appleid Approach*, 2<sup>nd</sup> Ed. PWS-KENT Publishing Company, Boston.
- Roth Z., Josífkó M., Malý V., Trčka V. (1962). *Statistické metody experimentální medicíny*, Státní zdravotnické nakladatelství.



26. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, se za kapitolu 5.5 doplňují kapitoly 5.6 a 5.7, které znějí:

”

## 5.6 Stanovení účinnosti interferonů



2000

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

### 1 Úvod

Lékopisné články na lidské interferony všeobecně obsahují biologická stanovení založená na inhibičním účinku interferonu na virový cytopatický efekt v kulturách buněčných linií. V mnoha případech ale nejsou specifikovány ani virus, ani buněčná linie, ani detaily stanovení, aby se dovolila vhodná volnost provedení, když se článek týká více než jedné podtřídy interferonu.

Tento text je určen k tomu, aby poskytl analytikovi zásadní informace, jak navrhnout, optimalizovat a validovat takovou zkoušku, když byla určena vhodná kombinace buněčné linie a cytopatického viru. Je popsán podrobný postup pro zvláštní cytopatické antivirové stanovení jako příklad vhodné metody spolu s informací o jiných kombinacích viru a buněčné linie a s návodem, jak upravit a validovat postup pro tyto jiné kombinace.

### 2 Antivirová (snižující cytopatický efekt) stanovení

Antivirové stanovení lidských interferonů je založeno na indukci buněčné odpovědi v lidských buňkách, která zamezuje nebo snižuje cytopatický efekt infekčního viru. Účinnost interferonu se stanoví porovnáním jeho ochranného účinku proti virovému cytopatickému efektu se stejným účinkem vhodného porovnávacího přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách.

### 3 Stanovení interferonu používající Hep2c buňky a virus infekční encefalomyokarditidy

Popsané stanovení lidských interferonů je typu snižujícího cytopatický efekt. K měření účinnosti různých zkoušených přípravků lidského interferonu se používají lidské Hep2c buňky infikované virem encefalomyokarditidy (EMCV). Toto stanovení bylo použito ve třech mezinárodních kolaborativních studiích pro navržené mezinárodní standardy, pořádaných Světovou zdravotnickou organizací pro lidský interferon alfa, lidský interferon beta a lidský interferon gama a opakovaně bylo prokázáno, že je citlivé, spolehlivé a reprodukovatelné pro stanovení účinnosti různých typů lidského interferonu.

S kulturami savčích buněk se vždy zachází podle standardních operačních postupů pro udržení kultur buněčných linií. Objemy zkoumadel jsou stanoveny pro buněčné kultury pěstované v láhvích o ploše 75 cm<sup>2</sup>. Mohou se použít jiné typy nádob (láhve nebo destičky), ale musí se podle toho upravit objemy zkoumadel.

#### 3.1 Udržování a příprava hep2c buněk

Hep2c buňky se udržují a pasážují v živném médiu A. Buňky se uchovávají jako zmrazená zásoba podle standardního postupu. Rostoucí buňky se udržují až do povolené 30. pasáže, po které se založí nové kultury ze zmrazených zásob.

Na začátku postupu stanovení se sklídí buňky z láhví narostlých na 90% buněčné monomolekulární vrstvy za použití dále popsaného postupu trypsinizace:

- odstraní se živné médium z láhví,
- do každé láhve se přidá 5 ml trypsinového roztoku zahřátého na 37 °C (zásobní roztok trypsinu obsahuje 4 mg/ml *trypsinu R* a 4 mg/ml *edetanu disodného R*, bezprostředně před použitím se padesátkrát zředí tlumivým roztokem fosforečnanovým s chloridem sodným); monomolekulární vrstva se opláchne kruživým pohybem zazátkované láhve, přebytek trypsinového roztoku se odstraní,
- láhve se inkubují 5 min až 10 min při 37 °C, známky odtržení buněk se pozorují mikroskopicky nebo prostým okem. Při mikroskopickém pozorování se buňky zdají kroužit nebo oddělené a volně plavající. Láhvi se silně třese, aby se

uvolnily všechny buňky, a přidá se asi 5 ml živného média A. Opět se láhvi silně třese, aby se utvořila suspenze jednotlivých buněk,  
- připraví se buněčná suspenze pro stanovení, buňky se pipetováním opatrně rozptýlí, aby se rozpadly buněčné shluky, buňky se spočítají a naředí na koncentraci  $6 \cdot 10^5$  buněk v 1 ml.

### 3.2 Pomnožení viru encefalomyokarditidy

Virus encefalomyokarditidy (EMCV) se pomnoží na myších buňkách L-929, aby se připravila zásoba původního viru. Buňky L-929 se trypsinizují a pasážují stejně jako buňky Hep2c (*Poznámka: jestliže buňky špatně rostou, je nezbytné nahradit neonatální telecí sérum bovinním sérem fetálním*).

Z několika láhví obsahujících splyvající kultury buněk L-929 se odstraní médium. Inokuluje se po 2 ml suspenze EMCV ředěné živným médiem B tak, aby obsahovala asi  $2,5 \cdot 10^8$  PFU/ml. Každá láhev obsahuje 4 až  $6 \cdot 10^7$  buněk L-929, a proto bude mnohonásobnost infekce asi 10 PFU na buňku. Virová suspenze se opatrně krouživým pohybem rozestře po celé buněčné monomolekulární vrstvě a láhve se asi na 1 h vrátí do inkubátoru. Živné médium se udržuje při pH 7,4 až 7,8.

Po adsorpci EMCV se do každé infikované láhve přidá 40 ml živného média B a láhve se asi na 30 h vrátí do inkubátoru při 37 °C. Aby se získalo maximální množství viru, udržuje se pH média na hodnotě 7,4 až 7,8. Kultivační tekutina se z láhvi odstraní a uchovává se při asi 40 °C.

Láhve se umístí do -20 °C, aby buněčná monomolekulární vrstva zmrzla. Poté se nechá roztát při pokojové teplotě. Přidá se asi 5 ml živného média a láhve se protřepou, aby se buněčné stěny rozrušily. Obsah každé láhve se převede do nádoby obsahující kultivační tekutinu z buněk. Kultivační tekutina obsahující EMCV se převede do plastových centrifugačních zkumavek a odstředí se 10 min při 500 g, aby se odstranily zbytky buněk. Čirá tekutina se rozplní do skleněných nádob se šroubovacím uzávěrem po objemech např. 20 ml, 10 ml, 5 ml, 1 ml, 0,5 ml nebo 0,2 ml, jak je vhodné. Uchovává se při teplotách -70 °C. Větší objemy se mohou rozmrazit, rozplnit po menších množstvích a opět zmrazit, je-li to žádáno. Zásoba EMCV si uchová původní titr při stálém uchovávání při -70 °C, ale opakovaným rozmrazováním, případně uchováváním při vyšší teplotě, např. při asi -20 °C, dochází k postupným ztrátám titru.

### 3.3 Postup stanovení

#### 3.3.1 Určení rozmezí dávka - odpověď

##### *Příprava roztoků*

Naředí se příslušný standard interferonu (např. specifický subtypový interferonový standard SZO) v živném médiu A, v desetinásobných dávkových přírůstcích, aby se obdržely dávky pokrývající rozpětí od 1000 m.j./ml do 0,001 m.j./ml. Stanovení se provede v mikrotitračních destičkách o 96 jamkách. Každá jamka obsahuje 100 µl živného média A. Do všech jamek, kromě jamek obsahujících kontroly viru, se přidá 100 µl každého ředění porovnávacího přípravku. Obsahy jamek se promíchají pomocí vícekanálové pipety na 100 µl.

##### *Rozdělení buněčné suspenze*

Buněčná suspenze Hep2c buněk, obsahující asi  $6 \cdot 10^5$  buněk/ml v živném médiu A se vyleje do plastové Petriho misky. Buněčná suspenze se z Petriho misky rozplní do všech jamek mikrotitrační destičky pomocí vícekanálové pipety po 100 µl.

Destičky se inkubují asi 24 h v inkubátoru při 37 °C a v 5% atmosféře oxidu uhličitého.

##### *Virová infekce*

V tuto dobu se pomocí inverzního mikroskopu kontroluje, zda je monomolekulární vrstva Hep2c buněk souvislá, zda vykazuje dostatečné rozvrstvení buněk a zda buňky mají správnou morfologii a zda jsou zdravé.

Většina živného média z jamek se odstraní obrácením destičky a odstříknutím na papírovou utěrku (stejně se provádí odstranění tekutiny z mikrotitračních destiček popsané později). Zásoba EMCV se naředí čerstvým kultivačním médiem A na titr asi  $3 \cdot 10^7$  PFU/ml (*Poznámka: na každou destičku je zapotřebí asi 20 ml ředěného viru, plus 5 % až 10 % navíc*). Ředěná suspenze se rozplní z 9cm sterilních Petriho misek vícekanálovou pipetou po 200 µl do všech jamek destičky, včetně jamek obsahujících virovou kontrolu, ale s výjimkou jamek obsahujících kontrolu buněk. Do všech jamek obsahujících buněčné kontroly se přidá po 200 µl živného média A (bez viru). Destičky se na 24 h vrátí do inkubátoru při 37 °C a 5% atmosféře oxidu uhličitého.

### Barvení

Destičky se mikroskopicky vyšetří, aby se zkontrolovalo, zda EMCV vyvolal cytopatický efekt ve virových kontrolách. Časový interval pro maximální cytopatický efekt může kolísat od zkoušky ke zkoušce, pro vlastní variabilitu buněk Hep2c k virové čelenži po danou dobu kontinuální kultivace.

Většina kultivačního média se odstraní z jamek odstříknutím do vhodného dekontaminačního roztoku (vhodný je chlornan sodný). Do každé jamky se přidá *tlumivý roztok fosforečnanový s chloridem sodným o pH 7,4*. Také tento tlumivý roztok se odstraní do dekontaminačního roztoku a do každé jamky se přidá 150 µl barvicího roztoku. Buňky se barví 30 min při pokojové teplotě. Barvicí roztok se rovněž odstraní do dekontaminačního roztoku. Přidá se 150 µl fixačního roztoku a nechá se působit 10 min při pokojové teplotě. Fixační roztok se odstraní do dekontaminačního roztoku a buněčné monomolekulární vrstvy se promyjí ponořením mikrotitračních destiček do plastového boxu s tekoucí vodou. Voda se sleje a povrch destiček se osuší papírovým tamponem. Destičky se ponechají při 20 °C až 37 °C do úplného odpaření vlhkosti.

Do každé jamky se přidá 150 µl *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*. Zbytky barvy se odstraní mírným protřásáním destiček nebo poklepáváním o dlaň ruky. Před spektrofotometrickým odečítáním je třeba mít jistotu, že barva je ve všech jamkách rozložena rovnoměrně.

Používá se čtecí zařízení pro destičky a měří se adsorbance při 610 nm až 620 nm proti prázdné jamce nebo řadě jamek neobsahujících buňky, ale asi 150 µl *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS*.

Stanoví se koncentrace interferonového standardu, způsobující minimální a maximální redukci cytopatického efektu. To je dávková odpověď udávající pracovní rozmezí při stanovení.

### 3.3.2 Provedení zkoušky

Zkouška se provede tak, jak je uvedeno výše, přičemž:

- jako zkoušené roztoky se použije řada roztoků zkoušené látky ředěná živným médiem A ve dvojnásobných ředěních tak, aby se dosáhly jmenovité koncentrace pokrývající pracovní rozmezí při stanovení,
- jako porovnávací roztoky se použije řada roztoků vhodného standardu interferonu (např. specifický SZO subtyp interferonu) ředěných živným médiem A ve dvojnásobných ředěních tak, aby se dosáhly jmenovité koncentrace pokrývající pracovní rozmezí pro stanovení.

### 3.3.3 Analýza dat

Výsledky stanovení redukce cytopatického efektu obecně odpovídají sigmoidní křivce odpovědi na dávce, jestliže se vynesou koncentrace interferonu (převrácený logaritmus ředění interferonu) proti absorbanci barvy.

Vynese se koncentrace interferonu (převrácený log ředění) proti absorbanci barvy pro porovnávací přípravek interferonu a pro roztoky zkoušeného interferonu. Z lineární části křivky se vypočítá koncentrace interferonu ve vzorku srovnáním odpovědi zkoušeného a porovnávacího roztoku za použití obvyklých statistických metod pro model rovnoběžnosti.

## 4 Validace jiných postupů

### 4.1 Výběr buněčné linie a viru

Pro antivirové stanovení účinnosti interferonu byly použity různé kombinace buněčných linií a virů.

Např. EMCV se použije v kombinaci s linií A549 lidských plicních epitelových nádorových buněk, Semliki Forest virus nebo virus Sindbis se použije s lidskými fibroblasty a virus vesikulární stomatitidy s jinými lidskými diploidními fibroblasty, s linií WISH lidských amniotických buněk nebo s linií Madin-Darby ledvinných buněk skotu. V každém případě záleží výběr kombinace virus-buněčná linie na co nejcitlivější odpovědi a zda dává zkoušený interferonový přípravek rovnoběžné odpovědi při srovnávání zkoušeného přípravku a interferonového standardu.

### 4.2 Výběr odpovědi

Shora popsany postup barvení měří zbylé živé buňky. Bylo použito mnoho jiných odpovědí včetně barvení violeti methylovou nebo violeti krystalovou nebo postup přeměny modře thiazolylové (MTT).

V každém případě tato metoda byla vybrána na základě toho, že vytváří vhodnou lineární a citlivou závislost barevné odpovědi na počtu živých buněk.

### 4.3 Statistická validace

Jako ve všech biologických stanovení využívajících model rovnoběžnosti, musí toto stanovení účinnosti splňovat obvyklá statistická kritéria linearity odpovědi, rovnoběžnosti a variability.

### 4.4 Validace plánu zkoušky

Stejně jako u ostatních zkoušek prováděných na mikrotitračních destičkách se věnuje pozornost validaci plánu zkoušky. Zvláště se musí vyšetřit a odstranit možnost chyb způsobených špatným pořadím při pipetování nebo okrajové jevy destičky, a to náhodným rozmístěním v plánu zkoušky nebo vyloučením použití krajních jamek.

#### Zkoumadla a živná média

##### Živné médium A (10 % neonatálního telecího séra)

RPMI 1640 živné médium, doplněné podle potřeby antibiotiky (penicilin 10 000 m.j./ml; streptomycin 10 ng/ml)	450 ml
L-glutamin 0,2 mol/l, sterilní roztok	5 ml
neonatální telecí sérum	50 ml

##### Živné médium B (2 % fetálního bovinního séra)

RPMI 1640 živné médium, doplněné podle potřeby antibiotiky (penicilin 10 000 m.j./ml; streptomycin 10 ng/ml)	490 ml
L-glutamin 0,2 mol/l, sterilní roztok	5 ml
fetální bovinní sérum	10 ml

#### Barvicí roztok

černá naftalenová	0,5 g
kyselina octová ledová	90 ml
octan sodný bezvodý	8,2 g
voda do	1000 ml

#### Fixační roztok

roztok formaldehydu 40%	100 ml
kyselina octová ledová	90 ml
octan sodný bezvodý	8,2 g
voda do	1000 ml

## 5.7 Tabulka fyzikálních vlastností radionuklidů



2000

Následující tabulka doplňuje článek *Radiofarmaca*.

Hodnoty jsou získány z databáze Národního jaderného centra dat (National Nuclear Data Center (NNDC) at Brookhaven National Laboratory, Upton, N.Y., USA) prostřednictvím internetu na adrese: „<http://www.nndc.bnl.gov/nndc/nudat/radform.html>“.

V případě jiných zdrojů se upřednostňují novější hodnoty. Jejich zdroje jsou následující:

- \* DAMRI (Département des Applications et de la Métrologie des Rayonnements Ionisants, CEA Gif-sur-Yvette, Francie).
- \*\* PTB (Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Braunschweig, SRN),
- \*\*\* NPL (National Physical Laboratory, Teddington, Middlesex, UK).

Proměnlivost poločasů přeměny je uvedena v závorkách. V zásadě čísla v závorkách jsou standardem nejistoty odpovídající posledním číslům dané číselné hodnoty podle „Pokynů pro vyjádření nejistoty měření“, Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO), 1993, ISBN 92-67-10188-9.

Použité zkratky mají tento význam:

- $e_A$  = Augerovy elektrony  
 $ce$  = konverzní elektrony  
 $\beta^-$  = elektrony  
 $\beta^+$  = pozitrony  
 $\gamma$  = gama záření  
 $rtg$  = rentgenové záření

Radionuklid	Poločas přeměny	Emise elektronů			Emise fotonů		
		Druh	Energie (MeV)	Pravděpodobnost emise na 100 přeměn	Druh	Energie (MeV)	Pravděpodobnost emise na 100 přeměn
tritium ( $^3\text{H}$ )	*12,33 (6) roků	* $\beta^-$	*0,006 <sup>1)</sup> (max: 0,019)	*100			
uhlík-11 ( $^{11}\text{C}$ )	20,385 (20) minut	$\beta^+$	0,386 <sup>1)</sup> (max: 0,960)	99,8	$\gamma$	0,511	199,5 <sup>2)</sup>
dusík-13 ( $^{13}\text{a}$ )	9,965 (4) minut	$\beta^+$	0,492 <sup>1)</sup> (max: 1,198)	99,8	$\gamma$	0,511	199,6 <sup>2)</sup>
kyslík-15 ( $^{15}\text{O}$ )	122,24 (16) sekund	$\beta^+$	0,735 <sup>1)</sup> (max: 1,732)	99,9	$\gamma$	0,511	199,8 <sup>2)</sup>
fluor-18 ( $^{18}\text{F}$ )	109,77 (5) minut	$\beta^+$	0,250 <sup>1)</sup> (max: 0,633)	96,7	$\gamma$	0,511	193,5 <sup>2)</sup>
fosfor-32 ( $^{32}\text{P}$ )	14,26 (4) dnů	$\beta^-$	0,695 <sup>1)</sup> (max: 1,71)	100			
fosfor-33 ( $^{33}\text{P}$ )	25,34 (12) dnů	$\beta^-$	0,076 <sup>1)</sup> (max: 0,249)	100			
síra-35 ( $^{35}\text{S}$ )	87,51 (12) dnů	$\beta^-$	0,049 <sup>1)</sup> (max: 0,167)	100			
chrom-51 ( $^{51}\text{Cr}$ )	27,7025 (24) dnů	$e_A$	0,004	67	rtg	0,005	22,3
					$\gamma$	0,320	9,9
kobalt-56 ( $^{56}\text{Co}$ )	77,27 (3) dnů	$e_A$	0,006	47	rtg	0,006 - 0,007	25
		$\beta^+$	0,179 <sup>1)</sup>	0,9	$\gamma$	0,511	38,0 <sup>2)</sup>
			0,631 <sup>1)</sup>	18,1		0,847	100,0
						1,038	14,1
						1,175	2,2
						1,238	66,1
						1,360	4,3
						1,771	15,5
		2,015	3,0				
		2,035	7,8				
		2,598	17,0				
		3,202	3,1				
		3,253	7,6				
kobalt-57 ( $^{57}\text{Co}$ )	271,79 (9) dnů	$e_A + ce$	0,006 - 0,007	177,4	rtg	0,006 - 0,007	57
		ce	0,014	7,4	$\gamma$	0,014	9,2
			0,115	1,8		0,122	85,6
			0,129	1,3		0,136	10,7
					0,692	0,15	
kobalt-58 ( $^{58}\text{Co}$ )	70,86 (7) dnů	$e_A$	0,006	49,4	rtg	0,006 - 0,007	26,3
		$\beta^+$	0,201 <sup>1)</sup>	14,9	$\gamma$	0,511	29,9 <sup>2)</sup>
						0,811	99,4
						0,864	0,7
					1,675	0,5	

kobalt-60 ( <sup>60</sup> Co)	5,2714 (5) roků	β <sup>-</sup>	0,096 <sup>1)</sup> (max: 0,318)	99,9	γ	1,173 1,333	100,0 100,0
gallium-66 ( <sup>66</sup> Ga)	9,49 (7) hodin	e <sub>A</sub>	0,008	21	rtg	0,009 - 0,010	19,1
		β <sup>+</sup>	0,157 <sup>1)</sup>	1	γ	0,511	112 <sup>2)</sup>
			0,331 <sup>1)</sup>	0,7		0,834	5,9
			0,397 <sup>1)</sup>	3,8		1,039	37
			0,782 <sup>1)</sup>	0,3		1,333	1,2
			1,90 <sup>1)</sup>	50		1,919	2,1
						2,190	5,6
						2,432	1,9
						2,752	23,4
						3,229	1,5
		3,381	1,5				
		3,792	1,1				
		4,086	1,3				
		4,295	4,1				
		4,807	1,8				
gallium-67 ( <sup>67</sup> Ga)	3,2612 (6) dnů	e <sub>A</sub>	0,008	62	rtg	0,008 - 0,010	57
		ce	0,082 - 0,084	30,4	γ	0,091 - 0,093	42,4
			0,090 - 0,092	3,6		0,185	21,2
			0,175	0,3		0,209	2,4
						0,300	16,8
		0,394	4,7				
		0,888	0,15				
germanium-68 ( <sup>68</sup> Ge) v rovnováze s galliem-68 ( <sup>68</sup> Ga)	270,82 (27) dnů ( <sup>68</sup> Ga: 67,629 (24) minut)	e <sub>A</sub>	0,008	42,4	rtg	0,009 - 0,010	44,1
		β <sup>+</sup>	0,353 <sup>1)</sup> 0,836 <sup>1)</sup>	1,2 88,0	γ	0,511 1,077	178,3 3,0
gallium-68 ( <sup>68</sup> Ga)	67,629 (24) minut	e <sub>A</sub>	0,008	5,1	rtg	0,009 - 0,010	4,7
		β <sup>+</sup>	0,353 <sup>1)</sup> 0,836 <sup>1)</sup>	1,2 88,0	γ	0,511 1,077	178,3 3,0
krypton-81m ( <sup>81m</sup> Kr)	13,10 (3) sekund	ce	0,176	26,4	rtg	0,012 - 0,014	17,0
			0,189	4,6			
rubidium-81 ( <sup>81</sup> Rb) v rovnováze s kryptonem- -81m ( <sup>81m</sup> Kr)	4,576 (5) hodin  ( <sup>81m</sup> Kr: 13,10 (3) sekund)	e <sub>A</sub>	0,011	31,3	rtg	0,013 - 0,014	57,2
		ce	0,176	25,0	γ	0,190	64
			0,188	4,3		0,446	23,2
						0,457	3,0
						0,510	5,3
		0,253 <sup>1)</sup> 0,447 <sup>1)</sup>	1,8 25,0		0,511 0,538	54,2 2,2	
stroncium-89 ( <sup>89</sup> Sr) v rovnováze s yttriem-89m ( <sup>89m</sup> Y)	50,53 (7) dnů  ( <sup>89m</sup> Y: 16,06 (4) sekund)	β <sup>-</sup>	0,583 <sup>1)</sup> (max: 1,492)	99,99	γ	0,909	0,01

stroncium-90 ( <sup>90</sup> Sr) v rovnováze s yttriem-90 ( <sup>90</sup> Y)	28,74 (4) roků ( <sup>90</sup> Y: 64,10 (8) hodin)	β <sup>-</sup>	0,196 <sup>1)</sup> (max: 0,546)	100			
yttrium-90 ( <sup>90</sup> Y)	64,10 (8) hodin	β <sup>-</sup>	0,934 <sup>1)</sup> (max: 2,280)	100			
molybden-99 ( <sup>99</sup> Mo) v rovnováze s techneciem- -99m ( <sup>99m</sup> Tc)	65,94 (1) hodin  ( <sup>99m</sup> Tc: 6,01 (1) hodin)	β <sup>-</sup>	0,133 <sup>1)</sup> 0,290 <sup>1)</sup> 0,443 <sup>1)</sup>	16,4 1,1 82,4	rtg  γ	0,018 - 0,021  0,041 0,141 0,181 0,366 0,740 0,778	3,6  1,1 4,5 6 1,2 12,1 4,3
technecium-99m ( <sup>99m</sup> Tc)	6,01 (1) hodin	ce  e <sub>A</sub>  ce	0,002  0,015  0,120 0,137 - 0,140	74  2,1  9,4 1,3	rtg  γ	0,018 - 0,021  0,141	7,3  89,1
technecium-99 ( <sup>99</sup> Tc)	2,11 x 10 <sup>5</sup> roků	β <sup>-</sup>	0,085 <sup>1)</sup> (max: 0,294)	100			
ruthenium-103 ( <sup>103</sup> Ru) v rovnováze s rhodiem-103m ( <sup>103m</sup> Rh)	39,26 (2) dnů  ( <sup>103m</sup> Rh: 56,114 (20) minut)	e <sub>A</sub> +ce  ce  β <sup>-</sup>	0,017  0,030 - 0,039  0,031 <sup>1)</sup> 0,064 <sup>1)</sup>	12  88,3  6,6 92,2	rtg  γ	0,020 - 0,023  0,497 0,610	9,0  91 5,8
indium-110 ( <sup>110</sup> In)	4,9 (1) hodin	e <sub>A</sub>	0,019	13,4	rtg  γ	0,023 - 0,026  0,642 0,658 0,885 0,938 0,997	70,5  25,9 98,3 92,9 68,4 10,5
indium-110m ( <sup>110m</sup> In)	69,1 (5) minut	e <sub>A</sub>  β <sup>+</sup>	0,019  1,015 <sup>1)</sup>	5,3  61	rtg  γ	0,023 - 0,026  0,511 0,658 2,129	27,8  123,4 <sup>2)</sup> 97,8 2,1
indium-111 ( <sup>111</sup> In)	2,8047 (5) dnů	e <sub>A</sub>  ce	0,019  0,145 0,167 - 0,171 0,219 0,241 - 0,245	15,6  7,8 1,3 4,9 1,0	rtg  γ	0,003 0,023 - 0,026  0,171 0,245	6,9 82,3  90,2 94,0
indium-114m ( <sup>114m</sup> In) v rovnováze s indiem-114 ( <sup>114</sup> In)	49,51 (1) dnů  ( <sup>114</sup> In: 71,9 (1) sekund)	ce  *β <sup>-</sup>	0,162 0,186 - 0,190  0,777 <sup>1)</sup> (max: 1,985)	40 40  95	rtg  γ	0,023 - 0,027  0,190 0,558 0,725	36,3  15,6 3,2 3,2

tellur-121m ( <sup>121m</sup> Te) v rovnováze s tellurem-121 ( <sup>121</sup> Te)	154,0 (7) dnů  ( <sup>121</sup> Te: 19,16 (5) dnů)	e <sub>A</sub>	0,003 0,022 - 0,023	88,0 7,4	rtg	0,026 - 0,031	50,5	
		ce	0,050 0,077 0,180	33,2 40,0 6,1	γ	0,212 1,102	81,4 2,5	
tellur-121 ( <sup>121</sup> Te)	**19,16 (5) dnů	e <sub>A</sub>	0,022	11,6	rtg	0,026 - 0,030	75,6	
					γ	0,470 0,508 0,573	1,4 17,7 80,3	
jod-123 ( <sup>123</sup> I)	13,27 (8) hodin	e <sub>A</sub>	0,023	12,3	rtg	0,004 0,027 - 0,031	9,3 86,6	
		ce	0,127 0,154 0,158	13,6 1,8 0,4	γ	0,159 0,346 0,440 0,505 0,529 0,538	83,3 0,1 0,4 0,3 1,4 0,4	
jod-125 ( <sup>125</sup> I)	59,402 (14) dnů	e <sub>A</sub> + ce	0,004 0,023 - 0,035	80 33	rtg	0,004 0,027 0,031	15,5 114 26	
					γ	0,035	6,7	
jod-126 ( <sup>126</sup> I)	13,11 (5) dnů	e <sub>A</sub>	0,023	6	rtg	0,027 - 0,031	42,2	
		ce	0,354 0,634	0,5 0,1	γ	0,388 0,491 0,511	34 2,9 2,3 <sup>2)</sup>	
		β <sup>-</sup>	0,109 <sup>1)</sup> 0,290 <sup>1)</sup> 0,459 <sup>1)</sup>	3,6 32,1 8,0		0,666 0,754 0,880	33 4,2 0,8	
		β <sup>+</sup>	0,530 <sup>1)</sup>	1		1,420	0,3	
jod-131 ( <sup>131</sup> I)	8,020 70 (11) dnů	ce	0,46 0,330	3,5 1,6	rtg	0,029 - 0,030	3,9	
		β <sup>-</sup>	0,069 <sup>1)</sup> 0,097 <sup>1)</sup> 0,192 <sup>1)</sup>	2,1 7,3 89,9	γ	0,080 0,284 0,365 0,637 0,723	2,6 6,1 81,7 7,2 1,8	
xenon-131m ( <sup>131m</sup> Xe)	11,84 (7) dnů	e <sub>A</sub>	0,025	6,8	rtg	0,004 0,030 0,034	8,3 44,0 10,2	
		ce	0,129 0,159 0,163	61 28,5 8,3	γ	0,164	2,0	
jod-133 ( <sup>133</sup> I) (přeměna na radioaktivní xe- non-133)	20,8 (1) hodin	β <sup>-</sup>	0,140 <sup>1)</sup> 0,162 <sup>1)</sup> 0,299 <sup>1)</sup> 0,441 <sup>1)</sup>	3,8 3,2 4,2 83	γ	0,530 0,875 1,298	87 4,5 2,4	



xenon-133 ( <sup>133</sup> Xe)	5,243 (1) dnů	e <sub>α</sub>	0,026	5,8	rtg	0,004	6,3
		ce	0,045 0,075 - 0,080	55,1 9,9		0,031 0,035	40,3 9,4
		β <sup>-</sup>	0,101 <sup>1)</sup>	99,0	γ	0,080	38,3
xenon-133m ( <sup>133m</sup> Xe) (přeměna na radioaktivní xenon-133)	2,19 (1) dnů	e <sub>α</sub>	0,025	7	rtg	0,004	7,8
		ce	0,199 0,228 0,232	64,0 20,7 4,6		0,030 0,034	45,9 10,6
		β <sup>-</sup>	0,140 <sup>1)</sup> 0,237 <sup>1)</sup> 0,307 <sup>1)</sup> 0,352 <sup>1)</sup> 0,399 <sup>1)</sup> 0,444 <sup>1)</sup> 0,529 <sup>1)</sup>	7,4 8 8,8 21,9 8 7,5 23,8	γ	*0,527 0,547 0,837 1,039 1,132 1,260 1,458 1,678 1,791	13,8 7,2 6,7 8,0 22,7 28,9 8,7 9,6 7,8
jod-135 ( <sup>135</sup> I) (přeměna na radioaktivní xenon-135)	6,57 (2) hodin	β <sup>-</sup>	0,140 <sup>1)</sup> 0,237 <sup>1)</sup> 0,307 <sup>1)</sup> 0,352 <sup>1)</sup> 0,399 <sup>1)</sup> 0,444 <sup>1)</sup> 0,529 <sup>1)</sup>	7,4 8 8,8 21,9 8 7,5 23,8	γ	*0,527 0,547 0,837 1,039 1,132 1,260 1,458 1,678 1,791	13,8 7,2 6,7 8,0 22,7 28,9 8,7 9,6 7,8
		ce	0,214	5,5	rtg	0,031 - 0,035	5,0
		β <sup>-</sup>	0,171 0,308	3,1 96,0	γ	0,250 0,608	90,2 2,9
cesium-137 ( <sup>137</sup> Cs) v rovnováze s baryem-137m ( <sup>137m</sup> Ba)	30,04 (3) roků  ( <sup>137m</sup> Ba: 2,552 (1) minut	e <sub>α</sub>	0,026	0,8	rtg	0,005	1
		ce	0,624 0,656	8,0 1,4	γ	0,032 - 0,036	7
		β <sup>-</sup>	0,174 <sup>1)</sup> 0,416 <sup>1)</sup>	94,4 5,6		0,662	85,1
thallium-200 ( <sup>200</sup> Tl)	26,1 (1) hodin	ce	0,285 0,353	3,4 1,4	rtg	0,010 0,069 - 0,071 0,08	32,0 63,3 17,5
		β <sup>+</sup>	0,495 <sup>1)</sup>	0,3			
					γ	0,368 0,579 0,828 1,206 1,226 1,274 1,363 1,515	87,2 13,8 10,8 29,9 3,4 3,3 3,4 4,0

olovo-201 ( <sup>201</sup> Pb) (přeměna na radioaktivní thallium-201)	9,33 (3) hodin	e <sub>A</sub>	0,055	3	rtg	0,070 - 0,073	69
		ce	0,246	8,5	γ	0,083	19
			0,276	2		0,331	79
			0,316	2,3		0,361	9,9
						0,406	2,0
						0,585	3,6
						0,692	4,3
						0,767	3,2
						0,826	2,4
						0,908	5,7
						0,946	7,9
		1,099	1,8				
		1,277	1,6				
thallium-201 ( <sup>201</sup> Tl)	72,912 (17) hodin	ce	0,016 - 0,017	17,7	rtg	0,010	46,0
			0,027 - 0,029	4,1		0,069 - 0,071	73,7
			0,052	7,2		0,080	20,4
			0,084	15,4	γ	0,135	2,6
			0,153	2,6		0,167	10,0
thallium-202 ( <sup>202</sup> Tl)	12,23 (2) dnů	e <sub>A</sub>	0,054	2,8	rtg	0,010	31,0
			0,357	2,4		0,069 - 0,071	61,6
		ce			γ	0,080	17,1
olovo-203 ( <sup>203</sup> Pb)	51,873 (9) hodin	e <sub>A</sub>	0,055	3,0	rtg	0,010	37,0
			0,194	13,3		0,071 - 0,073	69,6
		ce			γ	0,083	19,4
					0,279	80,8	
					0,401	3,4	

1) střední energie spektra beta

2) pravděpodobnost maximální emise odpovídající úplné anihilaci ve zdroji na 100 přeměn

27. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, Tabulka č. I zní:

”

### Tabulka I: Omamné a psychotropní látky<sup>1)</sup>

N

Obsahuje pouze lékopisné látky podléhající ustanovení zákona č. 117/2000 Sb. ze dne 6. dubna 2000, kterým se mění zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů (dále jen „zákon č. 117/2000 Sb.“). Omamnými látkami a psychotropními látkami se ve smyslu zákona č. 167/1998 Sb. 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 zákona 167/1998 Sb. rozumí látka uvedená v příloze č. 9 tohoto zákona a pomocnou látkou se rozumí látka uvedená v příloze č. 10 nebo v příloze č. 11 zákona č. 117/2000 Sb. U pomocných látek zákon stanoví jen povinnost jejich výrobců, vývozců, dovozců a prodejců zaregistrovat se u Ministerstva zdravotnictví a výrobci, vývozcí a dovozci těchto pomocných látek mají ještě ohlašovací povinnost.

V lékopisu jsou omamné látky označeny §§, psychotropní látky § a prekursory (§). Omamné látky, psychotropní látky, přípravky a prekursory musí být skladovány v uzamčených místnostech, jejichž stěny, stropy, podlahy, okna a dveře jsou z materiálu znesnadňujícího proniknutí ke skladovaným látkám, nebo v nepřenositelných uzamykatelných schránkách z oceli nebo ve zvláštním k tomu účelu vyrobeném uzamykatelném zařízení neoddělitelně ukotveném do stěny, stropu nebo podlahy zhotovených z pevných materiálů (např. cihel nebo betonových panelů). Ve zdravotnických zařízeních (lékárnách), v zařízeních sociální péče a u osob oprávněných k poskytování veterinární péče musí být skladovány v nepřenositelných uzamykatelných schránkách z kovu omamné látky uvedené v příloze č. 1 a 3 a psychotropní látky uvedené v příloze č. 4 a 5 zákona č. 167/1998 Sb. 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. (včetně změn uvedených v zákonech č. 354/1999 Sb. a č. 117/2000 Sb.)

§§	ALFENTANILI HYDROCHLORIDUM
§§	COCAINI HYDROCHLORIDUM
§§	DEXTROMORAMIDI HYDROGENOTARTRAS
§§	DIPHENOXYLATI HYDROCHLORIDUM
§§	FENTANYLI DIHYDROGENOCITRAS
§§	FENTANYLUM
§§	METHADONI HYDROCHLORIDUM
§§	MORPHINI HYDROCHLORIDUM TRIHYDRICUM
§§	MORPHINI SULFAS PENTAHYDRICUS
§§	OPIUM CRUDUM
§§	PETHIDINI HYDROCHLORIDUM
§§	SUFENTANILI DIHYDROGENOCITRAS

#### Lékopisné omamné látky zařazené do seznamu II

Příloha č. 2 k zákonu č. 167/1998 Sb. (včetně změn uvedených v zákonu č. 117/2000 Sb.)

§§ †	CODEINI DIHYDROGENOPHOSPHAS HEMIHYDRICUS
§§ †	CODEINI DIHYDROGENOPHOSPHAS SESQUIHYDRICUS

<sup>1)</sup> Tato tabulka zcela nahrazuje Tabulku č. I z ČL 97-Dopl. 99 (str. 3936) a při uchovávání jednotlivých léčiv uvedených v ČL 97 je třeba se řídit touto přepracovanou tabulkou.

- §§ † CODEINI HYDROCHLORIDUM DIHYDRICUM
- §§ † CODEINUM
- §§ † DEXTROPROPOXYPHENI HYDROCHLORIDUM
- §§ † ETHYLMORPHINI HYDROCHLORIDUM
- §§ † PHOLCODINUM

### **Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu II**

Příloha č. 5 k zákonu č. 167/1998 Sb. (včetně změn uvedených v zákonu č. 117/2000 Sb.)

- § AMFETAMINI SULFAS
- § METHAQUALONUM

### **Lékopisné psychotropní látky zařazené do seznamu III**

Příloha č. 6 k zákonu č. 167/1998 Sb. (včetně dodatku uvedeného v zákonu č. 117/2000 Sb.)

- § † AMOBARBITALUM
- § † AMOBARBITALUM NATRICUM
- § † BUPRENORPHINI HYDROCHLORIDUM
- § † BUPRENORPHINUM
- § † FLUNITRAZEPAMUM
- § † GLUTETHIMIDUM
- § † PENTAZOCINI HYDROCHLORIDUM
- § † PENTAZOCINUM
- § † 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
- § † METHYLPHENOBARBITALUM
- § † MIDAZOLAMUM
- § † NITRAZEPAMUM
- § † OXAZEPAMUM
- § † PHENOBARBITALUM
- § † PHENOBARBITALUM NATRICUM
- § † PRAZEPAMUM
- § † 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

**Lékopisné pomocné látky zařazené do tabulky II podle úmluvy OSN proti nedovolenému obchodu s omamnými a psychotropními látkami (sdělení č. 462/1991 Sb.)**

Příloha č. 11 k zákonu č. 117/2000 Sb.

- ACETONUM
- † ACIDUM HYDROCHLORICUM 35%
- ETHER ANESTHETICUS
- ETHER SOLVENS
- KALII PERMANGANAS

“

28. V příloze části 5 Všeobecné dodatky, texty Tabulek č. II až VI se doplňují:

”

**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.

CALCIFEDIOLUM MONOHYDRICUM  
CLENBUTEROLI HYDROCHLORIDUM  
DIHYDROERGOCRISTINI MESILAS  
NAPHAZOLINI HYDROCHLORIDUM  
NAPHAZOLINI NITRAS  
NICOTINUM

**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.

ACIDUM IOTALAMICUM  
ACIDUM NALIDIXICUM

ACIDUM TIAPROFENICUM  
ACIDUM TRANEXAMICUM

ACITRETINUM  
ALBENDAZOLUM  
ALLOPURINOLUM  
AMOXICILLINUM NATRICUM  
APROTININI SOLUTIO CONCENTRATA  
APROTININUM  
BELLADONNAE TINCTURA  
BENSERAZIDI HYDROCHLORIDUM  
BENZBROMARONUM  
BEZAFIBRATUM  
BIFONAZOLUM  
BROMPERIDOLI DECANOAS  
BUFLOMEDILI HYDROCHLORIDUM  
CALCITONINUM SALMONIS  
CEFAMANDOLI NAFAS  
CEFATRIZINUM PROPYLENGLYCOLUM  
CEFOPERAZONUM NATRICUM  
CEFTAZIDIMUM PENTAHYDRICUM  
CICLOPIROXUM  
CILASTATINUM NATRICUM  
CODEINI HYDROCHLORIDUM  
DIHYDRICUM  
CORTISONI ACETAS  
DEMECLOCYCLINI HYDROCHLORIDUM  
DEQUALINII DICHLORIDUM  
DESIPRAMINI HYDROCHLORIDUM  
DESMOPRESSINUM  
DETOMIDINI HYDROCHLORIDUM AD USUM  
VETERINARIUM  
DIMETHINDENI MALEAS  
DOCUSATUM NATRICUM  
DOSULEPINI HYDROCHLORIDUM  
DOXEPINI HYDROCHLORIDUM  
ENALAPRILI HYDROGENOMALEAS  
ERYTHROMYCINI STEARAS  
ETHINYLESTRADIOLUM  
ETODOLACUM  
FLECAINIDI ACETAS  
FLUTAMIDUM  
FLUTRIMAZOLUM  
FOSFOMYCINUM TROMETAMOLI  
GONADORELINI ACETAS  
HALOPERIDOLI DECANOAS  
HEXAMIDINI DISETIONAS  
HEXYLRESORCINOLUM  
HYDROCHLOROTHIAZIDUM  
HYDROXYZINI DIHYDROCHLORIDUM  
INTERFERONI ALFA-2 SOLUTIO  
CONCENTRATA  
INTERFERONI GAMMA-1B SOLUTIO CONCENTRATA  
ISOPRENALINI HYDROCHLORIDUM  
ISOTRETINOINUM  
KETAONAZOLUM  
LEUPRORELINUM  
METHOTREXATUM  
METHYLTHIONINII CHLORIDUM  
METOPROLOLI SUCCINAS  
MOMETASONI FUROAS  
MUPIROCINUM CALCICUM  
DIHYDRICUM  
MUPIROCINUM  
NABUMETONUM  
NALOXONI HYDROCHLORIDUM  
DIHYDRICUM  
NICERGOLINUM  
OFLOXACINUM  
OLSALAZINUM DINATRICUM  
OMEPRAZOLUM  
OXFENDAZOLUM AD USUM  
VETERINARIUM  
OXYTOCINI SOLUTIO  
OXYTOCINUM  
PEFLOXACINI MESILAS DIHYDRICUS  
PENBUTOLOLI SULFAS  
PENTAZOCINI HYDROCHLORIDUM  
PENTAZOCINUM  
PIROXICAMUM  
PRAZEPAMUM  
PREDNICARBATUM  
PREDNISOLONUM  
PROPYLTHIOURACILUM  
PROTAMINI HYDROCHLORIDUM  
PROTAMINI SULFAS  
SULFAGUANIDINUM  
SULFASALAZINUM  
TOCOFEROLI ALFA ACETAS  
TOCOFEROLI ALFA RRR ACETAS  
TOCOFEROLUM ALFA RRR  
TRETINOINUM  
TYLOSINI TARTRAS AD USUM  
VETERINARIUM  
TYLOSINUM AD USUM VETERINARIUM  
XYLAZINI HYDROCHLORIDUM

## N

Tabulka IV: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro dospělé

Seznam použitých zkratk, viz ČL 97, str. 722, zjednodušené zkratky maximálních dávek, viz <sup>1)</sup>.  
 U léčiv označených hvězdičkou (\*) se jedná o změnu proti ČL 97 nebo ČL 97 - Dopln. 99.

Název	Způsob podávání	Dávky (g)		Poznámka
		Jednotlivá dávka	Denní dávka pokud není uvedeno jinak Maximální dávka <sup>1)</sup>	
ACIDUM IOTALAMICUM	i.v. i.v.inf.			<sup>1)</sup> sing. = maximální dávka jednotlivá, p.die = maximální dávka denní K diagnostickým účelům jako 80% roztok natriumjotalamatu nebo 60% roztok meglumini- umjotalamatu, dávky podle typu vyšetření. Velmi pomalé nitrožilní podání trvajících 5 min až 10 min.
ACIDUM TRANEXAMICUM	i.v. i.m.	0,5-1	1-3	
	p.o.	1-1,5	2-6	
ACITRETINUM	p.o.		0,025-0,050	Počáteční dávka je 0,025-0,030. Denní dávka nemá překročit 0,075.
ALBENDAZOLUM	p.o.	0,4	0,4	Jednorázově nebo opakovaně podle diagnózy.
ALCHEMILLAE HERBA	loc.	1,5	5-10	Ve formě nálevu.
	p.o.		5-10	
ARNICAE FLOS	loc.	2,0		Ve formě nálevu.
BELLADONNAE FOLII EX-TRACTUM SICUM*	p.o.	0,015	0,05	0,06/sing. 0,20/p.die
BELLADONNAE FOLIUM*	p.o.	0,05	0,15	0,075/sing. 0,25/p.die
BELLADONNAE PULVIS NORMATUS*	p.o.			
BENZBROMARONUM	p.o.		0,05-0,1	Nepodávat při snížené funkci ledvin.
BEZAFIBRATUM	p.o.	0,2	0,6	Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje. Nanaší se 1 x denně (večer) až několik měsíců.
BIFONAZOLUM	loc.	1% lékové formy		
BROMPERIDOLI DECANOAS	i.m.	0,050-0,300		Vyjádřeno jako bromperidol, hluboko i.m., každé 4 týdny.

BROMPERIDOLUM*	p.o.			0,001		Obvyklou denní dávku lze zvýšit až na 50 mg.
	i.v.			0,015		
BUFLOMEDILI HYDRO- CHLORIDUM	i.m.,i.v.			0,1-0,4		
	p.o.-	0,15		0,3-0,6		
CALCII GLUCOHEPTONAS	i.v.	1,5-2,0		4,5-6,0		
	i.v.inf.	1-2		2-6	12/p.die	Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
CEFATRIZINUM PROPYLEN- GLYCOLUM	p.o.	0,50		1,0		Vyjádřeno jako cefatrizin.
CEFOPERAZONUM NATRICUM	i.v.inf.	1-2		2-4	16/p.die	Při poruchách funkce ledvin a jater se dávka snižuje.
	i.m.					
CEFTAZIDIMUM PENTAHYDRICUM	i.m.	1,0		3,0	9,0	U osob starších 80 let max 3 g/p.die. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje. Nitro-svalově nejvýše 1 g v jedné dávce.
	i.v.,inf	1,0-2,0		1,0-6,0		
CHYMOTRYPSINUM	loc.	10 m.j./1 g zásypu				Nanaší se ob den, příp. jednou týdně.
	intrao-cul.	30 m.j./ml				
	p.o.	40-120 μkatalu		120-360 μkatalu		
CILASTATINUM NATRICUM	i.m.			20 μkatalu		
	i.v.inf.	0,5			4/p.die	Podává se každých 6-8 h v kombinaci s imipenemem 1 : 1; deklaruje se v množství bezvodého cilastratinu.
CLENBUTEROLI HYDROCHLORIDUM	inhal.	10-20 μg		20-40 μg		Krátкодobě je možno dávky zdvojnásobit.
	p.o.	20-40 μg		40-80 μg		
CODEINI HYDRO- CHLORIDUM DIHYDRICUM	p.o.	0,02-0,06		0,06-0,12		
	p.o.	0,5		1-1,5		
XANTORRHIZAE RHIZOMA						
DEQUALINII DICHLORIDUM	subling.	0,15-0,25 mg				V akutním stadiu rozpustit v ústech každé 2-3 h; později podávat za 8 h.



DIHYDROERGOCRISTINI MESILAS	p.o.	0,5-1,5 mg	0,0015-0,0045	0,002/sing. 0,006/p.die		
DIMETHINDENI MALEAS	p.o.	0,001-0,002	0,003-0,006	0,008/p.die		1-2 x denně po dobu 7 dní. Podává se pomalu.
	i.v.	0,004	0,008			Apikuje se 2-4 x denně.
DOCUSATUM NATRICUM	loc.	0,025-0,1% lékové formy				
	p.rect.	0,05-0,10				
ELUETHEROCOCCI RADIX	p.o.	1,5	2,0-3,0			Ve formě nálevu.
ENALAPRILI HYDROGENO- MALEAS	p.o.	0,0025-0,02	0,02-0,04			Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
ETODOLACUM	p.o.	0,2-0,4	0,4-0,6	1,2/p.die		
FLUTAMIDUM	p.o.	0,25	0,75			
FLUTRIMAZOLUM	loc.	1% lékové formy				1-2 x denně.
FOSFOMYCINUM TROMETAMOLI	p.o.		3,0			1 x denně. Vyjádřeno jako fosformycin.
FUCUS	p.o.	1,0	2,0-3,0			Čajové směsi. Ve formě nálevu.
HALOPERIDOLI DECANOAS	i.m.		0,05-0,3			Vyjádřeno jako báze haloperidolu; obvykle 1 x za 4 týdny.
HEXAMIDINI DISETIONAS	loc.	0,1% roztok				Oční kapky při akantaméboze, roztok k dezinfekci kůže.
	loc.	0,25% krém				Jako součást antimykotických přípravků.
KALII IODIDUM *	p.o.	0,05-0,1	0,1-0,2	1,8/p.die		Substituční terapie.
			0,1-0,15	0,3/sing.		Prevence ozáření.
LEUPRORELINUM	s.c.		0,001			1 x denně. Podává se jako acetat.
	s.c.		0,00375 +			*Ve čtyřtydenních intervalech v depotních lékových formách.
	i.m.		0,00375- 0,0075 +			
LICHEN ISLANDICUS	p.o.	1,5	4,0-6,0			Ve formě nálevu.
LUPULI FLOS	p.o.	0,5	1,0-2,0			Ve formě nálevu.
MAGNESII HYDROGENO- ASPARTAS DIHYDRICUS	p.o. i.v.,i.m. i.v.inf.		0,0045/kg			Vyjádřeno jako hořčík. Podává se v 1-3 dílech dávkách. 1 g obsahuje asi 75 mg Mg <sup>2+</sup> .

	p.o.	2,0-3,0	6,0-9,0		Ve formě nálevu.
MELISSAE FOLIUM					
METHYLTHIONINII CHLORIDUM	i.v.	0,05-0,10	0,3	0,2/sing. 0,6/p.die	
MOMETASONI FUROAS	loc.	0,1% lékové formy			Nanaší se 1 x denně, později za 2-4 dny. Nej- výše 100 g nebo 100 ml 0,1% přípravku týdně. Vyjádřeno jako mupirocin. 2 x denně.
MUPIROCINUM CALCICUM DIHYDRICUM	intra- nas.	2% mast			
MUPIROCINUM	loc.	2% mast, krém			Nejvýše 3 x denně po dobu nejvýše 10 dní.
NATRII HYALURONAS	intra-artic.		0,02		V týdenních intervalech; celkem 4-7 dávek. Dávkování je individuální.
NICERGOLINUM	intra- ocul.	0,1% - 0,2% roztok			
	p.o.	0,005-0,03	0,01-0,06		
NICOTINUM	loc.		0,005-0,05		Ve formě náplastí. Dávkování je individuální.
	subling.	0,002-0,004		0,06/p.die	Ve formě žvýkací gumy. Uvedená množství odpovídají bázi nikotinu.
NIZATIDINUM	p.o.	0,15-0,3	0,3-0,6		Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
	i.v.inf.	0,1-0,2			
NONOXINOLUM 9	vagin.	5% krém 12% pěna			Podává se 10 min před stykem.
	vagin.	0,075	0,075		
	i.v.inf.	0,1-0,4			Podává se v globulích, působí nejvýše 2 h. 2 x denně. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje. Parenterální podání ve formě hydrochloridu.
	p.o.	0,2-0,4	0,4-0,8		
	p.o.	0,5-1,0	1,0-3,0	1,0/sing.	
OLSALAZINUM DINATRICUM	p.o.	0,5-2,0	6,0-8,0		Ve formě nálevu.
PASSIFLORAE HERBA		0,4	0,8		2 x denně. Vyjádřeno jako pefloxacin.
PEFLOXACINI MESILAS DIHYDRICUS	i.v.inf. p.o.				
PENBUTOLOLI SULFAS	p.o.	0,04	0,01-0,08		Počáteční dávka je 0,02 denně, obvyklá dávka je 0,05, která může být zvýšena na 0,08 denně a po 4 týdnech léčby 0,01 denně.

PENTAZOCINI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,03-0,09				Podává se až 6 x denně po jídle. Vyjádřeno jako pentazocin.
PENTAZOCINUM	i.m. s.c i.v..	0,03-0,06			0,36/sing.	Podává se ve formě laktátu každé 3-4 h.
PEPSINI PULVIS*						1 Ph.Eur.j./g odpovídá 5 CSL 4 j./g
PICOTAMIDUM MONOHYDRICUM	p.o.			0,9-1,2		Počáteční dávka. Udržovací dávka je 0,3-0,6.
PRAZEPAMUM	p.o.	0,01-0,02		0,03-0,06	0,06/p.die	V dílčích dávkách, vyšší dávka se podává na noc.
PREDNICARBATUM	loc.	0,25% lékové formy				Nejprve 1-2 x denně, potom 1 x za 2-4 dny. Nejvýše 100 g nebo 100 ml lékové formy za týden. Podává se nejdéle 3 týdny.
SIMETICONUM	p.o.	0,04-0,08		2,0		Podává se 2-4 x denně.
SULFAGUANIDINUM	p.o.	2,0-3,0		8,0-12,0		
TRETINOINUM*	loc.	0,01-0,1% lékové formy				1-2 x denně natřít na kůži.
TRYP SINUM*	p.o.					Ve dvou dílčích dávkách.
	p.o.	0,12-0,16		0,36-0,5		
ZINCI ACETAS DIHYDRICUS	i.m.	0,005		0,005		Podává se přednostně intragluteálně, nejvýše 10 dávek.
	i.v.inf.	0,005				Jako součást infuzních roztoků.
	loc.	1% roztoku				

## N

Tabulka V: Doporučené terapeutické dávky léčiv pro děti

Seznam použitých zkratk, viz ČL 97, str. 722.

Název	Způsob podání	Dávkování podle věku v g				Poznámka
		g/kg/den*	0-1 rok	1-6 let	6-15 let	
ACIDUM IOTALAMICUM	i.v. i.v.inf.					K diagnostickým účelům jako 80% roztok natriumjotalamatu nebo 60% roztok megluminiumjotalamatu, dávky podle typu vyšetření. 250 mg/m <sup>2</sup> těl. povrchu/8 h. Děti starší 10 let.
ACIDUM TIAPROFENICUM	p.o. p.rect.	0,01				
ACIDUM TRANEXAMICUM	p.o.	0,025g/kg				2-4 x denně
ACITRETINUM	i.v.	0,01 g/kg				2-3 x denně, aplikuje se velmi pomalu
ALBENDAZOLUM	p.o.	0,5 mg/kg/den				Nejvyšší dávka je 1 mg/kg/den, nejvýše však 35 mg/den.
CALCI GLUCOHEPTONAS	p.o.		0,01-0,04	0,01-0,04	0,01-0,04	Jednorázově nebo opakovaně podle diagnózy u dětí starších 2 let.
CEFAMANDOLI NAFAS	i.v.	0,5	0,1-0,2	0,2-0,5	0,5-2,0	
CEFOPERAZONUM NATRICUM	i.v. inf.	0,05-0,10				Nejvýše 0,15 g/kg/den. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
CEFTAZIDIMUM	i.v. inf.	0,05-0,20				Nejvýše 0,25 g/kg/den. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje.
PENTAHYDRICUM	i.v. i.v.inf.	0,03-0,10	*0,025-0,060 g/kg/den			Ve 2-3 dílčích dávkách, nejvýše 6 g/den. Při poruchách funkce ledvin se dávka snižuje. *Novorozenci a děti do dvou měsíců.
CINNARIZINUM	p.o.				0,015	0,015 jednorázově, potom 0,0075 po 8 h. Děti ve věku 5-12 let.
CLENBUTEROLI HYDROCHLORIDUM	p.o.	0,8-1,5 µg/kg/den				Rozdělené do 2-3 dávek. Děti ve věku 6-12 let. Děti nad 12 let 10-20 µg/kg/den.

DIMETHINDENI HYDROGENOMALEAS	p.o.		0,15-0,5 mg	0,5-0,75 mg	0,75-1,0 mg	3 x denně.
DOCUSATUM NATRICUM	loc.	0,1% gel				.
	p.o.	0,15 g/den				Podává se od 3 let.
	p.rect.	0,05-0,1				
FLUTRIMAZOLUM	loc.	1% lékové formy				2-3 x denně u dětí starších 10 let.
FOSFOMYCINUM TROMETAMOLI	p.o.		2,0			1 x denně u dětí starších 5 let.
PENTAZOCINI HYDROCHLORIDUM	p.o.				0,025	Podává se od 6 let; až 6 x denně po jídle, vyjádřeno jako pentazocin.
PENTAZOCINUM	i.m s.c.		0,5 mg/kg	0,5 mg/kg	1 mg/kg	Od 12 let 1 mg/kg; až 4 x denně. Podává se ve formě laktatu. Nepodávat dětem do 1 roku.
PRAZEPAMUM	p.o.	0,01-0,015 g/den			0,010- 0,015 g/den	
PREDNICARBATUM	loc.	0,25% lékové formy				Podává se podle pokynů specialisty.
SIMETICONUM	p.o.					
SULPIRIDUM	p.o.	3-5 mg/kg/ den			0,01-0,04	Podává se před jídlem.

## Tabulka VI: Doporučené dávky některých officinálních léčiv používaných u zvířat

N

Dávky jsou vyjádřeny v gramech, pokud není uvedeno jinak. Seznam použitých zkratk viz ČL 97, str. 722 a 799.

### **ALBENDAZOLUM**

Farmakologická skupina, použití: anthelmintika

Dávky:

- p.o. B: 7,5 mg.kg<sup>-1</sup> (antinematodum)  
 10-15 mg.kg<sup>-1</sup> (anticestodum a antitrepatodum)  
 O: 5-10 mg.kg<sup>-1</sup> (antifasciolikum)  
 S: 5 mg.kg<sup>-1</sup> (antinematodum)

### **CLENBUTEROLI HYDROCHLORIDUM**

Farmakologická skupina, použití: sympatomimetika; bronchospazmolytikum, uterorelaxans

Dávky: (bronchospazmolytikum)

- p.o., i.v. (zvolna) E: 0,8 μg.kg<sup>-1</sup> každých 12 h  
 a 1,6-2,4 μg.kg<sup>-1</sup>, nenastane-li zlepšení  
 i.m. B, tele: 0,8 μg.kg<sup>-1</sup> (každých 12 h)  
 S: 1,5 μg.kg<sup>-1</sup>

(uterorelaxans)

- i.m., i.v. (zvolna) B: 0,8 μg.kg<sup>-1</sup>, eventuálně opakovat za 24 h  
 O: 3-4 μg.kg<sup>-1</sup>  
 p.o. O: 5 μg.kg<sup>-1</sup>  
 i.v. E: 0,6 μg.kg<sup>-1</sup>

### **DETOMIDINI HYDROCHLORIDUM AD USUM VETERINARIUM**

Farmakologická skupina, použití: analgetika - sedativa, hypnotika

Dávky (podle požadovaného účinku):

- i.v. (zvolna), i.m. E, B: 10-20 μg.kg<sup>-1</sup> (slabá sedace)  
 20-40 μg.kg<sup>-1</sup> (sedace a slabá analgezie)  
 40-80 μg.kg<sup>-1</sup> (silná sedace i analgezie)

### **OXFENDAZOLUM AD USUM VETERINARIUM**

Farmakologická skupina, použití: anthelmintika; antinematodum, anticestodum

Dávky:

- p.o. B, S: 4,5 mg.kg<sup>-1</sup>  
 O: 5 mg.kg<sup>-1</sup>  
 E: 10 mg.kg<sup>-1</sup>

### **XYLAZINI HYDROCHLORIDUM**

Farmakologická skupina, použití: analgetika - sedativa, hypnotika

Dávky (podle požadovaného účinku):

- i.v. (zvolna) E: 0,5-1 mg.kg<sup>-1</sup>  
 i.m. E: 2-3 mg.kg<sup>-1</sup>  
 B: 0,05 mg.kg<sup>-1</sup> (sedace)  
 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> (analgezie)  
 0,2 mg.kg<sup>-1</sup> (optimální analgezie)  
 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> (útlum CNS)  
 i.m., i.v. O, Cp: 0,1-0,5 mg.kg<sup>-1</sup>  
 s.c., i.m. C, F: 1-3 mg.kg<sup>-1</sup>

66

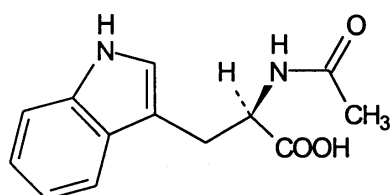
29. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acetylcysteinum doplňují články Acetyltryptophanum a Acetyltyrosinum, které znějí:

”

## Acetyltryptophanum

Acetyltryptofan

*Synonymum.* N-Acetyltryptophanum



a enantiomer

$C_{13}H_{14}N_2O_3$

$M_r$  246,26

CAS 87-32-1

Je to kyselina (*RS*)-2-acetamido-3-(1*H*-indol-3-yl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{13}H_{14}N_2O_3$ .

### Výroba

Tryptofan použitý k výrobě acetyltryptofanu vyhovuje zkoušce na příbuzné látky uvedené v článku *Tryptophanum*.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystalky. Je těžce rozpustný ve vodě a velmi snadno rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Taje při asi 205 °C.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* A a B.

*Alternativní sestava zkoušek:* A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

**A.** Zkouška Optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *acetyltryptofanu CRL*.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v 0,2 ml *amoniaku 26% R* a zředí se *vodou R* na 10 ml. *Porovnávací roztok (a).*

50 mg *acetyltryptofanu CRL* se rozpustí v 0,2 ml *amoniaku 26% R* a zředí se *vodou R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *tryptofanu R* se rozpustí ve zkoušeném roztoku a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *1-butanolu R* (25 + 25 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se suší v sušárně při teplotě 100 °C až 105 °C po dobu 15 min 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 od sebe oddělené skvrny.

D. Asi 2 mg se rozpustí ve 2 ml vody R, přidají se 2 ml dimethylaminobenzaldehydu RS6 a zahřívá se na vodní lázni; vzniká modré nebo zelenomodré zbarvení.

E. Vyhovuje zkoušce na acetyl (2.3.1). Postupuje se podle odstavce pro těžko hydrolyzovatelné látky.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí v roztoku hydroxidu sodného R (40 g/l) a zředí se jím na 100 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>7</sub> nebo ZŽ<sub>7</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Optická otáčivost (2.2.7).** -0,1° až +0,1°; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v roztoku hydroxidu sodného R (40 g/l) a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Tlumivý 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 upraví se jím pH na hodnotu 2,3.

*Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.*

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů acetonitrilu R a vody R (50 + 50) a zředí se stejnou směsí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů acetonitrilu R a vody R (10 + 90) na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 mg 1,1'-ethylidenbistryptofanu CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů acetonitrilu R a vody R (10 + 90) a zředí se stejnou směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** Ke 4,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 20,0 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se směsí objemových dílů acetonitrilu R a vody R (10 + 90) 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),
- mobilních fází 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 podle tabulky:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 10	100	0	ustalování
10 - 45	100	0	izokratická eluce
45 - 65	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
65 - 66	0	100	izokratická eluce
66 - 80	0 → 100	100 → 0	lineární gradient
	100	0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Při dodržení předepsaných podmínek jsou retenční časy acetyltryptofanu asi 29 min a 1,1'-ethylidenbistryptofanu asi 34 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky acetyltryptofanu a 1,1'-ethylidenbistryptofanu nejméně 8,0. V případě potřeby se upraví čas gradientového programu. S prodlužující se dobou eluce mobilní fáze A se prodlužují retenční časy a zlepšuje se rozlišení.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 1,8násobku retenčního času acetyltryptofanu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného



píku, kromě hlavního píku, větší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %); 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 rozpouštědla a k plochám píků menším než 0,01násobek plochy píku acetyltryptofanu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Amonium (2.4.1).** 0,10 g vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200 µg/g). Připraví se porovnávací roztok za použití základního roztoku amonia (100 µg NH<sub>4</sub>/ml).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Železo (2.4.9).** 1,0 g se rozpustí zahřátím na 50 °C v 50 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS1. Po vychladnutí se v dělicí nálevce třikrát třepe, vždy s 10 ml isobutylmethylketonu R1, po dobu 3 min. Ke spojeným organickým vrstvám se přidá 10 ml vody R a třepe se opět 3 min. Vodná vrstva vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 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

0,200 g se rozpustí v 5 ml methanolu R, přidá se 50 ml ethanolu R a titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

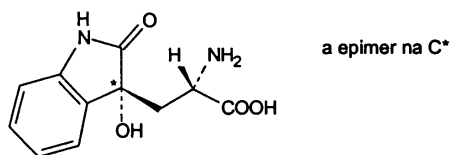
1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 24,63 mg C<sub>13</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.

### Uchovávání

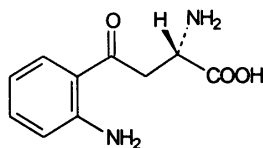
Chráněn před světlem.

### Nečistoty

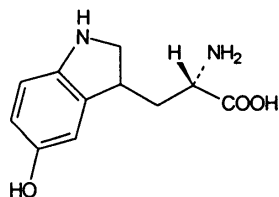
A. tryptofan,



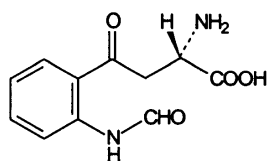
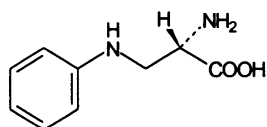
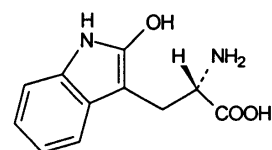
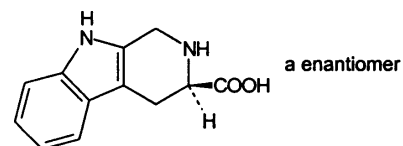
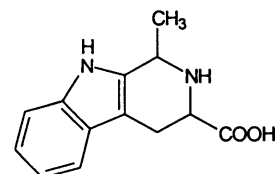
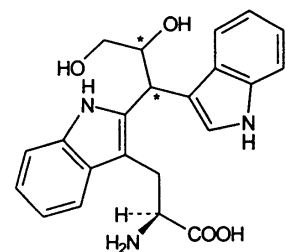
B. kyselina (S)-2-amino-3-[(3RS)-3-hydroxy-2-oxo-2,3-dihydro-1H-indol-3-yl]propanová (dioxyindolyalanin),

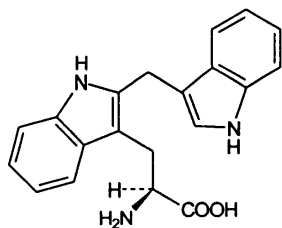
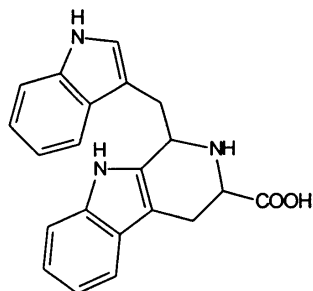


C. kyselina (S)-2-amino-4-(2-aminofenyl)-4-oxobutanová (kynurenin),



D. kyselina (S)-2-amino-3-(5-hydroxy-1H-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*- $\beta$ -karbolin-3-karboxylová,I. kyselina 1-methyl-1,2,3,4-tetrahydro-9*H*- $\beta$ -karbolin-3-karboxylová,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.

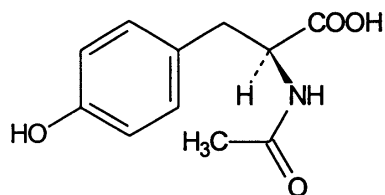
## Acetyltyrosinum

Acetyltyrosin

Synonymum. N-Acetyltyrosinum



2000

 $C_{11}H_{13}NO_4$  $M_r$  223,23

CAS 537-55-3

Je to kyselina (*2S*)-2-acetamido-3-(4-hydroxyfenyl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{11}H_{13}NO_4$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

### 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 *acetyltyrosinu CRL*.
- C. Chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky se pozorují v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- D. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, je silně kyselý (2.2.4).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S, 2,50 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Specifická optická otáčivost (2.2.7) +46° až +49°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený zředěním 10,0 ml roztoku S vodou R na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub>* pro TLC R.

Zkoušený roztok (a). 0,80 g se rozpustí v 6 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny octové ledové R a vody R a zředí se ethanolem R na 10 ml.

Zkoušený roztok (b). 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí ethanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 80 mg *acetyltyrosinu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů vody R, kyseliny octové ledové R a ethanolu R (3 + 3 + 94) a zředí se touto směsí na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí ethanolem R na 10 ml.

Porovnávací roztok (c). 40 mg *tyrosinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů kyseliny octové ledové R a vody R a zředí se ethanolem R na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, kyseliny octové ledové R a ethylacetatu R (10 + 15 + 75) po dráze 10 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) (0,5 %). Vrstva se postříká *ninhydrinem RS*, zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C a pozoruje se v denním světle. Skvrna odpovídající tyrosinu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %).

Chloridy (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200 µg/g).

Sírany (2.4.13). 1,0 g se rozpustí ve vodě destilované R a zředí se jí na 20 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (200 µg/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 není intenzivněji modře zabarven než lakmusový papír u porovnávacího vzorku připraveného současně stejným způsobem za použití 0,1 ml základního roztoku amonia (100 µg NH<sub>4</sub>/ml), 0,5 ml vody R a 0,30 g oxidu hořečnatého těžkého R (200 µg/g).

Železo (2.4.9). 0,5 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 RI*. 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).

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 %; 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 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 vstříkuje na 1 kg hmotnosti králíka 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku obsahujícího 10,0 mg zkoušené látky a 9,0 mg *chloridu sodného R* prostého pyrogenních látek ve *vodě na injekci R*.

### Stanovení obsahu

0,180 g se rozpustí v 50 ml *vody 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 22,32 mg  $C_{11}H_{13}NO_4$ .

### Uchovávání

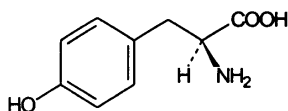
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

### Označování

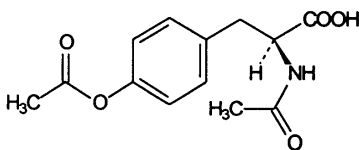
V označení na obalu se uvede:

- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá pyrogenních látek.

### Nečistoty



A. kyselina (*S*)-2-amino-3-(4-hydroxyfenyl)propanová (tyrosin),



B. kyselina (2*S*)-2-acetamido-3-(4-acetoxyfenyl)propanová (diacetyltyrosin).

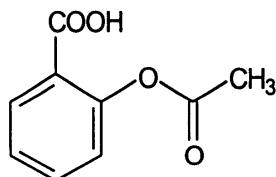
30. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum acetylsalicylicum zní:

”

## Acidum acetylsalicylicum

Kyselina acetylsalicylová

*Synonymum.* Acidum acetylosalicylicum



$C_9H_8O_4$

$M_r$  180,16

CAS 50-78-2

Je to kyselina 2-acetoxybenzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_9H_8O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96%, dobře rozpustná v etheru.

Taje při asi 143 °C (stanovení v kovovém bloku).

### 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 *kyseliny acetylsalicylové CRL*.
- B. K 0,2 g se přidají 4 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a roztok se 3 min vaří. Po ochlazení se přidá 5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Vyloučená krystalická sraženina se odfiltruje, promyje a vysuší při 100 °C až 105 °C. Teplota tání (2.2.14) je 156 °C až 161 °C.
- C. 0,1 g se promísí ve zkumavce s 0,5 g *hydroxidu vápenatého R*. Směs se zahřívá a vyvíjejí se dýmy, které zbarví filtrační papír navlhčený 0,05 ml *nitrobenzaldehydu RS* zelenomodře nebo zelenožlutě. Zbarvení papíru se po zvlhčení *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* změní na modré.
- D. Asi 20 mg sraženiny ze zkoušky B se zahřátím rozpustí v 10 ml *vody R* a ochladí se. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na salicylany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí v 9 ml *lihu 96% R*. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připraví těsně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 0,10 g se rozpustí v *acetonitrilu pro chromatografii R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg *kyseliny salicylové R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg *kyseliny salicylové R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 0,2 ml zkoušeného roztoku a zředí se 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny fosforečné R*, *acetonitrilu pro chromatografii R* a *vody R* (2 + 400 + 600); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 237 nm.

Nastříkne se po 10  $\mu$ l každého roztoku. Zaznamená se chromatogram zkoušeného roztoku po dobu odpovídající sedminásobku retenčního času *kyseliny acetylsalicylové*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 6,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech takových píků není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g se rozpustí v 12 ml *acetonu R* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Použije se porovnávací roztok olova (1  $\mu$ g Pb/ml) připravený zředěním základního roztoku olova (100  $\mu$ g Pb/ml) směsí objemových dílů *vody R* a *acetonu R* (6 + 9).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuu.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

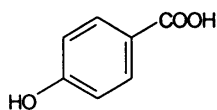
1,000 g se rozpustí v baňce se zabroušenou zátkou v 10 ml *lihu 96 % R* a přidá se 50,0 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS*. Baňka se uzavře a nechá se stát 1 h. Potom se přidá 0,2 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS*. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS* odpovídá 45,04 mg  $C_9H_8O_4$ .

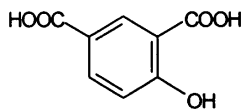
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

## Nečistoty

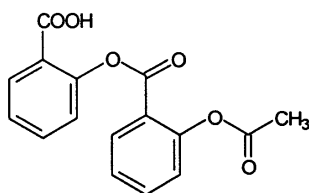


A. *kyselina 4-hydroxybenzoová*,

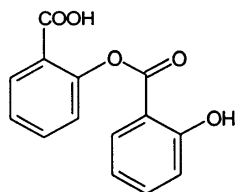


B. *kyselina 4-hydroxy-1,3-benzendikarboxylová (kyselina 4-hydroxyisofталová)*,

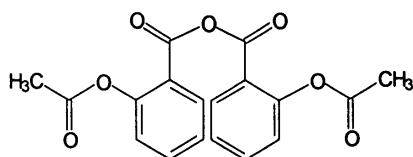
C. *kyselina 2-hydroxybenzoová (kyselina salicylová)*,



D. kyselina 2-[(2-acetoxybenzoyl)oxy]benzoová (kyselina acetylsalicylsalicylová),



E. kyselina 2-[(2-hydroxybenzoyl)oxy]benzoová (kyselina salicylsalicylová),



F. anhydrid kyseliny 2-acetoxybenzoové (anhydrid kyseliny acetylsalicylové).

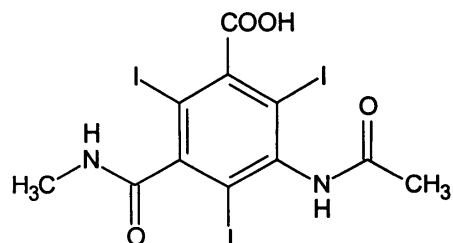
“

31. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum iotalamicum zní:

”

## Acidum iotalamicum

Kyselina jotalamová



$C_{11}H_9I_3N_2O_4$

$M_r$  613,92

CAS 2276-90-6



Je to kyselina 3-acetamido-2,4,6-trijod-5-(methylkarbamoyl)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.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v *methanolu R* obsahujícím 3 % (V/V) *amoniaku 17,5% RS* a zředí se stejným rozpouštědlem na 5 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 mg *kyseliny jotalamové CRL* se rozpustí v *methanolu R* obsahujícím 3 % (V/V) *amoniaku 17,5% RS* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ 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 vytěkání 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; vyvíjejí se fialové páry.

## 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.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se rozpustí v *methanolu R* obsahujícím 3 % (V/V) *amoniaku 17,5% RS* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí *vodou R* na 50 ml. 1 ml takto připraveného roztoku se zředí *vodou R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1 mg *kyseliny jotalamové nečistoty A CRL* se rozpustí v 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l 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 se 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  $\mu$ g/g, vyjádřeno jako chloridy).

**Nečistota A.** Nejvýše 0,05 %; stanoví se absorpční spektrofotometrií (2.2.25).

*Zkoušený roztok.* 0,500 g se naváží do 50ml odměrné baňky, přidá se 14,0 ml *vody R*, protřepe se a pak se přidá 1,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*.

*Porovnávací roztok.* 10,0 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (8,5 g/l) obsahujícího *kyselinu jotalamovou nečistotu A CRL* (25  $\mu$ g/ml) se v 50ml odměrné baňce smíchá s 5,0 ml *vody R*.

*Kontrolní roztok.* Do 50ml odměrné baňky se přenesou 14,0 ml *vody R* a 1,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*.

*Do přidání všech zkoumadel se roztoky udržují v ledové vodě a chrání se co nejvíce před přímým světlem.*

Baňky se zkoušeným roztokem, s porovnávacím roztokem a kontrolním roztokem se ponoří do ledové vody za ochrany před přímým světlem. Do všech baněk se přidá po 5,0 ml roztoku *dusitanu sodného R* (5 g/l) a 12,0 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Opatrně se baňky protřepou a nechají se stát přesně 2 min od přidání kyseliny chlorovodíkové. Potom se přidá po 10,0 ml roztoku *amidodisíranu amonného R* (20 g/l), nechají se 5 min stát za občasných protřepání (*Upozornění: uvnitř baněk vzniká přetlak*), přidá se po 0,15 ml roztoku *1-naftolu R* (100 g/l) v *lihu 96% R*, protřepou se a nechají se stát dalších 5 min. Potom se přidá po 3,5 ml *tlumivého roztoku o pH 10,9*, promíchá se a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

Měří se absorbance zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku při 485 nm v 50mm vrstvě do 20 min po přípravě proti kontrolnímu roztoku.

Vypočítá se obsah *kyseliny jotalamové nečistoty A*.

**Jodidy.** Nejvýše 20 µg/g. Proveďte se odměrné stanovení za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

6,000 g se rozpustí ve 20 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, přidá se 10 ml *vody R* a upraví se pH na hodnotu 4,5 až 5,5 *kyselinou octovou RS*. Pak se přidají 2,0 ml *jodidu draselného 0,001 mol/l VS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,001 mol/l VS* za použití stříbrné indikační a vhodné srovnávací elektrody. Odečte se objem titračního roztoku odpovídající 2,0 ml *jodidu draselného 0,001 mol/l VS*, který se stanoví titrací slepé zkoušky, při které se použijí 2,0 ml *jodidu draselného 0,001 mol/l VS*. Z rozdílu spotřeb se vypočítá obsahu jodidů.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,001 mol/l VS* odpovídá 126,9 µg jodidů.

**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 takto 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).** 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

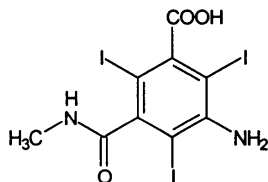
Do 250ml varné baňky se odváží 0,150 g, přidá se 5 ml *hydroxidu sodného koncentrovaného RS*, 20 ml *vody R*, 1 g *zinku práškového R* a několik varných kuliček. Vaří se 30 min pod zpětným chladičem, ochladí se a chladič se promyje 20 ml *vody R*, které se přidají do varné baňky. Obsah baňky se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla, filtr se promyje několikrát *vodou R*. Ke spojenému filtrátu 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.

## Nečistoty



A. kyselina 3-amino-2,4,6-trijod-5-(methylkarbamoyl)benzoová.

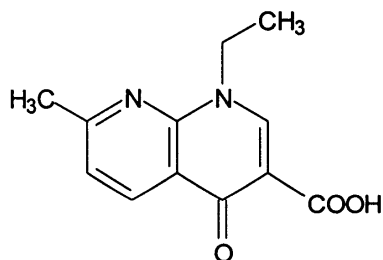
32. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum nalidixicum zní:

”

## † Acidum nalidixicum

Kyselina nalidixová

2000

 $C_{12}H_{12}N_2O_3$  $M_r$  232,24

CAS 389-08-2

Je to kyselina 1-ethyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naftyridin-3-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{12}N_2O_3$ .

### Vlastnosti

Téměř bílý nebo světle žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v dichlormethanu, těžce rozpustná v acetonu a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Taje při asi 230 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

- A. 12,5 mg se rozpustí v hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS a zředí se jím na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí hydroxidem sodným 0,1 mol/l RS na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm. Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 258 nm a 334 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 258 nm k absorbanci v maximu při 334 nm je 2,2 až 2,4.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety kyseliny nalidixové CRL.
- C. 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 (a).
- D. 0,1 g se rozpustí ve 2 ml kyseliny chlorovodíkové R a přidá se 0,5 ml roztoku 2-naftolu R (100 g/l) v lihu 96% R; vzniká oranžovočervené zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance.** 1,50 g se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 50,0 ml. Absorbance (2.2.25) měřená při 420 nm není větší než 0,10.

**Příbuzné látky.** Stanoví se tenkovrstvou chromatografií (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok (a).* 0,20 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 20 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg kyseliny nalidixové CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 1 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí dichlormethanem R na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku zředěného RS1, dichlormethanu R a lihu 96% R (10 + 20 + 70) po dráze 15 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 (c) (0,1 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ 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

0,150 g se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R, přidá se 30 ml 2-propanolu R a 10 ml vody prosté oxidu uhličitého R. Titrovaný roztok se v titrační nádobě vhodně uzavřené probublává dusíkem R. Teplota roztoku se udržuje mezi 15 °C a 20 °C. Titruje se hydroxidem sodným v ethanolu 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence, za použití argentchloridové elektrody s membránou nebo kapilárním hrotem naplněné nasyceným roztokem chloridu lithného R v ethanolu R jako srovnávací elektrody a skleněné elektrody jako indikační.

1 ml hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS odpovídá 23,22 mg  $C_{12}H_{12}N_2O_3$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem.

Separandum.

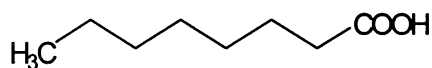
33. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acidum nicotinicum doplňuje článek Acidum octanoicum, který zní:

”

## Acidum octanoicum

Kyselina oktanová

Synonymum. Acidum caprylicum, kyselina kaprylová

 $C_8H_{16}O_2$  $M_r$  144,21

CAS 124-07-2

Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_8H_{16}O_2$ .

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá olejovitá kapalina. Je velmi těžce rozpustná ve vodě, velmi snadno rozpustná v acetonu a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

### Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Relativní hustota, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku přibližně odpovídají retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

Relativní hustota (2.2.5). 0,909 až 0,912.

Příbuzné látky. Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

Zkoušený roztok. 0,10 g se rozpustí v ethylacetatu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 0,10 g kyseliny oktanové CRL se rozpustí v ethylacetatu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí ethylacetatem R na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí ethylacetatem R na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřními stěnami pokrytými makrogolem 20 000 2-nitrotereftalatem R (tloušťka vrstvy je 0,25 μm),
  - helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,5 ml/min,
  - plamenoionizačního detektoru,
  - dělicího poměru 1 : 100,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 1	100	-	izotermicky
	1 - 25	100 → 220	5	lineární gradient
	25 - 35	220		izotermicky
nástříkový prostor		250		
detektor		250		

Nastříkne se 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže poměr signálu hlavního píku k šumu na získaném chromatogramu je nejméně 5.

Nastříkne se odděleně 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se metodou normalizace vypočte procentuální obsah příbuzných látek. Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,5násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Obsah žádné příbuzné látky není větší než 0,3 % a součet obsahů příbuzných látek není větší než 0,5 %.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 20 ml. 12 ml roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku *olova (10  $\mu$ g Pb/ml)* a 9 ml *lihu 96% R*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,7 %; 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

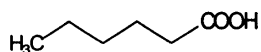
0,125 g se rozpustí ve 25 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,42 mg  $C_8H_{16}O_2$ .

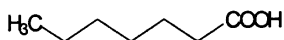
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

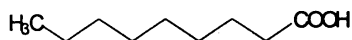
### Nečistoty



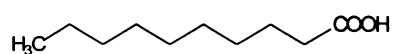
A. kyselina hexanová,



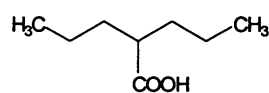
B. kyselina heptanová,



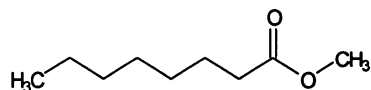
C. kyselina nonanová,



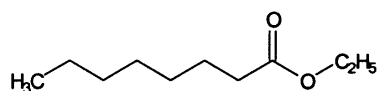
D. kyselina dekanová,



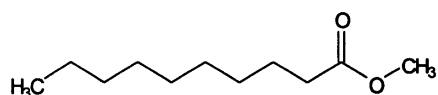
E. kyselina valproová,



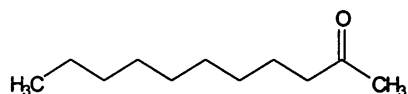
F. methyloktanoat,



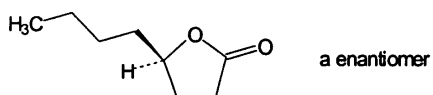
G. ethyloktanoat,



H. methyldekanat,



I. 2-undekanon,



J. (*RS*)-5-butyltetrahydrofuran-2-on ((*RS*)-4-butyl-4-butanolid).

34. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum salicylicum zní:

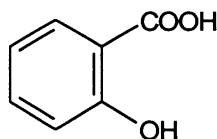
”

## Acidum salicylicum

Kyselina salicylová



corr2000



$C_7H_6O_3$

$M_r$  138,12

CAS 69-72-7

Je to kyselina 2-hydroxybenzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_7H_6O_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bílé nebo bezbarvé jehlicovité krystaly. Je těžce rozpustná ve vodě, snadno rozpustná v lihu 96% a v etheru, mírně rozpustná v dichlormethanu.

### 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). 158 °C až 161 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny salicylové CRL*.

C. Asi 30 mg se rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného 0,05 mol/l RS*, v případě potřeby se zneutralizuje a zředí se *vodou R* na 20 ml. 1 ml tohoto roztoku vyhovuje zkoušce totožnosti (a) na salicylany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 g se rozpustí v 50 ml *vroucí vody destilované R* a po ochlazení se zfiltruje.

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí v 10 ml *lihu 96% R*. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,50 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10 mg *fenolu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 25 mg *kyseliny 4-hydroxyisofthalové R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 50 mg *kyseliny 4-hydroxybenzoové R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (e). Směs obsahující po 1,0 ml porovnávacích roztoků (a), (b) a (c) se zředí mobilní fázi na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (f). Směs obsahující po 0,1 ml porovnávacích roztoků (a), (b) a (c) se zředí mobilní fázi na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,15 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné nedeaktivovaným *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *methanolu R* a *vody R* (1 + 40 + 60), průtoková rychlost je 0,5 ml/min,



- spektrofotometrického detektoru, 270 nm.

Nastříkne se po 10  $\mu$ l porovnávacích roztoků (d) a (e). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené k fenolu následující: kyselina 4-hydroxybenzoová asi 0,70; kyselina 4-hydroxyisofthalová asi 0,90. Citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) byla nejméně 70 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (e) třetí pík odpovídá píku fenolu na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) a rozlišení mezi píkem odpovídajícím kyselině 4-hydroxyisofthalové a píkem odpovídajícím fenolu není menší než 1,0. Jestliže tohoto rozlišení nebylo dosaženo, upraví se množství kyseliny octové v mobilní fázi.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (f). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plochy píků odpovídající kyselině 4-hydroxybenzoové, kyselině 4-hydroxyisofthalové a fenolu nejsou větší než odpovídající píky na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,1 % pro kyselinu 4-hydroxybenzoovou; 0,05 % pro kyselinu 4-hydroxyisofthalovou a 0,02 % pro fenol).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících kyselině 4-hydroxybenzoové, kyselině 4-hydroxyisofthalové a fenolu, větší než plocha píku odpovídajícího kyselině 4-hydroxyisofthalové na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,05 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy píku odpovídajícího kyselině 4-hydroxybenzoové na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než je 0,01násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f).

**Chloridy (2.4.4).** 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100  $\mu$ g/g).

**Síraný.** Nejvýše 200  $\mu$ g/g. 1,0 g se rozpustí v 5 ml dimethylformamidu R, přidají se 4 ml vody R a důkladně se promíchá. Přidá se 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 0,5 ml roztoku chloridu barnatého R (25 %). Po 15 min není opalescence roztoku intenzivnější než opalescence porovnávacího roztoku připraveného takto: ke 2 ml základního roztoku síranů (100  $\mu$ g  $SO_4$ /ml) se přidá 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, 0,5 ml roztoku chloridu barnatého R (25 %), 3 ml vody R a 5 ml dimethylformamidu R.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g se rozpustí v 15 ml lihu 96% R a přidá se 5 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Použije se porovnávací roztok olova (2  $\mu$ g Pb/ml) připravený ze základního roztoku olova (100  $\mu$ g Pb/ml) zředěním směsí objemových dílů vody R a lihu 96% R (5 + 15).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v exsikátoru.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

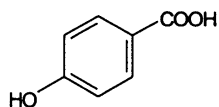
0,120 g se rozpustí ve 30 ml lihu 96% R a přidá se 20 ml vody R. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za použití 0,1 ml červeně fenolové RS jako indikátoru.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 13,81 mg  $C_7H_6O_3$ .

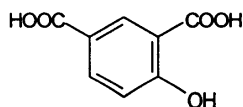
## Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

## Nečistoty



A. kyselina 4-hydroxybenzoová,



B. kyselina 4-hydroxy-1,3-benzendikarboxylová (kyselina 4-hydroxyisofthalová),

C. fenol.

“

35. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Stearinum zní:

”

## Acidum stearicum<sup>1)</sup>

Kyselina stearová

*Synonymum.* Stearinum



RZ2000

CAS 57-11-4

Je to směs získaná z tuků nebo olejů rostlinného nebo živočišného původu, která obsahuje převážně kyselinu stearovou ( $C_{18}H_{36}O_2$ ,  $M_r$  284,48) a kyselinu palmitovou ( $C_{16}H_{32}O_2$ ,  $M_r$  256,43). Obsahuje různá jmenovitá množství  $C_{18}H_{36}O_2$ : kyselina stearová 50 s obsahem 40,0 % až 60,0 %, kyselina stearová 70 s obsahem 60,0 % až 80,0 % a kyselina stearová 95 s obsahem nejméně 90,0 %  $C_{18}H_{36}O_2$ . Součet obsahů  $C_{18}H_{36}O_2$  a  $C_{16}H_{32}O_2$  je nejméně 90,0 % pro kyselinu stearovou 50 a kyselinu stearovou 70 a nejméně 96,0 % pro kyselinu stearovou 95.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Bílé voskovité vločkovité krystaly, bílá tvrdá hmota nebo bílý či žlutobílý prášek. Je nerozpustná ve vodě, dobře rozpustná v lihu 96% a v etheru petrolejovém (50 °C až 70 °C).

### Zkoušky totožnosti

A. Zkouška teplota tuhnutí, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Číslo kyselosti (2.5.1). 194 až 212; stanoví se s 0,1 g zkoušené látky.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

**Zkoušky na čistotu**

**Vzhled.** Zkoušená látka se zahřeje na asi 75 °C. Vzniklá tekutina není intenzivněji zbarvena než porovnávací barevný roztok Ž<sub>7</sub> nebo HŽ<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

**Kyselé reagující látky.** 5,0 g se roztaví a 2 min se třepe s 10 ml horké vody *prosté oxidu uhličitého R*, pomalu se ochladí a zfiltruje se. K filtrátu se přidá 0,05 ml *oranže methylové RS*; nevzniká červené zbarvení.

**Číslo jodové (2.5.4).** Viz tabulka 1.

**Teplota tuhnutí (2.2.18).** Viz tabulka 1.

**Tab. 1**

Jmenovitý obsah C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub> (v %)	Číslo jodové	Teplota tuhnutí
50	nejvýše 4,0	53 °C až 59 °C
70	nejvýše 4,0	57 °C až 64 °C
95	nejvýše 1,5	64 °C až 69 °C

**Nikl (2.4.27).** Nejvýše 1 µg/g; stanoví se zkouškou na nikl v hydrogenovaných rostlinných olejích.

**Stanovení obsahu**

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se vaří 10 min v kuželové baňce pod zpětným chladičem s 5 ml *fluoridu boritého v methanolu RS*. Zpětným chladičem se přidají 4,0 ml *heptanu R* a vaří se opět 10 minut pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 20 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*. Protřepe se, nechají se oddělit fáze a z organické fáze se odeberou asi 2 ml, které se vysuší 0,2 g *síranu sodného bezvodého R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se stejným způsobem a za stejných podmínek jako zkoušený roztok za použití 50,0 mg *kyseliny palmitové CRL* a 50,0 mg *kyseliny stearové CRL* místo zkoušené látky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 R* (tloušťka vrstvy 0,5 µm),
  - *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 2,4 ml/min,
  - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 2	70		izotermicky
	2 - 36	70 → 240	5	lineární gradient
	36 - 41	240		izotermicky
nástříkový prostor detektor		220 260		

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas methylpalmitátu vztahen k retenčnímu času methylsteearátu asi 0,88. Zkoušku lze hodnotit, je-li rozlišení pík od-povídajících methylsteearátu a methylpalmitátu nejméně 5,0.

Nastříkne se 1 µl zkoušeného roztoku. Obsah kyseliny stearové a kyseliny palmitové v procentech se vypočítá z ploch pík na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metodou normalizace). Nepřihlíží se k piku rozpouštědla.

**Označování**

V označení na obalu se uvede jmenovitý obsah kyseliny stearové (C<sub>18</sub>H<sub>36</sub>O<sub>2</sub>) v procentech.

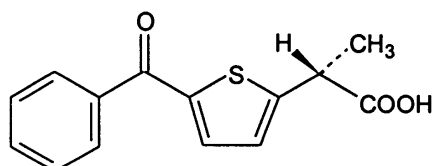
36. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum tiaprofenicum zní:

”

## † Acidum tiaprofenicum

Kyselina tiaprofenová

2000



a enantiomer

$C_{14}H_{12}O_3S$

$M_r$  260,31

CAS 33005-95-7

Je to kyselina (*RS*)-2-(5-benzoyl-2-thienyl)propanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{12}O_3S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustná ve vodě, snadno rozpustná v acetonu, v lihu 96% a v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: C.

Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 95 °C až 99 °C.

B. 25,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové* v *lihu RS* a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou* v *lihu RS* na 50,0 ml. Měří se absorbance roztoku při 220 nm až 350 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 305 nm a prodlevu při 262 nm. Specifická absorbance v maximu je 550 až 590.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kyseliny tiaprofenové CRL*.

D. Proveďte se tenkovstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *kyseliny tiaprofenové 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. 1 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 2 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové RS*, *dichlormethanu R* a *acetonu R* (1 + 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 (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně od sebe oddělené hlavní skvrny.

### Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,0 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  $\check{Z}_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g zkoušené látky v *ethylacetatu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** 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).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10,0 mg *kyseliny tiaprofenové nečistoty C CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí porovnávacím roztokem (c) na 2,0 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R*, *hexanu R* a *dichlormethanu R* (0,25 + 20 + 500 + 500) s průtokovou rychlostí 1 ml/min. Nejdříve se přidá voda ke kyselině octové, potom hexan a nakonec dichlormethan. Směs se vloží na 2 min do ultrazvukové lázně. Během analýzy se směs neodplyňuje heliem,
- spektrofotometrického detektoru, 250 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené na kyselinu tiaprofenovou následující: nečistota A 0,19; nečistota B 0,43; nečistota C 0,86. Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky odpovídajícími kyselině tiaprofenové a nečistotě C nejméně 3,0.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku, 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a), 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času kyseliny tiaprofenové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídající nečistotě C není větší než plocha odpovídající píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,2 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě plochy hlavního píku a plochy píku nečistoty C, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 3 h ve vakuové sušárně při 60 °C a při tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 25 ml *lihu 96% R*, přidá se 25 ml *vody R* a 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*.

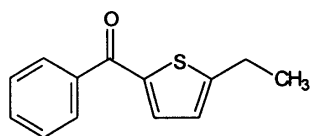
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,03 mg  $C_{14}H_{12}O_3S$ .

## Uchovávání

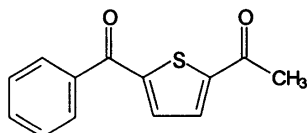
Chráněna před světlem.

Separandum.

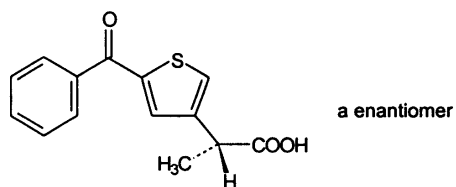
## Nečistoty



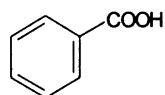
A. (5-ethyl-2-thienyl)fenyلكeton,



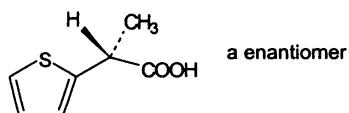
B. (5-acetyl-2-thienyl)fenyلكeton,



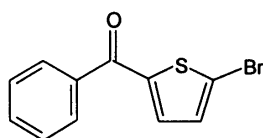
C. kyselina (RS)-2-(5-benzoyl-3-thienyl)propanová,



D. kyselina benzoová,



E. kyselina (RS)-2-(2-thienyl)propanová,



F. (5-brom-2-thienyl)fenyلكeton.

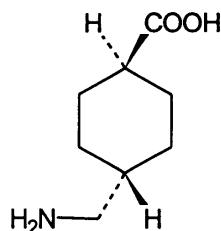
37. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Acidum tranexamicum zní:

”

## † Acidum tranexamicum

Kyselina tranexamová

2000



$C_8H_{15}NO_2$

$M_r$  157,21

CAS 1197-18-8

Je to kyselina *trans*-4-(aminomethyl)cyklohexankarboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_8H_{15}NO_2$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustná ve vodě a v kyselině octové ledové, prakticky nerozpustná v lihu 96% a v acetonu.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *kyseliny tranexamové CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 7,0 až 8,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,5 g ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředěním stejným rozpouštědlem na 50 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,20 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg *kyseliny tranexamové nečistoty C CRL* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se vodou R na 50,0 ml.

**Kolona:**

- materiál: nerezová ocel,

- stacionární fáze: *silikagel oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),

- velikost: délka ( $l$ ) = 0,25 m, průměr ( $d$ ) = 4,6 mm nebo délka ( $l$ ) = 0,25 m, průměr ( $d$ ) = 6 mm.

**Mobilní fáze:** 11,0 g *dihydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* se rozpustí v 500 ml vody R, přidá se 5 ml *triethylaminu R* a 1,4 g *laurylsíranu sodného R*. pH se upraví na hodnotu 2,5 *kyseliny fosforečnou zředěnou RS* a zředí se vodou R na 600 ml. Přidá se 400 ml *methanolu R* a promíchá se.

**Průtoková rychlost:** 0,9 ml/min.

**Detekce:** spektrofotometr při 220 nm.

**Nástřik:** 20  $\mu$ l.

**Citlivost:** výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

**Doba záznamu:** trojnásobek retenčního času kyseliny tranexamové (asi 13 min).

**Test způsobilosti systému:**

- relativní retenční časy:

nečistota C = asi 1,1,

nečistota D = asi 1,3,

nečistota B = asi 1,5,

nečistota A = asi 2,1,

- rozlišení: nejméně 2,0 mezi píkem kyseliny tranexamové a píkem nečistoty C na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Limity:**

**nečistota A:** nejvýše 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %),

**nečistota B:** nejvýše 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) za použití korekčního faktoru 1,2 (0,2 %),

**další nečistoty:** nejvýše 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) za použití korekčního faktoru 0,005 pro nečistotu C a korekčního faktoru 0,006 pro nečistotu D (0,1 %),

**celkový obsah všech dalších nečistot:** nejvýše 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) za použití korekčního faktoru 0,005 pro nečistotu C a korekčního faktoru 0,006 pro nečistotu D (0,2 %),

**zanedbatelnost piků:** 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Halogenidy vyjádřené jako chloridy (2.4.4).** 1,2 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 50 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (140  $\mu$ g/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  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1  $\mu$ 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

0,140 g se rozpustí ve 20 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

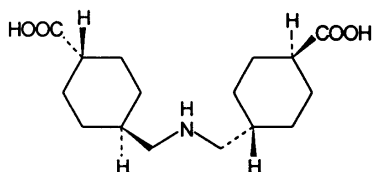
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 15,72 mg  $C_8H_{15}NO_2$ .

## Uchovávání

Separandum.

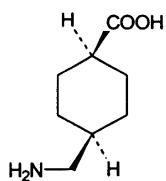
## Nečistoty

Stanovované nečistoty



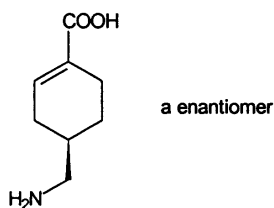
A. kyselina *trans,trans*-4,4'-(iminodimethylen)bis(cyklohexankarboxylová),



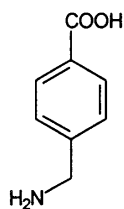


B. kyselina *cis*-4-(aminomethyl)cyklohexankarboxylová,

*Ostatní detekovatelné nečistoty*



C. kyselina (*RS*)-4-aminomethyl-1-cyklohexenkarboxylová,



D. kyselina 4-aminomethylbenzoová.

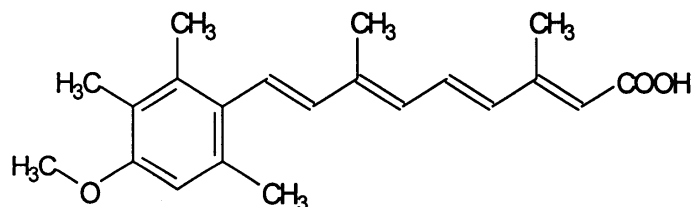
38. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Acidum valproicum doplňuje článek Acitretinum, který zní:

”

## † Acitretinum

Acitretin

2000

 $C_{21}H_{26}O_3$  $M_r$  326,43

CAS 55079-83-9

Je to kyselina (2*E*,4*E*,6*E*,8*E*)-9-(4-methoxy-2,3,6-trimethylfenyl)-3,7-dimethyl-2,4,6,8-nonatetraenová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{21}H_{26}O_3$ .

### Vlastnosti

Žlutý nebo zelenožlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v cyklohexanu, těžce rozpustný v acetonu a v lihu 96%, mírně rozpustný v tetrahydrofuranu. Je citlivý na vzduch, teplo a světlo, zvláště v roztoku.

Všechny postupy se provádějí pokud možno rychle a za ochrany před aktinickým světlem. Používají se čerstvě připravené roztoky.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

- A. 15,0 mg se rozpustí v 10 ml tetrahydrofuranu R a ihned se jím zředí na 100,0 ml. 2,5 ml tohoto roztoku se zředí tetrahydrofuranem R na 100,0 ml. Měří se absorbance při 300 nm až 400 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 358 nm. Specifická absorbance v maximum je 1350 až 1475.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety acitretinu CRL.
- C. 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).

### Zkoušky na čistotu

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) postupem uvedeným ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se odděleně po 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b), porovnávacího roztoku (c) a zkoušeného roztoku. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebyla menší než 40 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, je-li rozlišení mezi píkem acitretinu a píkem tretinoinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nejméně 2,0. Je-li třeba, upraví se koncentrace ethanolu R. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu

zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku acitretinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku acitretinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Nepřihlíží se k žádnému píku, jehož plocha je menší než 0,1 násobek hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Palladium.** Nejvýše 10 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** 2,0 g se umístí do křemenného kelímku, přidají se 3 ml *dusičnanu hořečnatého RS* a zahřívá se v muflové peci rychlostí 40 °C/min do 350 °C do zpopelnění obsahu. Žihá se 8 h při asi 450 °C a potom ještě 1 h při 550 °C. Zbytek se rozpustí opatrným zahříváním ve směsi 0,75 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 0,25 ml *kyseliny dusičné R*. Po ochlazení se roztok převede *vodou R* do odměrné baňky a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,163 g *oxidu hořečnatého těžkého R* se rozpustí ve směsi 0,5 ml *kyseliny dusičné R*, 1,5 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 50 ml *vody R*, přidají se 2,0 ml základního roztoku *palladia (20 µg Pd/ml)* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Měří se absorbance při 247,6 nm za použití palladiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h ve vakuu při 100 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

*Stanovení se provádí za ochrany před světlem, použijí se hnědožluté odměrné baňky a roztoky se připraví těsně před použitím.*

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25,0 mg se rozpustí v 5 ml *tetrahydrofuranu R* a ihned se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg *acitretinu CRL* se rozpustí v 5 ml *tetrahydrofuranu R* a ihned se zředí *ethanolem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 mg *tretinoinu CRL* se rozpustí v *ethanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *ethanolem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 2,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml. 3,0 ml tohoto roztoku se zředí *ethanolem R* na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné mikročástčkami *silikagelu oktadecylsilanizovaného pro chromatografii R* (5 µm) s 20 % uhlíku, se specifickým povrchem 200 m<sup>2</sup>/g a s velikostí pórů 15 nm,
- mobilní fáze, kterou je 0,3 % roztok (V/V) *kyseliny octové ledové R* ve směsi objemových dílů *vody R* a *ethanolu R* (8 + 92); průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 360 nm,
- teploty dávkovače 4 °C.

Teplota kolony se udržuje při 25 °C.

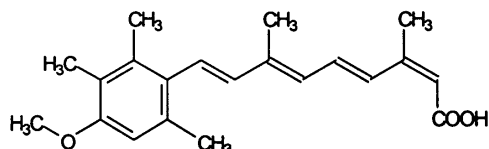
Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: nečistota A asi 4,8 min, tretinoin asi 5,2 min, acitretin asi 6,2 min a nečistota B asi 10,2 min.

Nastříkne se šestkrát 10 µl porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku acitretinu je nejvýše 1,0 %. Je-li třeba, upraví se integrační parametry. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

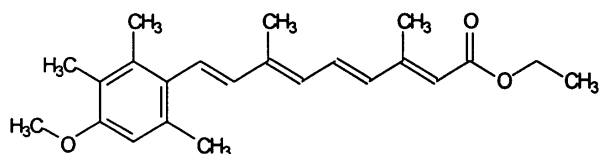
**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Doporučuje se, aby se obsah otevřeného obalu spotřeboval co nejdříve a nepotřebovaná část byla uchovávána pod inertním plynem.

Separandum.

**Nečistoty**

A. kyselina (2*Z*,4*E*,6*E*,8*E*)-9-(4-methoxy-2,3,6-trimethylfenyl)-3,7-dimethyl-2,4,6,8-nonatetraenová,



B. ethyl-(2*E*,4*E*,6*E*,8*E*)-9-(4-methoxy-2,3,6-trimethylfenyl)-3,7-dimethyl-2,4,6,8-nonatetraenoat.

“

39. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Adeps lanae hydrogenatus* zní:

”

**Adeps lanae hydrogenatus**

Hydrogenovaný tuk z ovčí vlny

*Synonymum.* *Cera lanae hydrogenata*, vosk z ovčí vlny ztužený



2000

CAS 8031-44-5

Je to směs vyšších alifatických alkoholů a sterolů získaných hydrogenací bezvodého tuku z ovčí vlny za vysokého tlaku a teploty. Estery a kyseliny tuku z ovčí vlny jsou redukovány na jim odpovídající alkoholy. Může obsahovat nejvýše 200 µg/g butylhydroxytoluenu.

**Vlastnosti**

Bílá nebo světle žlutá mazlavá hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v etheru petrolejovém a ve vroucím lihu 96%.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: B.*

*Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**B.** Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Mastné alkoholy a steroly, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají přibližně hlavním píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**C.** 50 mg se rozpustí v 5 ml *dichlormethanu R*, přidá se 1 ml *acetanhydridu R* a 0,1 ml *kyseliny sírové R*; vznikne zelené zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Teplota tání (2.2.15).** 45 °C až 55 °C. Nechá se stát 16 h při 20 °C.

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 1,0; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A).** 140 až 180.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** Nejvýše 8,0. 2,00 g se zahřívají 4 h pod zpětným chladičem.

**Mastné alkoholy a steroly.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* 0,25 g se rozpustí v 60 ml *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,25 g *hydrogenovaného tuku z ovčí vlny CRL* se rozpustí v 60 ml *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 50 mg *cetylalkoholu CRL* a 50 mg *stearylalkoholu CRL* se rozpustí v 60 ml *ethanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou 0,25 µm *polydimethylsiloxanu R* nebo jinou nepolární fází,
  - *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu při tlaku 100 kPa,
  - plamenoionizačního detektoru,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 5	100		izotermicky lineární gradient izotermicky
	5 - 45	100 300	5	
	45 - 60	300		
nástříkový prostor detektor		325		
		350		

Nastříkne se odděleně po 1 µl každého roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se významně neliší od chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (viz vzorový chromatogram) a nevykazuje nové nebo zvětšené píky cetylalkoholu a stearylalkoholu ve srovnání s píky na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Butylhydroxytoluen.** Nejvýše 200 µg/g. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *methyldekanoatu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 0,20 g *methyldekanoatu R* se rozpustí v *sirouhlíku R* a zředí se jím na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *sirouhlíkem R* na 10 ml.

*Zkoušený roztok (a).* 1,0 g se rozpustí v *sirouhlíku R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* 1,0 g se rozpustí v *sirouhlíku R*, přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *sirouhlíkem R* na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,20 g *butylhydroxytoluenu R* se rozpustí v *sirouhliku R* a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *sirouhlikem R* na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *sirouhlikem R* na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 1,5 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R* impregnovanou 10 % *polydimethylsiloxanu R*, předřadí se kolona naplněná silanizovanou skelnou vatou,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 40 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje při 150 °C, teplota nástřikového prostoru při 180 °C a teplota detektoru při 300 °C.

Nastříkne se odpovídající množství zkoušeného roztoku (a) a zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku.

**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 3,0 %; 2,000 g se suší 1 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %, stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

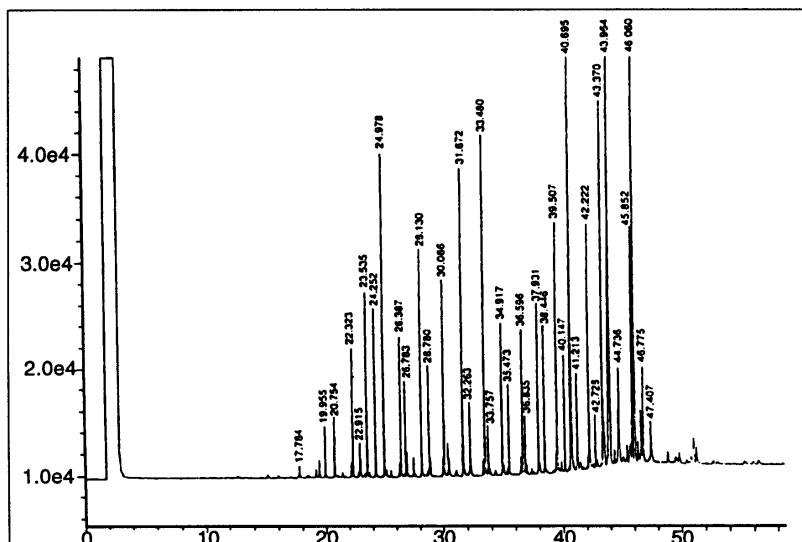
### Uchovávání

Ve zcela naplněných obalech, chráněn před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede koncentrace přidaného butylhydroxytoluenu.

*Následující vzorový chromatogram je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavků článku.*



Obr.: Mastné alkoholy a steroly obsažené v hydrogenovaném tuku z ovčí vlny

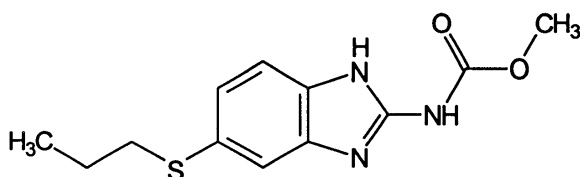
40. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Alaninum doplňují články Albendazolum a Alchemilae herba, které znějí:

”

## † Albendazolum

Albendazol

2000



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$

$M_r$  265,34

CAS 54965-21-8

Je to methyl-[5-(propylthio)-1H-benzimidazol-2-yl]karbamát. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v bezvodé kyselině mravenčí, velmi těžce rozpustný v dichlormethanu, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *albendazolu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) 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*).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 25,0 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R* obsahujícím 1 % (V/V) *kyseliny sírové R* a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 mg zkoušené látky se rozpustí v 10 ml *methanolu R* obsahujícím 1 % (V/V) *kyseliny sírové R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 50,0 mg zkoušené látky a 50 mg *oxybendazolu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R* obsahujícím 1 % (V/V) *kyseliny sírové R* a zředí se mobilní fází na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 3,9 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (4  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (1,67 g/l) a *methanolu R* (300 + 700). Průtoková rychlost je 0,7 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu je rozlišení mezi píky odpovídajícími albendazolu a oxybendazolu nejméně 3,0.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času albendazolu. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy následující: nečistoty A 0,80, nečistoty B a C 0,43, nečistoty D 0,40, nečistoty E 0,47 a nečistoty F 0,57. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,75 %) a součet ploch všech takových píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %). 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 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

*Aby se zabránilo přehřátí během titrace, je nutno roztok důkladně míchat a titraci ukončit ihned po dosažení bodu ekvivalence.*

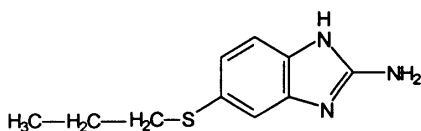
0,250 g se rozpustí ve 3 ml kyseliny mravenčí bezvodé R, přidá se 40 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 26,53 mg  $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ .

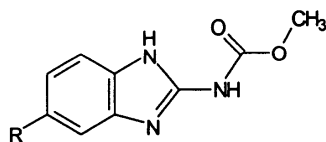
### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty

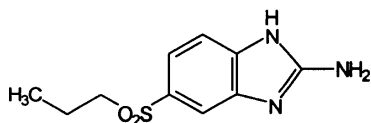


A. 5-(propylthio)-1H-benzimidazol-2-ylamin,



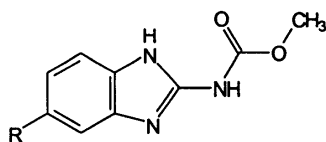
B. R = SO-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: methyl-[5-(propylsulfinyl)-1H-benzimidazol-2-yl]karbamát,

C. R = SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: methyl-[5-(propylsulfonyl)-1H-benzimidazol-2-yl]karbamát,



D. 5-(propylsulfonyl)-1H-benzimidazol-2-ylamin,





E. R = H: methyl-(1*H*-benzimidazol-2-yl)karbamat,

F. R = S-CH<sub>3</sub>: methyl-[5-(methylthio)-1*H*-benzimidazol-2-yl]karbamat.

## Alchemillae herba

Kontryhelová nať

*Synonymum*. Herba alchemillae

2000



Je to celá nebo řezaná usušená kvetoucí nať druhu *Alchemilla xanthochlora* ROTHM. (*A. vulgaris*. L. *sensu lato*re). Obsahuje nejméně 7,5 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>; M<sub>r</sub> 126,1), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Drogu převážně tvoří šedozeleň, částečně hnědavě zelené dlouze řapíkaté listy přizemní růžice se sedmilaločnou až devítialočnou nebo jedenáctilaločnou čepelí ledvinovitého až mírně polokruhového tvaru o průměru až 8 cm, zřídka až 11 cm. Listy stonku menší, krátce řapíkaté nebo přisedlé, pětialočné až devítialočné, na bázi s párem velkých palistů. Listy jsou zvláště na spodní straně chlupaté, okraj listu je hrubě zubatý. Mladé listy složené v záhyby jsou bělostříbřitě chlupaté; starší listy na svrchní straně olýsalé s jemnou síťovitou žilnatinou vyniklou zejména na spodní straně listu. Šedozeleň až žlutozeleň řapík je chlupatý, o průměru asi 1 mm, na vnitřní straně s podélným mělkým žlábkem. Květy čtyřčetné, bezkorunné, žlutozelené až světle zelené o průměru asi 3 mm. Kališní cípy špičaté až trojúhelníkovité, střídají se s menšími cípy kališku. Tyčinky krátké, semeník jednopouzdrý s hlavatou bliznou. Šedozeleň až žlutozeleň stonků je ochmýřený, více nebo méně podélně rýhovaný a dutý.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedozeleň. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: jednobuněčné úzké chlupy až 1 mm dlouhé, místy zkroucené, špičaté, se silně zdřevnatělými stěnami, někdy protáhlé a tečkované na bázi; úlomky listů se dvěma řadami palisádového parenchymu, horní vrstva je dvakrát až třikrát silnější než spodní vrstva, houbový parenchym obsahuje drúzy šťavelanu vápenatého o průměru až 25 μm; úlomky listu na svrchní straně s buňkami pokožky zprohýbanými až vlnitě zprohýbanými, antiklinální stěny nepravidelně růžencovitě ztlustlé, anomocytické průduchy (2.8.3); cévní svazky a zdřevnatělá vlákna z řapíku a stonku, cévy šroubovitě nebo tečkovaně ztlustlé, příležitostně tenkostěnné kuželovité chlupy asi 300 μm dlouhé; tenkostěnný parenchym obsahující drúzy šťavelanu vápenatého; okrouhlá pylová zrna o průměru asi 15 μm se třemi zřetelnými klíčovými póry a zrnitou exinou; někdy úlomky stěny semeníku obsahující jednotlivé krystaly šťavelanu vápenatého.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.  
*Zkoušený roztok*. 0,5 g práškové drogy (355) se smíchá s 5 ml *methanolu R* a zahřívá se 5 min ve vodní lázni při 70 °C pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje.  
*Porovnávací roztok*. 1,0 mg *kyseliny kávové R* a 1,0 mg *kyseliny chlorogenové R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku. Využívá se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R* a *ethylacetatu R* (8 + 8 + 84) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 5 minut při 100 °C až 105 °C, 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*. Po 30 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části světla modře fluoreskující skvrna (kyselina

chlorogenová) a v horní části světle modře fluoreskující skvrna (kyselina kávová). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní žlutě až oranžově fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku; nad ní jsou jedna nebo více intenzivně zeleně až zelenožlutě fluoreskující skvrny, nad nimiž jsou jedna nebo dvě intenzivní světle modře fluoreskující skvrny a v blízkosti čela chromatogramu, nad skvrnou odpovídající kyselině kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě červeně fluoreskující skvrny (chlorofyl). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v okolí startu namodrale nebo slabě žlutohnědě fluoreskující skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi.

**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 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení tříslovin v rostlinných drogách (2.8.14); použije se 0,500 g práškové drogy (355).

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

“

41. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Alcohol isopropylicus zní:

”

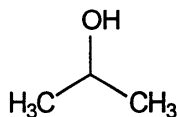
## Alcohol isopropylicus<sup>1)</sup>

Isopropylalkohol

*Synonymum.* Alcoholum isopropylicum



RZ2000



C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O

M<sub>r</sub> 60,10

CAS 67-63-0

Je to 2-propanol.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 47 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

## Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina. Je mísitelný s vodou a s lihem 96%.

## 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. Vyuvíjející se páry změni zabarvení kousku filtračního papíru navlhčeného *nitrobenzaldehydem RS* do zelena. Filtrační papír se zvlhčí *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*; zabarvení se změni 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 R1* 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 R1* 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).* 100 µl *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)(kyanpropyl)][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
	12 - 32	40 → 240	10	lineární gradient
	32 - 42	240	-	izotermicky
nástríkový prostor detektor		280	-	
		280	-	

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou pík 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 µl zkoušeného roztoku (b). Na získaném chromatogramu součet ploch všech pík, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího 2-butanolu, není větší než trojnásobek plochy píku 2-butanolu (0,3 % *V/V*).

Nastříkne se 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku benzenu s retenčním časem asi 10 min byla nejméně 10 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a). Plocha píku benzenu není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2  $\mu$ l/l).

**Peroxidy.** Do 12ml zkumavky se zabroušenou zátkou o průměru asi 15 mm se převede 8 ml *škrobu s jodidem draselným RS* a doplní se zcela 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  $\mu$ 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.

“

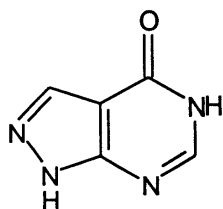
42. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Allopurinolum zní:

”

## † Allopurinolum

Alopurinol

2000



$C_5H_4N_4O$

$M_r$  136,11

CAS 315-30-0

Je to 1,5-dihydro-4*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_5H_4N_4O$ .

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalicích hydroxidů.

## Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: B.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

A. 10 mg se rozpustí v 1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředí se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS* na 100,0 ml. 10,0 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. Roztok vykazuje absorpční maximum při 250 nm a absorpční minimum při 231 nm. Poměr absorbance naměřené v minimu při 231 nm k absorbanci naměřené v maximu při 250 nm je 0,52 až 0,62.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *alopurinolu CRL*.

C. 0,3 g se rozpustí ve 2,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a přidá se 50 ml *vody R*. Pomalu se přidává za stálého třepání 5 ml *dusičnanu stříbrného RS1*; vznikne bílá sraženina, která se po přidání 5 ml *amoniaku 17,5% RS* nerozpustí.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v *amoniaku 26% R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 20 mg *alopurinolu CRL* se rozpustí v *amoniaku 26% R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethanolu R* a *dichlormethanu R* (40 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 1,0 g se rozpustí ve 20 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>6</sub>* nebo *ZŽ<sub>6</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: nečistoty A asi 4,2 min, nečistoty B a C asi 6,1 min, *alopurinolu* asi 7,7 min, nečistoty D asi 26,1 min a nečistoty E asi 27,8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A a *alopurinolu* není menší než 3,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (a) a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Zaznamenává se chromatogram zkoušeného roztoku (a) po dobu odpovídající pětinásobku retenčního času *alopurinolu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a): plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); plocha neodděleného píku odpovídajícího nečistotám B a C není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %); plochy píků odpovídajících nečistotě D nebo nečistotě E nejsou větší než plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících nečistotám A, B, C, D a E, není větší než plocha píku *alopurinolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech těchto neznámých píků není větší než trojnásobek plochy píku *alopurinolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,2násobek plochy píku *alopurinolu* 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 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

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). Všechny roztoky se připraví těsně před použitím.

**Rozpouštěcí směs.** Je to směs objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (2 + 8).

**Zkoušený roztok (a).** 50,0 mg se rozpustí v 5,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a ihned se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 20,0 mg se rozpustí v 5,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a ihned se zředí rozpouštěcí směsí na 250,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 2,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg alopurinolu nečistoty A CRL, 5,0 mg alopurinolu nečistoty B CRL, 5,0 mg alopurinolu nečistoty C CRL, 5,0 mg alopurinolu nečistoty D CRL a 5,0 mg alopurinolu nečistoty E CRL se rozpustí v 5,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS, přidá se 20,0 ml zkoušeného roztoku (a) a ihned se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 20,0 mg alopurinolu CRL se rozpustí v 5,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS a ihned se zředí rozpouštěcí směsí na 250,0 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 s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
  - mobilní fáze A - roztok dihydrogenfosforečnanu draselného R (1,25 g/l),
  - mobilní fáze B - methanol R,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	90 → 70	10 → 30	lineární gradient

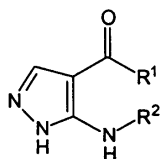
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b). Obsah alopurinolu v procentech se vypočítá za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

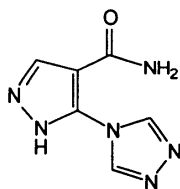
## Uchovávání

Separandum.

## Nečistoty



- A.  $R^1 = NH_2$ ,  $R^2 = H$ : 5-amino-1H-pyrazol-4-karboxamid,  
 B.  $R^1 = NH_2$ ,  $R^2 = CHO$ : 5-formylamino-1H-pyrazol-4-karboxamid,  
 D.  $R^1 = -O-CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = H$ : ethyl-5-amino-1H-pyrazol-4-karboxylat,  
 E.  $R^1 = -O-CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = CHO$ : ethyl-5-formylamino-1H-pyrazol-4-karboxylat.



C. N-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)-1H-pyrazol-4-karboxamid,

“

43. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Aluminii chloridi hexahydricum* doplňuje článek *Aluminii magnesii silicas*, který zní:

”

## Aluminii magnesii silicas

Křemičitan hořečnato-hlinitý



Je to směs částic s rozměrem koloidní částice montmorillonitu a saponitu, prostá drti a nebobtnající rudy. Obsahuje 95,0 % až 105,0 % množství hořčíku a hliníku uvedeného na označení.

### Vlastnosti

Téměř bílý prášek, zrna nebo šupinky. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v organických rozpouštědlech. Ve vodě bobtná za vzniku koloidní disperze.

### Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se roztaví se 2 g *uhličitanu sodného bezvodého R*, zbytek se zahřívá s *vodou R* a zfiltruje se. Filtrát se okyslí *kyselinou chlorovodíkovou R* a odpaří se na vodní lázni do sucha. 0,25 g odparku vyhovuje zkoušce na křemičitany (2.3.1).
- B. Zbylá část odparku ze zkoušky totožnosti A se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 10 ml *vody R*. Zfiltruje se a přidá se *tlumivý roztok s chloridem amonným o pH 10,0*; vzniká bílá rosolovitá sraženina. Odstrěďuje se a supernatantní tekutina se použije ke zkoušce totožnosti C. Sraženina se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS*; tento roztok vyhovuje zkoušce na hliník (2.3.1).
- C. Supernatantní tekutina ze zkoušky totožnosti B vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 9,0 až 10,0; měří se disperze připravená protřepáním 5,0 g se 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*.

**Arsen** (2.4.2). 16,6 g se přenese do 250ml kádinky obsahující 100 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, promíchá se, kádinka se zakryje hodinovým sklem a opatrně se 15 min vaří za občasného míchání. Nerozpuštěný zbytek se nechá

usadit a supernatantní tekutina se zfiltruje přes řídký papírový filtr do 250ml odměrné baňky tak, aby sediment zůstal v kádince. Do kádinky se k sedimentu přidá 25 ml horké *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, promíchá se, zahřeje se k varu, nerozpuštěný zbytek se nechá usadit a supernatantní tekutina se opět zfiltruje do odměrné baňky. Extrakce se opakuje čtyřikrát, vždy s 25 ml horké *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, supernatantní tekutina se vždy zfiltruje do odměrné baňky. Při poslední extrakci se na filtr převede co největší množství sedimentu. Spojené filtráty se ochladí na pokojovou teplotu a zředí se *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* na 250,0 ml. 5,0 ml takto připraveného roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* na 25,0 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (3 µg/g).

**Olovo.** Nejvýše 15 µg/g. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* 10,0 g se přeneso do 250ml kádinky obsahující 100 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, promíchá se, kádinka se zakryje hodinovým sklem a 15 min se vaří. Po ochlazení na pokojovou teplotu se nerozpuštěný zbytek nechá usadit a supernatantní tekutina se zfiltruje přes řídký papírový filtr do 400ml kádinky. K sedimentu se přidá 25 ml horké *vody R*, promíchá se, nerozpuštěný zbytek se nechá usadit a supernatantní tekutina se opět zfiltruje do 400ml kádinky. Extrakce se opakuje dvakrát, vždy s 25 ml *vody R*, supernatantní tekutina se vždy zfiltruje do 400ml kádinky a nakonec se filtr promyje 25 ml horké *vody R*. Spojené filtráty se mírným povařením odpaří asi na 20 ml. Jestliže při zahuštění vznikne sraženina, přidá se asi 0,1 ml *kyseliny dusičné R*, zahřeje se k varu a ochladí se na pokojovou teplotu. Zahuštěný roztok se zfiltruje přes řídký papírový filtr do 50ml odměrné baňky. Kádinka se promyje *vodou R*, promývací tekutina se zfiltruje do odměrné baňky a zředí se *vodou R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku olova (10 µg Pb/ml) zředěním podle potřeby *vodou R*.

Měří se absorbance při 217 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdrojem záření a oxidačního plamene vzduch-acetylen.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 8,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Nejvýše 10<sup>3</sup> aerobních živých mikroorganismů v gramu. Stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli*.

## Stanovení obsahu

**Hliník.** Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* 0,200 g se smíchá v platinovém kelímku s 1,0 g *metaboritanu lithného bezvodého R*, nejprve se pomalu zahřívá a potom se 15 min žihá při 1000 °C až 1200 °C. Ochladí se, kelímek se umístí do 100ml kádinky obsahující 25 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a přidá se dalších 50 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* tak, aby se kelímek zaplnil a byl zcela ponořen. Do kelímku se ponoří magnetické míchadlo potažené polytetrafluorethylenem a mírně se míchá na magnetické míchačce do úplného rozpuštění. Potom se obsah převede do 250ml kádinky, kelímek se odstraní, roztok se zahřeje a zfiltruje se přes řídký papírový filtr do 250ml odměrné baňky. Kádinka a filtr se promyjí *vodou R* a obsah odměrné baňky se zředí *vodou R* na 250,0 ml (roztok A). Ke 20,0 ml tohoto roztoku se přidá 20 ml roztoku *chloridu sodného R* (10 g/l) a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* 1,000 g *hliníku R* se rozpustí mírným zahřátím ve směsi 10 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 10 ml *vody R*, ochladí se a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml (1 mg Al/ml). 2,0 ml, 5,0 ml a 10,0 ml takto připraveného roztoku se převede do tří stejných odměrných baněk, z nichž každá obsahuje po 0,20 g *chloridu sodného R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

Měří se absorbance při 309 nm za použití hliníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a oxidačního plamene acetylen-oxid dusný.

Vypočítá se obsah hliníku ve zkoušené látce.

**Hořčík.** Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* 25,0 ml roztoku A ze zkoušky Hliník se zředí *vodou R* na 50,0 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 20,0 ml *chloridu lanthanitého RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztoky.* 1,000 g *hořčíku R* se přidá do 250ml kádinky obsahující 20 ml *vody R* a opatrně se přidává 20 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Je-li třeba, zahřívá se do rozpuštění. Roztok se převede do odměrné baňky a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml (1 mg Mg/ml). 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 250,0 ml. 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml a 20,0 ml takto připraveného roztoku se převede do čtyř odměrných baněk, do každé se přidá 20,0 ml *dusičnanu lanthanitého RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml.



Měří se absorbance při 285 nm za použití hořčíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a redukčního plamene vzduch-acetylen.

Vypočítá se obsah hořčíku ve zkoušené látce.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede obsah hliníku a hořčíku.

“

44. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Ammonii chloridum doplňují články Ammonii bromidum a Ammonii hydrogenocarbonas, které znějí:

”

---

## Ammonii bromidum

Bromid amonný

*Synonymum.* Ammonium bromatum



2000

$\text{NH}_4\text{Br}$

$M_r$  97,94

CAS 12124-97-9

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 100,5 %  $\text{NH}_4\text{Br}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v 96% lihu.

Na světle nebo vzduchu žloutne.

### Zkoušky totožnosti

A. Vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

B. 10 ml roztoku S, viz Zkoušky totožnosti, vyhovuje zkoušce na amonné soli (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 10,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z destilované vody R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

Kyselé nebo zásadité reagující látky. K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml červeně methylové RS. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

**Bromičnany.** K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml vody R, 1 ml kyseliny sírové zředěné RS, 1 ml dichlormethanu R a silně se protřepe. Spodní vrstva zůstane bezbarvá (2.2.2, Metoda I).

**Chloridy.** Nejvýše 0,6 %. V kuželové baňce se rozpustí 1,000 g ve 20 ml kyseliny dusičné zředěné RS. Přidá se 5 ml peroxidu vodíku koncentrovaného R a zahřívá se na vodní lázni, dokud se roztok úplně neodbarví. Stěny baňky se opláchnou malým množstvím vody R a zahřívá se 15 min na vodní lázni. Po ochlazení se zředí vodou R na 50 ml, přidá se 5,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS, 1 ml dibutylftalatu R, zamíchá se a titruje se thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS za použití 5 ml síranu amonno-železitého RS2 jako indikátoru.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 3,545 mg Cl.

**Jodidy.** K 5 ml roztoku S se přidá 0,15 ml chloridu železitého RS1 a 2 ml dichlormethanu R. Po protřepání se nechá oddělit; spodní vrstva je bezbarvá (2.2.2, Metoda I).

**Sírany (2.4.13).** 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

**Vápník (2.4.3).** 10 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (100 µg/g).

**Železo (2.4.9).** 5 ml roztoku S doplněných vodou R na 10 ml vyhovuje limitní zkoušce na železo (20 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 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

1,500 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 50 ml vody R, 5 ml kyseliny dusičné zředěné RS, 25,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS a 2 ml dibutylftalatu R a protřepe. Titruje se za silného míchání thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS do bodu ekvivalence za použití síranu amonno-železitého RS2 jako indikátoru.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 9,794 mg NH<sub>4</sub>Br.

Korigovaný obsah NH<sub>4</sub>Br se vypočítá podle vzorce:

$$a - 2,763b,$$

v němž značí:

*a* - procentuální obsah NH<sub>4</sub>Br a NH<sub>4</sub>Cl získaný stanovením a vypočítaný jako NH<sub>4</sub>Br,

*b* - procentuální obsah Cl získaný ve zkoušce Chloridy.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

## Ammonii hydrogenocarbonas

Hydrogenuhlíčitán amonný

2000

 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  $M_r$  79,06

CAS 1066-33-7

Obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ .

### Vlastnosti

Jemný bílý krystalický prášek nebo bílé krystaly. Je slabě hygroskopický, snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

Těká rychle při 60 °C. Je-li látka slabě vlhká, při pokojové teplotě těká pomalu. Je v rovnovážném stavu s amoniumcarbamatem.

### Zkoušky totožnosti

A. Vyhovuje zkoušce na uhličitany a hydrogenuhlíčitany (2.3.1).

B. 50 mg se rozpustí ve 2 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce na amonné soli (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 14,0 g se rozpustí ve 100 ml *vody destilované R*. Povaří se, aby se odstranilo amonium, nechá se ochladit a zředí se *vodou destilovanou R* na 100,0 ml.

Chloridy (2.4.4). 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (70 µg/g).

Sírany (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (70 µg/g).

Železo (2.4.9). 1,8 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (40 µg/g).

Těžké kovy (2.4.8). 2,5 g se opatrně rozpustí ve 25 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. 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)*.

### Stanovení obsahu

1,0 g se opatrně rozpustí ve 20,0 ml *kyseliny sírové 0,5 mol/l VS* a zředí se *vodou R* na 50 ml. Povaří se, ochladí a nadbytek kyseliny se titruje *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* za použití 0,1 ml *červeně methylové RS* jako indikátoru.

1 ml *kyseliny sírové 0,5 mol/l VS* odpovídá 79,1 mg  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

“

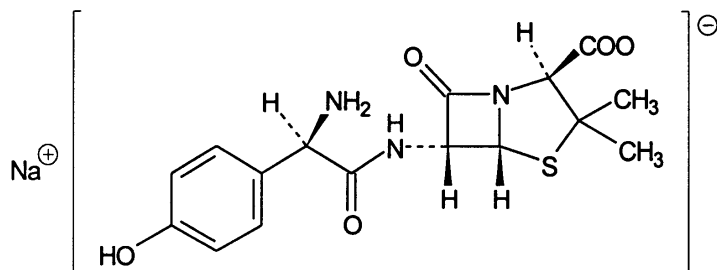
45. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Amoxicillinum natricum zní:

”

## † Amoxicillinum natricum

Sodná sůl amoxicilinu

2000



$C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$

$M_r$  387,39

CAS 34642-77-8

Je to natrium-(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo-[3,2,0]heptan-2-karboxylat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 89,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ .

### Výroba

Jestliže se připravuje postupem, který zanechává zbytky kyseliny 2-ethylhexanové ve výrobku, vyhovuje následující zkoušce.

**Kyselina 2-ethylhexanová (2.4.28).** Nejvýše 0,8 %.

Jestliže se připravuje postupem, který zanechává zbytky dimethylanilinu v látce a/nebo postupem využívajícím výchozí materiály nebo meziprodukty, které obsahují zbytky dimethylanilinu, vyhovuje následující zkoušce.

**N,N-dimethylanilin (2.4.26, Metoda B).** Nejvýše 20 µg/g.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý velmi hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustná ve vodě, mírně rozpustná v ethanolu, velmi těžce rozpustná v acetonu.

### Zkoušky totožnosti

**Základní sestava zkoušek:** A a D.

**Alternativní sestava zkoušek:** B, C a D, viz *Obecné zásady (1.2)*.

**A.** 0,250 g se rozpustí v 5 ml vody R, přidá se 0,5 ml kyseliny octové zředěné RS, promíchá se a nechá se 10 min ve vodě s ledem. Zfiltruje se, krystaly se promyjí 2 ml až 3 ml směsi objemových dílů vody R a acetonu R (1 + 9), potom se suší 30 min při 60 °C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem trihydrátu amoxicilinu CRL.

**B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu silanizovaného pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí v 10 ml hydrogenuhličitanu sodného RS.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg trihydrátu amoxicilinu CRL se rozpustí v 10 ml hydrogenuhličitanu sodného RS.

**Porovnávací roztok (b).** 25 mg trihydrátu amoxicilinu CRL a 25 mg trihydrátu ampicilinu CRL se rozpustí v 10 ml hydrogenuhličitanu sodného RS.

Na vrstvu se nanese odděleně po 1  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se po dráze 15 cm 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). Vrstva se usuší na vzduchu, vystaví se působení par jodu do vzniku skvrn a hodnotí se v denním světle. 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 od sebe oddělené skvrny.

**C.** Asi 2 mg se převedou 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 rychlým krouživým pohybem; roztok je prakticky bezbarvý. Zkumavka se na 1 min vloží do vodní lázně; vzniká tmavě žluté zbarvení.

**D.** Zkoušená látka vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10,0 ml. Roztok ihned po rozpuštění neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1). Roztok může vykazovat počáteční, ale přechodné růžové zbarvení. Po 5 min není absorbance (2.2.25) měřená při 430 nm vyšší než 0,20.

**Hodnota pH** (2.2.3). 8,0 až 10,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,0 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7). +240° až +290°, počítáno na bezvodou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 62,5 mg v roztoku *hydrogenfalanu draselného R* (4 g/l) a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) postupem uvedeným ve Stanovení obsahu. Nastříkne se 50  $\mu$ l porovnávacího roztoku (d) a eluuje se izokraticky do eluce píku amoxicilinu. Nastříkne se 50  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a začne se izokratická eluce. Ihned po eluci píku amoxicilinu se použije následující lineární gradient. Jestliže složení mobilní fáze bylo upraveno k požadovanému rozlišení, použije se v čase 0 gradientové eluce upravené složení.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 25	92 - 0	8 - 100	lineární gradient
25 - 40	0	100	izokraticky
40 - 55	92	8	ustalování

Nastříkne se mobilní fáze A a použije se stejný eluční postup k provedení slepé zkoušky. Nastříkne se porovnávací roztok (e). Tři nejdůležitější píky eluované po hlavním píku odpovídají amoxicilin-diketopiperazinu, dimeru amoxicilinu (nečistota J; n = 1) a trimeru amoxicilinu (nečistota J; n = 2) a vztaženo k hlavnímu píku mají relativní retenční čas asi 3,4, 4,1 a 4,5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) plocha žádného píku odpovídajícího dimeru amoxicilinu není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (3 %); plocha žádného píku, kromě plochy hlavního píku a píku odpovídajícího dimeru amoxicilinu, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (2 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než devítinásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (9 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,400 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, Metoda C).** Pokud je látka určena k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, obsahuje nejvýše 0,25 m.j./mg.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok (b).* Připraví se těsně před použitím. 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 30,0 mg trihydrátu amoxicilinu CRL se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 4,0 mg cefadroxilu CRL se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 50 ml. K 5,0 ml tohoto roztoku se přidá 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se mobilní fází A na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází A na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází A na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází A na 20,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází A na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* K 0,20 g trihydrátu amoxicilinu R se přidá 1,0 ml vody R. Třepe se a přidává se po kapkách hydroxid sodný zředěný RS do vzniku roztoku. Hodnota pH roztoku je asi 8,5. Roztok se nechá 4 h stát při teplotě místnosti. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází A na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony 0,25 m dlouhé 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 - směs objemových dílů acetonitrilu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS 25% (V/V) (1 + 99) s upravenou hodnotou pH na 5,0 hydroxidem sodným zředěným RS,

- mobilní fáze B - směs objemových dílů acetonitrilu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného 0,2 mol/l RS 25% (V/V) (20 + 80) s upraveným pH na hodnotu 5,0 hydroxidem sodným zředěným RS,

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se ustaluje mobilní fází, v níž je poměr fází A : B 92 : 8. Nastříkne se 50 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení na chromatogramu mezi píky odpovídajícími amoxicilinu a cefadroxilu je nejméně 2,0 (je-li třeba, upraví se poměr A : B mobilní fáze) a kapacitní poměr pro první pik (amoxicilin) je 1,3 až 2,5. Nastříkne se 50 μl porovnávacího roztoku (c). Systém se upraví 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 hlavního píku není větší než 1,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Procentuální obsah sodné soli amoxicilinu se vypočítá vynásobením procentuálního obsahu amoxicilinu číslem 1,060.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech. Separandum.

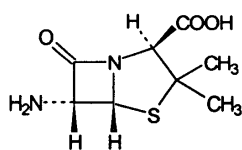
### Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka:

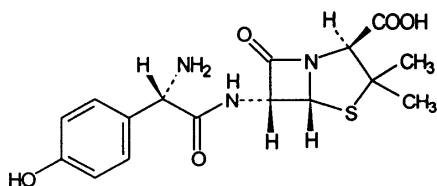
- sterilní,

- prostá bakteriálních endotoxinů.

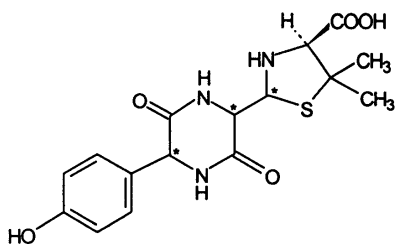
## Nečistoty



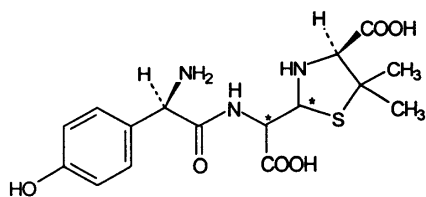
- A. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (kyselina 6-aminopenicilanová),



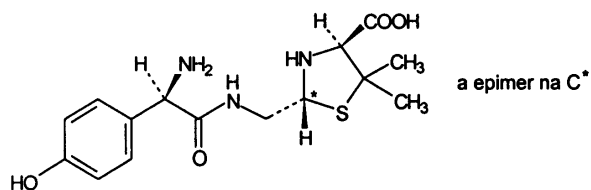
- B. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2*S*)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová (L-amoxicilin),



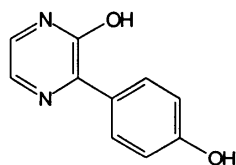
- C. kyselina (4*S*)-2-[[5-(4-hydroxyfenyl)-3,6-dioxopiperazin-2-yl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-yl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (diketopiperaziny amoxicilinu),



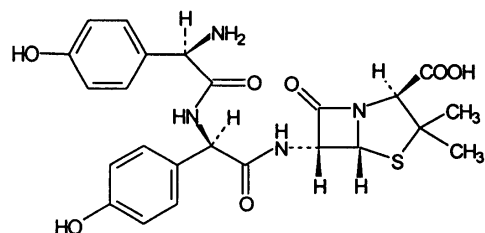
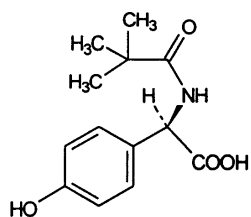
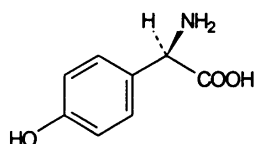
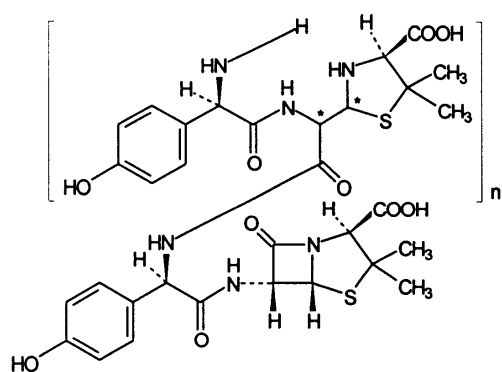
- D. kyselina (4*S*)-2-[[5-(4-hydroxyfenyl)acetamido]karboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniciloové kyseliny amoxicilinu),



- E. kyselina (2*RS*,4*S*)-2-[[5-(4-hydroxyfenyl)acetamido]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-karboxylová (peniciloové kyseliny amoxicilinu),

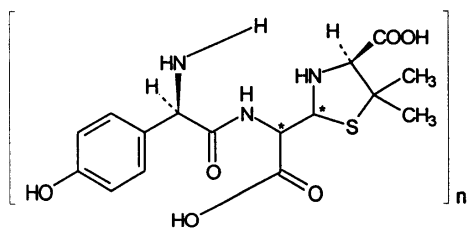


F. 3-(4-hydroxyfenyl)pyrazin-2-ol,

G. kyselina (2*S*,5*R*,6*R*)-6-{{(2*R*)-2-[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido}-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyklo[3,2,0]heptan-2-karboxylová [L-(4-hydroxyfenyl)glycylamoxicilin],H. kyselina (2*R*)-2-(2,2-dimethylpropionamido)-2-(4-hydroxyfenyl)octová,I. kyselina (2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)octová,

J. ko-oligomery amoxicilinu a penicilových kyselin amoxicilinu,





K. oligomery penicilových kyselin amoxicilinu.

“

46. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Anisi etheroleum zní:

”

## Anisi etheroleum

Anýzová silice

*Synonyma.* Anisi aetheroleum, Oleum anisi.



Je to silice získaná ze zralých suchých plodů druhu *Pimpinella anisum* L. nebo *Illicium verum* HOOK. fil. destilací s vodní párou.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo světle žlutá kapalina, za chladu tuhne. Je prakticky nerozpustná ve vodě, mísitelná s líhem 96%, etherem, etherem petrolejovým a dichlormethanem.

### Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška:* B.

*Alternativní zkouška:* A, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu GF<sub>254</sub> R.

*Zkoušený roztok.* 1 g se rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 80 µl anetholu R se rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 1 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 3 µl anisaldehydu R se rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 1 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1 µl linalolu R se rozpustí v toluenu R a zředí se jím na 1 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů ethylacetatu R a toluenu R (7 + 93) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna zhášející fluorescenci, která odpovídá polohou skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). V horní třetině chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna zhášející fluorescenci, která odpovídá anetholu. Vrstva se postříká zkoumadlem vanilinovým R a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se do 10 min v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna odpovídající polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) a oranžově růžová skvrna odpovídající polohou a zbarvením skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Na čele chromatogramu je fialová skvrna

(monoterpenické uhlovodíky). U silice z *P. anisum* může být ještě hnědá skvrna těsně nad skvrnou odpovídající anisaldehydu.

**B.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Chromatografický profil, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je šest píků, které svými retenčními časy odpovídají šesti píkům na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Relativní hustota (2.2.5).** 0,978 až 0,994.

**Index lomu (2.2.6).** 1,552 až 1,561.

**Teplota tuhnutí (2.2.18).** 15 °C až 19 °C.

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 1,0; 5,0 g se rozpustí v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

**Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice (2.8.7).** Vyhovuje požadavkům zkoušky Mastné oleje a zpryskyřičnatělé silice v silicích.

**Chromatografický profil.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka.

*Porovnávací roztok.* Jednotlivé složky se odváží tak, aby jejich celkové množství činilo 20 %. K 1 g hexanu *R* se přidá 20 mg linalolu *R*, 20 mg estragolu *R*, 20 mg  $\alpha$ -terpineolu *R*, 10 mg cis-anetholu *R*, 60 mg anetholu *R* a 30 mg anisaldehydu *R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 30 m až 60 m a vnitřního průměru asi 0,3 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou makrogolu 20 000 *R*,
- helia pro chromatografii *R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje po dobu 4 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 2 °C/min až do 210 °C, při níž se udržuje 15 min, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 180 °C až 200 °C a detektoru na 220 °C až 250 °C.

Nastříkne se asi 0,2  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Při dodržení 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 od píku estragolu při 120 °C a je-li rozlišení mezi píky estragolu a  $\alpha$ -terpineolu nejméně 1,3, počítáno při 130 °C.

Nastříkne se asi 0,2  $\mu$ l zkoušeného roztoku. Porovnáním retenčních časů píků na chromatogramu zkoušeného roztoku s retenčními časy píků na chromatogramu porovnávacího roztoku se identifikuje šest látek, přítomných na chromatogramu zkoušeného roztoku (nepřihlíží se k píku odpovídajícímu hexanu).

Z chromatogramu zkoušeného roztoku se vypočítá obsah všech šesti látek metodou normalizace.

Obsah látek v procentech se pohybuje v rozmezích:

linalol	0,1 % až 1,5 %,
estragol	0,5 % až 6,0 %,
$\alpha$ -terpineol	0,1 % až 1,5 %,
cis-anethol	méně než 0,5 %,
trans-anethol	84 % až 93 %,
anisaldehyd	0,1 % až 3,5 %.

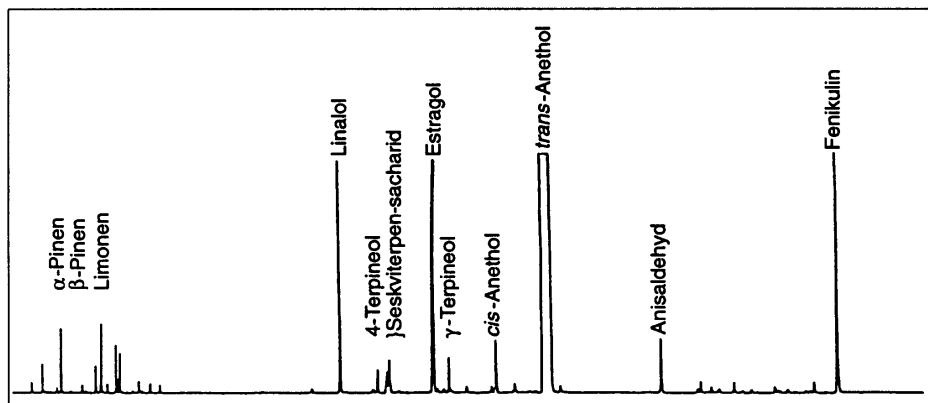
### Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněna před světlem a teplem.

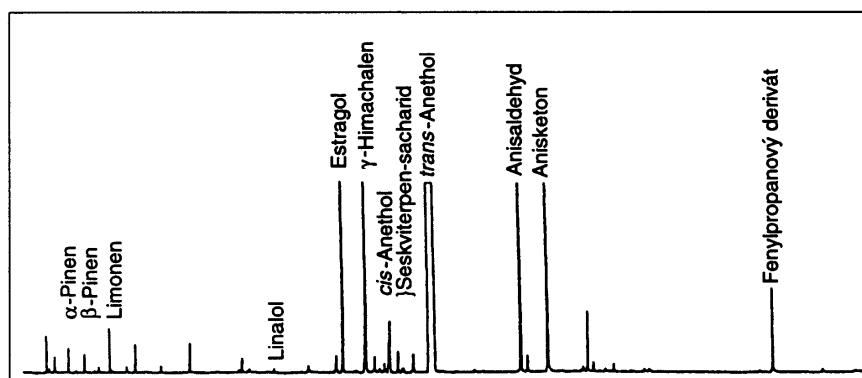
## Označování

V označení na obalu se uvede, zda silice pochází z druhu *P. anisum* nebo *I. verum*.

Vzory chromatogramů jsou uvedeny pro informaci a jako návod při aplikaci analytické metody. Netvoří součást požadavků článku.



Obr. 1 Vzor chromatogramu silice z druhu *Illicium verum*



Obr. 2 Vzor chromatogramu silice z druhu *Pimpinella anisum*

47. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Aprotinini solutio concentrata a Aprotininum znějí:

”

## † Aprotinini solutio concentrata<sup>1)</sup>

Koncentrovaný roztok aprotininu



Je to koncentrovaný roztok aprotininu, což je polypeptid složený z řetězce padesáti osmi aminokyselin. Stechiometricky inhibuje účinnost několika proteolytických enzymů, jako jsou chymotrypsin, kalikrein, plazmin a trypsin. Obsahuje nejméně 15,0 Ph.Eur.j. účinnosti aprotininu v mililitru.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Zvířata, ze kterých se aprotinin získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.

Musí se dokázat, v jakém rozsahu dovolí výrobní postup inaktivaci nebo odstranění jakékoliv kontaminace viry nebo jinými původci infekce.

Metoda výroby je validována, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následujícím zkouškám:

**Neškodnost (2.6.9).** Každé myši se vstříkne 0,5 ml roztoku zkoušeného přípravku ve vodě na injekci R obsahujícího množství odpovídající 2 Ph.Eur.j.

**Histamin (2.6.10).** Nejvýše 0,2 µg báze histaminu ve 3 Ph.Eur.j.

### Vlastnosti

Čirý bezbarvý roztok.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* Použijte se roztok S, viz Zkoušky na čistotu.

*Porovnávací roztok.* Použijte se aprotinin roztok BRP.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R a kyseliny octové ledové R (80 + 100) obsahující 0,10 g octanu sodného R na 1 ml směsi po dráze 12 cm. Po vyjmutí z komory se vrstva usuší volně na vzduchu a postříká se roztokem 0,1 g ninhydrinu R ve směsi 6 ml roztoku chloridu měďnatého R (10 g/l), 21 ml kyseliny octové ledové R a 70 ml ethanolu R. Vrstva se usuší při 60 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, zbarvením a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**B.** Stanoví se schopnost zkoušeného přípravku inhibovat účinnost trypsinu.

*Zkoušený roztok.* 1 ml roztoku S se zředí tlumivým roztokem o pH 7,2 na 50 ml.

*Roztok trypsinu.* 10 mg trypsinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,002 mol/l RS a zředí se jí na 100 ml.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 52 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

*Roztok kaseinu.* 0,2 g kaseinu R se rozpustí v tlumivém roztoku o pH 7,2 a zředí se jím na 100 ml.  
*Srážecí roztok.* Je to směs objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a ethanolu R (1 + 49 + 50).

1 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 1 ml roztoku trypsinu, směs se nechá 10 min stát, potom se přidá 1 ml roztoku kaseinu a inkubuje se 30 min při 35 °C. Směs se ochladí v ledové lázni, přidá se 0,5 ml srážecího roztoku a po protřepání se směs nechá stát 15 min při pokojové teplotě; roztok se zakalí. Postup se opakuje (slepá zkouška) s tlumivým roztokem o pH 7,2 místo zkoušeného roztoku; roztok zůstane čirý.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Připraví se roztok obsahující 15 Ph.Eur.j. v mililitru. Připraví se, je-li třeba, ředěním podle účinnosti uvedené v označení na obalu zkoušeného přípravku.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1).

**Absorbance (2.2.25).** Připraví se roztok obsahující 3,0 Ph.Eur.j. v mililitru. Roztok vykazuje absorpční maximum při 277 nm a jeho absorbance v maximu je nejvýše 0,80.

**Proteinové nečistoty o vyšší relativní molekulové hmotnosti.** Zkoušený přípravek se lyofilizuje při tlaku 2,7 Pa a teplotě -30 °C. Lyofilizace, včetně dosušení při 15 °C až 25 °C, by měla trvat 6 h až 12 h. Zkouška se provede vylučovací chromatografií (2.2.30) za použití dextranu síťovaného pro chromatografii R2. K bobtnání gelu se použije roztok kyseliny octové bezvodé R (180 g/l) a stejné rozpouštědlo se použije jako eluční roztok. Připraveným gelem se naplní chromatografická kolona o délce 0,8 m až 1,0 m a průměru 25 mm tak, aby sloupec neobsahoval vzduchové bubliny. Na horní konec sloupce se nanese množství zkoušeného přípravku odpovídající 300 Ph.Eur.j. rozpuštěné v 1 ml roztoku kyseliny octové bezvodé R (180 g/l) a eluuje se stejným rozpouštědlem. Odebírají se eluáty po 2 ml a měří se absorbance (2.2.25) každého odebraného eluátu v absorpčním maximu při 277 nm a naměřené hodnoty se vynesou do grafu. Na získaném chromatogramu není přítomno žádné absorpční maximum před elucí aprotininu.

**Specifická účinnost vysušené látky.** Nejméně 3,0 Ph.Eur.j. účinnosti v 1 mg vysušeného přípravku. 25,0 ml zkoušeného přípravku se odpaří na vodní lázni do sucha, zbytek se suší 15 h při 110 °C a zváží se. Vypočítá se počet Ph.Eur.j. připadající na 1 mg vysušené látky z hmotnosti vysušeného zbytku a účinnosti zjištěné při Stanovení účinnosti.

**Sterilita (2.6.1).** Pokud je přípravek určen k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Pokud je přípravek určen pro výrobu parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkne 1,0 ml roztoku zkoušeného přípravku obsahujícího 15 Ph.Eur. j. v mililitru.

## Stanovení účinnosti

Účinnost zkoušeného přípravku se stanoví měřením inhibičního působení na roztok trypsinu o známé účinnosti. Inhibiční účinnost se vypočítá z rozdílu mezi počáteční a zbytkovou účinností trypsinu.

Inhibiční účinnost zkoušeného přípravku se vyjadřuje v jednotkách Ph.Eur.j. 1 Ph.Eur.j. inhibuje 50 % enzymové účinnosti 2  $\mu$ kat trypsinu.

Použije se reakční nádobka o objemu asi 30 ml vybavená temperovacím zařízením na (25  $\pm$  0,1) °C, míchadlem (např. magnetickým), uzávěrem s pěti otvory pro upevnění elektrod, špičky byrety, trubičky pro přívod dusíku a přidávání zkoumadel. Je možné použít manuální titraci nebo automatický titrátor. V případě manuální titrace má být byreta dělena po 0,05 ml a pH-metr má mít jemně dělenou stupnici a skleněnou a kalomelovou elektrodu.

**Zkoušený roztok.** Vhodným ředěním (D) zkoušeného přípravku se připraví roztok v tlumivém roztoku boritanovém o pH 8,0 (0,0015 mol/l) tak, aby jeho koncentrace činila asi 1,67 Ph.Eur.j. v mililitru.

**Roztok trypsinu.** Připraví se roztok trypsinu CRL obsahující asi 0,8  $\mu$ kat v mililitru (asi 1 mg/ml) v kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS. Použije se čerstvě připravený roztok a před zkouškou se uchovává v ledové lázni.

**Roztok trypsinu a aprotininu.** Ke 4,0 ml roztoku trypsinu se přidá 1,0 ml zkoušeného roztoku. Směs se okamžitě zředí na 40,0 ml tlumivým roztokem boritanovým o pH 8,0 (0,0015 mol/l), nechá se stát 10 min při pokojové teplotě a potom se uchovává v ledové lázni. Roztok je použitelný 6 h.

**Zředěný roztok trypsinu.** 0,5 ml roztoku trypsinu se zředí na 10,0 ml *tlumivým roztokem boritanovým o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* a nechá se 10 min stát při pokojové teplotě a potom se uchovává v ledové lázni.

Reakční nádobka se nasýtí dusíkem a za stálého míchání se přidá 9,0 ml *tlumivého roztoku boritanového o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* a 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *benzoylargininethylesterhydrochloridu R (6,9 g/l)*. Upraví se pH směsi na hodnotu 8,0 pomocí *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Po vytemperování nádoby na  $(25 \pm 0,1)^\circ\text{C}$  se přidá 1,0 ml roztoku trypsinu a aprotininu a začne se měřit čas reakce. pH se udržuje na hodnotě 8,0 přidáváním *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a zaznamenává se přidávaný objem každých 30 s po dobu 6 min. Vypočte se počet mililitrů *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za 1 s ( $n_1$  ml). Tato titrace se provede za stejných podmínek také se zředěným roztokem trypsinu. Vypočte se počet mililitrů *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* spotřebovaného za 1 s ( $n_2$  ml).

Vypočte se účinnost v Ph.Eur.j. v 1 mililitru ze vzorce:

$$4000 \cdot (2n_2 - n_1) \cdot D,$$

v němž značí:

$D$  - zředovací faktor zkoušeného přípravku k získání koncentrace 1,37 Ph.Eur. v mililitru.

Nalezená hodnota účinnosti je v rozmezí 90 % až 110 % účinnosti uvedené v označení na obalu.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných zabezpečených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet Ph.Eur.j. v 1 mililitru,
- zda je přípravek sterilní,
- zda je přípravek prostý pyrogenních látek.

## † Aprotininum<sup>1)</sup>

Aprotinin



$\text{C}_{284}\text{H}_{432}\text{N}_{84}\text{O}_{79}\text{S}_7$

$M_r$  6511,46

CAS 9087-70-1

Je to polypeptid, který se skládá z řetězce padesáti osmi aminokyselin. Stechiometricky inhibuje účinnost několika proteolytických enzymů, jako jsou chymotrypsin, kalikrein, plazmin a trypsin. Obsahuje nejméně 3,0 Ph.Eur.j. účinnosti aprotininu v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Zvířata, ze kterých se aprotinin získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.

Musí se dokázat, v jakém rozsahu dovolí výrobní postup inaktivaci nebo odstranění jakékoliv kontaminace viry nebo jinými původci infekce.

Metoda výroby je validována, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následujícím zkouškám:

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 52 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

**Neškodnost (2.6.9).** Každé myši se vstříkne 0,5 ml zkoušené látky ve vodě na injekci R obsahujícího množství odpovídající 2 Ph.Eur.j.

**Histamin (2.6.10).** Nejvýše 0,2 µg báze histaminu ve 3 Ph.Eur.j.

### Vlastnosti

Téměř bílý hygroskopický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v izotonických roztocích, prakticky nerozpustný v organických rozpouštědlech.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S, viz Zkoušky na čistotu.

*Porovnávací roztok.* Použije se aprotinin roztok BRP.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů vody R a kyseliny octové ledové R (80 + 100) obsahující 0,10 g octanu sodného R na 1 ml směsi po dráze 12 cm. Po vyjmutí z komory se vrstva usuší volně na vzduchu a postříká se roztokem 0,1 g ninhydrinu R ve směsi 6 ml roztoku chloridu měďnatého R (10 g/l), 21 ml kyseliny octové ledové R a 70 ml ethanolu R. Vrstva se usuší při 60 °C. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou, zbarvením a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**B.** Stanoví se schopnost zkoušené látky inhibovat účinnost trypsinu.

*Zkoušený roztok.* 1 ml roztoku S se zředí tlumivým roztokem o pH 7,2 na 50 ml.

*Roztok trypsinu.* 10 mg trypsinu CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,002 mol/l RS a zředí se jí na 100 ml.

*Roztok kaseinu.* 0,2 g kaseinu R se rozpustí v tlumivém roztoku o pH 7,2 a zředí se jím na 100 ml.

*Srážecí roztok.* Je to směs objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R a ethanolu R (1 + 49 + 50).

1 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 1 ml roztoku trypsinu, směs se nechá 10 min stát, potom se přidá 1 ml roztoku kaseinu a inkubuje se 30 min při 35 °C. Směs se ochladí v ledové lázni, přidá se 0,5 ml srážecího roztoku a po protřepání se směs nechá stát 15 min při pokojové teplotě; roztok se zakalí. Postup se opakuje (slepá zkouška) s tlumivým roztokem o pH 7,2 místo zkoušeného roztoku; roztok zůstane čirý.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Připraví se roztok obsahující 15 Ph.Eur.j. v mililitru. Koncentrace se stanoví podle účinnosti uvedené v označení na obalu zkoušené látky.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1).

**Absorbance (2.2.25).** Připraví se roztok obsahující 3,0 Ph.Eur.j. v mililitru. Roztok vykazuje absorpční maximum při 277 nm a jeho absorbance v maximu je nejvýše 0,80.

**Proteinové nečistoty o vyšší relativní molekulové hmotnosti.** Stanoví se vylučovací chromatografií (2.2.30) za použití dextranu síťovaného pro chromatografii R2. K bobtnání gelu se použije roztok kyseliny octové bezvodé R (180 g/l) a stejné rozpouštědlo se použije jako eluční roztok. Připraveným gelem se naplní chromatografická kolona o délce 0,8 m až 1,0 m a průměru 25 mm tak, aby sloupec neobsahoval vzduchové bubliny. Na horní konec sloupce se nanese množství zkoušené látky odpovídající 300 Ph.Eur.j. rozpuštěné v 1 ml roztoku kyseliny octové bezvodé R (180 g/l) a eluuje se stejným rozpouštědlem. Odebírají se eluáty po 2 ml a měří se absorbance (2.2.25) každého odebraného eluátu v absorpčním maximu při 277 nm a naměřené hodnoty se vynesou do grafu. Na získaném chromatogramu není přítomno žádné absorpční maximum před elucí aprotininu.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 6,0 %; suší se 0,100 g zkoušené látky ve vakuu.

**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 pro výrobu parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se na 1 kg hmotnosti králíka vstříkují 1,0 ml roztoku zkoušené látky obsahujícího 15 Ph.Eur.j. v mililitru.

### Stanovení účinnosti

Účinnost zkoušené látky se stanoví měřením inhibičního působení na roztok trypsinu o známé účinnosti. Inhibiční účinnost se vypočítá z rozdílu mezi počáteční a zbytkovou účinností trypsinu.

Inhibiční účinnost zkoušené látky se vyjadřuje v jednotkách Ph.Eur.j. 1 Ph.Eur.j. inhibuje 50 % enzymové účinnosti 2  $\mu$ kat trypsinu.

Použije se reakční nádobka o objemu asi 30 ml vybavená temperovacím zařízením na  $(25 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$ , míchadlem (např. magnetickým), uzávěrem s pěti otvory pro upevnění elektrod, špičky byreta, trubičky pro přívod dusíku a přidávání zkoumadel. Je možné použít manuální titraci nebo automatický titrátor. V případě manuální titrace má být byreta dělena po 0,05 ml a pH-metr má mít jemně dělenou stupnici a skleněnou a kalomelovou elektrodu.

*Zkoušený roztok.* Připraví se roztok zkoušené látky v *tlumivém roztoku boritanovém o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* tak, aby jeho koncentrace činila asi 1,67 Ph.Eur.j. v mililitru, tj. asi 0,6 mg (*m mg*) v mililitru.

*Roztok trypsinu.* Připraví se roztok *trypsinu CRL* obsahující asi 0,8  $\mu$ kat v mililitru (asi 1 mg/ml) v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS*. Použije se čerstvě připravený roztok a před zkouškou se uchovává v ledové lázni.

*Roztok trypsinu a aprotininu.* Ke 4,0 ml roztoku trypsinu se přidá 1,0 ml zkoušeného roztoku. Směs se okamžitě zředí na 40,0 ml *tlumivým roztokem boritanovým o pH 8,0 (0,0015 mol/l)*, nechá se stát 10 min při pokojové teplotě a potom se uchovává v ledové lázni. Roztok je použitelný 6 h.

*Zředěný roztok trypsinu.* 0,5 ml roztoku trypsinu se zředí na 10,0 ml *tlumivým roztokem boritanovým o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* a nechá se 10 min stát při pokojové teplotě a potom se uchovává v ledové lázni.

Reakční nádobka se nasýtí dusíkem a za stálého míchání se přidá 9,0 ml *tlumivého roztoku boritanového o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* a 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *benzoylargininethylesterhydrochloridu R* (6,9 g/l). Upraví se pH směsi na hodnotu 8,0 pomocí *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Po vytemperování nádobky na  $(25 \pm 0,1) ^\circ\text{C}$  se přidá 1,0 ml roztoku trypsinu a aprotininu a začne se měřit čas reakce. pH se udržuje na hodnotě 8,0 přidáváním *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a zaznamenává se přidávaný objem každých 30 s po dobu 6 min. Vypočte se počet mililitrů *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za 1 s ( $n_1$  ml). Tato titrace se provede za stejných podmínek také se zředěným roztokem trypsinu. Vypočte se počet mililitrů *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* spotřebovaného za 1 s ( $n_2$  ml).

Vypočte se účinnost v Ph.Eur.j. v 1 mililitru ze vzorce:

$$\frac{4000 \cdot (2n_2 - n_1)}{m}$$

Nalezená hodnota účinnosti je v rozmezí 90 % až 110 % účinnosti uvedené v označení na obalu.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných zabezpečených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- počet Ph.Eur.j. v 1 miligramu,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá pyrogenních látek.



48. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Aqua pro iniectione a Aqua purificata znějí:

”

## Aqua pro iniectione<sup>1)</sup>

Voda na injekci

*Synonymum.* Aqua ad iniectionabilia



H<sub>2</sub>O

*M<sub>r</sub>* 18,02

CAS 7732-18-5

Látka je určená k přípravě a výrobě léčivých přípravků pro parenterální podání, a to buď jako vehikulum (nerozplněná), nebo k rozpouštění či ředění léčivých látek nebo léčivých přípravků pro parenterální podání před použitím (sterilizovaná voda na injekci).

### Voda na injekci nerozplněná

Získává se destilací vody splňující požadavky na pitnou vodu (ČSN 75 7111) nebo čišťené vody. Části destilačních přístrojů, které přicházejí do styku s vodou, musí být z neutrálního skla, křemene nebo vhodného kovu. Destilační přístroj musí být vybaven výkonným zařízením pro zachytávání unášených kapiček a je nezbytné udržovat jej v bezvadném technickém stavu. První část destilátu získaná na počátku destilace se odstraní a pak se destilát shromažďuje.

Během výroby a při následném uchovávání se vhodným způsobem sleduje celkový počet živých aerobních mikroorganismů, který je přiměřeně kontrolován. K vyloučení nežádoucí kontaminace jsou vhodně nastaveny varovné a akční limity. Za normálních podmínek je vhodný akční limit celkového počtu živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) 10 mikroorganismů na 100 ml; stanoví se membránovou filtrací za použití Agarové pudy B a za použití nejméně 200 ml vody na injekci nerozplněné. Pro aseptickou přípravu musí být určené limity přísně dodržovány.

Kontroluje se měrná vodivost (2.2.38). Nejvýše 1,1  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  při 20 °C.

Kontroluje se celkový organický uhlík (2.2.44), jehož limit je nejvýše 0,5 mg/l.

K zajištění vhodné jakosti vody se postup validuje, průběžně se sleduje měrná vodivost a pravidelně se sleduje mikrobiologická jakost.

Voda na injekci nerozplněná se uchovává a distribuuje za podmínek, které brání růstu mikroorganismů a zamezují jinému znečištění.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina, bez chuti a pachu.

### Zkoušky na čistotu

**Dusičnany.** 5 ml ve zkumavce se vloží do lázně s ledovou vodou, přidá se 0,4 ml roztoku *chloridu draselného R* (100 g/l), 0,1 ml *difenylaminu RS* a po kapkách za protřepávání 5 ml *kyseliny sírové prosté dusíku R*. Zkumavka se přemísť na 15 min do vodní lázně zahřáté na 50 °C. Případně vzniklé modré zbarvení roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití směsi 4,5 ml *vody prosté dusičnanů R* a 0,5 ml základního roztoku *dusičnanů* (2  $\mu\text{g NO}_3/\text{ml}$ ) (0,2  $\mu\text{g/g}$ ).

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 11, 1, 46 (1999). Závazné od 1. 7. 1999.

**Těžké kovy (2.4.8).** 200 ml se zahřívá ve skleněné odpařovací misce na vodní lázni do zmenšení objemu na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (0,1 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

**Hliník (2.4.17).** Je-li látka určena k přípravě dialyzačních roztoků, vyhovuje zkoušce na hliník, která se provede takto:

Ke 400 ml se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 100 ml *vody destilované R*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (0,01 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku hliníku (2 µg Al/ml), 10 ml *tlumivého octanového roztoku o pH 6,0* a 98 ml *vody destilované R*. Proveďte se slepá zkouška za použití směsi 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 100 ml *vody destilované R*.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 0,25 m.j. endotoxinu v mililitru.

### Sterilizovaná voda na injekci

Je to voda na injekci rozplněná do vhodných obalů uzavřených a sterilizovaných teplem za podmínek, které zajistí, aby výrobek vyhovoval zkoušce na bakteriální endotoxiny. Neobsahuje žádné přísady.

Zkouší se za vhodných podmínek viditelnosti. Kapalina je čirá a bezbarvá.

Každý obal obsahuje dostatečné množství zkoušené látky, které umožní, aby mohl být odebrán jmenovitý objem.

### Zkoušky na čistotu

Vyhovuje zkouškám popsáním v odstavci Voda na injekce nerozplněná a následujícím dodatečným zkouškám:

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** Ke 20 ml se přidá 0,05 ml *červeně fenolové RS*. Pokud je roztok žlutý, přidáním 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* se zbarví červeně. Pokud je roztok červený, přidáním 0,15 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* se zbarví žlutě.

**Měrná vodivost (2.2.38).** Nejvýše 3 µS.cm<sup>-1</sup>.

**Oxidovatelné látky.** Ke 100 ml se přidá 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* a 5 min se vaří; roztok zůstane slabě růžový.

**Chloridy.** Pro obaly o jmenovitém objemu 100 ml nebo méně vyhovuje 15 ml limitní zkoušce na chloridy (0,5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití směsi 1,5 ml základního roztoku chloridů (5 µg Cl/ml) a 13,5 ml *vody R*. Roztok se pozoruje podél svíslé osy zkumavky.

**Sírany.** K 10 ml se přidá 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 0,1 ml *chloridu barnatého RS1*; vzhled roztoku se do 1 h nezmění.

**Amonium.** Ke 20 ml se přidá 1 ml *tetrajordortuřnatanu draselného zásaditého RS*. Po 5 min se roztok pozoruje ve zkumavce podél svíslé osy. Roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací roztok připravený současně přidáním 1 ml *tetrajordortuřnatanu draselného zásaditého RS* ke směsi 4 ml základního roztoku amonia (1 µg NH<sub>4</sub>/ml) a 16 ml *vody prosté amonia R* (0,2 µg/g).

**Vápník a hořčík.** Ke 100 ml se přidají 2 ml *tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0*, 50 mg *černi eriochromové T s chloridem sodným R* a 0,5 ml *edetanu disodného 0,01 mol/l VS*; vznikne jasně modré zbarvení.

**Zbytek po odpaření.** 100 ml se odpaří na vodní lázni a dosuší se při 100 °C až 105 °C. Pro obaly o jmenovitém objemu 10 ml nebo méně zbytek váží nejvýše 4 mg (0,004 %). Pro obaly o jmenovitém objemu větším než 10 ml zbytek váží nejvýše 3 mg (0,003 %).

**Hodnocení kontaminace částicemi pod hranicí viditelnosti (2.9.19).** Vyhovuje zkoušce A nebo zkoušce B, jak je vhodné.

**Sterilita (2.6.1).** Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 0,25 m.j. endotoxinu v mililitru.

*Voda na injekci nerozplněná vyhovuje následující dodatečné zkoušce:*

**N**

**Volný chlor.**

**Základní roztok volného chloru.** 0,025 g *dichromanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 0,1 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml (roztok A).

1,50 g *síranu měďnatého R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 1 ml *kyseliny sírové R* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml (roztok B).

10,5 ml roztoku A se smíchá s 9,5 ml roztoku B (základní roztok). Roztok je použitelný po dobu 3 měsíců.

**Postup.** K 19 ml se přidá 1 ml *o-tolidinu RS1*; po 5 min není zbarvení roztoku intenzivnější než současně připravený stejný objem porovnávacího roztoku připraveného těsně před použitím zředěním 5 ml základního roztoku volného chloru *vodou R* na 20 ml (0,05 µg/g).

---

**Aqua purificata<sup>1)</sup>****Čištěná voda**

*Synonyma.* Aqua demineralisata, Aqua destillata

H<sub>2</sub>O*M<sub>r</sub>* 18,02

CAS 7732-18-5

Je to voda určená pro výrobu a přípravu léčiv, u nichž není požadováno, že mají být sterilní a prosté pyrogenních látek, pokud není předepsáno a schváleno jinak.

**Čištěná voda nerozplněná****Výroba**

Čištěná voda nerozplněná se připravuje destilací, za použití iontoměničů nebo jinou vhodnou metodou z vody, která vyhovuje požadavkům na pitnou vodu (ČSN 75 7111).

Během výroby a při následném uchování se vhodným způsobem sleduje celkový počet živých aerobních mikroorganismů, který je přiměřeně kontrolován. K vyloučení nežádoucí kontaminace jsou vhodně nastaveny varovné a akční limity. Za normálních podmínek vhodný akční limit celkového počtu živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je 100 mikroorganismů v mililitru, stanoví se membránovou filtrací za použití Agarové půdy B. Množství vzorku se zvolí podle předpokládaného výsledku.

Kontroluje se celkový organický uhlík (2.2.44), jehož limit je nejvýše 0,5 mg/l, nebo se provede alternativní zkouška na oxidovatelné látky takto:

Ke 100 ml se přidá 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* a vaří se 5 min; roztok zůstane slabě růžový.

Kontroluje se měrná vodivost (2.2.38). Nejvýše 4,3 µS.cm<sup>-1</sup> při 20 °C.

Čištěná voda nerozplněná se uchovává a distribuuje za podmínek, které brání růstu mikroorganismů a zamezují ji-nému znečištění.

**Vlastnosti**

Čirá bezbarvá kapalina bez pachu a chuti.

**Zkoušky na čistotu**

**Dusičnany.** 5 ml ve zkumavce se vloží do lázně s ledovou vodou, přidá se 0,4 ml roztoku *chloridu draselného R* (100 g/l), 0,1 ml *difénylaminu RS* a po kapkách za protřepávání 5 ml *kyseliny sírové prosté dusíku R*. Zkumavka se přemístí na 15 min do vodní lázně zahřáté na 50 °C. Případně vzniklé modré zbarvení roztoku není intenzivnější než

---

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 11, 1, 47 (1999). Závazné od 1. 7. 1999.

zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití směsi 4,5 ml *vody prosté dusičnanů R* a 0,5 ml základního roztoku *dusičnanů* (2  $\mu\text{g NO}_3/\text{ml}$ ) (0,2  $\mu\text{g/g}$ ).

**Těžké kovy (2.4.8).** 200 ml se zahřívá ve skleněné odpařovací misce na vodní lázni do zmenšení objemu na 20 ml. 12 ml tohoto koncentrovaného roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (0,1  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova* (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Hliník (2.4.17).** Je-li látka určena k výrobě dialyzačních roztoků, vyhovuje zkoušce na hliník, která se provede takto:

Ke 400 ml se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 100 ml *vody destilované R*. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (10  $\mu\text{g/l}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *hliníku* (2  $\mu\text{g Al/ml}$ ), 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 98 ml *vody destilované R*. Provede se slepá zkouška za použití směsi 10 ml *tlumivého octanového roztoku o pH 6,0* a 100 ml *vody destilované R*.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Jestliže je látka určena k výrobě dialyzačních roztoků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,25 m.j. endotoxinu v mililitru.

## Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka vhodná pro výrobu dialyzačních roztoků.

## Čištěná voda rozplněná

Je to čištěná voda rozplněná do vhodných obalů a uchovává se za podmínek, které zajišťují požadavky na mikrobiologickou jakost. Neobsahuje žádné přísady.

## Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina bez pachu a chuti.

## Zkoušky na čistotu

Vyhovuje zkouškám popsaným v odstavci Čištěná voda nerozplněná a následujícím dodatečným zkouškám:

**Kyselý a zásaditý reagující látky.** K 10 ml čerstvě převařené a ochlazené zkoušené látky v baňce z borokřemičitého skla se přidá 0,05 ml *červeně methylové RS*; roztok není zbarven červeně. K 10 ml se přidá 0,1 ml *modří bromthymolové RS1*; roztok není zbarven modře.

**Oxidovatelné látky.** Ke 100 ml se přidá 10 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 0,1 ml *manganistanu draselného 0,02 mol/l VS* a 5 min se vaří; roztok zůstane slabě růžový.

**Chloridy.** K 10 ml se přidá 1 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 0,2 ml *dusičnanu stříbrného RS2*; vzhled roztoku se do 15 min nezmění.

**Sírany.** K 10 ml se přidá 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 0,1 ml *chloridu barnatého RS1*; vzhled roztoku se do 1 h nezmění.

**Amonium.** Ke 20 ml se přidá 1 ml *tetraiodortuňatanu draselného zásaditého RS* a po 5 min se roztok pozoruje ve zkumavce podél svislé osy. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací roztok připravený současně přidáním 1 ml *tetraiodortuňatanu draselného zásaditého RS* ke směsi 4 ml základního roztoku *amonie* (1  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ) a 16 ml *vody prosté amonia R* (0,2  $\mu\text{g/g}$ ).

**Vápník a hořčík.** Ke 100 ml se přidají 2 ml *tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0*, 50 mg *černí eriochromové Ts chloridem sodným R* a 0,5 ml *edetanu disodného 0,01 mol/l VS*; vznikne jasně modré zbarvení.

**Zbytek po odpaření.** 100 ml se odpaří na vodní lázni a dosuší se při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (0,001 %).

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Nejvýše 10<sup>2</sup> živých aerobních mikroorganismů v mililitru; stanoví se za použití Agarové pudy B membránovou filtrací.

## Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka vhodná pro výrobu dialyzačních roztoků.

Čištěná voda vyhovuje následujícím dodatečným zkouškám:

**N**

### Volný chlor.

Základní roztok volného chloru. 0,025 g dichromanu draselného R se rozpustí ve vodě R, přidá se 0,1 ml kyseliny sírové R a zředí se vodou R na 100,0 ml (roztok A).

1,50 g síranu měďnatého R se rozpustí ve vodě R, přidá se 1 ml kyseliny sírové R a zředí se vodou R na 100,0 ml (roztok B).

10,5 ml roztoku A se smíchá s 9,5 ml roztoku B (základní roztok). Roztok je použitelný po dobu 3 měsíců.

Postup. K 19 ml se přidá 1 ml *o*-tolidinu RS1; po 5 min není zbarvení roztoku intenzivnější než současně připravený stejný objem porovnávacího roztoku připraveného těsně před použitím zředěním 5 ml základního roztoku volného chloru vodou R na 20 ml (0,05 µg/g).

Čištěná voda pro přípravu léčivých přípravků získaná destilací, demineralizací nebo jinou vhodnou metodou, u níž není zaručena požadovaná mikrobiologická jakost, se zbaví vhodným způsobem zárodků, např. varem po dobu nejméně 10 min a následným ochlazením nebo filtrací filtry zadržujícími bakterie. Tato voda se uchovává v dobře uzavřených zásobních obalech, nejlépe skleněných, sterilizovaných nebo jiným vhodným způsobem zbavených zárodků nejvýše 24 h při pokojové teplotě.

Při zkoušce Mikrobiální znečištění navíc vyhovuje zkoušce na nepřítomnost mikrobů z čeledi *Enterobacteriaceae* a *Pseudomonas aeruginosa* (2.6.13).

**66**

49. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Argininum doplňuje článek Arnicae flos, který zní:

**99**

## Arnicae flos

Arnikový květ

*Synonymum.* Flos arnicae

2000



Jsou to celé nebo částečně rozlámané usušené úbory druhu *Arnica montana* L.

Obsahuje nejméně 0,40 % seskviterpenlaktónů, vyjádřeno jako helenalintiglat, vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má aromatický pach.

Je-li úbor rozkvetlý, má průměr asi 20 mm a výšku asi 15 mm, květní stopka je 2 cm až 3 cm dlouhá. Jednořadý až dvouřadý zákrov tvoří 18 až 24 protáhle kopinatých listenů na konci zašpičatělých. Zákrovní listeny jsou 8 mm až asi 10 mm dlouhé, zelené, na vnější straně se žlutozelenými chlupy, viditelnými pod lupou. Květní lůžko o průměru asi 6 mm je vypouklé, chlupaté, na povrchu s drobnými jamkami. Na jeho obvodu je asi 20 jazykovitých květů, 20 mm až 30 mm dlouhých; terč tvoří větší počet trubkovitých, asi 15 mm dlouhých květů. Semeníky jsou 4 mm až 8 mm dlouhé, nahoře s pentlicovitým bělavým 4 mm až 8 mm dlouhým chmýrem. V droze mohou být přítomny hnědé nažky s chmýrem nebo bez chmýru.

Makroskopický a mikroskopický popis viz Zkoušky totožnosti A a B.

## Zkoušky totožnosti

- A. Zákrov tvoří protáhle vejčité listeny, na konci zašpičatělé, s brvitým okrajem. Jazykovité květy mají redukovaný kalich, nahoře s lesklým bělavým pentlicovitým chmýrem s malými hrubými chlupy. Koruna jazykovitých květů je oranžově žlutá, se sedmi až deseti souběžně probíhajícími žilkami, na konci jazyka se třemi malými zuby. Tyčinky s volnými prašníky jsou neúplně vyvinuty. Úzký hnědý semeník s dvojkannou nazpět obrácenou bliznou. Trubkovité květy jsou paprscitě souměrné. Semeník i kalich jsou stejné jako u jazykovitých květů. Krátká koruna je pětičetná, korunní cípy trojúhelníkovité, nazpět obrácené, pět fertálních tyčinek je spojeno s prašníky.
- B. Úbor se rozdělí na jednotlivé části a upráškuje se (355). Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: pokožka zákrovních listenů s průduchy a chlupy na vnější straně četnějšími; chlupy jsou různých typů: jednořadé mnohobuněčné krycí chlupy, délky 50 µm až 500 µm, jsou četnější na okraji listenů; žláznaté chlupy s jednořadou nebo dvouřadou mnohobuněčnou nohou a mnohobuněčnou kulovitou hlavičkou, délky asi 300 µm, jsou četnější na vnější straně listenů; žláznaté chlupy s jednořadou mnohobuněčnou nohou a mnohobuněčnou kulovitou hlavičkou, délky asi 80 µm, jsou četnější na vnitřní straně listenů. Jazykovitá koruna s pokožkou z laločnatých nebo protáhlých buněk, roztroušenými průduchy a chlupy různých typů: krycí chlupy, ostře zašpičatělé, na bázi s jednou až třemi buňkami se stěnami ztlustlými a dvěma až čtyřmi tenkostěnnými koncovými buňkami, chlupy mohou být delší než 500 µm; žláznaté chlupy s dvouřadou mnohobuněčnou hlavičkou; žláznaté chlupy s mnohobuněčnou nohou a mnohobuněčnou kulovitou hlavičkou. Na okraji jazyka jsou okrouhlé papilózní buňky. Pokožka semeníku se žláznatými chlupy s krátkou nohou a mnohobuněčnou kulovitou hlavičkou; krycí chlupy obvykle tvoří dvě protáhlé, podélně srostlé buňky, většinou s tečkovanými stěnami na konci jsou chlupy zašpičatělé, někdy dvojkanné. Pokožka kalicha z protáhlých buněk, s krátkými jednobuněčnými krycími chlupy, pentlicovitě protáhlými. Pylová zrna okrouhlá, o průměru asi 30 µm, s ostnitou exinou a třemi klíčovými póry.
- C. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky na čistotu *Calendula officinalis L. - Heterotheca inuloides*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku ve střední části je modře fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku, nad touto skvrnou jsou tři skvrny fluoreskující žlutohnědě až oranžově žlutě a nad nimi skvrna fluoreskující zelenožlutě (astragalin). Skvrna pod astragalinem odpovídá isokvercitosidu a skvrna těsně pod ní luteolin-7-glukosidu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je pod skvrnou odpovídající kyselině kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku zelenomodře fluoreskující skvrna.

## Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 5,0 %.

*Calendula officinalis L. - Heterotheca inuloides*. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

Zkoušený roztok. 2,00 g práškované drogy (710) se smíchají s 10 ml *methanolu R* a zahřívají se 5 min ve vodní lázni při 60 °C, za protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje.

Porovnávací roztok. 2,0 mg kyseliny kávové R, 2,0 mg kyseliny chlorogenové R a 5,0 mg rutinu R se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 30 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 15 µl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R, 2-butanonu R a ethylacetátu R (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se suší na vzduchu několik min, postříká se roztokem difenylboryloxyethylaminu R (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem makrogolu 400 R (50 g/l) v *methanolu R* a zahřívá se 5 min při 100 °C až 105 °C. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní části oranžově žlutě fluoreskující skvrna (rutin), ve střední části světla modře fluoreskující skvrna (kyselina chlorogenová) a v horní části světla modře fluoreskující skvrna (kyselina kávová). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není patrná skvrna odpovídající polohou a fluorescencí skvrně rutinu na chromatogramu porovnávacího roztoku, ani žádná další skvrna pod ní.

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 %.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití *santoninu R* jako vnitřního standardu.

**Roztok vnitřního standardu.** 0,010 g *santoninu R* přesně odváženého se bezprostředně před použitím rozpustí v 10,0 ml *methanolu R*.

**Zkoušený roztok.** 1,00 g práškové drogy (355) se převede do 250ml baňky s kulatým dnem, smíchá se s 50 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* a zahřívá se 30 min pod zpětným chladičem za častého protřepávání ve vodní lázni při 50 °C až 60 °C. Po ochlazení se zfiltruje papírovým filtrem. Filtrační papír nastříhaný na kousky se přidá ke zbytku v baňce, smíchá se s 50 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *vody R* (1 + 1) a zahřívá se 30 min pod zpětným chladičem ve vodní lázni při 50 °C až 60 °C, za častého protřepávání. Stejný postup se opakuje ještě dvakrát. Ke spojeným filtrátům se přidají 3,00 ml roztoku vnitřního standardu a roztok se odpaří za sníženého tlaku na 18 ml. Baňka s kulatým dnem se promyje *vodou R* a touto promývací tekutinou se roztok zředí na 20,0 ml. Roztok se převede na chromatografickou kolonu o délce asi 0,15 m a o vnitřním průměru asi 30 mm naplněnou 15 g *křemeliny pro chromatografii R*. Po 20 min stání se promývá 200 ml směsi stejných objemových dílů *ethylacetatu R* a *dichlormethanu R*. Eluát se odpaří do sucha v 250ml baňce s kulatým dnem. Zbytek se rozpustí v 10,0 ml *methanolu R*, přidá se 10,0 ml *vody R* a 7,0 g *oxidu hlinitého neutrálního R*, protřepává se 120 s a po odstředění (10 min při 5000  $g_n$ ) se zfiltruje papírovým filtrem. 10,0 ml filtrátu se odpaří do sucha, odparek se rozpustí ve 3,0 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* a zfiltruje se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (4  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
  - mobilní fáze A - *voda R*,
  - mobilní fáze B - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 3	62	38	izokraticky
3 - 20	62 → 55	38 → 45	lineární gradient
20 - 30	55	45	izokraticky
30 - 55	55 → 45	45 → 55	lineární gradient
55 - 57	45 → 0	55 → 100	lineární gradient
57 - 70	0	100	izokraticky
70 - 90	62	38	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 225 nm,
- injektorové smyčky, 20  $\mu$ l.

Obsah seskviterpenlaktónů, vyjádřeno jako helenalintiglat, se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{S_{LS} \cdot C \cdot V \cdot 1,187 \cdot 100}{S_S \cdot m \cdot 1000},$$

v němž značí:

- $S_{LS}$  - plochu všech píků odpovídajících seskviterpenlaktónům, které mají vyšší retenční čas než pík *santoninu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $S_S$  - plochu píku odpovídajícího *santoninu* na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- $M$  - hmotnost zkoušené drogy v gramech,
- $C$  - koncentraci *santoninu* v roztoku vnitřního standardu přidaného ke zkoušenému roztoku (mg/ml),
- $V$  - objem roztoku vnitřního standardu přidaného ke zkoušenému roztoku v mililitrech,
- 1,187 - korelační faktor pro přepočítání mezi helenalintiglatem a *santoninem*.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

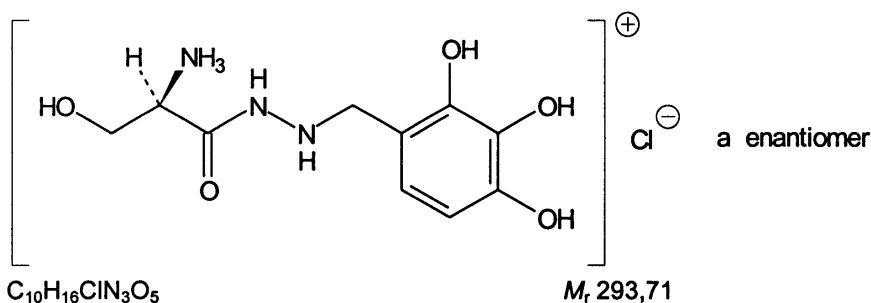
50. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Benserazidi hydrochloridum zní:

”

## † Benserazidi hydrochloridum

Benserazidiumchlorid

2000



Je to (*RS*)-2-hydroxy-1-[(2,3,4-trihydroxybenzyl)hydrazinokarbonyl]ethylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{10}H_{16}ClN_3O_5$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo žlutobílý či oranžovobílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *benserazidumchloridu CRL*. Jestliže se získaná spektra liší, rozpustí se zkoušená látka a referenční látka odděleně v horkém *methanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

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 porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (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 *benserazidumchloridu nečistoty A CRL* a 5,0 mg *benserazidumchloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi 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  $\mu\text{m}$ ),
- 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*; pH se upraví na hodnotu 3,5 *kyselinou fosforečnou R*; průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty A (první pík) a benserazidumchloridu (druhý pík) je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající devítinásobku retenčního času benserazidumchloridu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha 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 benserazidumchloridu na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než dvojnásobek plochy píku benserazidumchloridu na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy píku benserazidumchloridu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 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).

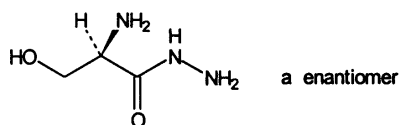
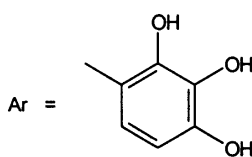
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,37 mg  $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_5$ .

### Uchovávání

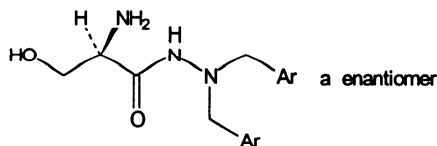
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

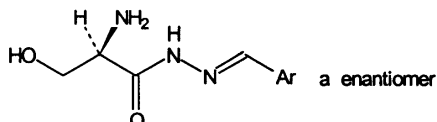
### Nečistoty



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.

“

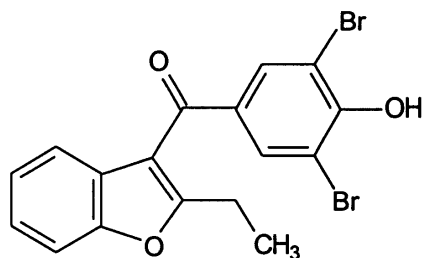
51. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Benzathini benzylpenicillinum doplňuje článek Benzbromaronum, který zní:

”

## † Benzbromaronum

Benzbromaron

2000



$C_{17}H_{12}Br_2O_3$

$M_r$  424,09

CAS 3562-84-3

Je to (3,5-dibrom-4-hydroxyfenyl)-2-ethyl-3-benzo[*b*]furanylketon. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{12}Br_2O_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a dichlormethanu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 152 °C.

## Zkoušky totožnosti

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. benzobromaronu*.

**B.** Malé množství látky se na předem vyžehnaném měděném drátku vloží do nesvítivé části plamene; plamen se zbarví zeleně.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,25 g se rozpustí v *dimethylformamidu R* a zředí se jím na 25 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>5</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** 0,5 g se 1 min třepe s 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a zfiltruje se. K 2,0 ml filtrátu se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS* a 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*; roztok je červený. Přidá se 0,3 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*; roztok je žlutý.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,125 g se rozpustí v 30 ml *methanolu R* a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *benzaronu CRL* se rozpustí v mobilní fází a zředí se jí na 20 ml.

*Porovnávací roztok (c).* K 5 ml porovnávacího roztoku (b) se přidá 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100 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, která je směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonitrilu R*, *vody R* a *methanolu R* (5 + 25 + 300 + 990); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 231 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky hlavních píků na chromatogramu byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi prvním píkem (nečistota C) a druhým píkem (benzobromaron) je nejméně 10,0.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času benzobromaronu. Pokud na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou, kromě hlavního píku, i jiné píky, může jít o píky nečistoty A nebo nečistoty B. Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou relativní retenční časy: nečistoty A asi 0,6 a nečistoty B asi 2.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty A není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,4 %); plocha píku nečistoty B není větší než desetinásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku nečistoty A a píku nečistoty B, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %) a součet ploch všech takových píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Halogenidy vyjádřené jako chloridy (2.4.4).** 1,25 g se třepe se směsí 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 15 ml *vody R* a zfiltruje se. Filtr se promyje *vodou R* a filtrát se zředí *vodou R* na 25 ml. 2,5 ml se zředí *vodou R* na 15 ml. Získaný roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (400 μg/g).

**Železo (2.4.9).** Zbytek získaný ve zkoušce na síranový popel se navlhčí 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a odpaří se do sucha na vodní lázni. Přidá se 0,05 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a 10 ml *vody R* a zahřívá se 1 min k varu. Nechá se ochladit, kelímek se promyje *vodou R*, promývací tekutiny se spojí a zředí *vodou R* na 25 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (125 μg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20 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 4 h v sušárně ve vakuu při 50 °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 60 ml *methanolu R*, míchá se do úplného rozpuštění a přidá se 10 ml *vody R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

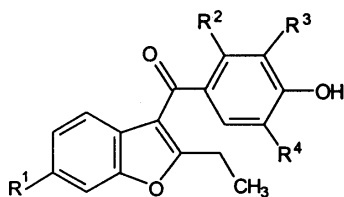
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 42,41 mg  $C_{17}H_{12}Br_2O_3$ .

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A.  $R^1 = R^2 = R^4 = H$ ,  $R^3 = Br$ : (3-brom-4-hydroxyfenyl)-2-ethyl-3-benzo[*b*]furanylketon,

B.  $R^1 = R^3 = R^4 = Br$ ,  $R^2 = H$ : (6-brom-2-ethyl-3-benzo[*b*]furanyl)-3,5-dibrom-4-hydroxyfenylketon,

C.  $R^1 = R^2 = R^3 = R^4 = H$ : (2-ethyl-3-benzo[*b*]furanyl)-4-hydroxyfenylketon (benzaron).

66

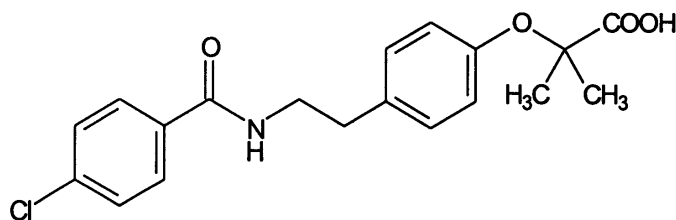
52. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Betulae folium* doplňují články *Bezafibratum* a *Bifonazolium*, které znějí:

”

## † Bezafibratum

Bezafibrat

2000

C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>M<sub>r</sub> 361,82

CAS 41859-67-0

Je to kyselina 2-{4-[2-[(4-chlorobenzoyl)amino]ethyl]fenoxy}-2-methylpropanová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dimethylformamidu, mírně rozpustný v acetonu a v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

Vykazuje 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). 181 °C až 185 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *bezafibratu CRL*.

Pokud spektra vykazují rozdíly, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v *methanolu R* a odpaří se do sucha. Zbytky se suší 1 h ve vakuu při 80 °C a zaznamenají se nová spektra.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 10 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

*Porovnávací roztok*. 10 mg *bezafibratu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *2-butanonu R* a *xylenu R* (2,7 + 30 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se suší nejméně 15 min při 120 °C a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,0 g se rozpustí v *dimethylformamidu 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 HŽ<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** K 1 ml zkoušeného roztoku se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a odpaří se do sucha na horké misce. Zbytek se rozpustí ve 20 ml mobilní fáze.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (2,72 g/l) s pH upraveným na hodnotu 2,3 *kyselinou fosforečnou R* a *methanolu R* (40 + 60); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 228 nm.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacích roztoků (a), (b) a (c). Pokud je chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: nečistoty A asi 3 min, nečistoty B asi 3,5 min, bezafibratu asi 6,0 min, nečistoty C asi 9 min, nečistoty D asi 14 min a nečistoty E asi 37 min. Chromatogram se zaznamenává po dobu nutnou k detekci případného esteru, kterým, v závislosti na způsobu syntézy, může být nečistota C, D nebo E. Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je rozlišení mezi dvěma hlavními píky nejméně 5,0 a hlavní pík na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) má poměr signálu k šumu nejméně 5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,75 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Chloridy (2.4.4).** 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 50 ml. Vzniklá suspenze se zfiltruje přes vlhký filtr, předem promývaný *vodou R*, až je prostý chloridů. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (300 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 9 ml základního roztoku *chloridů* (5 µg Cl/ml) a 6 ml *vody R*.

**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

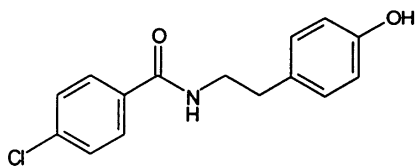
0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *vody R* a *lihu 96% R* (25 + 75) a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do růžového zbarvení za použití 0,1 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 36,18 mg C<sub>19</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>.

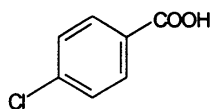
## Uchovávání

Separandum.

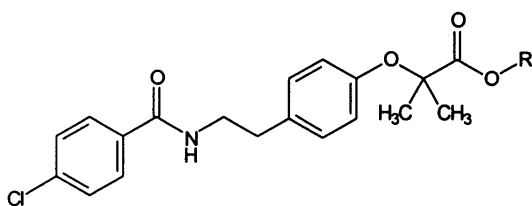
## Nečistoty



A. 4-chlor-N-[2-(4-hydroxyfenyl)ethyl]benzamid (chlorbenzoyltyramin),



B. kyselina 4-chlorbenzoová,



C. R = CH<sub>3</sub>; methyl-2-{4-[2-[(4-chlorbenzoyl)amino]ethyl]fenoxy}-2-methylpropanoat,

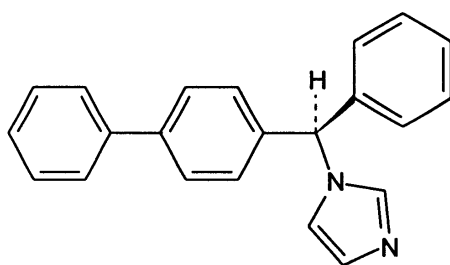
D. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; ethyl-2-{4-[2-[(4-chlorbenzoyl)amino]ethyl]fenoxy}-2-methylpropanoat,

E. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>; butyl-2-{4-[2-[(4-chlorbenzoyl)amino]ethyl]fenoxy}-2-methylpropanoat.

## † Bifonazol

Bifonazol

2000



a enantiomer

C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>

M<sub>r</sub> 310,40

CAS 60628-96-8

Je to 1-[(*RS*)-(4-bifenylyl)fenylmethyl]imidazol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny C<sub>22</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v ethanolu.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *bifonazolu CRL*. V případě, že se spektra látek získaná v pevném stavu liší, rozpustí se zkoušená a referenční látka jednotlivě v minimálním množství *2-propanolu R*, odpaří se do sucha a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

### Zkoušky na čistotu

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,20 g ve 20,0 ml *methanolu R*.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Tlumivý roztok o pH 3,2.** 2,0 ml *kyseliny fosforečné R* se smíchá s *vodou R* a zředí se jí na 1000,0 ml. pH se upraví *triethylaminem R* na hodnotu 3,2 (2.2.3).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí ve 25 ml *acetonitrilu R* a zředí se tlumivým roztokem o pH 3,2 na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,25 ml zkoušeného roztoku se zředí tlumivým roztokem o pH 3,2 na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 25,0 mg *imidazolu R* (nečistota C) se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 25,0 ml. 0,25 ml tohoto roztoku se zředí tlumivým roztokem o pH 3,2 na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 34,2 mg [(*RS*)(4-bifenylyl)fenylmethyl]imidazoltrifluoroacetátu *CRL* (odpovídající 25,0 mg báze nečistoty B) se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 0,25 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí tlumivým roztokem o pH 3,2 na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (e).** 0,25 ml zkoušeného roztoku a 0,25 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchá a zředí se tlumivým roztokem o pH 3,2 na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min a s gradientovým programem za následujících podmínek:
  - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *acetonitrilu R* a tlumivého roztoku o pH 3,2 (20 + 80),
  - *mobilní fáze B* - směs objemových dílů tlumivého roztoku o pH 3,2 a *acetonitrilu R* (20 + 80),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 8	60	40	izokraticky
8 - 12	60 → 10	40 → 90	lineární gradient
12 - 30	10	90	izokraticky
30 - 32	10 → 60	90 → 40	přechod na původní eluční podmínky
32 - 40	60	40	ustalování
40 = 0	60	40	opětovné spuštění izokratické eluce

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku *bifonazolu* na chromatogramu získaném s 50  $\mu$ l porovnávacího roztoku (e) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 50  $\mu$ l porovnávacího roztoku (e). Je-li chromatogram zaznamenán za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: nečistoty B asi 4 min a *bifonazolu* asi 4,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky nečistoty B a *bifonazolu* nejméně 2,5.

Nastříkne se odděleně 50  $\mu$ l zkoušeného roztoku a po 50  $\mu$ l porovnávacích roztoků (a), (b) a (d). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku nečistoty C větší než odpovídající pík na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,25 %); plocha píku nečistoty B není větší než trojnásobek plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (1,5 %); žádný pík, kromě hlavního píku a píků nečistot B a C, není větší než pík 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) (2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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 80 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

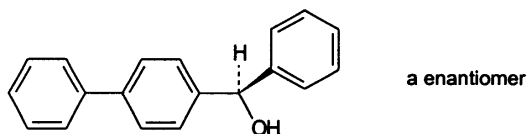
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 31,04 mg sloučeniny  $C_{22}H_{18}N_2$ .

### Uchovávání

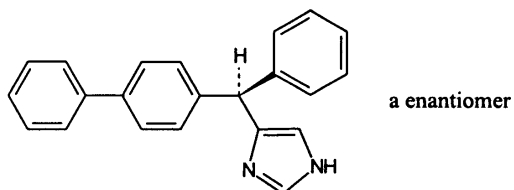
Separandum.

### Nečistoty

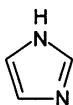
*Hodnocené nečistoty*



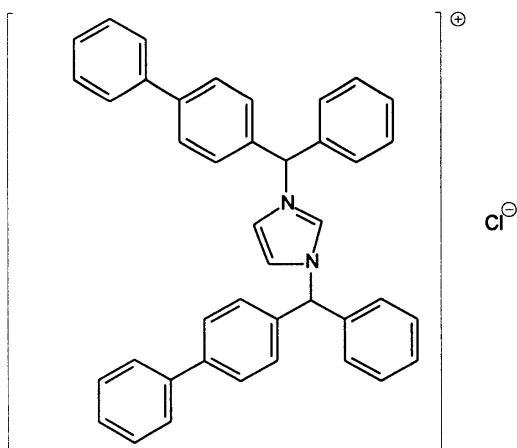
A. *(RS)*-(4-bifenylyl)fenylmethanol,



B. 4-[(*RS*)-(4-bifenylyl)fenylmethyl]imidazol,



C. imidazol,



D. 1,3-bis[(4-biphenyl)fenylmethyl]imidazoliumchlorid.

66

53. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Boldo folium zní:

99

## Boldo folium

Boldovníkový list

*Synonymum.* Folium boldo

2000



Je to celý usušený list druhu *Peumus boldus* MOLINA nebo jeho úlomky.

Obsahuje 20,0 ml až 40,0 ml silice v 1 kilogramu nerozdrobněné drogy a nejméně 15,0 ml silice v 1 kilogramu rozdrobněné drogy. Obsahuje nejméně 0,1 % alkaloidů, vyjádřeno jako boldin ( $C_{19}H_{21}NO_4$ ;  $M_r$  327,4), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má, zejména po rozetření, aromatický pach.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. List je vejčitý nebo oválný, obvykle 5 cm dlouhý, krátce řapíkatý, nahoře tupý nebo slabě zašpičatělý nebo hrotitý, na bázi uťatý nebo zaokrouhlený. Čepel celokrajná, mírně zvlněná, okraj čepele ztlustlý, více nebo méně podvinutý. Čepel je šedozelená, silná, tuhá a křehká. Svrchní strana drsná s četnými malými vyniklými hrbolky a s vpadlou žilnatinou. Spodní strana jemně ochmýřená, s hrbolky méně zřetelnými a s vyniklou zpeřenou žilnatinou.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky ze svrchní strany listu a pod ní ležící hypodermis z buněk s rovnými nebo mírně zprohýbanými, růžencovitě ztlustlými stěnami; pokožka na spodní straně listu s četnými průduchy provázenými čtyřmi až sedmi buňkami; jednotlivé dvojkřanné nebo hvězdovitě uspořádané jednobuněčné

krycí chlupy s více nebo méně ztlustlými zdřevnatělými stěnami; úlomky čepele s dvouřadým palisádovým parenchymem; úlomky houbového mezofylu s velkými okrouhlými siličnými buňkami a parenchymem obsahujícím jemné jehličkovité krystaly; ztlustlá vlákna a zdřevnatělé tečkované parenchymatické buňky provázené cévními svazky.

**C. Proveďte 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 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 20 ml vody R a zahřívá se 10 min na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje. K filtrátu se přidají 2 ml amoniaku zředěného RS1 a protřepává se dvakrát 20 ml etheru R tak, aby nedocházelo k tvorbě emulze. Organické vrstvy se spojí a odpaří se na vodní lázni. Zbytek se rozpustí v 1,0 ml methanolu R.

**Porovnávací roztok.** 2 mg boldinu R se rozpustí v 5 ml methanolu R.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů methanolu R, diethylaminu R a toluenu R (10 + 10 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se jodovizmutitanem draselným RS2 a po 5 min se postříká dusitanem sodným RS. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku je v dolní třetině hnědá až červenohnědá skvrna odpovídající boldinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je několik nahnědlých skvrn nad i pod skvrnou odpovídající boldinu.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 4 % větvíček a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Voda (2.2.13).** Nejvýše 10,0 %. Stanoví se destilací 20,0 g práškované drogy (355).

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 13,0 %.

### Stanovení obsahu

**Silice.** Proveďte se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12) v 1000ml baňce s 10,0 g čerstvě rozdrobněné drogy a 300 ml vody R jako destilační tekutiny. Destiluje se 3 h rychlostí 2 ml/min až 3 ml/min.

**Alkaloidy.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,000 g ( $m_1$ ) práškované drogy (355) se smíchá s 50 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a protřepává se 30 min ve vodní lázni při 80 °C. Pak se zfiltruje a zbytek se smíchá s 50 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a protřepává se 30 min ve vodní lázni při 80 °C. Tento postup se opakuje ještě jednou. Spojené vychladlé filtry se protřepávají 100 ml směsí objemových dílů ethylacetatu R a hexanu R (1 + 1). Vodná vrstva se upraví amoniakem zředěným RS1 na hodnotu pH 9,5 a protřepává se postupně 100 ml, 50 ml a 50 ml dichlormethanu R. Spojené horní vrstvy se odpaří za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 12 mg ( $m_2$ ) boldinu R se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové 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 roztoku A a roztoku B (16 + 84), průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
  - roztok A - 99,8 ml acetonitrilu R se smíchá s 0,2 ml diethylaminu R,
  - roztok B - 99,8 ml vody R se smíchá s 0,2 ml diethylaminu R a pH se upraví kyselinou mravenčí R na hodnotu 3,0,
- spektrofotometrického detektoru, 304 nm.

Nastříkne se odděleně po 20 µl obou roztoků. Proveďte-li se chromatografie za předepsaných podmínek, relativní retenční časy vztažené k boldinu jsou: isoboldin asi 0,9 min; isokorydin-N-oxid asi 1,8 min; laurotetanin asi 2,2 min; isokorydin asi 2,8 min; N-methyl-laurotetanin asi 3,2 min; na chromatogramech mohou být další píky.

Obsah alkaloidů v procentech, vyjádřeno jako boldin ( $C_{19}H_{21}NO_4$ ), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{\Sigma A_1 \cdot m_2}{A_2 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$m_1$  - hmotnost zkoušené drogy v gramech,

$m_2$  - hmotnost *boldinu R* v gramech,

$\Sigma A_1$  - součet ploch pík odpovídajících šesti alkaloidům na chromatogramu zkoušeného roztoku,

$A_2$  - plochu píku odpovídajícího *boldinu* na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

66

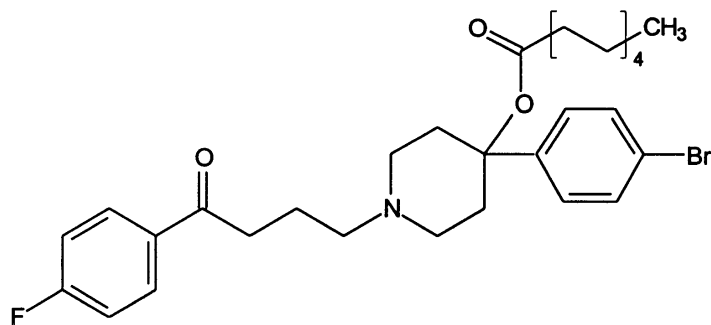
54. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Bromocriptini mesilas doplňuje článek Bromperidoli decanoas, který zní:

99

## † Bromperidoli decanoas

Bromperidoldekanoat

2000



$C_{31}H_{41}BrFNO_3$

$M_r$  574,57

CAS 75067-66-2

Je to 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{31}H_{41}BrFNO_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 60 °C.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *bromperidoldekanoatu CRL*. Zkouší se látka ve formě suspenze v *parafinu tekutém R*.
- B. K 0,1 g v porcelánovém kelímku se přidá 0,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R*. Zahřívá se nad plamenem 10 min. Po ochlazení se zbytek převede do 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se. K 1 ml filtrátu se přidá 1 ml *vody R*. Takto připravený roztok vyhovuje zkoušce (a) na bromidy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 2,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H<sub>5</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Roztoky se připraví bezprostředně před použitím a chrání se před světlem.*

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 2,5 mg *bromperidoldekanoatu CRL* a 2,5 mg *haloperidoldekanoatu R* 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 o průtokové rychlosti 1,5 ml/min s následujícím gradientovým programem:
  - *mobilní fáze A* - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (27 g/l),
  - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	80 → 40	20 → 60	lineární gradient
30 - 35	40	60	izokraticky
35 - 40	40 → 80	60 → 20	přepnutí na počáteční složení eluentu
40 = 0	80	20	opětovné spuštění gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Kolona se promývá 30 min *acetonitrilem R* a dále se ustaluje počátečním složením eluentu po dobu asi 5 min.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu získaného s 10 μl porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Je-li chromatogram zaznamenán za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: *haloperidoldekanoatu* asi 24 min; *bromperidoldekanoatu* asi 24,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky *haloperidoldekanoatu* a *bromperidoldekanoatu* nejméně 1,5. V případě potřeby se upraví gradientový nebo časový program pro lineární gradientovou eluci.

Nastříkne se odděleně 10 μl *methanolu 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 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku, na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům získaným při slepé zkoušce a k píkům 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 vakuu při 30 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

## Stanovení obsahu

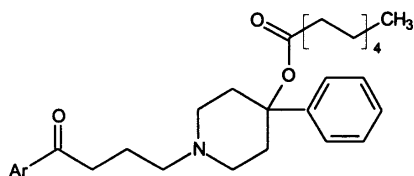
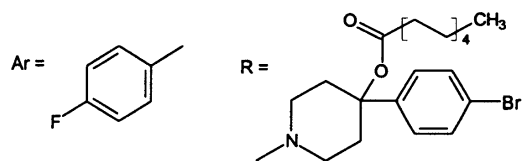
0,450 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za použití 0,2 ml *naftolbenzeinu RS* jako indikátoru.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/ VS* odpovídá 57,46 mg C<sub>31</sub>H<sub>41</sub>BrFNO<sub>3</sub>.

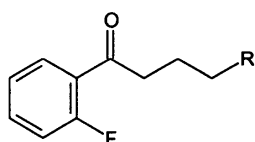
## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech při teplotě nižší než 25 °C, chráněn před světlem.

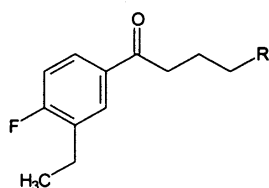
Separandum.

**Nečistoty***Stanovované nečistoty*

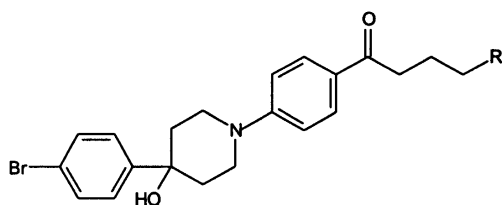
A. 4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat,



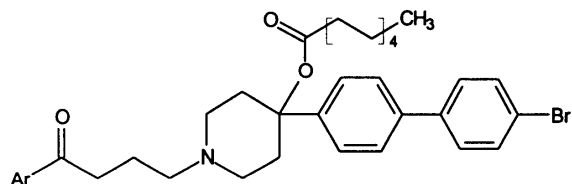
B. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(2-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat,



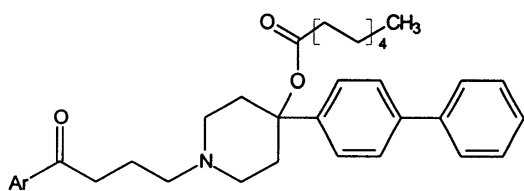
C. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(3-ethyl-4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat,



D. 4-(4-bromfenyl)-1-{4-[4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]fenyl]-4-oxobutyl}piperidin-4-yl-dekanoat,

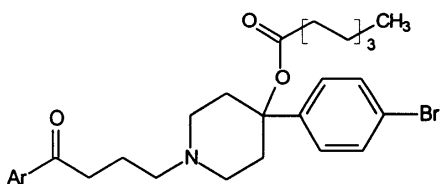


E. 4-(4'-brombifenyl-4-yl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat,

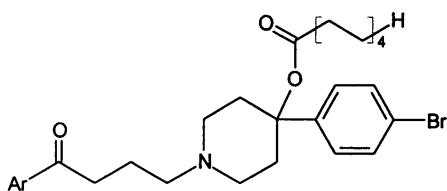


F. 4-(4-bifenylyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dekanoat,

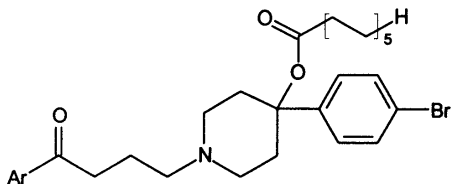
G. 4-[4-(4-bromfenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorfenyl)-1-butanon (bromperidol),



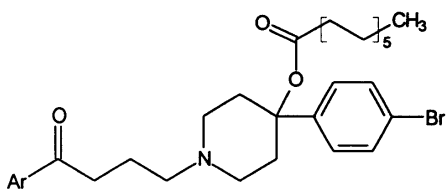
H. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-oktanoat,



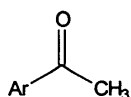
I. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-nonanoat,



J. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-undekanoat,



K. 4-(4-bromfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yl-dodekanoat.

*Ostatní zjistitelné nečistoty*

L. (4-fluorfenyl)methylketon.

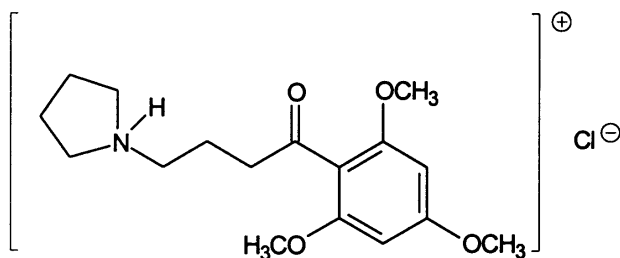
55. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Bufexamacum doplňuje článek Buflomedili hydrochloridum, který zní:

”

## † Buflomedili hydrochloridum

Buflomediliumchlorid

2000



$C_{17}H_{26}ClNO_4$

$M_r$  343,86

CAS 35543-24-9

Je to 1-[4-oxo-4-(2,4,6-trimethoxyfenyl)butyl]pyrrolidiniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{17}H_{26}ClNO_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý mikrokrytalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v acetonu.

Taje při asi 195 °C, za rozkladu.

### 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 lihu 96% R a zředí se jím na 50 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 25,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 220 nm až 350 nm; roztok vykazuje maximum při 275 nm. Specifická absorbance v maximu je 143 až 149.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety buflomediliumchloridu CRL.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

Zkoušený roztok. 40 mg se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 2 ml.

Porovnávací roztok. 40 mg buflomediliumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů triethylaminu R, isopropanolu R a toluenu R (5 + 50 + 50) 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 (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 2,5 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 H<sub>6</sub> (2.2.2 Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,5 až 6,5; 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 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 2 mg *buflomedilu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi. Přidá se 0,5 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (9,25 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5 (45 + 55); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

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. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky *buflomedilu* a *nečistoty B* nejméně 5,0.

Nastříkne se 10 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času *buflomedilu*, jenž je asi 5 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než je 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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 %; s 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

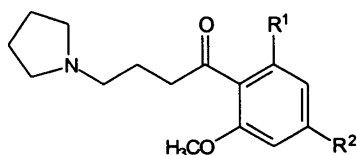
0,300 g se rozpustí v 15 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 35 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 34,39 mg C<sub>17</sub>H<sub>26</sub>ClNO<sub>4</sub>.

## Uchovávání

Separandum.

## Nečistoty



A. R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = OCH<sub>3</sub>: 1-(2-hydroxy-4,6-dimethoxyfenyl)-4-(1-pyrrolidinyl)-1-butanon,

B. R<sup>1</sup> = OCH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = OH: 1-(4-hydroxy-2,6-dimethoxyfenyl)-4-(1-pyrrolidinyl)-1-butanon,

C. R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = OH: 1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyfenyl)-4-(1-pyrrolidinyl)-1-butanon.

56. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcifediolum monohydricum zní:

”

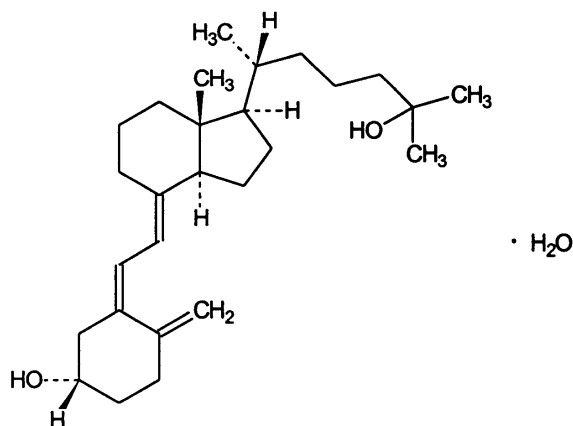
## †† Calcifediolum monohydricum

Monohydrát kalcifediolu

*Synonymum.* Calcifediolum



corr2000



$C_{27}H_{44}O_2 \cdot H_2O$

$M_r$  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  $C_{27}H_{44}O_2$ .

### 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 docházet v závislosti na teplotě a času k reverzibilní 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 popsáným 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 jednotlivé příbuzné látky není větší než 0,5 % a součet příbuzných látek není větší než 1,0 %. Nepřihlíží se k píkům pod 0,1 %.

**Voda, mikrostanovení (2.5.32).** 3,8 % až 5,0 %, stanoví se s 10,0 mg zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

*Stanovení se provádí co nejrychleji, aby se zabránilo vlivu aktinického 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 *kalcifediolu 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), průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 265 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se po 50 μl porovnávacího roztoku (c) a zaznamenává se chromatogram. Celkem se udělá šest nástřiků. Pokud jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, je relativní retenční čas prekalcifediolu vzhledem ke kalcifediolu asi 1,3. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka odezvy kalcifediolu je nejvýše 1 % a rozlišení mezi piky pre-kalcifediolu a kalcifediolu 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 piku.

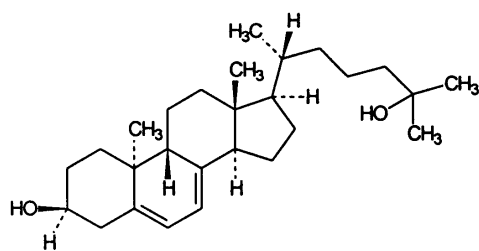
## Uchovávání

Uchovává se pod dusíkem ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

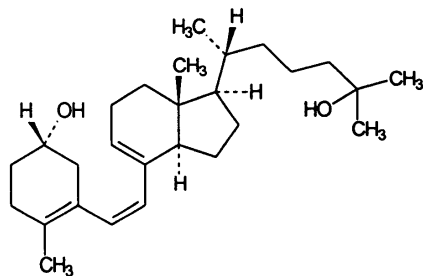
Po otevření se ihned spotřebuje.

Venenum.

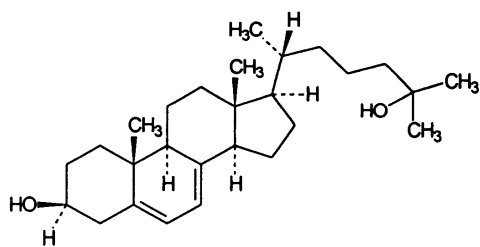
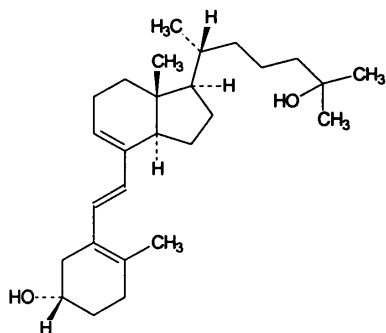
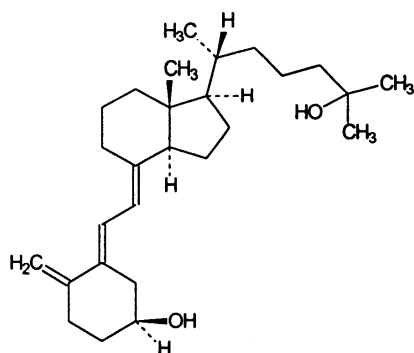
## Nečistoty



A. 9β,10α-cholesta-5,7-dien-3β,25-diol,



B. (6Z)-9,10-sekcholesta-5(10),6,8-trien-3β,25-diol (pre-kalcifediol),

C. cholesta-5,7-dien-3 $\beta$ ,25-diol,D. (6*E*)-9,10-sekokocholesta-5(10),6,8-trien-3 $\beta$ ,25-diol,E. (5*E*,7*E*)-9,10-sekokocholesta-5,7,10(19)-trien-3 $\beta$ ,25-diol.

57. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcii folinas hydricus zní:

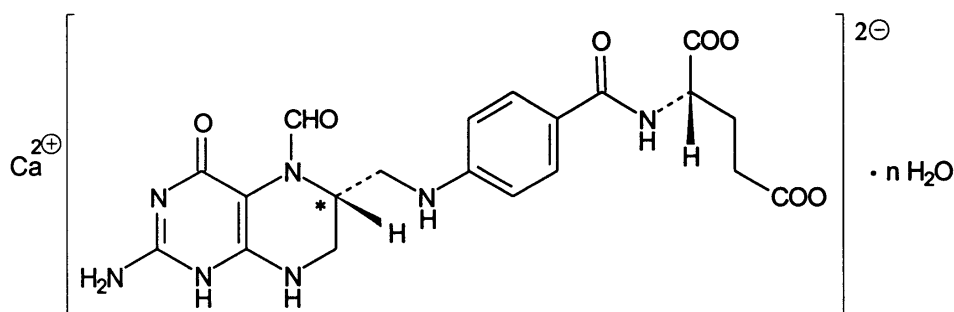
”

## Calcii folinas hydricus

Hydrát kalciumfolinatu

*Synonymum.* Calcii folinas, hydrát vápenaté soli kyseliny folinové

2000



a epimer na C\*

$C_{20}H_{21}CaN_7O_7 \cdot nH_2O$

$M_r$  bezvodého 511,51

CAS 1492-18-8

Je to hydrát kalcium-(2*S*)-2-{4-[[[(6*RS*)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]methyl]amino]benzamido}pentadioátu. Obsahuje 7,54 % až 8,14 % Ca a 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{21}CaN_7O_7$ , obojí počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku.

### Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý amorfni nebo krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%. Amorfni 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 kalciumfolinatu 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 v roztoku amoniaku 17,5% *RS* 3% (*V/V*) a zředí se jím na 5 ml.

Porovnávací roztok. 15 mg hydrátu kalciumfolinatu CRL se rozpustí v roztoku amoniaku 17,5% *RS* 3% (*V/V*) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ 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 a 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 bezvodou a rozpouštědel prostou látku; měří se roztok S.

**Aceton, ethanol a methanol.** Nejvýše 0,5 % acetonu, nejvýše 3,0 % ethanolu a nejvýše 0,5 % methanolu. Stanoví se plynovou head-space chromatografií (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.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 10 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou *styrendivinybenzen-kopolymerem R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 4 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se zvyšuje ze 125 °C na 185 °C rychlostí 10 °C/min a udržuje se na 185 °C až do celkové doby analýzy 15 min. Teplota nástřikového prostoru se udržuje na 250 °C a teplota detektoru na 250 °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 píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,5 %). Nepřihlíží se k píkům, 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). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (50  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Platina.** Nejvýše 20  $\mu$ g/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.** Porovnávací roztoky se připraví za použití základního roztoku *platiny* (30  $\mu$ g Pt/ml), je-li třeba, zředí se 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.

**Hydrát kalciumfolinatu.** 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 kalciumfolinatu 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 v mobilní fázi a zředí se mobilní fázi 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 *hydrogenfosforečnanu sodného R*, jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 7,8; v případě potřeby dosažení předepsaného rozlišení se upraví koncentrace *methanolu*; 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 kalciumfolinatu 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 kalciumfolinatu CRL*.

### Uchovávání

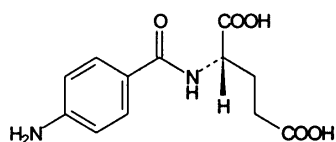
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

### Označování

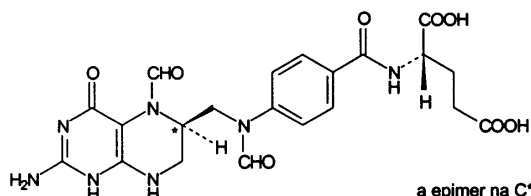
V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

## Nečistoty

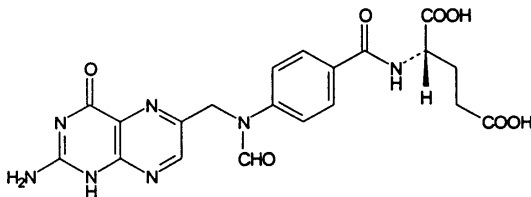


A. kyselina (2*S*)-2-(4-aminobenzamido)pentandiová,

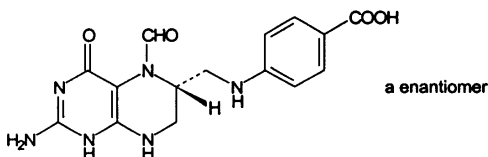


B. kyselina (2*S*)-2-{4-[[[(6*RS*)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]methyl]formylamino]benzamido}pentandiová (kyselina 5,10-diformyltetrahydrolistová),

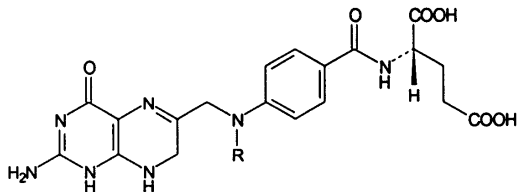
C. kyselina listová,



D. kyselina (2*S*)-2-{4-[[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]formylamino]benzamido}pentandiová (kyselina 10-formyllová),



E. kyselina 4-[[[(6*RS*)-2-amino-5-formyl-4-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydropteridin-6-yl]methyl]amino]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)methyl]amino]benzamido}pentandiová (kyselina dihydrolistová).



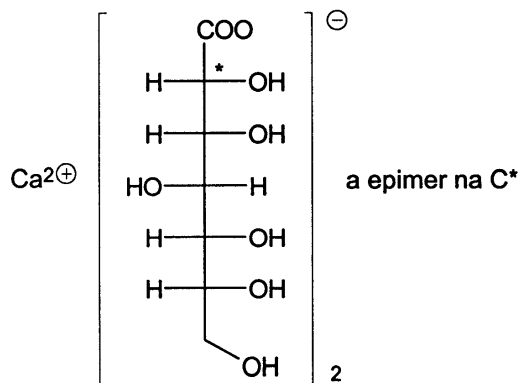
58. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Calcii folinas hydricus doplňuje článek Calcii glucoheptonas, který zní:

”

## Calcii glucoheptonas

Kalciumglukoheptonat

2000



$\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{CaO}_{16}$

$M_r$  490,43

CAS 17140-60-2

Je to kalcium-di(2,3,4,5,6,7-hexahydroxyheptanoat), který je směsí různých poměrů kalcium-di(D-glycero-D-gulo-heptonatu) a kalcium-di(D-glycero-D-ido-heptonatu). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $\text{C}_{14}\text{H}_{26}\text{CaO}_{16}$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo velmi slabě nažloutlý amorfni prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy celulosy pro chromatografii R1.

Zkoušený roztok. 20 mg se rozpustí v 1 ml vody R.

Porovnávací roztok (a). 20 mg kalciumglukoheptonatu CRL se rozpustí v 1 ml vody R.

Porovnávací roztok (b). 10 mg kalciumglukonatu CRL se rozpustí v 0,5 ml zkoušeného roztoku a zředí se vodou R na 1 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do proužku 20 mm x 2 mm po 10  $\mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R, acetonu R a 1-butanolu R (20 + 20 + 30 + 30) v komoře syčené 10 min po dráze 12 cm. Potom se vrstva usuší na vzduchu a postříká manganistanem draselným 0,02 mol/l RS. 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.

B. 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (b) na vápník (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 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 6,0 až 8,0; měří se roztok S.

**Redukující cukry.** 1,0 g se rozpustí mírným zahřátím v 5 ml *vody R*, ochladí se, 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, přidá se 100 ml roztoku *kyseliny octové ledové R* 2,4 % (V/V) a 20,0 ml *jodu 0,025 mol/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/VS* za použití 1 ml *škrobu RS* přidaného před koncem titrace jako indikátor. Při titraci se spotřebuje nejméně 12,6 ml *thiosíranu sodného 0,05 mol/VS* (1 %, vyjádřeno jako glukosa).

**Kyanidy.** 5,0 g se v destilační baňce rozpustí v 50 ml *vody R*, přidají se 2,0 g *kyseliny vinné R*, baňka se připojí k destilačnímu přístroji (2.2.11), jehož nástavec na konci chladiče má vertikální trubici dostatečně dlouhou, aby zasahovala 1 cm nad dno 50ml zkumavky, do které se jímá destilát. Do zkumavky se přenese 10 ml *vody R* a 2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/RS*. Předestiluje se 25 ml a zředí se *vodou R* na 50 ml. K 25 ml tohoto roztoku se přidá 25 mg *síranu železnatého R* a krátce se povaří. Po ochlazení asi na 70 °C se přidá 10 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, po 30 min se roztok zfiltruje a filtr se promyje. Na filtru lze pozorovat žlutou skvrnu, ne však modrou nebo zelenou.

**Chloridy** (2.4.4). K 5 ml roztoku S se přidá 10 ml *vody R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g).

**Sířany** (2.4.13). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sířany (100 µg/g).

**Železo** (2.4.9). 2,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (40 µg/g).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g se rozpustí v 10 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5* a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml takto připraveného 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 5,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**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 gramu nejvýše 167 m.j. endotoxinu.

## Stanovení obsahu

0,800 g se rozpustí ve směsi 150 ml *vody R* a 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 3 mol/l RS*. Za stálého míchání se přidá 12,5 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS*, 15 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a 0,3 g *modři hydroxy-naftolové sodné soli R* a titruje se *edetanem disodným 0,1 mol/l VS* do změny fialového zbarvení na čistě modré.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 49,04 mg C<sub>14</sub>H<sub>26</sub>CaO<sub>16</sub>.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

59. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Calcii stearas zní:

”

## Calcii stearas<sup>1)</sup>

Stearan vápenatý



CAS 1592-23-0

Je to směs vápenatých solí různých mastných kyselin obsahující hlavně stearan vápenatý  $[(C_{17}H_{35}COO)_2Ca; M_r 607,03]$  a palmitan vápenatý  $[(C_{15}H_{31}COO)_2Ca; M_r 550,92]$  s menším množstvím vápenatých solí jiných mastných kyselin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 6,4 % až 7,4 % Ca ( $A_r 40,08$ ). Podíl mastných kyselin obsahuje nejméně 40 % kyseliny stearové a součet kyseliny stearové a kyseliny palmitové je nejméně 90,0 %.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Jemný bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v etheru.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: C a D.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).*

- Teplota tuhnutí (2.2.18) zbytku získaného při přípravě roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, není nižší než 53 °C.
- Číslo kyselosti (2.5.1) mastných kyselin je 195 až 210; stanoví se s 0,200 g zbytku získaného při přípravě roztoku S rozpuštěného v 25 ml předepsané směsi rozpouštědel.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Podíl mastných kyselin, viz Stanovení obsahu. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku se shodují s retenčními časy píků kyseliny stearové a kyseliny palmitové na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- 5 ml roztoku S se neutralizuje *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* za použití *papíru lakmusového červeného R*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (b) na vápník (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** K 5,0 g se přidá 50 ml etheru prostého peroxidických látek R, 20 ml kyseliny dusičné zředěné RS a 20 ml vody destilované R. Směs se zahřívá pod zpětným chladičem až do úplného rozpuštění a nechá se ochladit. Převéde se do dělicí nálevky, oddělí se vodná vrstva a etherová vrstva se protřepe dvakrát 5 ml vody destilované R. Spojené vodné vrstvy se promyjí 15 ml etheru prostého peroxidických látek R a vodná vrstva se zředí vodou destilovanou R na 50 ml (roztok S). Etherová vrstva se odpaří, zbytek se suší při 100 °C až 105 °C a použije se ke zkoušce totožnosti A a B.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 52 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

**Kyselce nebo zásaditě reagující látky.** K 1,0 g se přidá 20 ml vody prosté oxidu uhličitého R, vaří se 1 min za stálého míchání, ochladí se a zfiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 0,05 ml modři bromthymolové RS1. Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS nebo 0,5 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

**Chloridy (2.4.4).** 0,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,1 %).

**Sírany (2.4.13).** 0,5 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,3 %).

**Kadmium.** Nejvýše 3 µg Cd/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se umístí do polytetrafluorethylenové digesční nádoby a přidá se 0,5 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R (1 + 5). Digeruje se 5 h při 170 °C. Po ochlazení se zbytek rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku kadmia (10 µg Cd/ml) a zředí se podle potřeby roztokem kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V).

Měří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

**Olovo.** Nejvýše 10 µg Pb/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok popsáný pro zkoušku totožnosti na kadmium.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku olova (10 µg Pb/ml) a zředí se podle potřeby vodou R.

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření. V závislosti na přístroji se může měřit při 217,0 nm.

**Nikl.** Nejvýše 5 µg Ni/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok popsáný pro zkoušku totožnosti na kadmium.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku niklu (10 µg Ni/ml) a zředí se podle potřeby vodou R.

Měří se absorbance při 232,0 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 6,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Nejvýše 10<sup>3</sup> živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

## Stanovení obsahu

**Vápník.** K 0,500 g v 250ml kuželové baňce se přidá 50 ml směsi stejných objemových dílů 1-butanolu R a ethanolu R, 5 ml amoniaku 26% R, 3 ml tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0, 30,0 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS a 15 mg černí eriochromové T s chloridem sodným RS. Zahřívá se při 45 °C až 50 °C, dokud není roztok čirý. Po ochlazení se titruje síranem zinečnatým 0,1 mol/l VS do změny modrého zbarvení na fialové. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 4,008 mg Ca.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se v kuželové baňce s nasazeným zpětným chladičem rozpustí v 5 ml fluoridu boritého v methanolu RS a vaří se 10 min pod zpětným chladičem. Přidají se 4 ml heptanu R, znovu se vaří 10 min pod zpětným chladičem a ochladí se. Přidá se 20 ml nasyceného roztoku chloridu sodného R, protřepe se a nechají se oddělit vrstvy. Odeberou se asi 2 ml organické vrstvy a vysuší se nad 0,2 g síranu sodného bezvodého R. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí heptanem R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok za použití 50,0 mg kyseliny stearové CRL a 50,0 mg kyseliny palmitové CRL místo zkoušené látky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony 30 m dlouhé a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou makrogolem 20 000 R (tloušťka filmu 0,5 µm),



na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 90,0 % až 105,0 % peptidu  $C_{145}H_{240}N_{44}O_{48}S_2$ . 1 mg lososího kalcitoninu odpovídá 6000 m.j. účinnosti.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý lehký prášek. Je snadno rozpustný ve vodě.

### Zkoušky totožnosti

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *celulosa pro chromatografii R1*.

*Zkoušený roztok.* 4 mg se rozpustí ve 2 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* (2 + 98). *Připraví se bezprostředně před použitím.*

*Porovnávací roztok.* Obsah lahvičky *lososího kalcitoninu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *kyseliny octové R* a *vody R* (2 + 98) tak, aby se získala koncentrace 2,0 mg/ml. *Připraví se bezprostředně před použitím.*

Na vrstvu se nanese po 1  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *pyridinu R*, *vody R* a *1-butanolu R* (6 + 20 + 24 + 30) po dráze 15 cm. Vrstva se 1 h suší volně na vzduchu, potom se 10 min zahřívá při 110 °C a ještě horká vrstva se postříká čerstvě připraveným *chlornanem sodným RS* zředěným před použitím *vodou R* na koncentraci obsahující v litru 5 g aktivního chloru. Vrstva se suší v proudu studeného vzduchu tak dlouho, až na postříkané části vrstvy pod startem po nanesení kapky *škrobu s jodidem draselným RS* vzniká nejvýše velmi slabě modré zbarvení; další sušení v proudu vzduchu se zastaví. Potom se deska postříká *škrobem s jodidem draselným RS* do zřetelného objevení skvrn. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, barvou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ze zkoušky Příbuzné peptidy. Retenční čas hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá retenčnímu času hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Kyselina octová.** 4,0 % až 15,0 %. Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *dioxanu R* jako vnitřního standardu.

*Zkoušený roztok (a).* Připraví se roztok obsahující 10,0 mg/ml zkoušené látky.

*Zkoušený roztok (b).* Připraví se roztok obsahující 10,0 mg/ml zkoušené látky a 0,1 % (V/V) *dioxanu R*.

*Porovnávací roztok.* Připraví se roztok *kyseliny octové ledové R* (1 g/l) obsahující 0,1 % (V/V) *dioxanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R* (125  $\mu$ m až 180  $\mu$ m),
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 150 °C, teplota detektoru na 200 °C a teplota nástřikového prostoru na 180 °C.

Nastříkne se 1  $\mu$ l každého roztoku. Vypočte se obsah kyseliny octové v lososím kalcitoninu.

**Aminokyseliny.** Stanoví se pomocí analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje pomocí směsi obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a následujících L-aminokyselin:

lysin	histidin	arginin
serin	methionin	kyselina glutamová
isoleucin	prolin	leucin
kyseliny asparagová	alanin	tyrosin
threonin	valin	fenylalanin

společně s polovinou ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, např. *DL-norleucinu R*.

*Zkoušený roztok.* 1,0 mg se smíchá v pečlivě vymyté silnostěnné zkumavce délky 100 mm a vnitřního průměru 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50% (V/V). Zkumavka se ponoří do chladicí směsi při – 5 °C a evakuuje na tlak nižší než 133 Pa. Potom se těsně uzavře a zahřívá 16 h při 110 °C až 115 °C. Po ochlazení se

otevře a obsah se přenesse do 10ml baňky za použití pětkrát 0,2 ml vody R. Potom se obsah baňky odpaří do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*; postup se opakuje ještě jednou. Zbytek se převede do tlumivého roztoku vhodného pro analyzátor aminokyselin a zředí se na vhodný objem stejným tlumivým roztokem.

Přesně změřený vhodný objem zkoušeného roztoku se vpraví do analyzátoru aminokyselin. Objem by měl být takový, aby výška píku nejvíce zastoupené aminokyseliny zaujímala větší část stupnice zapisovače.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v molech. Relativní podíl jednotlivých aminokyselin se vypočte za předpokladu, že dvacetina molárního množství kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, prolinu, glycinu, valinu, leucinu, histidinu, argininu a lysinu se rovná jedné. Relativní obsah jednotlivých aminokyselin je v rozmezí: kyselina asparagová 1,8 až 2,2; kyselina glutamová 2,7 až 3,3; prolin 1,7 až 2,3; glycin 2,7 až 3,3; valin 0,9 až 1,1; leucin 4,5 až 5,3; histidin 0,9 až 1,1; arginin 0,9 až 1,1; lysin 1,8 až 2,2; serin 3,2 až 4,2; threonin 4,2 až 5,2; tyrosin 0,7 až 1,1; polovina množství cystinu 1,4 až 2,1.

**Příbuzné peptidy.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na získaném chromatogramu plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 3,0 % celkové plochy piků. Součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než 5,0 % celkové plochy piků. Nepřihlíží se k píku rozpouštědla a k pikům s plochou menší než 0,1 % plochy hlavního píku.

**Voda.** Nejvýše 10 %. Provede se plynová chromatografie (2.2.28) za použití *methanolu bezvodého R* jako vnitřního standardu.

*Během zkoušky se používají dokonale suché skleněné nádoby (mohou být silikonované).*

*Roztok vnitřního standardu.* 50 µl *methanolu bezvodého R* se zředí 2-propanolem R1 na 100 ml.

*Zkoušený roztok (a).* 2,0 mg se rozpustí v 0,5 ml 2-propanolu R1.

*Zkoušený roztok (b).* 2,0 mg se rozpustí v 0,5 ml roztoku vnitřního standardu.

*Porovnávací roztok.* 10 µl vody R se přidá k 50 ml roztoku vnitřního standardu.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 1 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (180 µm až 250 µm),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- tepelně vodivostního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 114 °C, teplota detektoru na 150 °C. Nastříkne se odděleně zvolené množství každého roztoku. Vypočítá se obsah vody s předpokládanou hustotou (2.2.5) 0,9972 g/cm<sup>3</sup> při 20 °C a s nalezeným množstvím celkového obsahu vody v roztoku vnitřního standardu.

**Kyselina octová a voda.** Nejvýše 20 %. Vypočítá se z hodnot získaných ve zkouškách Kyselina octová a Voda.

**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 1000 m.j. endotoxinu v miligramu lososího kalcitoninu.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* Zkoušená látka se rozpustí v mobilní fázi A tak, aby se získala koncentrace 1,0 mg/ml.

*Porovnávací roztok.* Obsah lahvičky *lososího kalcitoninu CRL* se rozpustí v mobilní fázi A tak, aby se získala koncentrace 1,0 mg/ml.

*Roztok pro rozlišení.* Obsah lahvičky *N-acetyl-cys<sup>1</sup>kalcitonin CRL* se rozpustí ve 400 µl mobilní fáze A a přidá se 100 µl zkoušeného roztoku.

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 s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:

- mobilní fáze A - 3,26 g tetramethylamoniumhydroxidu R se rozpustí v 900 ml vody R, pH se upraví kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,5 a promíchá se s 100 ml acetonitrilu pro chromatografii R, zfiltruje se a odplyní,
- mobilní fáze B - 1,45 g tetramethylamoniumhydroxidu R se rozpustí ve 400 ml vody R, pH se upraví kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,5 a promíchá se s 600 ml acetonitrilu pro chromatografii R, zfiltruje se a odplyní,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	72 → 48	28 → 52	lineární gradient
30 - 32	48 → 72	52 → 28	návrat k počátečním podmínkám
32 - 55	72	28	ustalování

- spektrometrického detektoru, 220 nm.

Teplota kolony se udržuje na 65 °C.

Kolona se ustaluje směsí objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (72 + 28).

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení. Pokud je chromatogram zaznamenán za předepsaných podmínek, relativní retenční čas píku N-acetyl-cys<sup>1</sup>kalcitoninu vztažený k hlavnímu píku je asi 1,15.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími kalcitoninu a N-acetyl-cys<sup>1</sup>kalcitoninu je nejméně 5,0 a faktor symetrie pro pík N-acetyl-cys<sup>1</sup>kalcitoninu není větší než 2,5. Je-li třeba, upraví se počáteční poměr mobilní fáze A a B.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku.

Obsah lososího kalcitoninu se vypočítá z plochy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu (C<sub>145</sub>H<sub>240</sub>N<sub>44</sub>O<sub>48</sub>S<sub>2</sub>) v lososím kalcitoninu CRL. Provede se tangenciální integrace ploch píků.

### Uchovávání

V obalech dobře uzavřených, 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:

- obsah peptidu kalcitoninu (C<sub>145</sub>H<sub>240</sub>N<sub>44</sub>O<sub>48</sub>S<sub>2</sub>),
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.



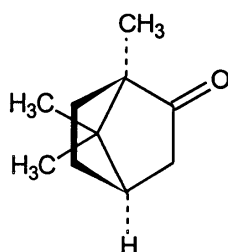
61. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Calendulae flos* doplňuje článek *Camphora D*, který zní:

”

## Camphora D

D-Kafr

2000

*Synonyma.* D-Camphora, Camphora naturalis $C_{10}H_{16}O$  $M_r$  152,24

CAS 464-49-3

Je to (1*R*,4*R*)-1,7,7-trimethylbicyclo[2,2,1]heptan-2-on.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo drolivá krystalická hmota, vysoce těkává i při pokojové teplotě. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96% a petrolejovém etheru, snadno rozpustný v mastných olejích, velmi těžce rozpustný v glycerolu.

### 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. Teplota tání (2.2.14): 175 °C až 179 °C.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem *racemického kafru CRL*.

D. 1,0 g se rozpustí ve 30 ml *methanolu R*, přidá se 1,0 g *hydroxylamoniumchloridu R*, 1,0 g *octanu sodného bezvodého R* a zahřívá se 2 h pod zpětným chladičem k varu. Po ochlazení se přidá 100 ml *vody R*, zfiltruje se, získaná sraženina se promyje 10 ml *vody R* a překrystaluje se z 10 ml směsi objemových dílů *lihu 96% R* a *vody R* (40 + 60). Krystaly vysušené ve vakuu tají (2.2.14) při 118 °C až 121 °C.

### Zkoušky na čistotu

*Navažování je třeba provádět rychle.*

Roztok S. 2,50 g se rozpustí v 10 ml *lihu 96% 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*).

**Kyselce nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Optická otáčivost (2.2.7).** +40,0° až +43,0°; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50 mg zkoušené látky a 50 mg *bornylacetatu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *hexanem R* na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *křemelinou pro chromatografii R* impregnovanou 10 % *makrogolu 20 000 R*,
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 130 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 200 °C.

Nastříkne se odděleně po 1 µl každého roztoku a upraví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu získaném se zkoušeným roztokem byla asi 80 % celé stupnice zapisovače. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času kafru. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky kafru a bornylacetatu je nejméně 1,5; na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) poměr signálu hlavního píku k šumu není menší než 5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch píků, kromě hlavního píku, není větší než 4 % plochy hlavního píku; žádný z píků, kromě hlavního píku, nemá plochu větší než 2 % plochy hlavního píku. Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než jedna desetina plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Halogenidy.** 1,0 g se rozpustí v 10 ml *2-propanolu R* v destilační baňce. Přidá se 1,5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 50 mg *niklu Raneyova R*. Zahřívá se na vodní lázni do odpaření *2-propanolu R*. Po vychladnutí se přidá 5 ml *vody R*, promíchá se a filtruje se přes vlhký filtr, před použitím promývaný *vodou R* do negativní reakce na chloridy. Filtrát se zředí *vodou R* na 10,0 ml. K 5,0 ml se přidává po kapkách *kyselina dusičná R* do rozpuštění vytvořené sraženiny a zředí se *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (2.4.4) (100 µg/g).

**Voda.** 1 g se rozpustí v 10 ml *etheru petrolejového R*; roztok je čirý (2.2.1).

**Zbytek po odpaření.** 2,0 g se odpaří na vodní lázni a 1 h se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C. Zbytek váží nejvýše 1 mg (0,05 %).

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

62. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Carmellosum calcicum zní:

”

## Carmellosum calcicum

Vápenatá sůl karmelosy

*Synonymum.* Vápenatá sůl karboxymethylcelulosity



CAS 9050-04-8

Je to vápenatá sůl částečně O-karboxymethylované celulosy. Může obsahovat nejvýše 0,6 % oxidu křemičitého (SiO<sub>2</sub>).

### Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý prášek, po vysušení hygroskopický. Je prakticky nerozpustná v acetonu, v lihu 96%, v etheru a v toluenu. Ve vodě bobtná a tvoří suspenzi.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 g se důkladně protřepe s 10 ml *vody R*, přidá se 12 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a nechá se 10 min stát (roztok A). 1 ml roztoku A se zředí *vodou R* na 5 ml. K 0,05 ml se přidá 0,5 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (0,5 g/l) v roztoku *kyseliny sírové R* (75%) a 10 min se zahřívá na vodní lázni; vzniká červenofialové zbarvení.
- B. 5 ml roztoku A získaného ve Zkoušce totožnosti A se třepe s 10 ml *acetonu R*; vznikne bílá vločkovitá sraženina.
- C. 5 ml roztoku A získaného ve Zkoušce totožnosti A se třepe s 1 ml *chloridu železitého RS1*; vznikne hnědá vločkovitá sraženina.
- D. 1 g se spálí a zbytek se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny octové R* a 10 ml *vody R*. V případě potřeby se roztok zfiltruje a filtrát se několik minut povaří. Po ochlazení se zneutralizuje *amoniakem zředěným RS1*. Tento roztok vyhovuje zkoušce (a) na vápník (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 1,0 g se třepe s 50 ml *vody destilované R*, přidá se 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 100 ml.

**Zásadité reagující látky.** 1,0 g se důkladně třepe s 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a přidá se 0,05 ml *fenolftaleinu RS*; nevznikne červené zbarvení.

**Oxid křemičitý.** Nejvýše 0,6 %. Ke zbytku získanému ve zkoušce Síranový popel, viz Zkoušky na čistotu, se přidá tolik *lihu 96% R*, aby byl zbytek dokonale zvlhčen. Potom se přidá po malých dávkách 6 ml *kyseliny fluorovodíkové R* a odpaří se opatrně do sucha při 95 °C až 105 °C tak, aby se zabránilo ztrátám prskáním. Po chlazení se stěny platinového kelímku omyjí 6 ml *kyseliny fluorovodíkové R*, přidá se 0,5 ml *kyseliny sírové R* a odpaří se do sucha. Za postupného zvyšování teploty se zbytek spálí při 900 °C, pak se ochladí v exsikátoru a zváží se. Rozdíl mezi hmotností zbytku získaného ve zkoušce Síranový popel a hmotností konečného zbytku odpovídá množství oxidu křemičitého.

**Chloridy (2.4.4).** 20 ml roztoku S se zahřívá na vodní lázni s 10 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, dokud se nevytvoří vločkovitá sraženina. Po ochlazení se odstředí a slije se supernatantní tekutina. Sraženina se promyje třikrát 10 ml *vody R* a pokaždé se znovu odstředí. Supernatantní tekutina se spojí s promývacími tekutinami a zředí se *vodou R* na 100 ml. K 25 ml tohoto roztoku se přidá 6 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 50 ml. 10 ml tohoto roztoku zředěného *vodou R* na 15 ml vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,5 %).

**Sírany (2.4.13).** 20 ml roztoku S se zahřívá na vodní lázni s 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, dokud se nevytvoří vločkovitá sraženina. Po ochlazení se odstředí a slije se supernatantní tekutina. Sraženina se promyje třikrát 10 ml *destilované vody R* a pokaždé se znovu odstředí. Supernatantní tekutina se spojí s promývacími tekutinami a zředí se *vodou destilovanou R* na 100 ml. K 25 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se *vodou destilovanou R* na 50 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na sírany (1 %).

**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 10,0 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** 10,0 % až 20,0 %, počítá se na vysušenou látku; stanoví se s 1,00 g v platinovém kelímku. Látku se zvlhčí směsí stejných objemových dílů *kyseliny sírové R* a *vody R*.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

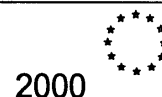
“

63. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Carmellosum natricum conexum* zní:

”

## Carmellosum natricum conexum

Sodná sůl kroskarmelosy



*Synonyma.* Carboxymethylcellulosum natricum conexum, Croscarmellosum natricum, sodná sůl síťované karboxymethylcelulosity

Je to sodná sůl síťované, částečně O-karboxymethylované celulosity.

### Vlastnosti

Bílý nebo nažedlý prášek. Je prakticky nerozpustná v acetonu, v ethanolu a v toluenu.

### Zkoušky totožnosti

A. 1 g se třepe se 100 ml roztoku *modři methylenové R* (4 µg/ml) a pak se nechá směs usadit. Zkoušená látka absorbuje methylenovou modř a usadí se jako modrá vláknitá hmota.

**B.** 1 g se třepe s 50 ml vody R. 1 ml směsi se přenesse 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 po vnitřní stěně se opatrně přidají 2 ml kyseliny sirové R tak, aby se vytvořila spodní vrstva; na rozhraní vrstev vznikne červenofialové zbarvení.

**C.** Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH (2.2.3).** 5,0 až 7,0; měří se suspenze připravená třepáním 1 g se 100 ml vody prosté oxidu uhličitého R po dobu 5 min.

**Stupeň substituce.** 1,000 g se převede do 500ml kuželové baňky, přidá se 300 ml roztoku chloridu sodného R (100 g/l), 25,0 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS, baňka se uzavře a nechá se 5 min stát za občasného zatřepání. Přidá se 0,05 ml purpuru m-kresolového RS a z byřety asi 15 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS. Vloží se zátk a protřepe se. Pokud je roztok fialový, přidává se po 1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS, až je roztok žlutý, třepe se po každém přidání. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS, až se barva změní na fialovou.

Vypočte se počet miliekvivalentů (*M*) zásady potřebné pro neutralizaci 1 g vysušené látky.

Vypočte se stupeň karboxymethyl substituce (*A*) podle vzorce:

$$\frac{1150 \cdot M}{(7102 - 412 \cdot M - 80 \cdot C)}$$

v němž značí:

*C* - síranový popel v procentech.

Vypočte se stupeň natriumkarboxymethyl substituce (*S*) podle vzorce:

$$\frac{(162 + 58 \cdot A) \cdot C}{(7102 - 80 \cdot C)}$$

Stupeň substituce se vypočte jako součet *A* + *S* a pohybuje se mezi 0,60 a 0,85, počítáno na vysušenou látku.

**Chlorid sodný a glykolan sodný.** Součet obsahu chloridu sodného a glykolanu sodného v procentech není větší než 0,5 %, počítáno na vysušenou látku.

**Chlorid sodný.** 5,00 g se převede do 250ml kuželové baňky, přidá se 50 ml vody R, 5 ml peroxidu vodíku koncentrovaného RS a zahřívá se 20 min na vodní lázni za občasného protřepání, aby nastala úplná hydratace. Po ochlazení se přidá 100 ml vody R a 10 ml kyseliny dusičné R a titruje se dusičnanem stříbrným 0,05 mol/l VS za stálého míchání a potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20) za použití stříbrné elektrody jako indikační a dvojité srovnávací elektrody, obsahující roztok dusičnanu draselného R (100 g/l) ve vnějším plášti a naplněné standardním roztokem ve vnitřním plášti.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,05 mol/l VS odpovídá 2,922 mg NaCl.

**Glykolan sodný.** Množství odpovídající 0,500 g vysušené látky se převede do 100ml kádinky, přidá se 5 ml kyseliny octové ledové R a 5 ml vody R. Míchá se, aby nastala úplná hydratace (asi 15 min). Pak se přidá 50 ml acetonu R a 1 g chloridu sodného R. Míchá se několik minut do úplného vysrážení karboxymethylcelulosity. Směs se zfiltruje do odměrné baňky přes řídký papírový filtr smočený acetonem R. Kádinka a filtr se promyjí 30 ml acetonu R, filtrát se zředí acetonem R na 100,0 ml a směs se nechá stát bez třepání 24 h. Čirá supernatantní tekutina se použije jako zkoušený roztok.

Porovnávací roztoky se připraví následujícím způsobem. Ve 100ml odměrné baňce se rozpustí 0,100 g kyseliny glykolové R předem vysušené ve vakuu nad oxidem fosforečným R ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. Roztok je stálý 30 dní. Do odměrných baněk se odměří 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml a 4,0 ml tohoto roztoku, zředí se obsah každé baňky vodou R na 5,0 ml, přidá se 5 ml kyseliny octové ledové R a obsah baněk se zředí acetonem R na 100,0 ml.

2,0 ml zkoušeného roztoku a 2,0 ml každého porovnávacího roztoku se převedou do 25ml odměrných baněk. Otevřené baňky se zahřívají 20 min na vodní lázni do odpaření acetonu. Po ochlazení se přidá do každé baňky 5,0 ml 2,7-dihydroxynafalenu RS, promíchá se a přidá se dalších 15,0 ml 2,7-dihydroxynafalenu RS a znovu se promíchá. Pak se baňky uzavřou hliníkovou fólií a zahřívají se 20 min na vodní lázni. Po ochlazení se obsah baněk zředí kyselinou sirovou R na 25,0 ml.

Měří se absorbance (2.2.25) každého roztoku při 540 nm. Připraví se kontrolní roztok za použití 2,0 ml roztoku obsahujícího 5 % (V/V) kyseliny octové ledové R a 5 % (V/V) vody R v acetonu R. Sestrojí se kalibrační křivka za použití absorbancí porovnávacích roztoků. Z kalibrační křivky a absorbance zkoušeného roztoku se zjistí hmotnost (*a*) kyseliny glykolové ve zkoušené látce v miligramech a množství glykolanu sodného se vypočítá ze vzorce:

$$\frac{10 \cdot 1,29 \cdot a}{(100 - b)m}$$

v němž značí:

1,29 - faktor pro přepočet kyseliny glykolové na glykolan sodný,

*b* - ztrátu sušením v procentech,

*m* - navážku zkoušené látky v gramech.

**Látky rozpustné ve vodě.** Nejvýše 10,0 %. 10,00 g se disperguje v 800,0 ml vody R a prvních 30 min se každých 10 min míchá 1 min. Pak se nechá stát 1 h a v případě potřeby se odstředuje. 200,0 ml supernatantní tekutiny se zfiltruje za použití vakua přes řídký filtrační papír. 150,0 ml získaného filtrátu se odpaří do sucha a suší se 4 h při 100 °C až 105 °C.

**Těžké kovy (2.4.8).** Ke zbytku získanému při zkoušce Síranový popel se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové R a odpaří se na vodní lázni. Odparek se převede do 20 ml vody R. 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 10,0 %; 1,000 g se suší 6 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** 14,0 % až 28,0 %, počítáno na vysušenou látku; stanoví se s 2,000 g za použití směsi stejných objemových dílů kyseliny sírové R a vody R.

**Sedimentační objem.** Do 100ml odměrného válce se odměří 75 ml vody R a přidá se po 0,5 g částech celkem 1,5 g zkoušené látky. Po každém přidání se silně protřepe. Směs se zředí vodou R na 100,0 ml a opět se třepe, pokud látka není homogenně rozptýlena. Pak se nechá 4 h stát. Objem usazené látky je 10,0 ml až 30,0 ml.

**Mikrobiální znečištění.** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10<sup>3</sup> bakterií a 10<sup>2</sup> hub v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* (2.6.13).

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

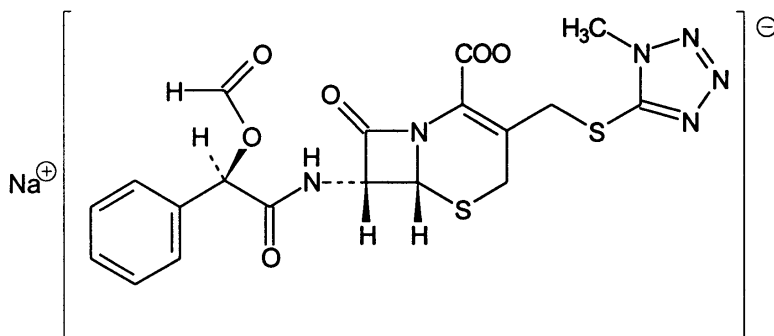
64. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cefalotinum natricum doplňují články Cefamandoli nafas a Cefatrizinum propylenglycolum, které zní:

”

## † Cefamandoli nafas

Cefamandolnafat

2000

C<sub>19</sub>H<sub>17</sub>N<sub>6</sub>NaO<sub>6</sub>S<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 512,49

CAS 42540-40-9

Je to natrium-(6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-fenyl-2-formyloxyacetamido]-3-[[1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl]-thio]methyl}-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat. Obsahuje uhličitán sodný. Počítáno na bezvodou a uhličitánu sodného prostou látku, obsahuje 84,0 % až 93,0 % cefamandolu (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>; M<sub>r</sub> 462,51).

### Výroba

Pokud je vyráběn způsobem, který může v látce zanechat zbytky kyseliny 2-ethylhexanové, vyhovuje následující zkoušce:

**Kyselina 2-ethylhexanová (2.4.28).** Nejvýše 0,3 %.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *cefamandolnafatu CRL*.

**B.** Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,5 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 roztoku S měřená při 475 nm (2.2.25) není větší než 0,03.

**Hodnota pH.** 6,0 až 8,0; měří se roztok S po 30 min.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** Měří se roztok připravený takto: 1,00 g se rozpustí v *tlumivém roztoku octanovém o pH 4,7 R* a zředí se jím na 10,0 ml. Specifická optická otáčivost je  $-25,0^\circ$  až  $-33,0^\circ$ , počítáno na bezvodou látku prostou uhličitánu sodného.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). *Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.*

**Rozpouštěcí směs.** Smíchají se objemové díly *acetonitrilu R* a roztoku *triethylaminu R* 10% (V/V), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5 (18 + 75).

**Zkoušený roztok.** 0,100 g zkoušené látky se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 10 ml. Roztok se 30 min zahřívá při  $60^\circ\text{C}$ .

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného 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  $\mu\text{m}$ ),

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min:

*Roztok triethylamoniumfosfatu:* 2,0 g *pentansulfonanu sodného R* se rozpustí ve 350 ml *vody R*, přidá se 40 ml *triethylaminu R*, pH se upraví na hodnotu 2,5 *kyselinou fosforečnou R* a zředí se *vodou R* na 700 ml,

- *mobilní fáze A* - smíchají se objemové díly roztoku *triethylamoniumfosfatu* a *vody R* (1 + 2),

- *mobilní fáze B* - smíchají se objemové díly roztoku *triethylamoniumfosfatu*, *methanolu R* a *acetonitrilu R* (1 + 1 + 1),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 1	100	0	izokraticky
1 - 35	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
35 - 45	0	100	izokraticky
45 - 50	0 → 100	100 → 0	lineární gradient

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou hlavních píků byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píky cefamandolu a cefamandoln-fatu je nejméně 5,0. Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního a píku cefamandolu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %) a součet ploch všech takových píků není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Cefamandol (volná kyselina).** Nejvýše 9,5 %, počítáno na bezvodou látku prostou uhličitánu sodného. Stanoví se kapalinovou chromatografií postupem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Uhličitán sodný.** 4,8 % až 6,4 %. 0,500 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 10,6 mg  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 2,0 %; 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 0,15 m.j. endotoxinu v miligramu.



## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.

*Zkoušený roztok.* 50,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50,0 mg cefamandolnafatu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 10 ml a zahřívá se 30 min při 60 °C.

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 triethylaminu R 10% (V/V) s předem upraveným pH na hodnotu 2,5 kyselinou fosforečnou R (25 + 75); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou píků byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi dvěma píky je nejméně 7,0. Je-li to nutné, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi. Šestkrát se nastříkne porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, pokud relativní směrodatná odchylka plochy píku cefamandolnafatu je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

Obsah cefamandolu (C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub>) v procentech se vypočte ze součtu obsahů cefamandolnafatu a cefamandolu volné kyseliny. 1 mg cefamandolnafatu odpovídá 0,9025 mg cefamandolu.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

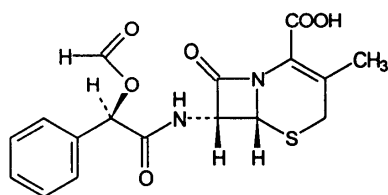
Separandum.

## Označování

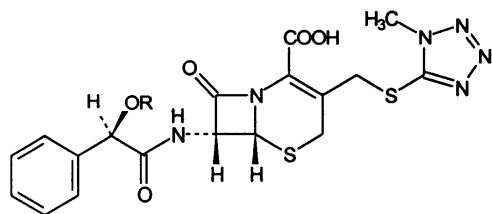
V označení na obalu se uvede:

- že látka obsahuje uhličitan sodný,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

## Nečistoty

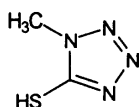


A. kyselina (6R,7R)-7-[(2R)-2-fenyl-2-formyloxyacetamido]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (kyselina formylmandeloyl-7-amino-deacetoxycefalosporanová),

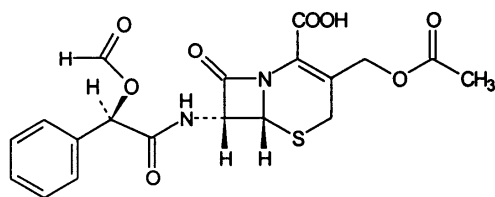


B. R = H: kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-fenyl-2-hydroxyacetamido]-3-[[1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová [cefamandol (volná kyselina)],

C. R = H<sub>3</sub>C-CO: kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-acetoxy-2-fenylacetamido]-3-[[1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (O-acetylcefamandol),



D. 1-methyl-1*H*-tetrazol-5-thiol,



E. kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-fenyl-2-formyloxyacetamido]-3-acetoxymethyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (formylmandeloyl-7-ACA).

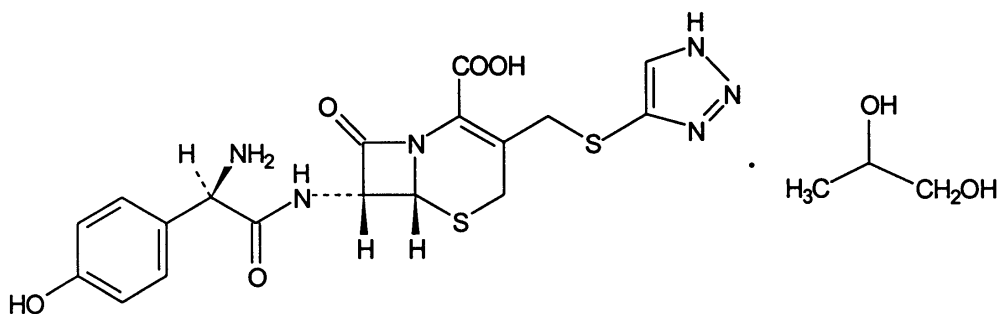
## † Cefatrizinum propylenglycolum

Cefatrizin-propylenglykol

2000



*Synonymum.* Cefatrizini propylen glycolum



C<sub>18</sub>H<sub>18</sub>N<sub>6</sub>O<sub>5</sub>S<sub>2</sub> · (C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>2</sub>)<sub>n</sub>

M<sub>r</sub> 462,51 (báze)

CAS 64217-62-5

Je to cefatrizin a 1,2-propandiol v molekulárním poměru asi 1 : 1. Cefatrizin je kyselina (6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido]-8-oxo-3-[[1*H*-1,2,3-triazol-4-yl]thio]methyl]-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová.

Počítáno na bezvodou a propylenglykolu prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % cefatrizinu  $C_{18}H_{18}N_6O_5S_2$ ;  $M_r$  462,51). Obsahuje 13,0 % až 18,0 % propylenglykolu.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

## Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *cefatrizinpropylenglykolu CRL*.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Propylenglykol, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $+63^\circ$  až  $+69^\circ$ , počítáno na bezvodou a propylenglykolu prostou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,400 g v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20,0 ml.

**Propylenglykol**. 13,0 % až 18,0 %. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *dimethylacetamidu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu*. 1,0 g *dimethylacetamidu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

*Zkoušený roztok*. 0,40 g se převede do zkumavky se zabroušenou zátkou, přidají se 3,0 ml roztoku vnitřního standardu, 1,0 ml směsi objemových dílů *acetonu R* a *vody R* (20 + 80) a 2,0 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Zkumavka se uzavře a roztok se protřepe.

*Porovnávací roztok (a)*. 2,0 g *propylenglykolu R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonu R* a *vody R* (20 + 80) a zředí se stejným rozpouštědlem na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se převede do zkumavky se zabroušenou zátkou a přidá se 1,0 ml roztoku vnitřního standardu.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R* (150  $\mu$ m až 180  $\mu$ m),
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu o průtokové rychlosti asi 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 200 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 250 °C.

Nastříkne se odděleně 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 1  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b).

**7-ACA triazol nebo jiné příbuzné látky**. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) popsaná ve zkoušce Stanovení obsahu. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu získaného s 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající nejméně dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku odpovídajícího cefatrizinu nečistotě A není větší než plocha píku cefatrizinu nečistoty A na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku cefatrizinu nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,6 %); součet ploch takových píků není větší než 3,5násobku plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2,1 %). Nepřihlíží se k žádnému píku s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). Nejvýše 1,5 %, 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

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 60,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 60,0 mg cefatrizin-propylenglykolu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 30,0 mg cefatrizinu nečistoty A CRL se rozpustí v tlumivém roztoku o pH 7,0 a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 0,6 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí tlumivým roztokem o pH 7,0 na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* K 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) 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 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu draselného R (2,72 g/l) (5 + 95); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 272 nm.

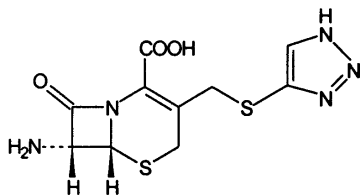
Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch píku nevyšší 1,0 %. Nastříkne se porovnávací roztok (e). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem cefatrizinu a píkem cefatrizinu nečistoty A je nejméně 5,0.

Nastříkuje se střídavě 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a) a vypočítá se obsah cefatrizinu v procentech za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Uchovávání

Separandum.

## Nečistoty



A. kyselina 7-amino-(6R,7R)-3-[(1H-1,2,3-triazol-4-yl)thio]methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová (7-ACA triazol).

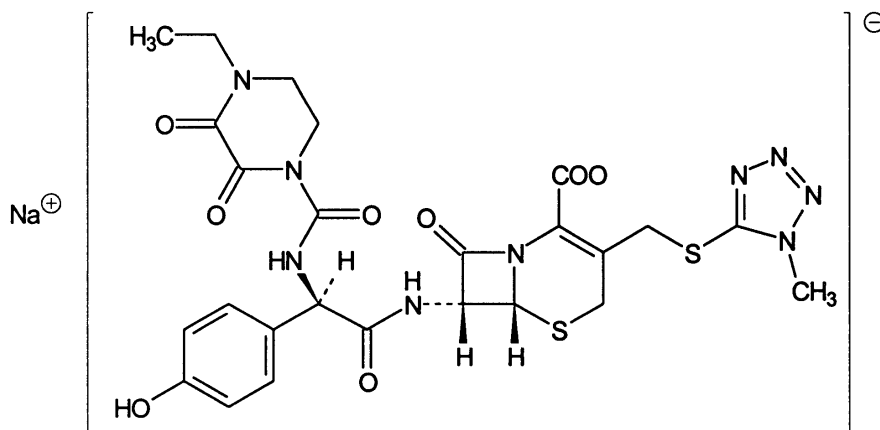
65. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cefiximum trihydricum doplňuje článek Cefoperazonum natricum, který zní:

”

## † Cefoperazonum natricum

Sodná sůl cefoperazonu

2000



$C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$

$M_r$  667,65

CAS 62893-20-3

Je to natrium-(6*R*,7*R*)-7-[(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonyl]amino]-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido}-3-[[1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl]thio]methyl}-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo [4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat. Počítáno na bezvodou a acetonu prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek, hygroskopický. Je snadno rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v methanolu, těžce rozpustná v lihu 96%.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

- Zkoušená látka se rozpustí v *methanolu R* a odpaří se do sucha. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *referenčního spektra Ph. Eur. sodné soli cefoperazonu*.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídají retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 2,5 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 25,0 ml. Tento roztok je čirý (2.2.1). Absorbance roztoku měřeného při 430 nm (2.2.25) je nejvýše 0,15.

**Hodnota pH (2.2.3).** 4,5 až 6,5; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,5 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) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající nejméně 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %); součet ploch všech takových píků není větší než 4,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (4,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Aceton.** Nejvýše 2,0 %; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28) za použití metody standardního přídatku.

**Zkoušený roztok.** 0,500 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

**Roztok rozpouštědla.** 0,350 g acetonu 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.

Do lahvíček se připraví 4 roztoky podle níže uvedené tabulky:

Číslo lahvičky	Zkoušený roztok (ml)	Roztok rozpouštědla	Voda R (ml)
1	1,0	0	4,0
2	1,0	1,0	3,0
3	1,0	2,0	2,0
4	1,0	3,0	1,0

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití Systému B podle zkoušky na zbytková rozpouštědla (2.4.24) s následujícími podmínkami pro statický head-space nástřík:

- doba ustalování: 15 min,
- teplota spojovacího vedení: 110 °C,
- udržování teploty kolony na 40 °C po dobu 10 min.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (5 µg/g).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 0,200 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 0,20 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.*

**Zkoušený roztok (a).** 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 250,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg cefoperazondihydrátu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 250,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) 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 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů vody R, acetonitrilu R, roztoku kyseliny octové R (60 g/l), roztoku triethylamoniumacetátu připraveného zředěním 14 ml triethylaminu R a 5,7 ml kyseliny octové ledové R vodou R na 100 ml (884 + 110 + 3,5 + 2,5); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Pokud jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, je retenční čas cefoperazonu asi 15 min. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na tomto chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) počet teoretických pater počítaných pro hlavní pík nejméně 5000 a faktor symetrie píku je nevyšší 1,6. V případě potřeby se upraví množství *acetonitrilu R* v mobilní fázi.

Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch píku nejvyšší 1,0 %. Nastříkují se střídavě zkoušený roztok (a) a porovnávací roztok (a).

Obsah sodné soli cefoperazonu v procentech se vypočítá vynásobením procentuálního obsahu cefoperazonu faktorem 1,034.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu, chráněna před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilním vzduchotěsném zabezpečeném obalu.

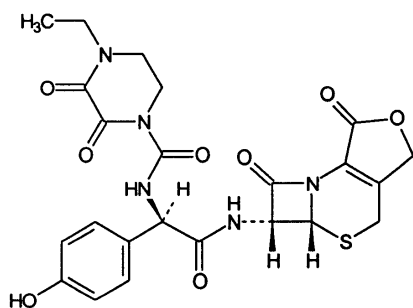
Separandum.

### Označování

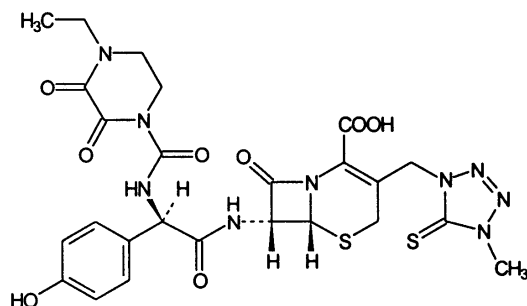
V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

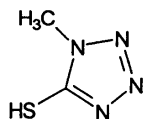
### Nečistoty



A. (2*R*)-*N*-[(5*aR*,6*R*)-1,7-dioxo-1,4,6,7-tetrahydro-3*H*,5*aH*-azeto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-6-yl]-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonylamino]-2-(4-hydroxyfenyl)acetamid,



B. kyselina (6*R*,7*R*)-7-{(2*R*)-2-[[4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl]karbonylamino]-2-(4-hydroxyfenyl)acetamido}-3-[(4-methyl-5-thio-4,5-dihydro-1*H*-tetrazol-1-yl)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylová,

C. 1-methyl-1*H*-tetrazol-5-thiol.

“

66. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cefradinum doplňuje článek Ceftazidimum pentahydricum, který zní:

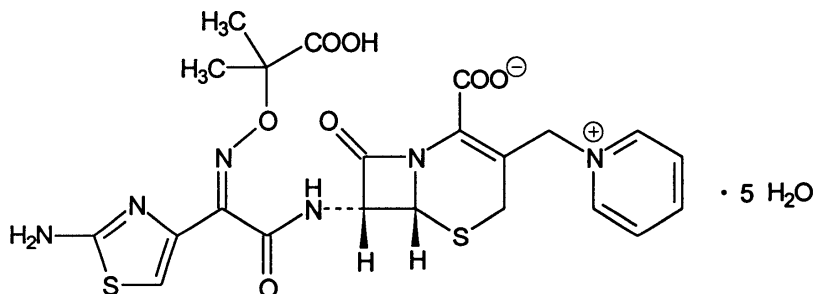
”

## † Ceftazidimum pentahydricum

Pentahydrát ceftazidimu

*Synonymum.* Ceftazidimum

2000



$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2 \cdot 5H_2O$

$M_r$  636,65

CAS 78439-06-2

Je to pentahydrát (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido]-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylátu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě a v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu a v lihu 96%. Rozpouští se v kyselých a zásaditých roztocích.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem pentahydrátu ceftazidimu CRL.



## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,25 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*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,0 až 4,0; měří se roztok S.

### Příbuzné látky.

**A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 0,100 g se rozpustí v roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (36 g/l) a zředí se jím na 2,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí roztokem *hydrogenfosforečnanu sodného R* (36 g/l) na 200 ml.

Na vrstvu se nanese po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *1-butanolu R*, *tlumivého roztoku octanového o pH 4,5*, *butylacetatu R* a *kyseliny octové ledové R* (6 + 26 + 32 + 32) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudě teplého vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než hlavní skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %).

**B.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,100 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 g *ceftazidimu 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 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg *ceftazidimu nečistoty A CRL* a 5 mg *ceftazidimu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (22,6 g/l) s pH upraveným na hodnotu 3,9 roztokem *kyseliny fosforečné R* (10% V/V) (7 + 93); průtoková rychlost je 1,3 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 255 nm.

Teplota kolony se udržuje při 35 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou píků na chromatogramu byly alespoň 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píkem *ceftazidimu* a píkem *ceftazidimu nečistoty A* na získaném chromatogramu je nejméně 5,9. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu trojnásobku retenčního času *ceftazidimu*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než polovina plochy hlavního 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) (2 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Pyridin.** Nejvýše 500 µg/g, stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Roztoky se připraví bezprostředně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 0,500 g se rozpustí v roztoku *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (4)* (10 % V/V) a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 1,00 g *pyridinu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 200,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 10 ml *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (4)* a zředí se *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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (28,8 g/l) s předem upraveným pH *amoniakem 17,5% R* na hodnotu 7,0, *acetonitrilu R* a *vody R* (10 + 30 + 60); průtoková rychlost je 1,6 ml/min,

- spektrofotometrického detektoru, 255 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Porovnávací roztok se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, pokud relativní směrodatná odchylka plochy hlavního píku je nejvýše 3,0 %. Střídavě se nastříkuje 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 13,0 % až 15,0 %; stanoví se s 0,200 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 0,10 m.j. endotoxinu v miligramu.

### Stanovení obsahu

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.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg *ceftazidimu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 mg *ceftazidimu nečistoty A CRL* se rozpustí v 5,0 ml porovnávacího roztoku (a).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem hexylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: 4,26 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 2,73 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 980 ml *vody R*, pak se přidá 20 ml *acetonitrilu R*; průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 245 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou hlavních píků na získaném chromatogramu byly nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píkem *ceftazidimu* a píkem *ceftazidimu nečistoty A* je nejméně 1,0. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok a porovnávací roztok (a). Vypočte se obsah *ceftazidimu* v procentech.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

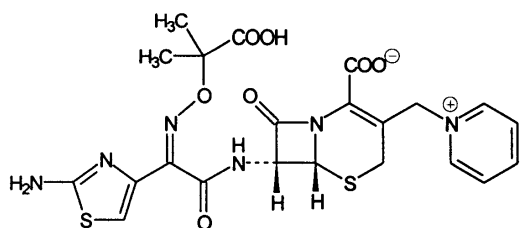
Separandum.

### Označování

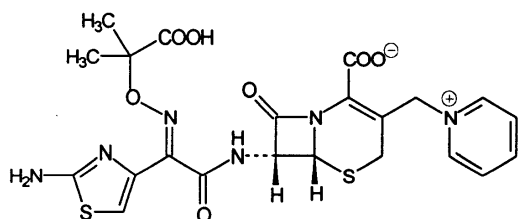
V označení na obalu se uvede, zda je látka:

- sterilní,
- prostá bakteriálních endotoxinů.

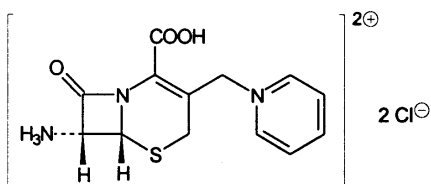
## Nečistoty



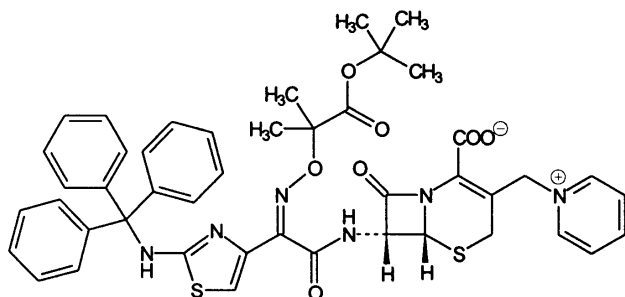
- A. (6*R*,7*R*)-7-{{(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido}-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-3-en-2-karboxylat (delta-2-ceftazidim),



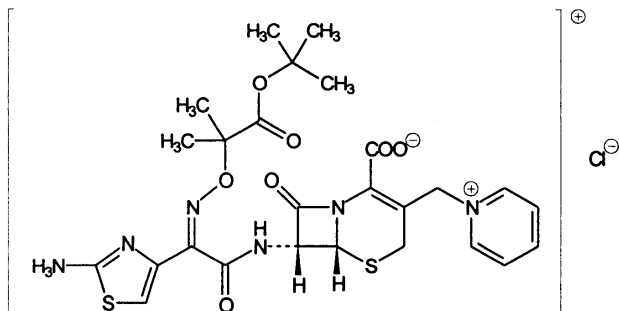
- B. (6*R*,7*R*)-7-{{(E)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-karboxy-1-methylethoxy)imino]acetamido}-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat,



- C. (6*R*,7*R*)-2-karboxy-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-7-ylamoniumdichlorid,



- D. (6*R*,7*R*)-7-{{(Z)-2-[2-((trifenylmethyl)amino)thiazol-4-yl]-2-[(1,1-dimethyl-2-oxo-2-terc.butoxyethoxy)imino]acetamido}-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyklo[4,2,0]okt-2-en-2-karboxylat,



E. 4-{{2-oxo-2-[[2-karboxylato-8-oxo-3-(1-pyridinio)methyl-5-thia-1-azabicyclo[4,2,0]okt-2-en-7-yl]amino-[(Z)-1-[(1,1-dimethyl-2-oxo-2-terc.butoxyethoxy)imino]ethyl}thiazol-2-yl]amoniumchlorid,

F. pyridin.

“

67. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Celiprololi hydrochloridum doplňuje článek Cellaburatum, který zní:

”

## Cellaburatum

Celaburat

*Synonymum.* Cellulosi acetas butyras

2000



CAS 9004-36-8

Je to částečně nebo úplně O-acetylovaná a O-butyrylovaná celuloza. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 2,0 % až 30,0 % acetylových skupin (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O) a 16,0 % až 53,0 % butyrylových skupin (C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O). Obsah acetylových skupin a obsah butyrylových skupin jsou oba 90,0 % až 110,0 % deklarovaného obsahu, počítáno na vysušenou látku.

### Vlastnosti

Bílý nažloutlý nebo naředlý prášek nebo granule. Je slabě hygroskopický, prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu, v kyselině mravenčí a ve směsi stejných objemových dílů methanolu a dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. celaburatu*.

Intenzity pásů se mohou měnit v závislosti na stupni substituce.

B. Zkouška Stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Kyselé reagující látky.** K 5,00 g v 250ml kuželové baňce se přidá 150 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, baňka se uzavře, suspenze se opatrně zamíchá, nechá se stát 3 h a potom se zfiltruje. Baňka i filtr se promyjí *vodou prostou oxidu uhličitého R*, promývací tekutina se spojí s filtrátem a přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebují nejvýše 3,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F 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 2,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** K 1,000 g v 500ml kuželové baňce se přidá 100 ml *acetonu R* a 10 ml *vody R*. Baňka se uzavře a obsah se míchá na magnetické míchačce až do úplného rozpuštění. Za stálého míchání se přidá 30,0 ml *hydroxidu sodného 1 mol/VS*. Baňka se uzavře a obsah se míchá na magnetické míchačce 30 min. Přidá se 100 ml *vody R* horké 80 °C, stěny baňky se opláchnou a míchá se ještě 2 min. Po ochlazení se suspenze odstředí nebo zfiltruje a zbytek se promyje *vodou R*. Promývací tekutina se spojí s filtrátem, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 3 (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 500,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,200 g *kyseliny octové ledové R* a 0,400 g *kyseliny máselné R* se rozpustí ve *vodě R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 3 (2.2.3) a zředí se *vodou R* na 500,0 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 *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,0 (1)* (5 + 95). Složení mobilní fáze se po 30 min změní lineárním gradientem na směs *methanolu R* a *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,0 (1)* (20 + 80) během 5 min a promývá se dalších 25 min. Počáteční složení směsi se obnovuje 1 min; průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Nastříkne se postupně 20 µl porovnávacího roztoku a 20 µl zkoušeného roztoku.

Z ploch píků na získaných chromatogramech se vypočítá obsah *kyseliny octové* a *kyseliny máselné* v procentech.

Obsah acetylových (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O) a butyrylových (C<sub>4</sub>H<sub>7</sub>O) skupin vyjádřený v procentech se vypočítá vynásobením procentuálního obsahu *kyseliny octové*, respektive *máselné* koeficientem 0,717, respektive 0,807.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede obsah acetylových a butyrylových skupin v procentech.

68. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cellulosi acetatas zní:

”

## Cellulosi acetatas

Acetat celulosy



CAS 9004-35-7

Je to částečně nebo úplně O-acetylovaná celuloza. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 29,0 % až 44,8 % acetylových skupin ( $C_2H_3O$ ). Obsah acetylových skupin je 90,0 % až 110,0 % jmenovitého obsahu, počítáno na vysušenou látku.

### Vlastnosti

Bílý nažloutlý nebo naředlý prášek nebo granule, hygroskopický. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v lihu 96%, dobře rozpustný v acetonu, v kyselině mravenčí a ve směsi stejných objemových dílů methanolu a dichlormethanu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. acetatu celulosy.

### Zkoušky na čistotu

**Volné kyseliny.** Nejvýše 0,1 %; počítáno jako kyselina octová na vysušenou látku. K 5,00 g v 250ml kuželové baňce se přidá 150 ml vody prosté oxidu uhličitého R, baňka se uzavře, suspenze se opatrně zamíchá, nechá se 3 h stát a potom se zfiltruje. Baňka a filtr se promyjí vodou prostou oxidu uhličitého R, promývací tekutina se spojí s filtrátem a přidá se 0,1 ml fenolftaleinu RS1. Titruje se hydroxidem sodným 0,01 mol/l VS do slabě růžového zbarvení.

1 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS odpovídá 0,6005 mg volné kyseliny, počítáno jako kyselina octová.

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10  $\mu$ g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů je nejvýše  $10^3$  mikroorganismů v gramu z toho 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

#### A. Pro acetat celulosy obsahující nejvýše 42,0 % acetylových skupin.

Ke 2,000 g v 500ml kuželové baňce se přidá 100 ml acetonu R a 10 ml vody R. Baňka se uzavře a míchá se na magnetické míchačce do úplného rozpuštění. Přidá se 30,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS za stálého míchání. Baňka se uzavře a míchá se na magnetické míchačce 30 min. Potom se přidá 100 ml vody R zahřáté na 80 °C, stěny baňky se opláchnou a míchá se ještě 2 min a ochladí se na pokojovou teplotu. Titruje se kyselinou sírovou 0,5 mol/l VS za použití 0,1 ml fenolftaleinu RS jako indikátoru. Provede se slepá zkouška.

Obsah acetylových skupin vyjádřený v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{4,305 \cdot (n_2 - n_1)}{(100 - d) \cdot m},$$

v němž značí:

$d$  - ztrátu sušením v procentech,

$m$  - navážku zkoušené látky v gramech,

$n_1$  - spotřebu kyseliny sírové 0,5 mol/l VS zjištěnou při titraci v mililitrech,

$n_2$  - spotřebu kyseliny sírové 0,5 mol/l VS zjištěnou při slepé zkoušce v mililitrech.

**B. Pro acetat celulosy obsahující více než 42,0 % acetylových skupin.**

Ke 2,000 g v 500ml kuželové baňce se přidá 30 ml dimethylsulfoxidu R a 100 ml acetonu R. Baňka se uzavře a míchá se na magnetické míchačce 16 h. Přidá se 30,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS za stálého míchání. Baňka se uzavře a míchá se na magnetické míchačce 6 min. Potom se nechá 60 min stát bez míchání. Potom se přidá 100 ml vody R zahřáté na 80 °C, stěny baňky se opláchnou, míchá se ještě 2 min a ochladí se na pokojovou teplotu. Titruje se kyselinou chlorovodíkovou 0,5 mol/l VS za použití 0,1 ml fenolftaleinu RS jako indikátoru. Přidá se 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l VS jako nadbytek, 5 min se míchá a potom se nechá 30 min stát. Titruje se hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS do trvalého růžového zbarvení za míchání na magnetické míchačce. Vypočítá se počet miliekvivalentů spotřebovaného hydroxidu sodného, v úvahu se vezme průměr ze dvou slepých titrací.

Obsah acetylových skupin vyjádřený v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{4,305 \cdot n}{(100 - d) \cdot m},$$

v němž značí:

$d$  - ztrátu sušením v procentech,

$m$  - navážku zkoušené látky v gramech,

$n$  - počet miliekvivalentů hydroxidu sodného.

**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech.

**Označování**

V označení na obalu se uvede jmenovitý obsah acetylových skupin v procentech.

69. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cetostearamacrogolum zní:

”

## Cetostearamacrogolum

Cetostearamakrogol

*Synonymum.* Macrogoli aether cetostearylicus



Je to směs etherů směsných makrogolů s lineárními mastnými alkoholy, hlavně cetylstearylalkoholem. Může obsahovat volné makrogoly a proměnné množství volného cetylstearylalkoholu. Množství ethylenoxidu zreagovaného s cetylstearylalkoholem je 2 až 33 oxyethylenových jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota).

### Vlastnosti

Bílá nebo nažloutle bílá voskovitá mazlavá hmota, pelety, mikrokuličky nebo vločky.

Cetostearamakrogol s nízkým počtem oxyethylenových jednotek v molekule je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Cetostearamakrogol s vyšším počtem oxyethylenových jednotek v molekule je dispergovatelný nebo dobře rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Tuhne při 32 °C až 52 °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 zmydlení, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

D. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu.

*Zkoušený roztok.* Množství zkoušené látky podle následující tabulky 1 se rozpustí ve směsi objemových dílů vody *R* a methanolu *R* (1 + 9) a zředí se touto směsí na 75 ml.

Tab. 1.

Počet oxyethylenových jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota)	Navážka (g)
2 - 6	5,0
10 - 22	10,0
25 - 33	15,0

Přidá se 60 ml hexanu *R* a protřepává se 3 min. Tvorbu pěny lze potlačit přidávkem několika kapek lihu 96% *R*. Hexanová vrstva se zfiltruje přes síran sodný bezvodý *R*, filtr se promyje třikrát 10 ml hexanu *R* a spojené filtráty se odpaří do sucha. 0,05 g vysušeného zbytku se rozpustí v 10 ml methanolu *R* (v některých případech roztok opalizuje).

*Porovnávací roztok.* 25 mg stearylalkoholu *CRL* se rozpustí v methanolu *R* a zředí se jím na 25 ml.

Odděleně se nanese po 20 µl zkoušeného a porovnávacího roztoku a vyvíjí se ethylacetatem *R* po dráze 15 cm. Vrstva se usuší a postříká zkoumadlem vanilin-kyselina sírová připraveným následujícím způsobem: 0,50 g vanilinu *R* se rozpustí v 50,0 ml lihu 96% *R* a zředí se kyselinou sírovou *R* na 100,0 ml. Pak se vrstva usuší na vzduchu,



zahřívá se 15 min při asi 130 °C a nechá se vychladnout na vzduchu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je několik skvrn, z nichž jedna 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); vznikne sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 5,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 50 ml. Tento roztok není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>5</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Zásaditě reagující látky.** 2,0 g se rozpustí v horké směsi 10 ml *vody R* a 10 ml *lihu 96% R* a přidá se 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté 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.

**Číslo hydroxylové (2.5.3, *Metoda A*).** Viz hodnoty uvedené v tabulce 2.

Tab. 2.

Počet oxyethylenových jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota)	Číslo hydroxylové
2	150 - 180
3	135 - 155
5 - 6	100 - 134
10	75 - 90
12	67 - 77
15	58 - 67
20 - 22	40 - 55
25	36 - 46
30 - 33	32 - 40

**Číslo jodové (2.5.4).** Nejvýše 2,0.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** Nejvýše 3,0; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

**Ethylenoxid a dioxan (2.4.25).** Nejvýše 1 µg/g ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g dioxanu. K výpočtu obsahu dioxanu se použije korekční faktor 1/5.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede počet oxyethylenových jednotek na molekulu cetylstearylalkoholu (jmenovitá hodnota).

70. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Chymotrypsinum zní:

”

## Chymotrypsinum<sup>1)</sup>

Chymotrypsin



CAS 9004-07-3

Je to proteolytický enzym získaný aktivací chymotrypsinogenu extrahovaného z hovězích slinivek (*Bos taurus L.*). Jeho účinnost je nejméně 5,0 mikrokatalů v miligramu. Nejvyšší účinnost je v roztoku při hodnotě pH asi 8; při hodnotě pH 3 je účinnost reverzibilně snížena, ale látka je nejstabilnější.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Zvířata, ze kterých se chymotrypsin získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.

Musí se dokázat, v jakém rozsahu dovolí výrobní postup inaktivaci nebo odstranění jakékoliv kontaminace viry nebo jinými původci infekce.

Metoda výroby se validuje, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následující zkoušce.

**Histamin (2.6.10).** Nejvýše 1 µg na 5 mikrokatalů chymotrypsinové účinnosti, počítáno jako histaminová báze. Před stanovením se zkoušený roztok zahřívá 30 min na vodní lázni.

### Vlastnosti

Bílý krystalický nebo amorfní prášek. Je mírně rozpustný ve vodě. Amorfní forma je hygroskopická.

### Zkoušky totožnosti

**A.** 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí vodou R na 10 ml. Na bílé kapkovací destičce se smíchá v jamce 0,05 ml tohoto roztoku s 0,2 ml roztoku substrátu; vzniká fialově červené zbarvení.

*Roztok substrátu pro zkoušky totožnosti.* K 24,0 mg acetyltirosinethylesteru R se přidá 0,2 ml lihu 96% R a míchá se až do rozpuštění. Přidají se 2,0 ml tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,067 mol/l), 1 ml červeně methylové směsného indikátoru RS a směs se zředí vodou R na 10,0 ml.

**B.** 0,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 5 ml. Přidá se 0,10 ml roztoku tosylfenylalanylchlormethanu R (20 g/l) v lihu 96% R, upraví se pH na hodnotu 7,0 a 2 h se třepe. V jamce bílé kapkovací destičky se smíchá 0,05 ml tohoto roztoku s 0,2 ml roztoku substrátu, viz Zkouška totožnosti A; do 3 min nevznikne žádné zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,10 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 10,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

**Hodnota pH (2.2.3).** 3,0 až 5,0; měří se roztok S.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 52 (2000). Závazné od 1. 1. 2000

**Absorbance (2.2.25).** 30,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. Roztok vykazuje absorpční maximum při 281 nm a minimum při 250 nm. Specifická absorbance v maximu je 18,5 až 22,5 a v minimu není větší než 8.

**Trypsin.** Do jamky bílé kapkovací destičky se přidá 0,05 ml *tlumivého roztoku trometamolového o pH 8,1* a 0,1 ml roztoku S. Ke směsi se přidá 0,2 ml roztoku substrátu (zkoušený roztok). Současně a za stejných podmínek se připraví porovnávací roztok obsahující zkoušenou látku, ke které bylo přidáno nejvýše 1 % *trypsinu BRP*. Měří se čas; zkoušený roztok se během 3 min až 5 min po přidání roztoku substrátu nezbarví. Porovnávací roztok se zbarví fialově červeně.

*Roztok substrátu.* K 98,5 mg *tosylargininiummethylesterchloridu R* vhodného pro stanovení trypsinu se přidá 5 ml *tlumivého roztoku trometamolového o pH 8,1* a míchá se do rozpuštění. Potom se přidá 2,5 ml *červeně methylové směsného indikátoru RS* a zředí se *vodou R* na 25,0 ml.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 0,100 g se suší 2 h při 60 °C při tlaku nepřesahujícím 0,7 kPa.

### Stanovení účinnosti

Účinnost se stanoví porovnáním rychlosti, s jakou hydrolyzuje zkoušená látka *acetyltirosinethylester R*, s rychlostí, s jakou hydrolyzuje *chymotrypsin BRP* za stejných podmínek stejný substrát.

*Přístrojové vybavení.* Použije se reakční nádobka o objemu asi 30 ml vybavená:

- zařízením udržující teplotu při  $(25,0 \pm 0,1)$  °C,
- míchadlem, např. elektromagnetickým,
- víkem s otvory pro elektrody, byretu, přívodu dusíku a pro přidávání zkoumadel.

Lze použít manuální nebo automatické titrační zařízení. Při manuální titraci se použije byreta dělená po 0,005 ml a pH-metr s dostatečnou citlivostí se skleněnou a kalomelovou elektrodou.

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 250,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 25,0 mg *chymotrypsinu BRP* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 250,0 ml.

Roztoky se uchovávají při 0 °C až 5 °C. 1 ml každého roztoku se ohřeje na asi 25 °C a po 15 min se z každého roztoku použije 50 µl (odpovídá asi 25 nanokatalům) k titraci. Titrace se provádí v dusíkové atmosféře. Do reakční nádoby se přidá 10,0 ml roztoku *chloridu vápenatého 0,01 mol/l RS* a za míchání 0,35 ml *acetyltirosinethylesteru 0,2 mol/l RS*. Když je teplota ustálena na  $(25,0 \pm 0,1)$  °C (asi po 5 min), upraví se pH přesně na hodnotu 8,0 *hydroxidem sodným 0,02 mol/l VS*. Přidá se 50 µl zkoušeného roztoku (odpovídá asi 5 µg zkoušené látky) a měří se stopkami čas. Udrhuje se pH na hodnotě 8,0 přidáváním *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* a zaznamenává se objem přidaného roztoku po 30 s. Vypočítá se spotřeba *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* za sekundu mezi 30 s a 210 s. Za stejných podmínek se provede titrace s porovnávacím roztokem a stanoví se spotřeba *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* za sekundu.

Vypočítá se účinnost v mikrokatalech na mg podle vzorce:

$$\frac{m' \cdot V}{m \cdot V'} \cdot A,$$

v němž značí:

*m* - navážku zkoušeného látky v miligramech,

*m'* - navážku *chymotrypsinu BRP* v miligramech,

*V* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* za sekundu u zkoušeného roztoku,

*V'* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS* za sekundu u porovnávacího roztoku,

*A* - účinnost *chymotrypsinu BRP* v mikrokatalech na miligram.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech při teplotě 2 °C až 8 °C, chráněn před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- množství *chymotrypsinu* a celková účinnost v mikrokatalech na balení,

- že amorfni látka je hygroskopická.

“

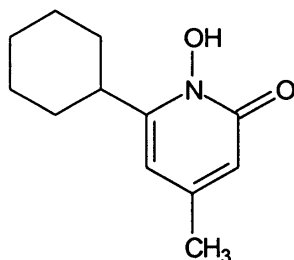
71. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cetylpyridinii chloridum monohydricum doplňuje článek Ciclopiroxum, který zní:

”

## † Ciclopiroxum

Cyklopirox

2000



$C_{12}H_{17}NO_2$

$M_r$  207,27

CAS 29342-05-0

Je to 6-cyklohexyl-1-hydroxy-4-methylpyridin-2(1H)-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{17}NO_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo slabě nažloutlý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ethanolu 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): 140 °C až 145 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *cyklopiroxu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 20 mg *cyklopiroxu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Před použitím se vrstva vyvíjí směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *vody R* a *lihu 96% R* (10 + 15 + 75) až dosáhne čelo vyvíjecí směsi k hornímu okraji a nechá se 5 min sušit na vzduchu. Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *vody R* a *lihu 96% R* (10 + 15 + 75)

po dráze 15 cm. Vrstva se 10 min suší na vzduchu a potom se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Vrstva se postříká roztokem *chloridu železitého R* (20 g/l) v *ethanolu R*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením 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 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_5$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Všechny operace je třeba provádět bez přístupu aktinického světla. Všechny materiály, které přijdou do styku se zkoušenou látkou, jako je např. náplň kolony, zkoumadla, rozpouštědla a další, by měly obsahovat minimální množství extrahovatelných kationtů kovů.*

**Rozpouštěcí směs.** Smíchají se objemové díly *acetonitrilu R* a mobilní fáze (1 + 9).

**Zkoušený roztok.** 30,0 mg se rozpustí v 15 ml rozpouštěcí směsi, v případě potřeby za použití ultrazvukové lázně, a stejnou směsí se zředí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 15,0 mg *cyklopiroxu nečistoty A CRL* a 15,0 mg *cyklopiroxu nečistoty B CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí rozpouštěcí směsí na 200,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí rozpouštěcí směsí 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 R2* (5  $\mu$ m),
- promývací směsí složené z objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetylacetonu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (1 + 1 + 500 + 500),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonitrilu R* a roztoku *edetanu disodného R* (0,96 g/l) (0,1 + 230 + 770). V případě, že retenční čas hlavního píku na chromatogramu zaznamenaném za předepsaných podmínek není 8 min až 11 min, upraví se vhodným způsobem poměr množství roztoku edetanu disodného (0,96 g/l) a acetonitrilu; průtoková rychlost je 0,7 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm a 298 nm.

Pro zabezpečení desorpce rušivých kovových iontů musí být každá nová kolona promývána promývací směsí průtokovou rychlostí 0,2 ml/min nejméně 15 h a potom mobilní fází nejméně 5 h.

Nastříkne se po 10  $\mu$ l rozpouštěcí směsi zkoušeného roztoku a porovnávacích roztoků (b), (c) a (d) a zaznamenají se chromatogramy při 220 nm a při 298 nm. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku.

Relativní retenční časy jsou:

- nečistota A: 0,5,
- nečistota C: 0,9,
- cyklopirox: 1,0,
- nečistota B: 1,3.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky nečistoty B a cyklopiroxu nejméně 2,0; na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) zaznamenaném při 298 nm je poměr signálu píku nečistoty B k šumu nejméně 3; na chromatogramu zkoušeného roztoku hodnota faktoru symetrie hlavního píku je 0,8 až 2,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku zaznamenaném při 220 nm není plocha píku nečistoty A větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) zaznamenaném při stejné vlnové délce (0,5 %). Na chromatogramu zkoušeného roztoku zaznamenaném při 298 nm není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) zaznamenaném při téže vlnové délce (0,5 %); součet ploch všech píků zaznamenaných 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 298 nm se nepřihlíží k pikům rozpouštědla a k pikům

s plochou menší než je polovina plochy píku nečistoty B na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) získaném při stejné vlnové délce.

**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 1,5 %; 1,000 g se suší ve vakuu při 60 °C nad oxidem fosforečným R.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,150 g se rozpustí ve 20 ml *methanolu R*, přidá se 20 ml *vody R* a titruje se roztokem *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Provede se slepá zkouška.

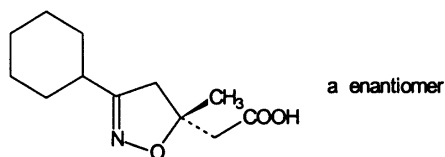
1 ml roztoku *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,73 mg C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>.

### Uchovávání

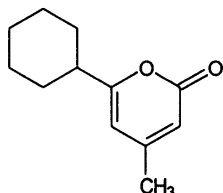
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

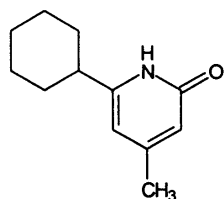
### Nečistoty



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(1H)-on.

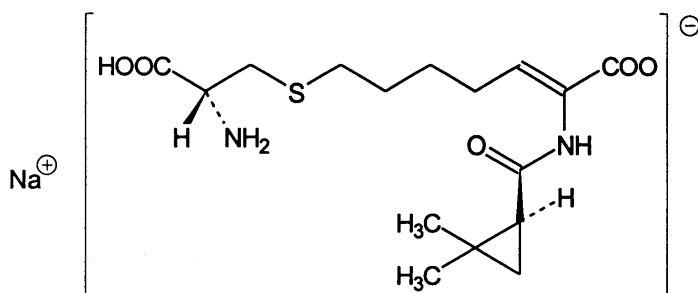
72. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky se za článek Ciclosporinum doplňuje článek Cilastatinum natricum, který zní:

”

## † Cilastatinum natricum

Sodná sůl cilastatinu

2000



$C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$

$M_r$  380,43

CAS 81129-83-1

Je to natrium-(Z)-7-{{(R)-2-amino-2-karboxyethyl}thio}-2-{{{(1S)-2,2-dimethylcyklopropyl} karbonyl}amino]hept-2-enoat. Počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku, obsahuje 98,0 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo světle žlutý amorfni prášek, hygroskopický. Je velmi snadno rozpustná ve vodě a v methanolu, dobře rozpustná v dimethylsulfoxidu, těžce rozpustná v ethanolu, prakticky nerozpustná v acetonu a v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

- Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *sodné soli cilastatinu CRL*.
- Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (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 porovnávací barevný roztok  $Z_6$  (2.2.2, *Metoda II*).

Hodnota pH (2.2.3). 6,5 až 7,5; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7). +41,5° až +44,5°, počítáno na bezvodou a rozpouštědel pro-stou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g ve směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *methanolu R* (1 + 120) a zředěním stejnou směsí na 25,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 32,0 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 2,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se dále zředí vodou R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se dále zředí vodou R na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 16 mg se rozpustí v peroxidu vodíku zředěném RS, zředí se jím na 10,0 ml a nechá se stát 30 min. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 32 mg mesityloxiidu R se rozpustí ve 100 ml vody R. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),

- mobilní fáze při průtokové rychlosti 2,0 ml/min připravené jako směs následujících roztoků:

- mobilní fáze A - připraví se směs objemových dílů acetonitrilu R a roztoku kyseliny fosforečné R 0,1% (V/V) ve vodě R (300 + 700),

- mobilní fáze B - roztok kyseliny fosforečné R 0,1% (V/V) ve vodě R,

s následujícím gradientovým programem:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
	15	85
0 - 30	15 → 100	85 → 0
30 - 46	100	0
46 - 56	100 → 15	0 → 85

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm,

- injektorové smyčky, 20 µl.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C.

Kolona se ustálí promýváním směsí 15 % (V/V) mobilní fáze A a 85 % (V/V) mobilní fáze B. Nastříkne se odděleně každý roztok. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 15 % celé stupnice zapisovače.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou tři hlavní píky, přičemž první dva píky (cilastatin nečistota A) nemusí být úplně rozděleny a kapacitní faktor třetího píku (cilastatin) je nejméně deset; na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je pro hlavní pik poměr signálu k šumu nejméně 5,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, 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 rozpouštědla, k pikům, jejichž plocha je menší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a k jakémukoliv píku odpovídajícímu hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Mesityloxid, aceton a methanol.** Nejvýše 1,0 % acetonu, 0,5 % methanolu a 0,4 % mesityloxiidu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití propanolu R jako vnitřního standardu.

**Roztok vnitřního standardu.** 0,5 ml propanolu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000 ml.

**Zkoušený roztok.** 0,200 g se rozpustí ve vodě R, přidají se 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 2,0 ml acetonu R, 0,5 ml methanolu R a 0,5 ml mesityloxiidu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000 ml. Ke 2,0 ml tohoto roztoku se přidají 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se vodou R na 10,0 ml. 1 ml tohoto roztoku obsahuje 316 µg acetonu, 79 µg methanolu a 86 µg mesityloxiidu.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřním povrchem pokrytým makrogolem 20 000 R (tloušťka filmu 1,0 µm),

- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 9 ml/min,

- plamenoionizačního detektoru



a následujícího teplotního programu:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 2,5 2,5 - 5 5 - 5,5	50 50 → 70 70	8	izotermicky lineární gradient izotermicky
nástříkový prostor detektor		160 220		

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku a potom 1 µl zkoušeného roztoku. Vypočítá se obsah acetonu, methanolu a mesityloxydu v procentech za použití následujícího vzorce:

$$\left(\frac{C}{W}\right) \cdot \left(\frac{R_u}{R_s}\right),$$

v němž značí:

*C* - koncentraci daného rozpouštědla v porovnávacím roztoku vyjádřenou v µg/ml,

*W* - množství sodné soli cilastratinu ve zkoušeném roztoku vyjádřené v mg,

*R<sub>u</sub>* a *R<sub>s</sub>* - poměry ploch pík rozpouštědla a propanolu stanovené pro zkoušený roztok a pro porovnávací roztok.

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce *C* na těžké kovy (20 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2,0 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 2,0 %; stanoví se s 0,50 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

0,300 g se rozpustí ve 30 ml methanolu *R* a přidá se 5 ml vody *R*. Dále se přidá kyselina chlorovodíková 0,1 mol/l VS tak, aby pH roztoku mělo hodnotu asi 3,0. Proveďte se potenciometrická titrace (2.2.20) za použití hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS. Pozorují se tři potenciálové skoky. Titruje se do třetího bodu ekvivalence.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 19,02 mg C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>N<sub>2</sub>NaO<sub>3</sub>S.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech při teplotě nepřevyšující 8 °C. Pokud je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

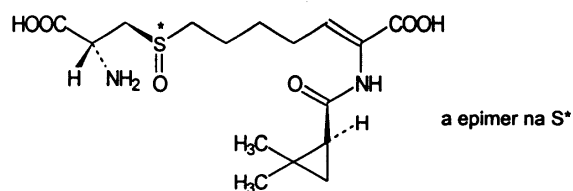
Separandum.

### Označování

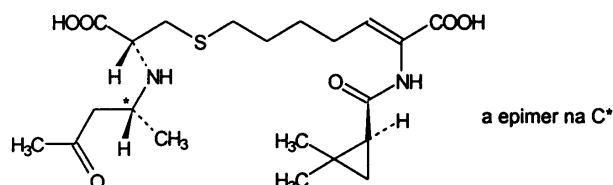
V označení na obalu se uvede:

- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

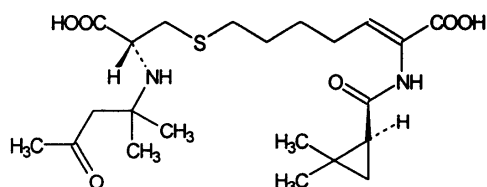
## Nečistoty



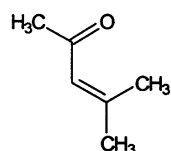
A. kyselina (Z)-7-{{(R)-[(R)-2-amino-2-karboxyethyl]sulfinyl-2-{{{(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl}karbonyl]amino}}hept-2-enová,



B. kyselina (Z)-7-{{(R)-2-[[{(1R)-1-methyl-3-oxobutyl]amino-2-karboxyethyl]thio}-2-{{{(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl}karbonyl]amino}}hept-2-enová,



C. kyselina (Z)-7-{{(R)-2-[(1,1-dimethyl-3-oxobutyl)amino]-2-karboxyethyl}thio}-2-{{{(1S)-2,2-dimethylcyclopropyl}karbonyl]amino}}hept-2-enová,



D. 4-methyl-3-penten-2-on (mesityloxid).

73. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Clemastini hydrogenofumaras doplňuje článek Clenbuteroli hydrochloridum, který zní:

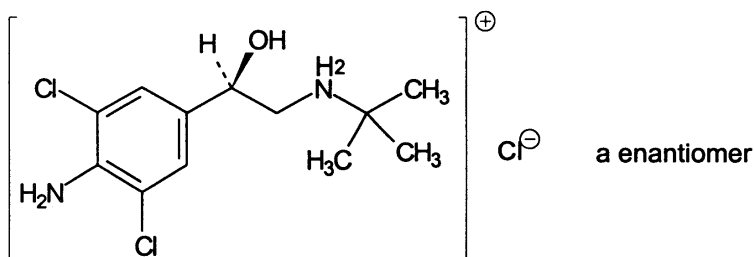
”

## †† Clenbuteroli hydrochloridum

Klenbuteroliumchlorid



2000



C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> 313,65

CAS 21898-19-1

Je to (*RS*)-[2-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)-2-hydroxyethyl]terc.butylamoniumchlorid. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v acetonu. Taje při asi 173 °C, za rozkladu.

### 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 klenbuteroliumchloridu CRL.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v 10 ml methanolu R.

Porovnávací roztok. 10 mg klenbuteroliumchloridu CRL se rozpustí v 10 ml methanolu R.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 17,5% *RS*, ethanolu R a toluenu R (0,15 + 10 + 15) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem dusitanu sodného R (10 g/l) v kyselině chlorovodíkové 1 mol/l *RS* a po 10 min se ponoří do roztoku naftylethylendiamoniumdichloridu R (4 g/l) v methanolu R. Vrstva se usuší na vzduchu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,5 g se rozpustí v 10 ml vody prosté oxidu uhličitého R.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH (2.2.3).** 5,0 až 7,0; měří se roztok S.

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ . Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,30 g ve vodě R a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml. V případě potřeby se zfiltruje.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 100,0 mg se disperguje v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,1 ml zkoušeného roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg klenbuterolu nečistoty B CRL se rozpustí ve 20 ml mobilní fáze, přidá se 5 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii s odštěněnými koncovými skupinami R (5 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů acetonitrilu R, methanolu R a roztoku připraveného takto: 3,0 g dekansulfonátu sodného R a 5,0 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí v 900 ml vody R, pH se upraví na hodnotu 3,0 kyselinou fosforečnou zředěnou RS a zředí se vodou R na 1000 ml (200 + 200 + 600); průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 5 μl porovnávacího roztoku (a) a 5 μl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas klenbuterolu asi 11 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píkem nečistoty B a píkem klenbuterolu nejméně 2,5.

Nastříkne se 5 μl zkoušeného roztoku a chromatogram 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) (0,1 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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.

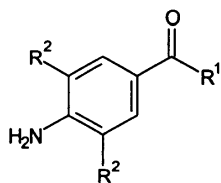
## Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 50 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.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 31,37 mg C<sub>12</sub>H<sub>19</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O.

## Uchovávání

Venenum.

**Nečistoty**

- A.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = Cl$ : 4-amino-3,5-dichlorbenzaldehyd,  
 B.  $R^1 = CH_2-NH-C(CH_3)_3$ ,  $R^2 = Cl$ : 1-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)-2-(terc.butylamino)ethanon (klenbuterolketon),  
 C.  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = Cl$ : 1-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)ethanon,  
 D.  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = H$ : 1-(4-aminofenyl)ethanon,  
 E.  $R^1 = CH_2Br$ ,  $R^2 = Cl$ : 1-(4-amino-3,5-dichlorfenyl)-2-bromethanon.

“

74. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cocaini hydrochloridum doplňují články Cocos oleum raffinatum a Cocyolis octanodecanoas, které znějí:

”

**Cocois oleum raffinatum**

Kokosový olej čištěný

*Synonymum.* Oleum cocois raffinatum

2000



Je to čištěný mastný olej získaný z usušené pevné části endospermu druhu *Cocos nucifera* L.

**Vlastnosti**

Bílá nebo téměř bílá mastná hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu a v etheru petrolejovém (*TV*: 65 °C až 70 °C), velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

Index lomu je asi 1,449; při teplotě 40 °C.

**Zkoušky totožnosti**

- A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.  
 B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**Zkoušky na čistotu**

Teplota tání (2.2.14). 23 °C až 26 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 20,0 g.

**Číslo peroxidové (2.5.5).** Nejvýše 5,0.

**Nezmýdelnitelné látky (2.5.7).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 5,0 g.

**Zásaditě reagující látky v mastných olejích (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, Metoda B).

Kokosový olej se před vzorkováním roztaví mírným zahříváním na homogenní tekutinu.

**Porovnávací roztok.** 15,0 mg *trikaproinu CRL*, 80,0 mg *tristearinu CRL*, 0,150 g *trikaprinu CRL*, 0,200 g *trikaprylinu CRL*, 0,450 g *trimyristinu CRL* a 1,25 g *trilaurinu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *dichlormethanu R* a *heptanu R* (2 + 8) a zředí se touto směsí zahřátou na 45 °C až 50 °C na 50 ml. 2 ml se převedou do 10 ml odštěďovací nádoby se šroubovacím uzávěrem a rozpouštědlo se odpaří v proudě *dušiku R*. Zbytek se rozpustí v 1 ml *heptanu R* a 1 ml *dimethylkarbonatu R*, zahřívá se opatrně při 50 °C až 60 °C za silného míchání. Do ještě horkého roztoku se přidá 1 ml roztoku *sodíku R* (12 g/l) v *methanolu bezvodém R* připraveném za nezbytné opatrnosti a silně se míchá asi 5 min. Přidají se 3 ml *vody destilované R* a silně se míchá asi 30 s, pak se odstředí 15 min při 1500 g. Nastříkne se 1 µl organické fáze.

Obsah příslušné mastné kyseliny v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A_{x,s,c}}{\sum A_{x,s,c}} \cdot 100,$$

v němž značí:

$A_{x,s,c}$  - korigovanou plochu píku příslušné mastné kyseliny ve zkoušeném vzorku:

$$A_{x,s,c} = A_{x,s} \cdot R_c,$$

$R_c$  - relativní korekční faktor:

$$R_c = \frac{m_{x,r} \cdot A_{1,r}}{A_{x,r} \cdot m_{1,r}},$$

pro píky odpovídající methylesterům kyselin kapronové, oktanové, dekanové, laurové a myristové,

$m_{x,r}$  - navážku trikaproinu, trikaprylinu, trikaprinu, trilaurinu nebo trimyristinu v porovnávacím roztoku v miligramech,

$m_{1,r}$  - navážku tristearinu v porovnávacím roztoku v miligramech,

$A_{x,r}$  - plochu píků odpovídajících methylesterům kyselin kapronové, oktanové, dekanové, laurové a myristové v porovnávacím roztoku,

$A_{1,r}$  - plochu píku odpovídajícího methylesteru kyseliny stearové v porovnávacím roztoku,

$A_{x,s}$  - plochu píku odpovídajícího methylesteru specifikované nebo nespecifikované mastné kyseliny,

$R_c$  - 1 pro píky odpovídající všem zbývajícím methylesterům mastných kyselin specifikovaných i nespecifikovaných.

Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina kapronová ( $R_{Rt}$  0,11): nejvýše 1,5 %,
- kyselina oktanová ( $R_{Rt}$  0,23): 5,0 % až 11,0 %,
- kyselina dekanová ( $R_{Rt}$  0,56): 4,0 % až 9,0 %,
- kyselina laurová ( $R_{Rt}$  0,75): 40,0 % až 50,0 %,
- kyselina myristová ( $R_{Rt}$  0,85): 15,0 % až 20,0 %,
- kyselina palmitová ( $R_{Rt}$  0,93): 7,0 % až 12,0 %,
- kyselina stearová ( $R_{Rt}$  1,00): 1,5 % až 5,0 %,
- kyselina olejová a izomery ( $R_{Rt}$  1,01): 4,0 % až 10,0 %,
- kyselina linolová ( $R_{Rt}$  1,03): 1,0 % až 3,0 %,
- kyselina linolenová ( $R_{Rt}$  1,06): nejvýše 0,2 %,
- kyselina arachidová ( $R_{Rt}$  1,10): nejvýše 0,2 %,
- kyselina ikosenová ( $R_{Rt}$  1,11): nejvýše 0,2 %.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

## Cocoylis octanodecanoas

Kokoyloktanodekanoat

*Synonymum.* Cocoylis caprylocapras

2000



Je to směs esterů nasycených C<sub>12</sub> až C<sub>18</sub> alkoholů s kyselinou oktanovou (kaprylovou) a kyselinou dekanovou (kaprinovou) získaná při reakci těchto kyselin s rostlinnými nasycenými mastnými alkoholy.

### Vlastnosti

Slabě nažloutlá tekutina. Je prakticky nerozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s tekutým parafinem.

Relativní hustota je asi 0,86.

Index lomu je asi 1,445.

Viskozita je asi 11 mPa.s.

### Zkoušky totožnosti

A. Teplota tuhnutí (2.2.18). Nejvýše 15 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem kokoyloktadekanoatu CRL.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin a mastných alkoholů, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Zkoušená látka není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda I).

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 5,0 g.

Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A). Nejvýše 5,0.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 1,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 160 až 173.

**Podíl mastných kyselin a mastných alkoholů.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda C). Pro totožnost pík odpovídajících mastným alkoholům se použije chromatogram získaný s následujícím porovnávacím roztokem.

*Porovnávací roztok.* Příslušné množství látek uvedené v tabulce číslo 1 se rozpustí v 10 ml *hep-tanu R*.

Tab. 1

Látka	Množství (mg)
<i>methylkapronat R</i>	10
<i>methyloktanoat R</i>	90
<i>methyldekanoat R</i>	50
<i>methylaurat R</i>	20
<i>methylmyristat R</i>	10
<i>methylpalmitat R</i>	10
<i>methylstearat R</i>	10
<i>dekanol R</i>	10
<i>laurylalkohol R</i>	100
<i>myristylalkohol R</i>	40
<i>cetylalkohol CRL</i>	30
<i>stearylalkohol CRL</i>	20

Uvažuje se, že součet ploch píků odpovídajících mastných kyselin uvedených níže, se rovná 100 a součet ploch píků odpovídajících mastných alkoholů uvedených níže se rovná 100.

Podíl mastných kyselin ve zkoušené látce má toto složení:

- kyselina kapronová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina oktanová: 50,0 % až 80,0 %,
- kyselina dekanová: 20,0 % až 50,0 %,
- kyselina laurová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina myristová: nejvýše 1,0 %.

Podíl mastných alkoholů ve zkoušené látce má toto složení:

- dekanol: nejvýše 3,0 %,
- laurylalkohol: 48,0 % až 59,0 %,
- myristylalkohol: 18,0 % až 25,0 %,
- cetylalkohol: 6,0 % až 12,0 %,
- stearylalkohol: 9,0 % až 16,0 %.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 5,00 g.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g.

“

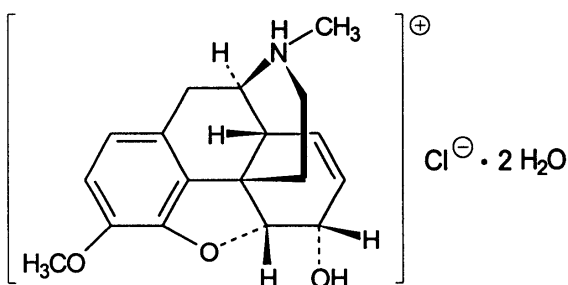
75. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Codeini dihydrogenophosphas sesquihydricus doplňuje článek Codeini hydrochloridum dihydricum, který zní:

”

## §§† Codeini hydrochloridum dihydricum

Dihydrát kodeiniumchloridu

2000



$C_{18}H_{22}ClNO_3 \cdot 2H_2O$

$M_r$  371,85

Je to dihydrát (5*R*,6*S*)-4,5-epoxy-6-hydroxy-*N*-methyl-7-morfeniniumchloridu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{22}ClNO_3$ .



## Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo malé bezbarvé krystaly. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v ethanolu, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: A a D.*

*Alternativní sestava zkoušek: B, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. dihydrátu kodeiniumchloridu.

**B.** K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml směsi stejných objemových dílů hydroxidu sodného koncentrovaného RS a vody R a třením skleněnou tyčinkou o stěnu zkumavky za chlazení ve vodě s ledem se iniciuje vyloučení krystalické sraženiny, která se promyje vodou R a vysuší při 100 °C až 105 °C. Teplota tání (2.2.15) této sraženiny je 155 °C až 159 °C.

**C.** K asi 10 mg se přidá 1 ml kyseliny sírové R a 0,05 ml chloridu železitého RS2 a zahřeje se na vodní lázni; vzniká modré zbarvení. Přidá se 0,05 ml kyseliny dusičné R; zbarvení se změní na červené.

**D.** Roztok S vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

**E.** Vyhovuje zkoušce na alkaloidy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 2,00 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásadité reagující látky.** K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml vody prosté oxidu uhličitého R, 0,05 ml červeně methylové RS a 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS; roztok je červený. Přidá se 0,4 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS; zbarvení roztoku se změní na žluté.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** -117° až -121°, počítáno na bezvodou látku. Měří se 5,0 ml roztoku S zředěného vodou R na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok:** 0,5 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů methanolu R a vody R a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů methanolu R a vody R na 100 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů methanolu R a vody R na 100 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,5 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů methanolu R a vody R na 50 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 15 mg dextromethorfaniumbromidu CRL se rozpustí v 10 ml porovnávacího roztoku (c).

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, cyklohexanu R a ethanolu R (6 + 30 + 72) po dráze 15 cm. Po vysušení na vzduchu se vrstva postříká jodobismutitanem draselným RS. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Zkoušku lze hodnotit, pokud na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

**Morfin.** 0,10 g se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS* a zředí se jí na 5 ml. Přidají se 2 ml roztoku *dusitanu sodného R* (10 g/l), nechá se 15 min stát a potom se přidají 3 ml *amoniaku zředěného RS1*. Roztok není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok  $H_4$  (2.2.2, *Metoda II*) (asi 0,13 % morfinu).

**Sírany (2.4.13).** 5 ml roztoku S se zředí *vodou destilovanou R* na 20 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,1 %).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 8,0 % až 10,5 %; stanoví se s 0,250 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí ve směsi 5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a 30 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Spotřeba se odečte mezi dvěma inflexními body.

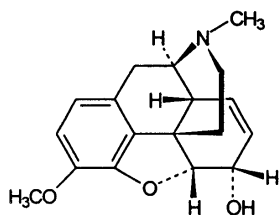
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,59 mg  $C_{18}H_{22}ClNO_3$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Omamná látka. Separandum.

### Nečistoty



A. (5*R*,6*S*)-4,5-epoxy-3,6 $\alpha$ -dimethoxy-N-methyl-7-morfinen (6-O-methylcodein),

B. morfin.

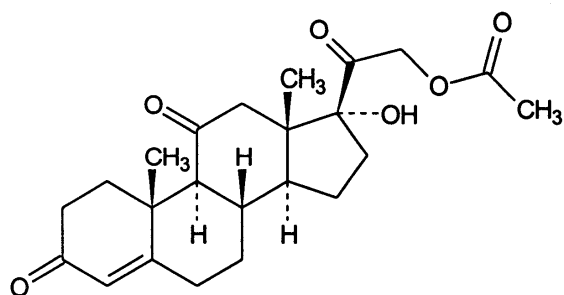
76. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Cortisoni acetat zní:

”

## † Cortisoni acetat

Kortisonacetat

2000



$C_{23}H_{30}O_6$

$M_r$  402,49

CAS 50-04-4

Je to 17-hydroxy-3,11,20-trioxo-4-pregnen-21-ylacetat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{23}H_{30}O_6$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, dobře rozpustný v dioxanu, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *kortisonacetatu CRL*. Jestliže spektrum zkoušené látky a spektrum referenční látky v tuhém stavu vykazují rozdíly, zaznamenají se spektra látek znovu za použití roztoku zkoušené látky a roztoku referenční látky (50 g/l) v *dichlormethanu R* v 0,2mm kyvetách.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> 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 *kortisonacetatu 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 *hydrokortisonacetatu R* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí 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 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 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 se shoduje polohou, barvou v denním světle, fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm 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. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.**

*Zkoušený roztok (a).* 25 mg se rozpustí mírným zahřátím 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).* 2 ml roztoku získaného při přípravě zkoušeného roztoku (a) se přenesou do 15ml skleněné zkumavky se skleněnou nebo polytetrafluoroethylenovou zátkou, přidá se 10 ml *hydrogenuhlíčitanu draselného nasyceného v methanolu RS*, ihned se do roztoku zavede proud *dusíku R* a probublává se intenzivně po dobu 5 min. Pak se zkumavka uzavře a zahřívá se ve vodní lázni při 45 °C chráněna před světlem po dobu 2 h 30 min. Nechá se ochladit.

*Porovnávací roztok (a).* 25 mg *kortisonacetatu CRL* se rozpustí mírným zahřátím 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).* 2 ml roztoku získaného při přípravě porovnávacího roztoku (a) se přenesou do 15ml skleněné zkumavky se skleněnou nebo polytetrafluoroethylenovou zátkou, přidá se 10 ml *hydrogenuhlíčitanu draselného nasyceného v methanolu RS*, ihned se do roztoku zavede proud *dusíku R* a probublává se intenzivně po dobu 5 min. Pak se zkumavka uzavře a zahřívá se ve vodní lázni při 45 °C chráněna před světlem po dobu 2 h 30 min. Nechá se ochladit.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí 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. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Hlavní skvrna na každém z chromatogramů zkoušených roztoků se polohou a velikostí shoduje s hlavní skvrnou 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 každém z chromatogramů zkoušených roztoků se shoduje polohou, barvou v denním světle a fluorescencí v ultrafialovém světle při 365 nm a velikostí s hlavní skvrnou na chromatogramu odpovídajícího porovnávacího roztoku. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) mají hodnotu  $R_f$  zřetelně nižší 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 slabě žluté zbarvení. Roztok se přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se; zbarvení zmizí a roztok zůstane čirý.

**E.** Asi 10 mg vyhovuje zkoušce na acetyl (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** +211° až +220°, 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 v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 2 mg *kortisonacetatu CRL* a 2 mg *hydrokortisonacetatu CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *acetonitrem 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: v 1000ml odměrné baňce se smíchá 400 ml *acetonitrilu R* s 550 ml *vody R* a nechá se ustálit. Směs se doplní na 1000 ml *vodou R* a znovu se promíchá; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Kolona se ustálí promýváním mobilní fázi 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 nebyla menší než 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Je-li chromatogram zaznamenán za popsaných podmínek, retenční časy jsou: hydrokortisonacetatu asi 10 min a kortisonacetatu asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky hydrokortisonacetatu a kortisonacetatu není menší než 4,2. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (b) a 20 µl acetonitrilu jako kontrolního roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku 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 %). Nepřehlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 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) tohoto roztoku v maximu při 237 nm.

Obsah  $C_{23}H_{30}O_6$  se vypočítá za použití specifické absorbance, která má hodnotu 395.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty

A. hydrokortisonacetat.

“

77. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Crataegi folium cum flore* zní:

”

## Crataegi folium cum flore

List hlohu s květem

*Synonymum*. Folium crataegi cum flore

2000



Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky větví druhu *Crataegus monogyna* JACQ. (LINDM.), *C. laevigata* (POIRET) D.C. (*C. oxyacanthoides* THUILL.) nebo jejich kříženců, nebo řidčeji jiné evropské druhy rodu *Crataegus*, včetně *C. pentagyna* WALDST. et KIT ex WILLD., *C. nigra* WALDST. et KIT. a *C. azarolus* L.

Obsahuje nejméně 1,5 % 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. Tmavě hnědé, zdřevnatělé větvičky o průměru 1 mm až 2,5 mm nesou střídavé, řapíkaté listy, s malými často opadavými palisty a četnými malými bílými květy uspořádanými ve svazcích. Listy jsou laločnaté až peřenodílné, vroubkovaně zubaté nebo téměř celokrajné. *C. laevigata* - list třílaločný, pětílaločný nebo sedmilaločný, tupě nebo vroubkovaně zubatý, úkrojky listu tupé. *C. monogyna* - list peřenodílný se třemi nebo pěti zašpičatělými úkrojky. Listy na svrchní straně tmavě zelené až hnědavě zelené, na spodní straně světlejší, šedozelelé, s dobře patrnou hustou síťovitou žilnatinou. Listy druhů *C. laevigata*, *C. monogyna* a *C. pentagyna* jsou lysé nebo jen s ojedinělými chlupy, druhy *C. azarolus* a *C. nigra* jsou plstnatě chlupaté. Květy pětičetné, kalich přirostlý k hnědavě zelené češuli, kališní cípy volné, nazpět ohnuté. Korunní lístky žlutavě bílé až nahnědlé, volné, okrouhlé až široce vejčité, krátce nehetnaté. Tyčinky četné, semeník spodní, z jednoho až pěti plodolistů, každý plodolist s dlouhou čnělkou uzavírá jedno vajíčko. *C. monogyna* je jednosemenný, *C. laevigata* dvousemenný až třisemenný, *C. azarolus* dvousemenný až třisemenný nebo někdy jen jednosemenný, *C. pentagyna* pětisemenný nebo řidčeji čtyřsemenný.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je žlutozelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: jednobuněčné krycí chlupy obvykle se ztlustlými stěnami a širokým lumenem, téměř přímé nebo mírně ohnuté, na bázi tečkované; úlomky pokožky listů s buňkami se stěnami vlnitě zprohýbanými nebo mnohohrannými a s velkými anomocytickými průduchy (2.8.3), které jsou obklopeny čtyřmi až sedmi sousedními buňkami; parenchymatické buňky mezofylu obsahují drúzy šřavelanu vápenatého o průměru obvykle 10 µm až 20 µm, průvodní vlákna, provázející cévy, obsahují malé skupinky hranolovitých krystalů šřavelanu vápenatého; úlomky korunních lístků s pokožkou z buněk okrouhlých, mnohohranných, silně papilózních, se ztlustlými stěnami a s kutikulou se zřetelným vlnitým vrásněním; úlomky tyčinek s buňkami endothecia pravidelně obloukovitě ztlustlými; úlomky větviček s kolenchymatickými buňkami, tečkovanými cévami a skupinami zdřevnatělých sklerenchymatických vláken s úzkým lumenem; četná kulovitá až oválná nebo trojhranná pylová zrna o průměru až 45 µm, se třemi klíčovými póry a nevýrazně zrnitou exinou.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g práškové drogy (355) se smíchá s 10 ml *methanolu R* a zahřívá se 5 min ve vodní lázni při 65 °C; po ochlazení se zfiltruje.

*Porovnávací roztok.* 1,0 mg *kyseliny chlorogenové R*, 2,5 mg *hyperosidu 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. 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, ještě teplá se postříká roztokem *difenylboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*. Po asi 30 min se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední třetině skvrna fluoreskující žlutohnědě (rutin), nad ní skvrna fluoreskující světle modře (kyselina chlorogenová) a nad ní skvrna fluoreskující žlutohnědě (hyperosid). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna odpovídající polohou a fluorescencí skvrně rutinu na chromatogramu porovnávacího roztoku; těsně nad ní je žlutozeleně fluoreskující skvrna (vitexin-2''-rhamnosid); nad ní světle modrá skvrna odpovídající polohou skvrně kyseliny chlorogenové na chromatogramu porovnávacího roztoku, která může být nahrazena žlutě fluoreskující skvrnou; nad ní intenzivní žlutohnědě fluoreskující skvrna odpovídající polohou skvrně hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku, těsně nad ní žlutohnědě fluoreskující skvrna, která není často zřetelně oddělena od skvrny hyperosidu; těsně nad ní většinou nevýrazně žlutozeleně fluoreskující skvrna (vitexin) a v blízkosti čela chromatogramu světle modře fluoreskující skvrna. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další méně intenzivně fluoreskující skvrny.

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsí (2.8.2).** Nejvýše 8 % zdřevnatělých větvíček o průměru více než 2,5 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**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 %.

## Stanovení obsahu

**Základní roztok.** 0,400 g práškované drogy (250) se ve 200ml baňce smíchá se 40 ml *lihu R 60% (V/V)* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při 60 °C, za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje přes chomáček vaty do 100ml odměrné baňky. Chomáček vaty se vloží ke zbytku drogy v baňce, přidá se 40 ml *lihu R 60% (V/V)* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při 60 °C, za častého protřepávání. Po ochlazení se zfiltruje do téže odměrné baňky. 200ml baňka i filtr se promyjí *lihem R 60% (V/V)* a promývací tekutina se přidá do odměrné baňky. Spojené roztoky se zředí *lihem R 60% (V/V)* na 100,0 ml a roztok se zfiltruje.

**Zkoušený roztok.** 5,0 ml základního roztoku se odpaří v baňce s kulatým dnem za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 8 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *kyseliny octové ledové R (10 + 100)* a převede se do 25ml odměrné baňky. Baňka s kulatým dnem se promyje 3 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *kyseliny octové ledové R (10 + 100)* a promývací tekutina se převede do téže odměrné baňky. K tomuto roztoku se přidá 10,0 ml roztoku, který obsahuje *kyselinu boritou R (25,0 g/l)* a *kyselinu šťavelovou R (20,0 g/l)* v *kyselině mravenčí bezvodé R* a zředí se *kyselinou octovou bezvodou R* na 25,0 ml.

**Kontrolní roztok.** 5,0 ml základního roztoku se odpaří v baňce s kulatým dnem za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 8 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *kyseliny octové ledové R (10 + 100)* a převede se do 25ml odměrné baňky. Baňka s kulatým dnem se promyje 3 ml směsi objemových dílů *methanolu R* a *kyseliny octové ledové R (10 + 100)* a promývací tekutina se převede do téže odměrné baňky. K tomuto roztoku se přidá 10,0 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a zředí se *kyselinou octovou bezvodou R* na 25,0 ml.

Po 30 min se měří absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku při 410 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako hyperosid ( $C_{21}H_{20}O_{12}$ ), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 1,235}{m},$$

v němž značí:

*A* - absorbanci roztoku v maximu při 410 nm,

*m* - hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance má hodnotu 405.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

78. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Cupri sulfas pentahydricus doplňuje článek Curcumae xanthorrhizae rhizoma, který zní:

”

## Curcumae xanthorrhizae rhizoma

Kurkumový oddenek

2000



*Synonyma.* Rhizoma curcumae xanthorrhizae, Radix curcumae xanthorrhizae

Je to usušený, na plátky nařezaný oddenek druhu *Curcuma xanthorrhiza* ROXB. (*C. xanthor-rhiza* D. DIETRICH). Obsahuje nejméně 50 ml silice v 1 kilogramu drogy a nejméně 1,0 % dicinnamoylmethanových derivátů, vyjádřeno jako kurkumin ( $C_{21}H_{20}O_6$ ;  $M_r$  368,4), obojí vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má aromatický pach.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Jsou to oranžově žluté až žlutohnědé nebo šedo hnědé většinou oloupané plátky, 1,5 mm až 6 mm silné, o průměru 15 mm až 50 mm, zřídka až 70 mm. Úlomky hnědošedého korku jsou přítomny jen zřídka. Droga je na příčném řezu žlutá, uprostřed světlejší s tmavými skvrnami. Lom je krátký, jemně zrnitý.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je červenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky bezbarvého parenchymu s oranžově žlutými až žlutohnědými sekrečními buňkami; úlomky síťovité ztlustlých a jiných cév; zřídka úlomky korku a pokožky a úlomky ztlustlých jednobuněčných zašpičatělých chlupů. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R 50 % (V/V)*: jsou přítomna četná vrstevnatá, vejčitá až nepravidelná škrobová zrna, asi 30  $\mu$ m až 50  $\mu$ m dlouhá a asi 10  $\mu$ m až 30  $\mu$ m široká, s mimostředovým hilem a zřetelným koncentrickým vrstvením.
- C. Proveďte se chromatografie postupem uvedeným ve zkoušce *Curcuma domestica*, viz Zkoušky na čistotu. Po usušení na vzduchu se vrstva postříká čerstvě připraveným roztokem *dichlorchinonchlorimidu R* (0,4 g/l) v *2-propanolu R*. Vrstva se vystaví působení amoniaku, dokud se skvrna odpovídající thymolu nezbarví modrofialově. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je téměř uprostřed modrofialová skvrna (thymol) a v dolní části žlutá skvrna (fluorescein). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je modrá skvrna (xanthorrhizol) v poloze těsně nad skvrnou odpovídající thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku a dvě žlutohnědé až hnědé skvrny (kurkumin a demethoxykurkumin) v poloze mezi skvrnami odpovídajícími thymolu a fluoresceinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi.

*Curcuma domestica*. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 0,5 g čerstvě práškové drogy (500) se smíchá s 5 ml *methanolu R*, protřepává se 30 min a pak se zfiltruje.

*Porovnávací roztok*. 5 mg *fluoresceinu R* a 10 mg *thymolu R* se rozpustí v 10 ml *methanolu R*.



Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10  $\mu$ l obou roztoků a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *toluenu R* (20 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se směsí objemových dílů *kyseliny sirové R* a *acetanhydridu R* (1 + 9) a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žlutavě červeně fluoreskující skvrna (bisdemethoxykurkumin) v poloze těsně nad zelenomodře fluoreskující skvrnou fluoresceinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Voda (2.2.13).** Nejvýše 12,0 %. Stanoví se destilací 20,0 g práškované drogy (500).

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 8,0 %.

### Stanovení obsahu

**Silice.** Provede se Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12) v 500ml baňce s 5,0 g čerstvě rozdrobněné drogy (500) a 200 ml *vody R* jako destilační tekutiny, do dělené trubice se přidá 0,5 ml *xylenu R*. Destiluje se 3 h rychlostí 3 ml/min až 4 ml/min.

**Dicinnamoylmethanové deriváty.** 0,100 g práškované drogy (180) se smíchá se 60 ml *kyseliny octové ledové R* a zahřívá se 60 min ve vodní lázni při 90 °C. Pak se přidají 2,0 g *kyseliny borité R* a 2,0 g *kyseliny šťavelové R* a zahřívá se 10 min ve vodní lázni při 90 °C. Po ochlazení se zředí *kyselinou octovou ledovou R* na 100,0 ml a protřepe se. 5,0 ml čiré supernatantní tekutiny se zředí *kyselinou octovou ledovou R* na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 530 nm za použití *kyseliny octové ledové R* jako kontrolní tekutiny.

Obsah dicinnamoylmethanových derivátů v procentech, vyjádřeno jako kurkumin ( $C_{21}H_{20}O_6$ ) se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 0,46}{m},$$

v němž značí:

*A* - absorbanci zkoušeného roztoku při 530 nm,

*m* - hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance má hodnotu 2350.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

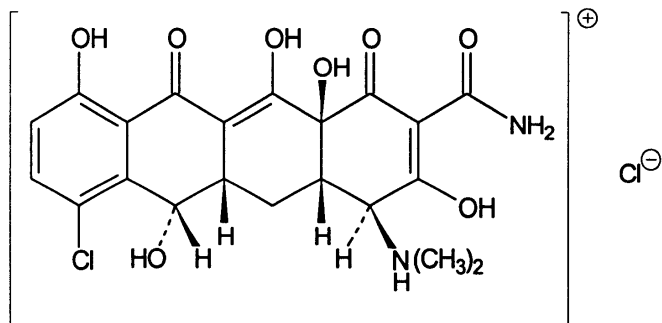
79. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Demeclocyclini hydrochloridum zní:

”

## † Demeclocyclini hydrochloridum

Demeklocykliniumchlorid

2000

 $C_{21}H_{22}Cl_2N_2O_8$  $M_r$  501,32

CAS 64-73-3

Je to (4*S*,4*aS*,5*aS*,6*S*,12*aS*)-(7-chlor-1,4,4*a*,5,5*a*,6,11,12*a*-oktahydro-3,6,10,12,12*a*-pentahydroxy-2-karbamoyl-1,11-dioxo-4-naftacenyldimethylamoniumchlorid, který je produkován při růstu určitých kmenů *Streptomyces aureofaciens* nebo se získává jinými způsoby. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 89,5 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{21}H_{22}Cl_2N_2O_8$ .

### Vlastnosti

Žlutý prášek. Je dobře rozpustný nebo mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v acetonu, 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 pro TLC R. Vrstva se stejnoměrně postříká roztokem edetanu disodného R (100 g/l), jehož pH bylo upraveno hydroxidem sodným koncentrovaným RS na hodnotu 7,0 (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 demeklocykliniumchloridu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg demeklocykliniumchloridu CRL, 5 mg oxytetracykliniumchloridu CRL a 5 mg metacykliniumchloridu 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 vody R, methanolu R a dichlormethanu R (6 + 35 + 59) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudě vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. 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 tři zřetelně oddělené skvrny.

B. K asi 2 mg se přidá 5 ml kyseliny sírové R; vzniká fialové zbarvení. Roztok se přidá k 2,5 ml vody R; zbarvení se změní ve žluté.

C. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH (2.2.3).** 2,0 až 3,0; 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).**  $-248^{\circ}$  až  $-263^{\circ}$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Absorbance (2.2.25).** 10,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l *RS* a zředí se jí na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 12 ml hydroxidu sodného zředěného *RS* a zředí se vodou *R* na 100,0 ml. Specifická absorbance v maximu při 385 nm je 340 až 370, počítáno na bezvodou látku.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu. Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok (d). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku rozpouštědla, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (5 %). Nejvýše jeden takový pík má plochu větší než 0,8násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (4 %) a součet ploch všech těchto píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (10 %).

**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).** Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,000 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.** 25,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l *RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg demeklocykliniumchloridu *CRL* se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l *RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 mg 4-epidemeklocykliniumchloridu *CRL* se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l *RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se smíchá s 5,0 ml porovnávacího roztoku (b) a zředí se kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l *RS* na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l *RS* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

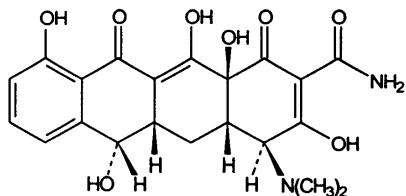
- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné styrendivinybenzen-kopolymerem *R* (8 µm až 10 µm),
- mobilní fáze, která je roztokem připraveným takto: naváží se 80,0 g *terc.butanolu R* a přenesse se do odměrné baňky na 1000 ml pomocí 200 ml vody *R*, přidá se 100 ml roztoku hydrogenfosforečnanu draselného *R* (35 g/l), jehož pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou zředěnou *RS* na hodnotu 9,0. Přidá se 150 ml roztoku tetrabutylamoniumhydrogensulfátu *R* (10 g/l), jehož pH bylo upraveno hydroxidem sodným zředěným *RS* na hodnotu 9,0 a 10 ml roztoku edetanu disodného *R* (40 g/l), jehož pH bylo upraveno hydroxidem sodným zředěným *RS* na hodnotu 9,0 a zředí se vodou *R* na 1000 ml. Průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm,
- injektorové smyčky, 20 µl,
- elektronického integrátoru.

Teplota kolony se udržuje na 60 °C. Nastříkne se porovnávací roztok (c) a citlivost detektoru se nastaví tak, aby výška píků byla nejméně polovina celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (nečistota B) a druhým píkem (demeklocyklin) je nejméně 2,8. Je-li třeba, upraví se obsah *terc.butanolu* v mobilní fázi nebo se sníží hodnota pH mobilní fáze. Faktor symetrie druhého píku je nejvýše 1,25. Porovnávací roztok (a) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, je-li relativní směrodatná odchylka plochy píku demeklocyklinu nejvýše 1,0 %. Je-li třeba, upraví se parametry integrátoru. Zkoušený roztok a porovnávací roztok (a) se nastříkují střídavě.

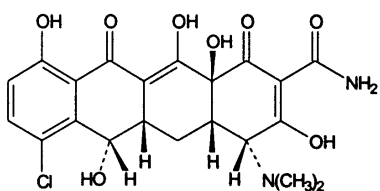
Obsah demeklocykliniumchloridu se vypočítá v procentech.

**Uchovávání**

V době uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

A. demethyltetracyklin,



B. 4-epidemeklocyklin.

“

80. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Deptropini dihydrogenocitras doplňuje článek Dequalinii dichloridum, který zní:

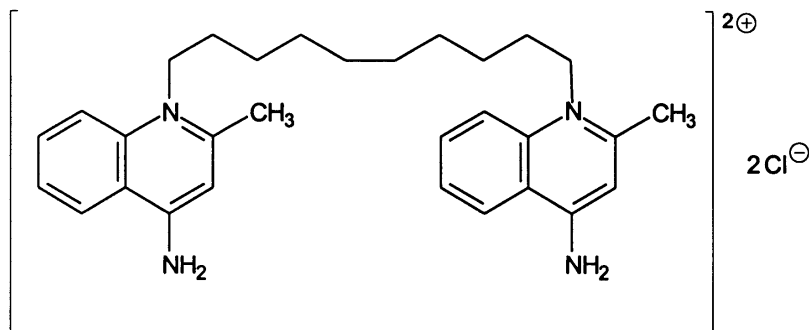
”

**† Dequalinii dichloridum**

Dekvaliniumdichlorid

*Synonymum.* Dequalinii chloridum

2000



$C_{30}H_{40}Cl_2N_4$

$M_r$  527,60

CAS 522-51-0

Je to 1,1'-(dekan-1,10-diy)bis(4-amino-2-methylchinolinium)dichlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{30}H_{40}Cl_2N_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo žlutavě bílý hygroskopický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: B a E.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz Obecné zásady (1.2).*

- A. Asi 10 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml. 10 ml se zředí vodou R na 100 ml. Měří se absorbance roztoku (2.2.25) při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje dvě absorpční maxima při 240 nm a 326 nm a rameno při 336 nm. Poměr absorbance v maximu při 240 nm k ab-sorbanci v maximu při 326 nm je 1,56 až 1,80 a poměr absorbance v maximu při 326 nm k ab-sorbanci v ramenu při 336 nm je 1,12 až 1,30.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. dequaliniumchloridu.
- C. K 5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 5 ml hexakvanoželezitanu draselného RS; vznikne žlutá sraženina.
- D. K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml kyseliny dusičné zředěné RS; vznikne bílá sraženina. Zfiltruje se a filtrát se uschová pro zkoušku totožnosti E.
- E. Filtrát ze zkoušky totožnosti D vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,2 g se rozpustí v 90 ml vody prosté oxidu uhličitého R, je-li nutno zahřátím, 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. K 5 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 RS nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l RS.

Příbuzné látky. 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). 10,0 mg dequaliniumchloridu pro test způsobilosti CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 10,0 mg dequaliniumchloridu CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml se zředí mobilní fází 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 oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R,
- mobilní fáze, která se připraví následujícím způsobem: 2 g hexansulfonanu sodného R se rozpustí ve 300 ml vody R, pH se upraví na hodnotu 4,0 kyselinou octovou R a přidá se 700 ml methanolu R; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku nečistoty B na chromatogramu 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 25 % celé stupnice zapisovače. Změří se výška nad základní linií píku nečistoty B (A) a výška nad základní linií nejnižšího bodu křivky oddělující pík nečistoty B od píku dequaliniumchloridu (B). Zkoušku lze hodnotit, pokud A je větší než dvojnásobek B. Je-li třeba, upraví se koncentrace methanolu v mobilní fázi.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu pětinašobku retenčního času píku dequaliniumchloridu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku nečistoty A není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (10 %). Nepřihlíží se k pikům s plochou menší než 0,025násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Snadno zuhelnitelné látky.** 20 mg se rozpustí ve 2 ml *kyseliny sírové R*. Po 5 min není roztok zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $H\dot{Z}_4$  (2.2.2, *Metoda I*).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 7,0 %; 1,000 g se suší 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.

### Stanovení obsahu

*Aby se zabránilo přehřátí reakčního prostředí, důkladně se míchá a titrace se ukončí ihned po dosažení bodu ekvivalence.*

0,200 g se rozpustí v 5 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a přidá se 50 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

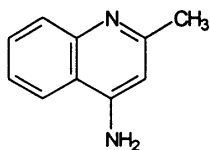
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,38 mg  $C_{30}H_{40}Cl_2N_4$ .

### Uchovávání

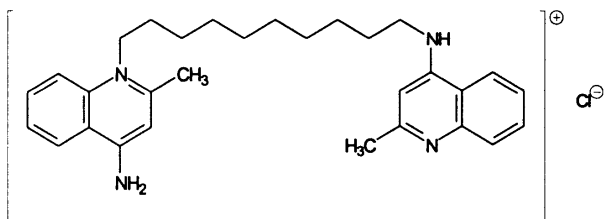
Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

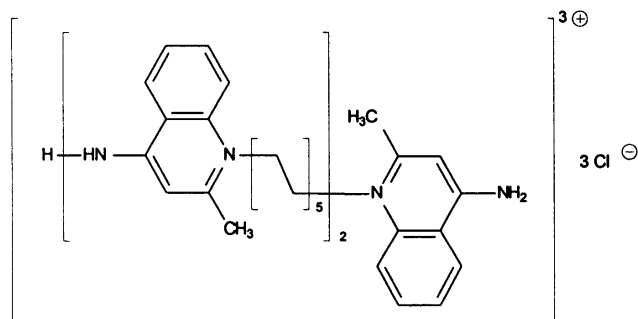
### Nečistoty



#### A. 2-methyl-4-chinolylamin,



#### B. 4-amino-1-{10-[(2-methylchinolin-4-yl)amino]decyl}-2-methylchinoliniumchlorid,



#### C. 1-[10-(4-amino-2-methylchinolinio)decyl]-4-[[10-(4-amino-2-methylchinolinio)decyl]-amino]-2-methylchinoliniumtrichlorid.

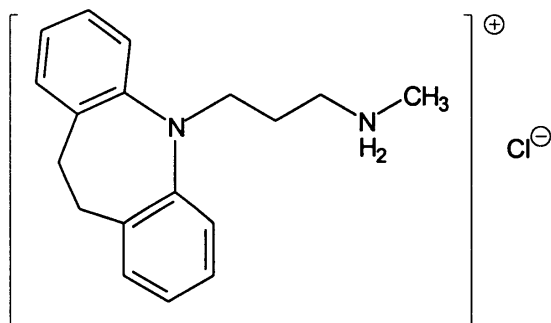
81. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Desipramini hydrochloridum zní:

”

## † Desipramini hydrochloridum

Desipraminiumchlorid

2000

 $C_{18}H_{23}ClN_2$  $M_r$  302,85

CAS 58-28-6

Je to [3-(10,11-dihydro-5H-dibenz[*b,f*]azepin-5-yl)propyl]methylamoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{23}ClN_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96%.  
Taje při asi 214 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1, 2).

- A. 40,0 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 100,0 ml. Měří se absorpční spektrum roztoku mezi 230 nm až 350 nm (2.2.25). Roztok vykazuje absorpční maximum při 251 nm a prodelevu při 270 nm. Specifická absorbance v maximu je 255 až 285.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *desipraminiumchloridu CRL*.
- C. Hodnotí se chromatogram získaný při 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).
- D. Asi 50 mg se rozpustí ve 3 ml vody R a přidá se 0,05 ml roztoku *chinhydronu R* (25 g/l) v *methanolu R*. Během asi 15 min vznikne intenzivní růžové zbarvení.
- E. K 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu se přidá 1,5 ml vody R. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1,25 g se rozpustí zahřátím nejvýše na 30 °C ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S okamžitě po přípravě není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně methylové RS a 0,3 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS; roztok je žlutý. Přidáním nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS se změní zbarvení indikátoru na červené.

**Příbuzné látky.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R. Zkouška se provede za ochrany před přímým světlem.

**Zkoušený roztok (a).** 0,10 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů ethanolu R a dichlormethanu R a zředí se stejnou směsí na 10 ml. Roztok se připraví bezprostředně před použitím.

**Zkoušený roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů ethanolu R a dichlormethanu R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25 mg desipraminiumchloridu CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů ethanolu R a dichlormethanu R a zředí se stejnou směsí na 25 ml. Roztok se připraví bezprostředně před použitím.

**Porovnávací roztok (b).** 1 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů ethanolu R a dichlormethanu R na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, kyseliny octové bezvodé R a toluenu R (1 + 10 + 10) po dráze 7 cm. Vrstva se suší 10 min na vzduchu, postříká se roztokem dichromanu draselného R (5 g/l) ve směsi objemových dílů kyseliny sírové R a vody R (1 + 4) a ihned se pozoruje. Žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok 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

0,2500 g se rozpustí ve směsi 5 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). Odečte se spotřeba mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 30,28 mg C<sub>18</sub>H<sub>23</sub>ClN<sub>2</sub>.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.



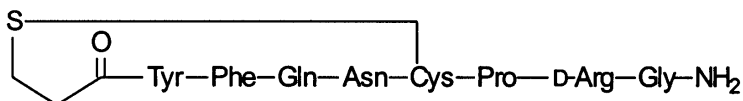
82. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Desmopressinum zní:

”

## † Desmopressinum

Desmopressin

2000



$C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2$

$M_r$  1069,22

CAS 16679-58-6

Je to syntetický cyklický nonapeptid s antidiuretickým účinkem. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 95,0 % až 105,0 %  $C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2$ . Je dostupný jako octan.

### Vlastnosti

Bílý sypký prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, v lihu 96% a v kyselině octové ledové.

### Zkouška totožnosti

Hodnotí se chromatogramy získané při Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá přibližně retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-72^\circ$  až  $-82^\circ$ , počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 10,0 mg v roztoku *kyseliny octové ledové R* 1% (V/V) a zředěním stejným rozpouštědlem na 5,0 ml.

**Aminokyseliny.** Stanoví se pomocí analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-formy následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenylalanin
kyselina asparagová	prolin	isoleucin	

a polovina ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci postupu se použije vhodný vnitřní standard, např. *DL-norleucin R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg zkoušené látky se smíchá v pečlivě vymyté silnostěnné zkumavce délky 100 mm a vnitřního průměru 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50% (V/V). Zkumavka se ponoří do chladicí směsi při  $-5^\circ\text{C}$  a sníží se tlak pod 133 Pa, těsně se uzavře a zahřívá se 16 h při  $110^\circ\text{C}$  až  $115^\circ\text{C}$ . Po ochlazení se otevře a obsah se přenesení do 10ml baňky pomocí pětkrát 0,2 ml *vody R*. Potom se obsah baňky odpaří do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*, zbytek se rozpustí ve *vodě R*, odpaří do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*; postup se opakuje ještě jednou. Odparek se převede do tlumivého roztoku vhodného pro analyzátor aminokyselin a zředí se jím na vhodný objem.

Přesně změřený vhodný objem zkoušeného roztoku se nastříkne do analyzátoru aminokyselin. Objem by měl být takový, aby výška píku nejvíce zastoupené aminokyseliny zaujímala větší část stupnice zapisovače.

Obsah každé aminokyseliny se vyjádří v mol. Relativní podíl jednotlivých aminokyselin se vypočte za předpokladu, že šestina součtu molárního množství kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, prolinu, glycinu, argininu a fenylalaninu se rovná jedné. Relativní obsah jednotlivých aminokyselin je v rozmezí: kyselina asparagová 0,95 až 1,05; kyselina glutamová 0,95 až 1,05; prolin 0,95 až 1,05; glycin 0,95 až 1,05; arginin 0,95 až 1,05; fenylalanin 0,95 až 1,05; tyrosin 0,70 až 1,05; polovina cystinu 0,30 až 1,05. Lysin, isoleucin a leucin nejsou přítomny; ostatní aminokyseliny mohou být přítomny pouze ve stopovém množství.

**Příbuzné peptidy.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) za použití postupu uvedeného ve Stanovení obsahu, v podmínkách eluce podle dále uvedené tabulky, při průtokové rychlosti 1,5 ml/min.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 4	76	24	izokraticky
4 - 18	76 → 58	24 → 42	lineární gradient
18 - 35	58 → 48	42 → 52	lineární gradient
35 - 40	48 → 76	52 → 24	návrat k původním podmínkám
40 - 50	76	24	ustalování

Nastříkne se 50 µl validačního roztoku, určí se píky desmopressinu a oxytocinu (první a druhý pík). Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi, aby se dosáhl retenční čas pro pík desmopressinu asi 16 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi oběma píky je nejméně 1,5.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku. Plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než 0,5 % celkové plochy píků. Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, je nejvýše 1,5 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k žádnému píku rozpouštědla a k žádnému píku, jehož plocha je menší než 0,05 % hlavního píku.

**Kyselina octová.** 3,0 % až 8,0 %. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *acetonitrilu R* jako vnitřního standardu.

*Roztok vnitřního standardu.* 80 mg *acetonitrilu R* se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,2 mol/l *RS* na 100,0 ml.

*Zkoušený roztok (a).* 20,0 mg se rozpustí ve 400 µl kyseliny chlorovodíkové 0,2 mol/l *RS* a dobře se promíchá.

*Zkoušený roztok (b).* 20,0 mg se rozpustí ve 400 µl roztoku vnitřního standardu a dobře se promíchá.

*Porovnávací roztok.* 0,100 g kyseliny octové ledové *R* se zředí roztokem vnitřního standardu na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 3 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzenem kopolymerem R* (125 µm až 180 µm),
- dusíku pro chromatografii *R* jako nosného plynu,
- plamenionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 180 °C, teplota detektoru na 250 °C a teplota nástřikového prostoru na 200 °C.

Nastříkne se odděleně 0,5 µl až 1,0 µl zkoušeného roztoku (a), zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku.

**Voda.** Nejvýše 6,0 %. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *methanolu bezvodého R* jako vnitřního standardu. Použijí se suché skleněné nádoby, které mohou být silikonované.

*Roztok vnitřního standardu.* 15 µl *methanolu bezvodého R* se zředí 2-propanolem *R1* na 100,0 ml.

*Zkoušený roztok (a).* 4,0 mg se rozpustí v 0,5 ml 2-propanolu *R1*.

*Zkoušený roztok (b).* 4,0 mg se rozpustí v 0,5 ml roztoku vnitřního standardu.

*Porovnávací roztok.* 10 µl vody *R* se smíchá s 50,0 ml roztoku vnitřního standardu (což odpovídá 2,5 % vody ve zkoušené látce).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 1 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *styrendivinylbenzen-kopolymerem R* (180 µm až 250 µm),
- helia pro chromatografii *R* jako nosného plynu,
- tepelně vodivostního detektoru.

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

Nastříkne se odděleně zvolené množství zkoušeného roztoku (a), zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku. Vypočítá se obsah vody za použití předpokládané relativní hustoty vody (2.2.5) při 20 °C 0,9972 g/cm<sup>3</sup> a nalezeného celkového obsahu vody v roztoku vnitřního standardu.

**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 500 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se rozpustí ve 2,0 ml vody R.

**Porovnávací roztok.** Obsah lahvičky *desmopressinu CRL* se rozpustí ve vodě R na koncentraci 0,5 mg/ml.

**Validační roztok.** Obsah lahvičky *oxytocin/desmopressin validační směs CRL* se rozpustí v 500 µl vody R. Smíchají se stejné objemové díly tohoto roztoku a zkoušeného roztoku.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B (60 + 40):
  - *mobilní fáze A* - tlumivý roztok *fosforečnanový o pH 7,0 (0,067 mol/l)* se zfiltruje a odplyní,
  - *mobilní fáze B* - smíchají se stejné objemové díly mobilní fáze A a *acetonitrilu pro chromatografii R*, zfiltruje se a odplyní,
- průtokové rychlosti 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 50 µl validačního roztoku, určí se píky *desmopressinu* a *oxytocinu* (první a druhý pík). Je-li třeba, upraví se koncentrace *acetonitrilu* v mobilní fázi tak, aby retenční čas píku *desmopressinu* byl asi 5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi dvěma piky je nejméně 1,5. Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku a 50 µl porovnávacího roztoku.

Vypočítá se obsah  $C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2$  z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku a na chromatogramu porovnávacího roztoku a za použití deklarovaného obsahu  $C_{46}H_{64}N_{14}O_{12}S_2$  v *desmopressinu CRL*.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem a před vlhkem, 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:

- množství peptidu v obalu,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

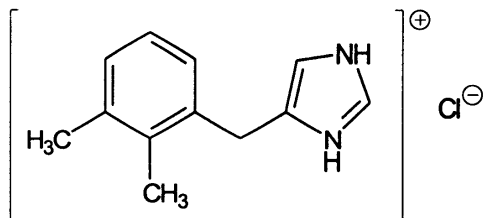
83. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Desoxycortoni acetat doplňuje článek Detomidini hydrochloridum ad usum veterinarium, který zní:

”

## † Detomidini hydrochloridum ad usum veterinarium

Detomidiniumchlorid pro veterinární použití

2000


 $C_{12}H_{15}ClN_2$ 
 $M_r 222,72$ 

CAS 90038-01-0

Je to 4-(2,3-dimethylbenzyl)-1*H*-imidazoliumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{12}H_{15}ClN_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v dichlormethanu a prakticky nerozpustný v acetonu.

Taje při asi 160 °C.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *detomidiniumchloridu CRL*. Pokud se získaná spektra liší, vysuší se zkoušené látka a referenční látka v sušárně při 100 °C až 105 °C a zkouška se opakuje.

B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,25 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 25 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.** 25,0 mg se rozpustí ve 20 ml mobilní fáze a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,20 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1 mg *detomidinu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí porovnávacím roztokem (a) na 10 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 chromatografi R* (5 μm),

- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu amonného R* (2,64 g/l) (35 + 65); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je retenční čas detomidinu asi 7 min a relativní retenční časy kvalifikovaných nečistot A, B a C vzhledem k detomidinu jsou asi 0,4, 2,0 a 3,0.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu činila nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky detomidinu a nečistoty B je nejméně 5.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času hlavního píku. Plocha každého píku (odpovídajícího nečistotě C a jejímu diastereoizomeru) eluovaného s retenčním časem asi 3, se násobí korekčním faktorem 2,7 a součet ploch takových píků, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, 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 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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

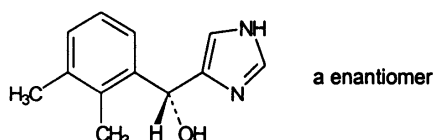
0,170 g se rozpustí v 550 ml *lihu 96% R*, přidá se 5,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Spotřeba se odečte mezi dvěma inflexními body.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,27 mg  $C_{12}H_{15}ClN_2$ .

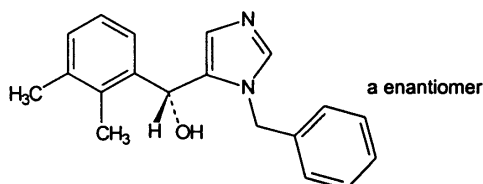
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před vlhkostí.  
Separandum.

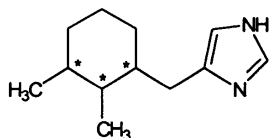
### Nečistoty



A. (RS)-(1H-imidazol-4-yl)(2,3-xylyl)methanol,



B. (RS)-(1-benzyl-1H-imidazol-5-yl)(2,3-xylyl)methanol,

C. 4-[(2,3-dimethylcyclohexyl)methyl]-1*H*-imidazol.

“

84. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Diethylenglycoli monoethylicum etherum doplňuje článek Diethylenglycoli monopalmitostearas, který zní:

”

## Diethylenglycoli monopalmitostearas<sup>1)</sup>

Diethylenglykolmonopalmitostearat



Je to směs diethylenglykolmono- a diesterů kyseliny stearové a palmitové. Obsahuje nejméně 45,0 % monoesterů připravených kondenzací diethylenglykolu a kyseliny stearové 50 rostlinného nebo živočišného původu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorum encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Bílá nebo téměř bílá voskovitá tuhá hmota. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v horkém lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Stanovení obsahu (obsah monoesterů) je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 43 °C až 50 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 4,0; stanoví se s 10,0 g.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3,0.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** 150 až 170; stanoví se s 2,0 g.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin má následující složení:

- kyselina stearová: 40,0 % až 60,0 %,
- součet obsahů kyseliny palmitové a kyseliny stearové je nejméně 90,0 %.

**Volný diethylenglykol.** Nejvýše 8,0 %; stanoví se postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného diethylenglykolu a monoesterů vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Je-li třeba, mírně se zahřeje. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpuštědla a zkoušené látky (*M*).

**Porovnávací roztok.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží s přesností na 0,1 mg asi 2,5 mg, 5,0 mg, 10,0 mg a 20,0 mg *diethylenglykolu R*. Přidá se po 5,0 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do úplného rozpuštění. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace diethylenglykolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografií délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5 μm, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se po 40 μl každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené k diethylenglykolu pro monoestery asi 0,84 a pro diestery asi 0,78. Koncentrace (*c*) v mg/g diethylenglykolu ve zkoušeném roztoku se stanoví z kalibrační křivky sestavené z porovnávacích roztoků.

Obsah volného diethylenglykolu se vypočítá v procentech podle vzorce:

$$\frac{c \cdot M}{m \cdot 10}$$

Z plochy píků monoesterů (*A*) a diesterů (*B*) se vypočte procentuální obsah monoesterů podle vzorce:

$$\frac{A}{A + B} \cdot (100 - D),$$

v němž značí:

*D* - obsah volného diethylenglykolu v procentech a obsah volných mastných kyselin v procentech.

Obsah volných mastných kyselin v procentech se vypočte podle vzorce:

$$\frac{I_A \cdot 270}{561,1},$$

v němž značí:

*I<sub>A</sub>* - číslo kyselosti.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.

85. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dihydralazini sulfas dihemihydricus doplňuje článek Dihydroergocristini mesilas, který zní:

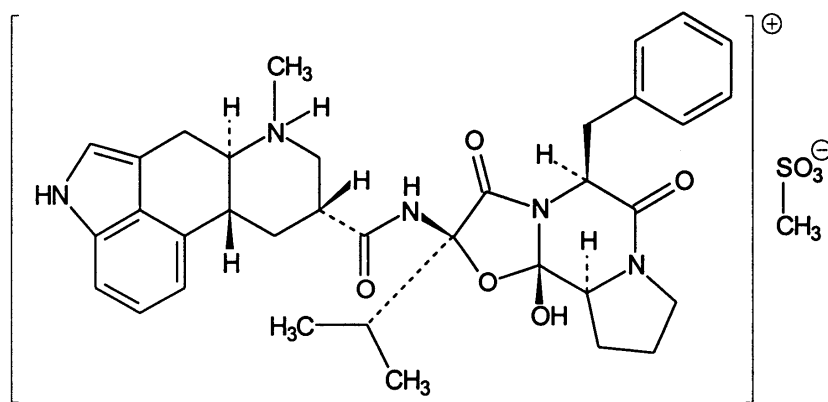
”

## †† Dihydroergocristini mesilas

Dihydroergokristiniummesilat

*Synonymum.* Dihydroergocristinium mesylicum

2000



$C_{36}H_{45}N_5O_8S$

$M_r$  707,84

CAS 24730-10-7

Je to (6*aR*,9*R*,10*aR*)-9-[[[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-isopropyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]amino]karbonyl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinoliniummethansulfonat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{36}H_{45}N_5O_8S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemný krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dihydroergokristiniummesilatu* CRL.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC* R.

*Zkoušený roztok.* 0,10 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu* R a *dichlormethanu* R (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

*Porovnávací roztok.* 0,10 g *dihydroergokristiniummesilatu* CRL se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu* R a *dichlormethanu* R (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se ihned nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se za chránění před světlem směsí objemových dílů *amoniaku* 26% R, *dimethylformamidu* R a *etheru* R (2 + 15 + 85) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min v proudu studeného vzduchu, potom se postříká *dimethylaminobenzaldehydem* RS7 a suší se 2 min v proudu teplého vzduchu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.



**C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.**

**Zkoušený roztok.** 0,20 g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,20 g *kyseliny methansulfonové R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.

Na vrstvu se ihned nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se za chránění před světlem směsí objemových dílů *vody R*, *amoniaku 26% R*, *1-butanolu R* a *acetonu R* (5 + 10 + 20 + 65) po dráze 10 cm. Vrstva se suší po dobu nejvýše 1 min v proudě studeného vzduchu, potom se postříká roztokem *červeně bromkresolové R* v *methanolu R* (1 g/l), jehož barva se nastaví na fialově červenou jednou kapkou *amoniaku zředěného RS1*. Vrstva se usuší při 100 °C v proudě teplého vzduchu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Zkoušky na čistotu**

**Vzhled roztoku.** 0,50 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $H_7$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 5,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-37^\circ$  až  $-43^\circ$ , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 g v *pyridinu bezvodém R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkouška a příprava roztoků se provedou za chránění před přímým světlem.*

**Zkoušený roztok.** 75,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (40 + 60) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 20,0 mg *kodergokriniummesilatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *vody R* a *acetonitrilu R* (40 + 60) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 6,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí rozpouštědlem 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R1* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *diethylaminu R*, *acetonitrilu R* a roztoku *uhličitanu amonného R* (1,1 g/l) (2,2 + 400 + 650); průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek se látky eluují v tomto pořadí: nečistota F, nečistota H, nečistota I a dihydroergokristin. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou čtyři zřetelně oddělené píky, faktor symetrie píku odpovídajícího dihydroergokristinu je nejvýše 2,5 a rozlišení mezi píky nečistoty I a dihydroergokristinu je nejméně 1,5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha píku dihydroergokristinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy píku dihydroergokristinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy píku dihydroergokristinu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 3,0 %. 0,500 g se suší ve vysokém vakuu při 80 °C.

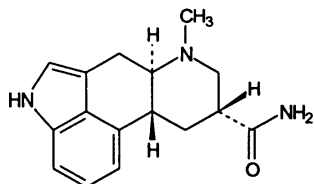
**Stanovení obsahu**

0,300 g se rozpustí v 60 ml *pyridinu R*. Titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* pod proudem *du-síku R* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Spotřeba odměrného roztoku se stanoví z druhého bodu inflexe.

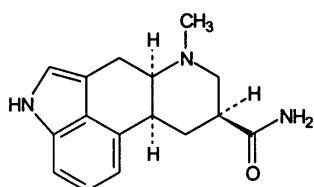
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 35,39 mg  $C_{36}H_{45}N_5O_8S$ .

**Uchovávání**

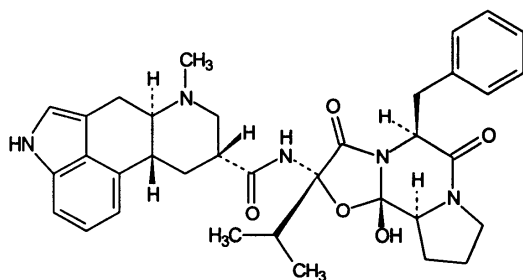
Chráněn před světlem.  
Venenum.

**Nečistoty**

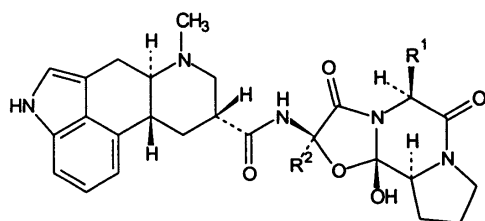
A. (6*aR*,9*R*,10*aR*)-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (6-methylergolin-8β-karboxamid),



B. (6*aR*,9*S*,10*aS*)-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (6-methylisoergolin-8α-karboxamid),

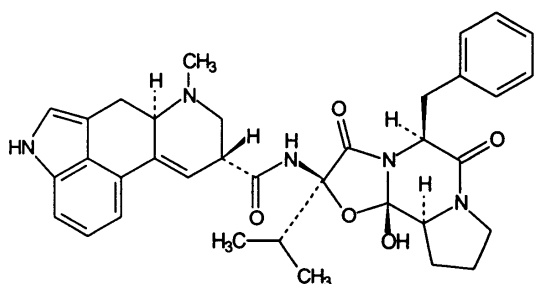


C. (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*S*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-isopropyl-3,6-dioxooctahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (2'-epidihydroergokristin),

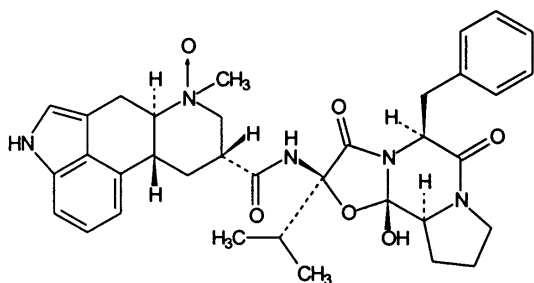


D.  $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-10*b*-hydroxy-5-isopropyl-2-methyl-3,6-dioxooctahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (dihydroergosin),

- E.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-methyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (dihydroergotamin),
- F.  $R^1 = R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-10*b*-hydroxy-2,5-diisopropyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (dihydroergokornin),
- G.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CH}_2\text{-CH}_3$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-2-ethyl-10*b*-hydroxy-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (dihydroergostin),
- H.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-CH}(\text{CH}_3)_2$ ,  $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-10*b*-hydroxy-5-isobutyl-2-isopropyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid ( $\alpha$ -dihydroergokryptin),
- I.  $R^1 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ ,  $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)_2$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-10*b*-hydroxy-2-isopropyl-5-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid ( $\beta$ -dihydroergokryptin),
- J.  $R^1 = \text{CH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$ ,  $R^2 = \text{CH}(\text{CH}_3)\text{-CH}_2\text{-CH}_3$ : (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (dihydroergosdmin),



- K. (6*aR*,9*R*,10*aR*)-*N*-[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-isopropyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9-hexahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-9-karboxamid (ergokristin),



- L. (6*aR*,7*RS*,9*R*,10*aR*)-9-[[[(2*R*,5*S*,10*aS*,10*bS*)-5-benzyl-10*b*-hydroxy-2-isopropyl-3,6-dioxooktahydro-8*H*-oxazolo[3,2-*a*]pyrrolo[2,1-*c*]pyrazin-2-yl]amino]karbonyl]-7-methyl-4,6,6*a*,7,8,9,10,10*a*-oktahydroindolo[4,3-*fg*]chinolin-7-oxid (dihydroergokristin-6-oxid).

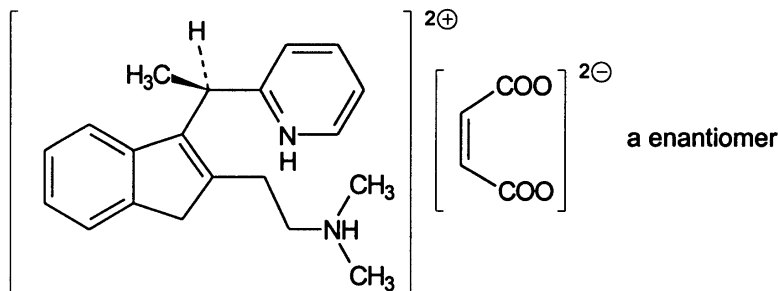
86. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dimercaprolum doplňuje článek Dimethindenium maleas, který zní:

”

## † Dimetindenium maleas

Dimetindeniummaleinat

2000

 $C_{24}H_{28}N_2O_4$  $M_r$  408,50

CAS 3614-69-5

Je to N,N-dimethyl-2-[3-[(*RS*)-1-(2-pyridinio)ethyl]-1*H*-inden-2-yl]ethyl]amonium-(*Z*)-butendioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{24}H_{28}N_2O_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu.

### Zkoušky totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dimetindeniummaleinatu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,20 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 zabarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů *acetonu R* a *dichlormethanu R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5,0 mg *2-ethylpyridinu R* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *acetonu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou *polymethylfenylsiloxanem R* (tloušťka vrstvy 0,25  $\mu\text{m}$ ),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu s průtokovou rychlostí 30 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru,
- programované teploty; teplota kolony se udržuje po dobu 1 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 6 °C/min až na 260 °C, při níž se udržuje 12 min,
- teploty nástříkového prostoru 240 °C a detektoru 260 °C,
- injektoru s děličem s průtokovou rychlostí děličem 30 ml/min.

Nastříknou se 2  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 1,3násobku retenčního času hlavního píku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu není faktor symetrie hlavního píku větší než 1,3.

Nastříknou se 2  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 2  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b).

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku odpovídajícího 2-ethylpyridinu větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %). Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádný z píků, kromě hlavního píku a kteréhokoliv píku objevujícího se během prvních 8 min (2-ethylpyridin, směs rozpouštědel a kyselina maleinová), nemá plochu větší než 0,2násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a součet ploch všech píků není větší než 0,5násobek plochy 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 0,1 %; 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

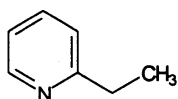
0,150 g se rozpustí v 80 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potencio-metrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 20,43 mg  $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_4$ .

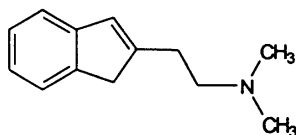
### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

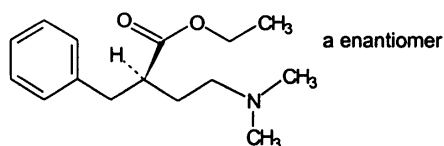
### Nečistoty



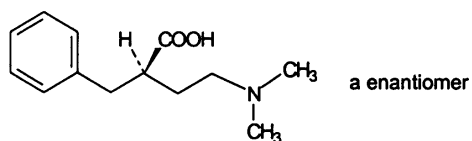
A. 2-ethylpyridin,



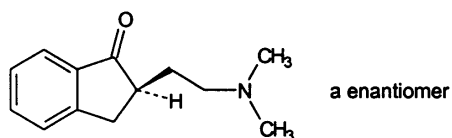
B. N,N-dimethyl-2-(1*H*-inden-2-yl)ethylamin,



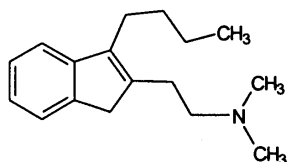
C. ethyl-(2*RS*)-2-benzyl-4-dimethylaminobutanoat,



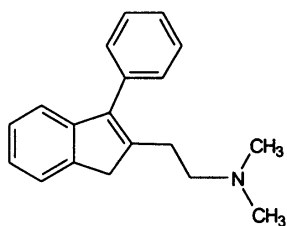
D. kyselina (2*RS*)-2-benzyl-4-dimethylaminobutanová,



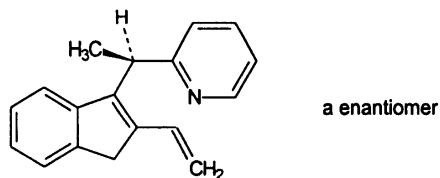
E. (2*RS*)-2-(2-dimethylaminoethyl)indan-1-on,



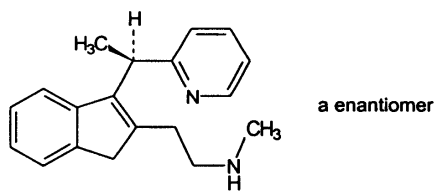
F. N,N-dimethyl-2-(3-butyl-1*H*-inden-2-yl)ethylamin,



G. N,N-dimethyl-2-(3-fenyl-1*H*-inden-2-yl)ethylamin,



H. 2-[(1*RS*)-1-(2-vinyl-3*H*-inden-3-yl)ethyl]pyridin,



I. N-methyl-2-{3-[(1*R*S)-1-pyridin-2-yl]ethyl}-1*H*-inden-2-yl}ethylamin.

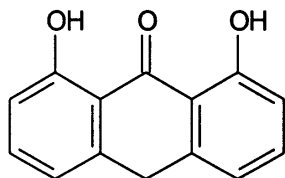
“

87. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Dithranolum zní:

”

## Dithranolum

Dithranol



$C_{14}H_{10}O_3$

$M_r$  226,23

CAS 480-22-8

Je to 1,8-dihydroxyanthracen-9(10*H*)-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{10}O_3$ .

### Vlastnosti

Žlutý nebo hnědožlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v acetonu, těžce rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

*Všechny zkoušky se provádějí za ochrany před přímým světlem a použijí se čerstvě připravené roztoky.*

### 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). 178 °C až 182 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem dithranolu CRL.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu H R.

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *dithranolu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* Asi 5 mg *danthronu R* se rozpustí v 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l z každého roztoku a vyvíjí se směsí stejných objemových dílů *hexanu R* a *dichlormethanu R* po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pak se vystaví v nasycené komoře působení par amoniaku do objevení skvrn a pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svojí 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** 5 mg se přidá 0,1 g *octanu sodného bezvodého R* a 1 ml *acetanhydridu R* a 30 s se vaří. Pak se přidá 20 ml *lihu 96% R* a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm; roztok vykazuje modrou fluorescenci.

## Zkoušky na čistotu

### Příbuzné látky.

**A.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,200 g se rozpustí ve 20 ml *dichlormethanu R*, přidá se 1,0 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *hexanem R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok.* Rozpustí se po 10,0 mg *anthronu R*, *danthronu R*, *dithranolu nečistoty C CRL* a *dithranolu CRL* v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 19,0 ml *dichlormethanu R*, 1,0 ml *kyseliny octové ledové R* a zředí se *hexanem R* 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 pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *dichlormethanu R* a *hexanu R* (1 + 5 + 82); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 260 nm.

Nastříkne se odděleně po 20  $\mu$ l každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času *dithranolu nečistoty C*. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku činila asi 70 % celé stupnice zapisovače. Jestliže jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, eluují se látky v tomto pořadí: *dithranol*, *danthron*, *anthron*, *dithranol nečistota C*.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píkem *dithranolu* a píkem *danthronu* nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha jednotlivých píků odpovídajících *anthronu*, *danthronu* nebo *dithranolu nečistoty C* větší než plocha odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píků odpovídajících *anthronu*, *danthronu* nebo *dithranolu nečistoty C*, není větší než plocha píku *dithranolu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (1,0 %).

**B.** 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.* 25,0 mg *dithranolu nečistoty D CRL* a 25,0 mg *dithranolu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 20,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,20 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *tetrahydrofuranu R* a *vody R* (2,5 + 40 + 60); průtoková rychlost je 0,9 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se odděleně 20  $\mu$ l každého roztoku a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 3násobku retenčního času *dithranolu*. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku byla asi 50 % celé stupnice zapisovače.



Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku je rozlišení mezi píkem dithranolu nečistoty D a píkem dithranolu nejméně 2,5. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku dithranolu nečistoty D větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (2,5 %).

Celkový obsah příbuzných látek stanovený ve zkoušce A a ve zkoušce B není větší než 3,0 %.

**Chloridy (2.4.4).** 1,0 g se protřepává 1 min s 20 ml *vody R* a pak se zfiltruje. 10 ml filtrátu se zředí *vodou R* na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 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

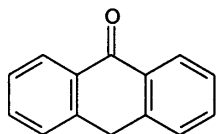
0,200 g se rozpustí v 50 ml *pyridinu bezvodého R* a pod *dusíkem R* se titruje *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence a použití skleněné elektrody jako indikační a srovnávací kalomelové elektrody obsahující jako elektrolyt nasycený roztok *chloridu draselného R* v *methanolu R*.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,62 mg  $C_{14}H_{10}O_3$ .

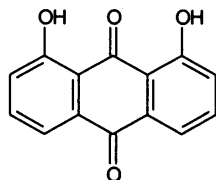
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

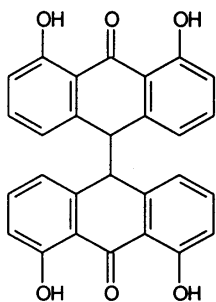
### Nečistoty



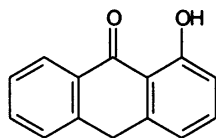
A. anthron,



B. danthron,



C. dimer dithranolu,



D. 1-hydroxy-9-anthron.

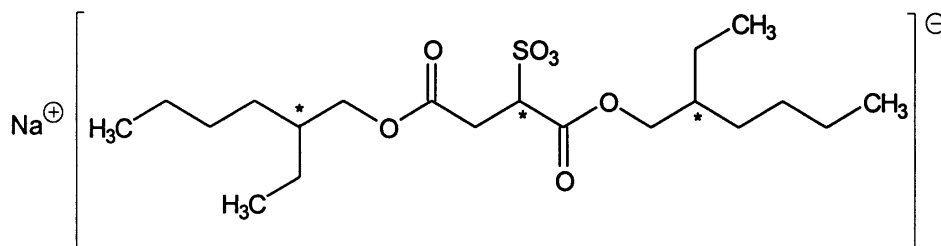
88. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Dobutamini hydrochloridum doplňuje článek Docusatum natriicum, který zní:

”

## † Docusatum natriicum

Natriumdokusat

2000

 $C_{20}H_{37}NaO_7S$  $M_r$  444,56

CAS 577-11-7

Je to natrium-1,4-bis[(2-ethylhexyl)oxy]-1,4-dioxobutan-2-sulfonát. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{20}H_{37}NaO_7S$ .

### Vlastnosti

Bílá nebo téměř bílá voskovitá hmota nebo vločky. Je hygroskopický, mírně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *natriumdokusatu CRL*. Asi 3 mg zkoušené látky se umístí na destičku z chloridu sodného, přidá se 0,05 ml *acetonu R* a ihned se přikryje druhou destičkou z chloridu sodného. Destičky se třou o sebe, aby se zkoušená látka rozpustila, pak se destičky oddělí od sebe, aby se odpařil aceton a měří se spektrum.
- B. 0,75 g se žihá v kelímku za přítomnosti *kyseliny sírové zředěné RS* pokud není získán téměř bílý zbytek. Po vychladnutí se zbytek převede do 5 ml *vody R* a filtruje se. 2 ml filtrátu vyhovují zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Zásaditě reagující látky.** 1,0 g se rozpustí ve 100 ml směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *vody R* neutralizované na *červeně methylovou RS*. Přidá se 0,1 ml *červeně methylové RS*. Na změnu zbarvení indikátoru do červena se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

**Příbuzné látky neiontové povahy.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *methylbehenatu R* jako vnitřního standardu.

**Roztok vnitřního standardu.** 10 mg *methylbehenatu R* se rozpustí v *hexanu R* a zředí se jím na 50 ml.

**Zkoušený roztok (a).** 0,10 g se rozpustí ve 2,0 ml roztoku vnitřního standardu a zředí se *hexanem R* na 5,0 ml. Roztok se nechá prokapávat rychlostí 1,5 ml/min přes sloupec o vnitřním průměru 10 mm naplněný 5 g *oxidu hlinitého zásaditého R*

předem promytého 25 ml *hexanu R*. Potom se sloupec promyje 5 ml *hexanu R* a eluát se odstraní. Dále se promývá 20 ml směsí stejných objemových dílů *etheru R* a *hexanu R*. Eluát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí ve 2,0 ml *hexanu R*.

**Zkoušený roztok (b).** Připraví se postupem popsáním u zkoušeného roztoku (a), ale 0,10 g zkoušené látky se rozpustí v *hexanu R*, zředí se jím na 5,0 ml a použije se nový sloupec.

**Porovnávací roztok.** 2,0 ml roztoku vnitřního standardu se zředí *hexanem R* na 5,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

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

Teplota kolony se udržuje na 230 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 280 °C.

Nastříkne se 1 µl každého roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) se ověří, že není přítomen žádný pík se stejným retenčním časem jako má vnitřní standard. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) žádný z píků, kromě píku vnitřního standardu, nemá plochu větší než je plocha píku vnitřního standardu (0,4 %). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času vnitřního standardu.

**Chloridy.** 5,0 g se rozpustí v 50 ml *lihu R* 50% (V/V) a přidá se 0,1 ml *dichromanu draselného RS*. Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* (350 µg/g).

**Síran sodný.** 0,25 g se rozpustí ve 40 ml směsi objemových dílů *vody R* a *2-propanolu R* (20 + 80). pH se nastaví *kyselinou chloristou RS* na hodnotu 2,5 až 4,0. Přidá se 0,4 ml *thorinu RS* a 0,1 ml roztoku *modři methylenové R* (0,125 g/l). Na změnu zbarvení indikátoru ze žlutozeleného do žlutorůžového se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *chloristanu barnatého 0,025 mol/l VS* (2 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 4,0 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 (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije *roztok olova (2 µg Pb/ml)* získaný zředěním základního roztoku *olova (100 µg Pb/ml)* *lihem R* 80% (V/V).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 0,250 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí zahřátím v asi 50 ml *vody R* a po ochlazení se jí zředí na 250,0 ml. 25,0 ml tohoto roztoku se převede do 250ml baňky, přidá se 5 ml *vody R*, 15 ml *dichlormethanu R* a 10 ml roztoku *kyseliny sírové R* 10% (V/V). Pak se přidá 1 ml *žluti dimethylové a modři oracetové RS*, silně se třepe a titruje se *benzethoniumchloridem 0,004 mol/l VS*. V závěru titrace se titruje pomalu a mezi každým přidáním se baňka uzavře a silně se protřepe. Konce titrace je dosaženo při změně zbarvení dichlormethanové vrstvy z růžového na zelené.

1 ml *benzethoniumchloridu 0,004 mol/l VS* odpovídá 1,778 mg  $C_{20}H_{37}NaO_7S$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.  
Separandum.

89. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Dosulepini hydrochloridum zní:

”

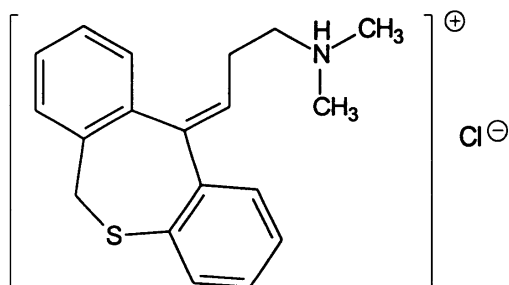
## † Dosulepini hydrochloridum

Dosulepiniumchlorid

2000



*Synonymum.* Dosulepinium chloratum



$C_{19}H_{22}ClNS$

$M_r$  331,90

CAS 897-15-4

Je to N,N-dimethyl-[(*E*)-3-(6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-yliden)propyl]amoniumchlorid. 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 v 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 stejným roztokem 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 absorbance (2.2.25) při 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 231 nm a 306 nm a prodelevu při asi 260 nm. Specifická absorbance 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

**Vzhled roztoku.** 1 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_5$  (2.2.2, *Metody II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,2 až 5,2; měří se roztok připravený rozpuštěním 1 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10 ml.

**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 RI (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. Měří se výška (A) nad základní linií píku Z-izomeru a výška (B) nad základní linií nejnižšího bodu křivky oddělující tento pik od píku E-izomeru. Zkoušku lze hodnotit, jestliže poměr A/B je nejméně 4.

Nastříkne se odděleně 20 μl zkoušeného roztoku a 20 μl porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku odpovídajícího Z-izomeru není větší než 5 % součtu ploch píků obou izomerů; plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, píku odpovídajícího Z-izomeru a píku odpovídajícího nečistotě A, není větší než 0,4násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího Z-izomeru, není větší než 2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou 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 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 acethanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

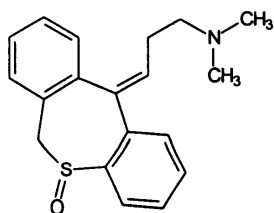
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 33,19 mg C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClNS.

## Uchovávání

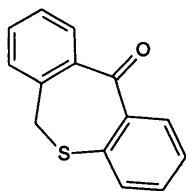
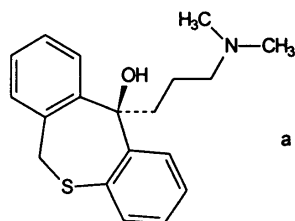
Chráněn před světlem.

Separandum.

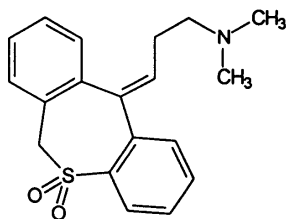
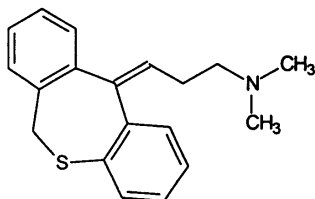
## Nečistoty



A. N,N-dimethyl-[(E)-3-(dibenzo[b,e]thiepin-11(6H)-yliden)propyl]amin-S-oxid,

B. dibenzo[*b,e*]thiepin-11(6*H*)-on,

a enantiomer

C. (11*RS*)-11-[3-(dimethylamino)propyl]-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]thiepin-11-ol,D. *N,N*-dimethyl-[(*E*)-3-(dibenzo[*b,e*]thiepin-11(6*H*)-yliden)propyl]amin-*S,S*-dioxid,E. *N,N*-dimethyl-[(*Z*)-3-(dibenzo[*b,e*]thiepin-11(6*H*)-yliden)propyl]amin.

“

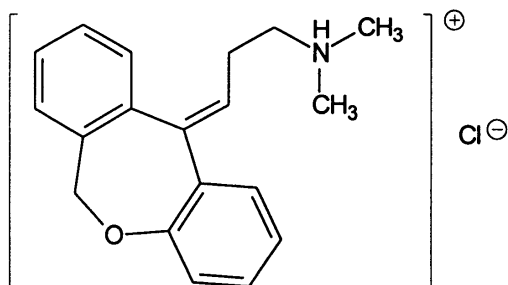
90. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Doxepini hydrochloridum zní:

”

## † Doxepini hydrochloridum

Doxepiniumchlorid

2000

 $C_{19}H_{22}ClNO$  $M_r$  315,84

CAS 1229-29-4

Je to N,N-dimethyl-[(E)-3-(6,11-dihydrodibenzo[b,e]joxepin-11-yliden)propyl]amoniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{19}H_{22}ClNO$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, 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). 185 °C až 191 °C.

B. 50,0 mg se rozpustí v roztoku kyseliny chlorovodíkové R (1 g/l) v methanolu R a zředí se stejným roztokem na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí roztokem kyseliny chlorovodíkové R (1 g/l) v methanolu R na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 230 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 297 nm. Specifická absorbance v maximu je 128 až 142.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. doxepiniumchloridu CRL.

D. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml kyseliny sírové R; vznikne tmavě červené zbarvení.

E. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 1 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 20 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).

**Kyselý reagující látka.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,1 ml červeně methylové RS. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R (5 µm) s koncentrační zónou.

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 mg doxepinu nečistoty A CRL se rozpustí v methanolu R, přidá se 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se methanolem R na 10 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 50 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg doxepinu nečistoty B CRL se rozpustí v methanolu R, přidá se 1 ml zkoušeného roztoku a zředí se methanolem R na 10 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí methanolem R na 50 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 10,0 mg doxepinu nečistoty B CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 200 ml.

Deska A. Na její vrstvu se nanesou 2 µl zkoušeného roztoku a 2 µl porovnávacího roztoku (a) a vyvíjí se směsí objemových dílů 2-butanonu R a heptanu R (30 + 60) po dráze 5 cm. Doxepin zůstane na startu.

Deska B. Na její vrstvu se nanesou 2 µl zkoušeného roztoku a po 2 µl porovnávacích roztoků (b) a (c). Vyvíjí se směsí objemových dílů methanolu R a dichlormethanu R (10 + 90) po dráze 5 cm. Vrstva se suší asi 30 min při 120 °C. Pak se postříká roztokem připraveným takto: 20 g chloridu zinečnatého R se rozpustí ve 30 ml kyseliny octové ledové R, přidají se 3 ml kyseliny fosforečné R a 0,80 ml peroxidu vodíku koncentrovaného R a zředí se vodou R na 60 ml. Desky se zahřívají 15 min při 120 °C a ihned se pozorují v ultrafialovém světle při 365 nm.

Deska A. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě A není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající nečistotě A, není intenzivnější než skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,2 %).

Deska B. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě C ( $R_f$  asi 0,12) není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %), žádná skvrna odpovídající nečistotě B není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, skvrny odpovídající nečistotě B nebo skvrny odpovídající nečistotě C, není intenzivnější než skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramech porovnávacích roztoků (a) a (b) jsou zřetelně viditelné a oddělené skvrny.

**Z-Izomer.** 13,0 % až 18,5 %. 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. 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 mm naplněné kuličkami silikagelu oktylsilanizovaného pro chromatografii R (5 µm) se specifickou plochou 220 m<sup>2</sup>/g a velikostí póru 80 nm,
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů methanolu R a roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného R (30 g/l), jehož pH bylo upraveno kyselinou fosforečnou R na hodnotu 2,5 (30 + 70); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (E-izomer) a druhým píkem (Z-izomer) je nejméně 1,5. Poměr plochy píku odpovídajícího E-izomeru k ploše píku odpovídajícího Z-izomeru je 4,4 až 6,7.

**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

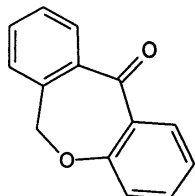
0,250 g se rozpustí ve směsi 5 ml kyseliny octové bezvodé R a 35 ml acetanhydridu R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS do změny modrého zbarvení na zelené za použití 0,2 ml violeti krystalové RS jako indikátoru.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 31,58 mg sloučeniny C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClNO.

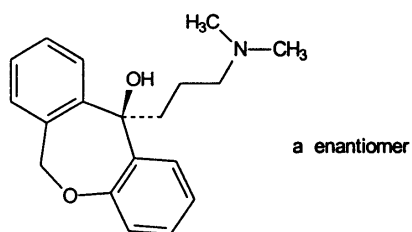


**Uchovávání**

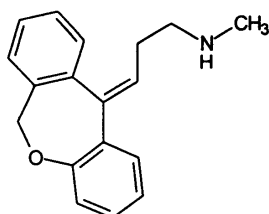
Chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

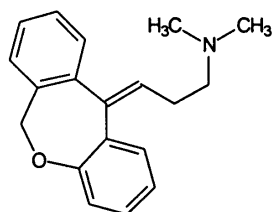
A. dibenzo[*b,e*]oxepin-11(6*H*)-on,



B. (11*RS*)-11-[3-(dimethylamino)propyl]-6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-ol,



C. (*E*)-*N*-methyl-3-(6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yliden)propylamin,



D. (*Z*)-*N,N*-dimethyl-3-(6,11-dihydrodibenzo[*b,e*]oxepin-11-yliden)propylamin.

91. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Econazoli nitras doplňuje článek *Eleutherococci radix*, který zní:

”

## Eleutherococci radix

Eleuterokokový kořen

*Synonymum*. Radix eleutherococci

2000



Jsou to celý nebo řezaný usušený kořen a oddenek druhu *Eleutherococcus senticosus* (RUPR. et MAXIM.) MAXIM.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Oddenek je uzlovitý, nepravidelně válcovitý o průměru 1,5 cm až 4 cm. Povrch je hrbolatý, podélně rýhovaný, šedo-hnědý až černohnědý. Kůra asi 2 mm silná těsně přiléhá ke dřevu. Jádrové dřevu je světle hnědé, splintové dřevu je světle žluté. Lom je v kůře jemně vláknitý, ve dřevě, zejména v jeho vnitřní části hrubě vláknitý. Na spodní straně oddenku četné válcovité a uzlovité kořeny 3,5 cm až 15 cm dlouhé o průměru 0,3 cm až 1,5 cm. Na povrchu jsou hladké, šedo-hnědé až černohnědé. Kůra asi 0,5 mm silná těsně přiléhá ke světle žlutému dřevu. Lom je nevýrazně vláknitý. Na místech, kde je odstraněna kůra, je kořen žlutohnědý.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je nažloutlý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: četné skupiny zdřevnatělých vláken se ztlustlými stěnami; úlomky síťovitě nebo tečkovaně ztlustlých cév se širokým lumenem; skupiny sekrečních kanálků o průměru až 20 μm s hnědým obsahem; parenchymatické buňky obsahující drúzy šťavelanu vápenatého o průměru 10 μm až 50 μm. Při pozorování v roztoku *glycerolu R 50% (V/V)*; jsou patrná malá škrobová zrna, v obrysu okrouhlá až mírně trojhranná, jednoduchá nebo dvoučetná až trojčetná.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 1,0 g práškové drogy (500) se smíchá s 10 ml *lihu R 50% (V/V)* a vaří se 1 h pod zpětným chladičem, po ochlazení se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek se rozpustí ve 2,5 ml směsi objemových dílů *vody R* a *lihu R 50% (V/V)* (5 + 20) a zfiltruje se.

*Porovnávací roztok*. 2,0 mg *eskulinu R* se rozpustí v 10 ml směsi objemových dílů *vody R* a *lihu R 50% (V/V)* (2 + 8).

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku. Vytvoří se směsí objemových dílů *vody R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (4 + 30 + 70) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní polovině modře fluoreskující skvrna (eskulin). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS* a zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C. Pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je načervenalá skvrna (eletherosid E) v poloze pod skvrnou eskulinu na chromatogramu porovnávacího roztoku a hnědá skvrna (eletherosid B) těsně nad skvrnou eskulinu na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další skvrny.

## Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 3 %.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 10,0 %. 1,000 g práškové drogy (500) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 8,0 %.

**Extrahovatelné látky.** 1,00 g práškové drogy (500) se v 250ml baňce s kulatým dnem smíchá s 50 ml směsí objemových dílů *vody R* a *lihu R* 50% (V/V) (1 + 4) a nechá se 1 h stát. Pak se vaří 2 h pod zpětným chladičem a po ochlazení se zfiltruje do 50ml odměrné baňky. Roztok se zředí na 50,0 ml směsí objemových dílů *vody R* a *lihu R* 50% (V/V) (1 + 4), kterou se nejprve promyje varná baňka. Roztok se zfiltruje a 25,0 ml filtrátu se odpaří do sucha na vodní lázni. Zbytek se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C. Zbytek po vysušení váží nejméně 30 mg (6,0 %).

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

92. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Emetini dihydrochloridum pentahydricum doplňuje článek Enalaprili hydrogenomaleas, který zní:

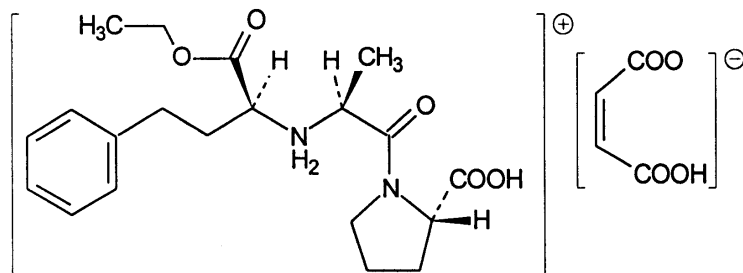
”

## † Enalaprili hydrogenomaleas

Enalapriliumhydrogenmaleinat

*Synonymum.* Enalaprili maleas

2000



$C_{24}H_{32}N_2O_9$

$M_r$  492,51

CAS 76095-16-4

Je to [(1*S*)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]{(1*S*)-1-[(2*S*)-(2-karboxy-1-pyrrolidinyl)karbonyl]ethyl}amonium-hydrogen-(*Z*)-butendioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{24}H_{32}N_2O_9$ .

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v dichlormethanu. 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). 143 °C až 145 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *enalapriliumhydrogenmaleinatu CRL*.

C. Asi 30 mg se rozpustí ve 3 ml vody R. Přidá se 1 ml bromové vody R, zahřívá se na vodní lázni do úplného odstranění bromu a ochladí se. K 0,2 ml tohoto roztoku se přidají 3 ml roztoku *resorcinolu R* (3 g/l) v *kyselině sírové R* a zahřívá se 15 min na vodní lázni; vzniká červenohnědé zbarvení.

D. K asi 30 mg se přidá 0,5 ml roztoku *hydroxylamoniumchloridu R* (100 g/l) v *methanolu R* a 1,0 ml roztoku *hydroxidu draselného R* (100 g/l) v *lihu 96% R*. Zahřeje se k varu, ochladí se a okyselí *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS*. Přidá se 0,2 ml *chloridu železitého RS1* zředěného 1 : 10; vznikne červenohnědé zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,25 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*).

Hodnota pH (2.2.3). 2,4 až 2,9; měří se roztok S.

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-48^{\circ}$  až  $-51^{\circ}$ , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Tlumivý roztok A. 2,8 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* se rozpustí v 950 ml vody R. pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,5 a zředí se vodou R na 1000 ml.

Tlumivý roztok B. 2,8 g *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* se rozpustí v 950 ml vody R. pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 6,8 a zředí se vodou R na 1000 ml.

Rozpouštěcí směs. 50 ml *acetonitrilu R* se smíchá s 950 ml tlumivého roztoku A.

Zkoušený roztok. 30,0 mg se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí rozpouštěcí směsí na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 3,0 mg *enalaprilu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v rozpouštěcí směsi a zředí se jí na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,15 m dlouhé a vnitřního průměru 4,1 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (5  $\mu$ m),

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,4 ml/min,

- mobilní fáze A - 50 ml *acetonitrilu R* se smíchá s 950 ml tlumivého roztoku B.

- mobilní fáze B - 340 ml tlumivého roztoku B se smíchá s 660 ml *acetonitrilu R*.

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60
25 - 26	40 → 95	60 → 5
26 - 30	95	5

- spektrofotometrického detektoru, 215 nm.

Teplota kolony se udržuje na 70 °C.

Nastříkne se 50  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Pokud je chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: enalaprilu asi 11 min a nečistoty A asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píky enalaprilu a nečistoty A je nejméně 1,5. Nastříkne se 50  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 50  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %) a součet ploch všech takových píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,0 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Použijí se 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ 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.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,100 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 30 ml. Titruje se hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Titruje se do druhého inflexního bodu.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 16,42 mg  $C_{24}H_{32}N_2O_9$ .

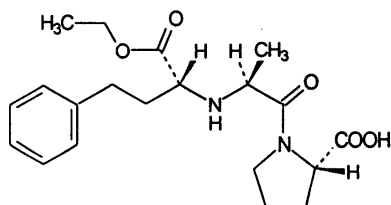
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

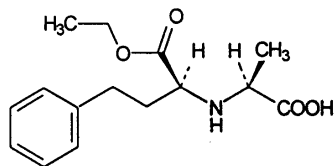
Separandum.

### Nečistoty

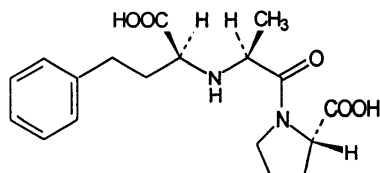
#### Stanovované nečistoty



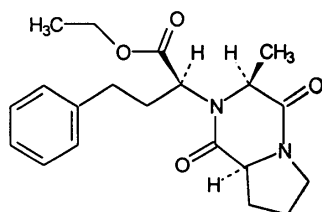
A. kyselina (2S)-1-[(2S)-[[[(1R)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-yl]propanoická,



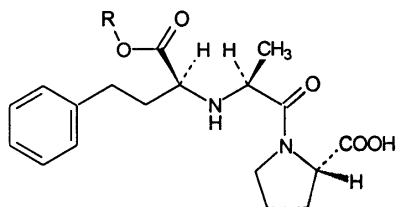
B. kyselina (2S)-2-[[[(1S)-1-(ethoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propanová,



C. kyselina (2S)-1-[[[(2S)-2-[[[(1S)-3-fenyl-1-karboxypropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-yl]propanoická,



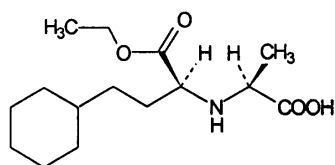
D. ethyl-(2*S*)-2-[(3*S*,8*aS*)-3-methyl-1,4-dioxo-oktahydropyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-fenylbutanoat,



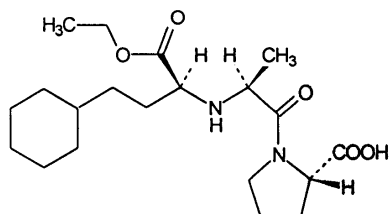
E. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>: kyselina (2*S*)-1-{[(2*S*)-2-[[[(1*S*)-3-fenyl-1-[(2-fenylethoxy)karbonyl]propyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-karboxylová,

*Ostatní detekovatelné nečistoty*

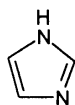
F. R = CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>: kyselina (2*S*)-1-{[(2*S*)-2-[[[(1*S*)-1-(butoxykarbonyl)-3-fenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-karboxylová,



G. kyselina (2*S*)-2-{[(1*S*)-3-cyklohexyl-1-(ethoxykarbonyl)propyl]amino}propanová,



H. kyselina (2*S*)-1-{(2*S*)-2-[[[(1*S*)-3-cyklohexyl-1-(ethoxykarbonyl)propyl]amino]propanoyl}pyrrolidin-2-karboxylová,



I. 1*H*-imidazol.

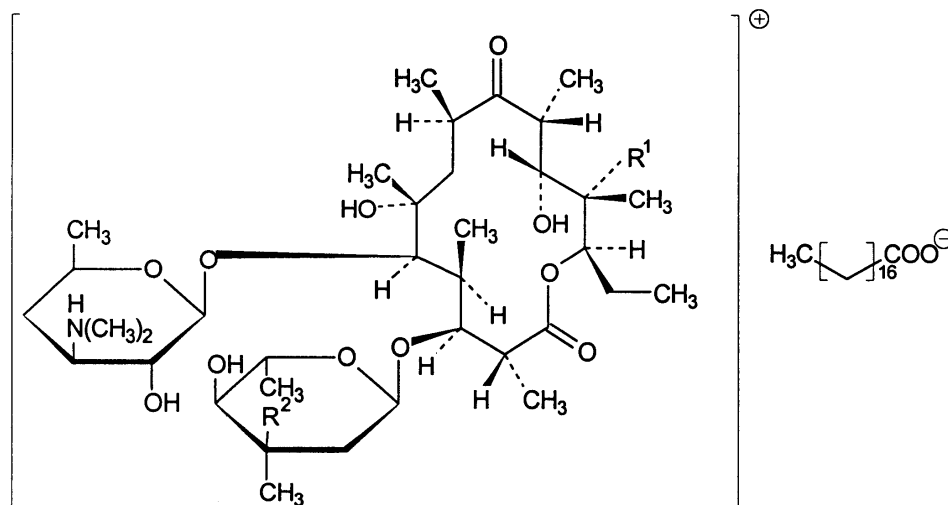
93. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Erythromycini stearas zní:

”

## † Erythromycini stearas<sup>1)</sup>

Erythromyciniumstearat

*Synonyma.* Erythromycinium stearicum, stearan erythromycinia



Název	Sum. vzorec	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
erythromycin A	C <sub>55</sub> H <sub>103</sub> NO <sub>15</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>
erythromycin B	C <sub>55</sub> H <sub>103</sub> NO <sub>14</sub>	H	OCH <sub>3</sub>
erythromycin C	C <sub>54</sub> H <sub>101</sub> NO <sub>15</sub>	OH	OH

C<sub>55</sub>H<sub>103</sub>NO<sub>15</sub>

M<sub>r</sub> 1018,42

CAS 643-22-1

Je to směs oktadekanoátů erythromycinu a kyseliny stearové. Hlavní složkou je (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*, 7*R*,9*R*,11*R*,12*R*, 13*S*,14*R*)-6-[(3-dimethylamonio-3,4,6-trideoxy-β-*D*-xylo-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9, 11,13-hexamethyl-4-[(3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-2,6-dideoxy-α-*L*-ribo-hexopyranosyl)oxy]-2,10-dioxo-oxacyclotetradekan-oktadekanoat (erythromycin A). Součet obsahu erythromycinu A, erythromycinu B a erythromycinu C, vyjádřený jako soli kyseliny stearové, a volné kyseliny stearové je 97,0 % až 103,0 %, počítáno na bezvodou látku. Počítáno na bez-vodou látku, součet obsahu erythromycinu A, erythromycinu B a erythromycinu C je nejméně 60,5 %.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

## Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

## Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a methanolu. Roztoky mohou opalizovat.

## 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 *erythromyciniumstearatu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 28 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 20 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 10 mg *kyseliny stearové R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku. Vyvíjí se horní vrstvou směsi objemových dílů *2-propanolu R*, roztoku *octanu amonného R* (150 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *amoniakem 17,5% RS* na hodnotu 9,6 a *ethylacetatu R* (4 + 8 + 9) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem *dichlorfluoresceinu R* (0,2 g/l) a *rhodaminu B R* (0,1 g/l) v *lihu 96% R*. Vrstva se vystaví na několik sekund parám nad vodní lázni a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě skvrny, z nichž jedna odpovídá polohou hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a druhá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Vrstva se postříká *anisaldehydem RS1*, zahřívá se 5 min při 110 °C a potom se pozoruje na denním světle. Barevná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Zkoušky na čistotu

**Volná kyselina stearová.** Nejvýše 14,0 %  $C_{18}H_{36}O_2$ , počítáno na bezvodou látku. 0,400 g se rozpustí v 50 ml *methanolu R*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Vypočítá se spotřeba *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* na 1 g zkoušené látky ( $n_1$  ml). 0,500 g se rozpustí v 30 ml *dichlormethanu R*. Jestliže roztok opalizuje, zfiltruje se a zbytek se protřepe třikrát s 25 ml *dichlormethanu R*. Je-li třeba, zfiltruje se a filtr se promyje *dichlormethanem R*. Spojené filtráty a promývací tekutina se odpaří na vodní lázni na objem 30 ml. Přidá se 50 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Vypočítá se spotřeba *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* na 1 g zkoušené látky ( $n_2$  ml).

Obsah  $C_{18}H_{36}O_2$  v procentech se vypočte podle vzorce:

$$2,845 \cdot (n_1 - n_2)$$

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným v odstavci Stanovení obsahu. Obsah *erythromyciniumstearatu B* a *erythromyciniumstearatu C* je nejvýše 5,0 %. Nastříkne se porovnávací roztok (d). Nastříkne se zkoušený roztok a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající pětinasobku retenčního času píku odpovídajícího *erythromycinu A*. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě píku odpovídajícího *erythromycinu A*, *erythromycinu B* a *erythromycinu C*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (3 %).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 4,0 %; stanoví se s 0,300 g zkoušené látky. Jako rozpouštědla se použije roztok *imidazolu R* (100 g/l) v *methanolu bezvodém R*.

**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.** 55,0 mg se rozpustí v 5,0 ml *methanolu R* a zředí se *tlumivým roztokem o pH 8,0* na 10,0 ml. Roztok se odstředí a použije se čirý roztok.

**Porovnávací roztok (a).** 40,0 mg *erythromycinu A CRL* se rozpustí v 5,0 ml *methanolu R* a zředí se *tlumivým roztokem o pH 8,0* na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10,0 mg *erythromycinu B CRL* a 10,0 mg *erythromycinu C CRL* se rozpustí v 25,0 ml *methanolu R* a zředí se *tlumivým roztokem o pH 8,0* na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 5 mg *N-demethylerythromycinu A CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (b). Přidá se 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se porovnávacím roztokem (b) na 25 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 3,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí směsí stejných objemových dílů *methanolu R* a *tlumivého roztoku o pH 8,0* na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok a porovnávací roztoky se použijí během jednoho dne, pokud se uchovávaly při 5 °C.**

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (8 μm až 10 μm) s velikostí pórů 100 nm,
- mobilní fáze, která se připraví takto: k 50 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu draselného R* (35 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou zředěnou RS* na hodnotu 9,0 se přidá 400 ml *vody R*, 165 ml *terc.butylalkoholu R*, 30 ml *acetonitrilu R* a zředí se *vodou R* na 1000 ml; průtoková rychlost je 2,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru; 215 nm.

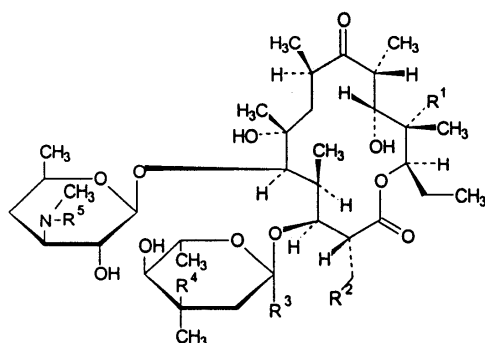
Kolona a nejméně třetina předkolony se udržují při teplotě 70 °C, nejlépe za použití vodní lázně. Nastříkne se 100 μl porovnávacího roztoku (c). Citlivost systému se upraví tak, aby výška pík byla nejméně 25 % celé stupnice zapisovače. Látky se eluují v následujícím pořadí: *N-demethylerythromycin A*, *erythromycin C*, *erythromycin A* a *erythromycin B*. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími *N-demethylerythromycinu A* a *erythromycinu C* je nejméně 0,8 a rozlišení mezi píky odpovídajícími *N-demethylerythromycinu A* a *erythromycinu A* je nejméně 5,5. Pokud je třeba, upraví se koncentrace *terc.butylalkoholu* v mobilní fázi nebo se sníží průtoková rychlost na 1,5 ml/min nebo 1,0 ml/min. Nastříkne se porovnávací roztok (a) šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku *erythromycinu A* je nejvýše 2,0 %. Nastříkuje se střídavě zkoušený roztok a porovnávací roztoky (a) a (b).

Obsah *erythromycinu A* v procentech se vypočítá za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Obsah *erythromycinu B* a *erythromycinu C* v procentech se vypočítá za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Obsah odpovídajících solí *kyseliny stearové* se vypočítá vynásobením faktorem 1,387.

## Uchovávání

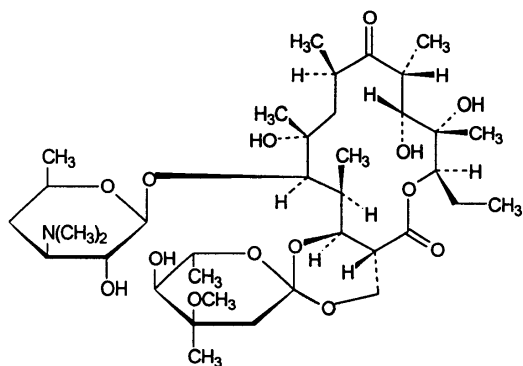
Separandum.

## Nečistoty

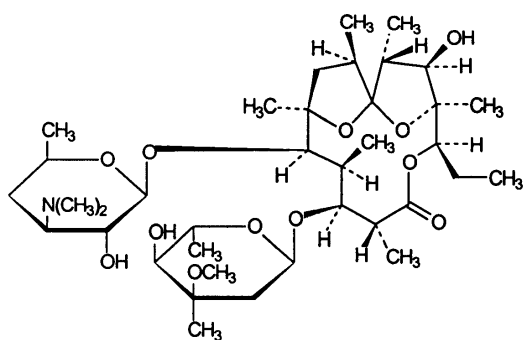


A.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ ,  $R^3 = \text{H}$ ,  $R^4 = \text{OCH}_3$ ,  $R^5 = \text{CH}_3$ : *erythromycin F*,

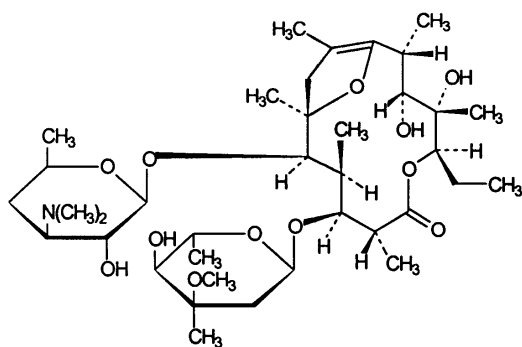
B.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{H}$ ,  $R^4 = \text{OCH}_3$ ,  $R^5 = \text{H}$ : *N-demethylerythromycin A*,



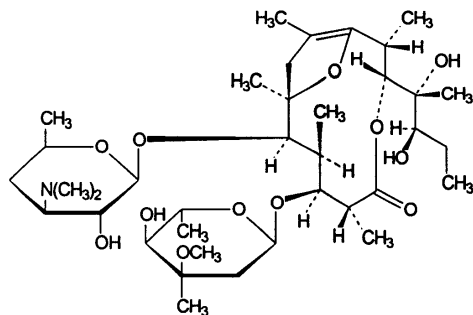
C. erythromycin E,



D. anhydroerythromycin A,



E. enolether erythromycinu A,



F. enolether pseudoerythromycinu A.

66

94. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Ethanolum 96% a Ethanolum anhydricum znějí:

”

## Ethanolum 96% (V/V)

Ethanol 96% (V/V)

Synonyma. Spiritus 96% (V/V), líh 96% (V/V)

C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OM<sub>r</sub> 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<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O při 20 °C a vodu.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkáva 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 nitroprus-

sidu 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.

**Těkkavé 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 lineární gradient izotermicky
	12 - 32	40 → 240		
	32 - 42	240		
nástříkový prostor detektor		280 280		

Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou pík 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, sniží 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/l).

Vypočte se součet obsahů acetaldehydu a acetalu (µl/l) z ploch odpovídajících pík na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{10 \cdot A_E}{A_T - A_E} + \frac{30 \cdot C_E}{C_T - C_E},$$

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  $\mu\text{l/l}$ , vyjádřeno jako acetaldehyd.

Vypočte se obsah benzenu ( $\mu\text{l/l}$ ) z plochy odpovídajícího píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{2B_E}{B_T - B_E},$$

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  $\mu\text{l/l}$ .

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  $\mu\text{l/l}$ ). 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,

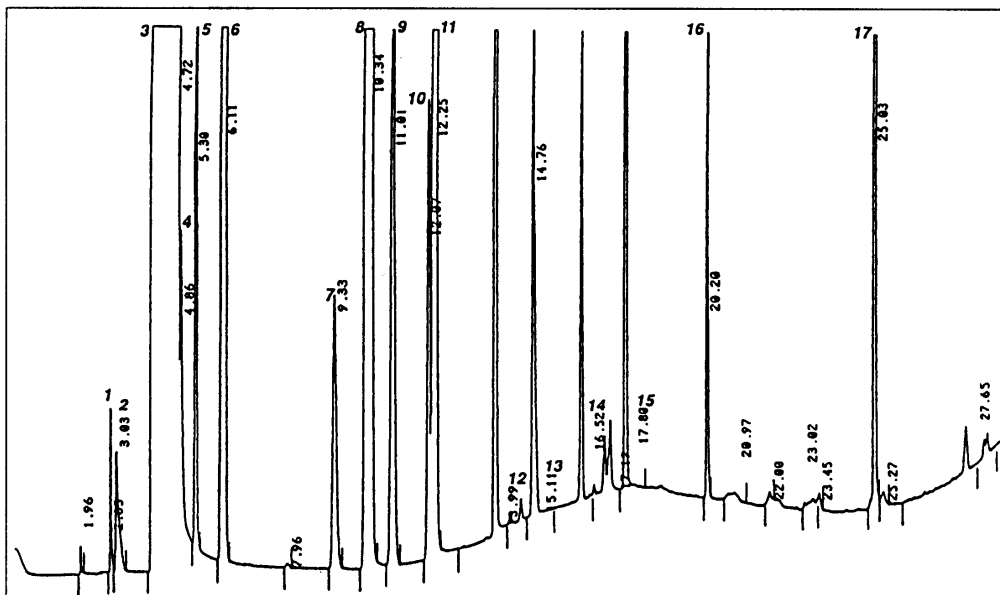
L. 2-butanol,

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.*



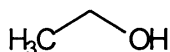
Obr. 1 Těkavé nečistoty: směs ethanolu a 16 nečistot

- |   |   |
|---|---|
| 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                               |   |

## Ethanolum anhydricum

Bezvodý ethanol

*Synonyma.* Spiritus absolutus, bezvodý líh



C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O

*M<sub>r</sub>* 46,07

CAS 64-17-5

Obsahuje nejméně 99,5 % (V/V) [99,2 % (m/m)] sloučeniny C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O při 20 °C.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá těkáva 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 navlčeným čerstvě připraveným roztokem obsahujícím 0,1 g *nitroprusidu 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.** Proveďte se plynová chromatografie (2.2.28).

*Zkoušený roztok (a).* Použijte 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)(k्यानopropyl)][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 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, sniží 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/l).

Vypočte se součet obsahů acetaldehydu a acetalu (µl/l) z ploch odpovídajících píků na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{10 \cdot A_E}{A_T - A_E} + \frac{30 \cdot C_E}{C_T - C_E},$$

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 µl/l, vyjádřeno jako acetaldehyd.

Vypočte se obsah benzenu (µl/l) z plochy odpovídajícího píku na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) podle vztahu:

$$\frac{2B_E}{B_T - B_E},$$

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/l.

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/l). Ne-



přihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,03násobek piků 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).

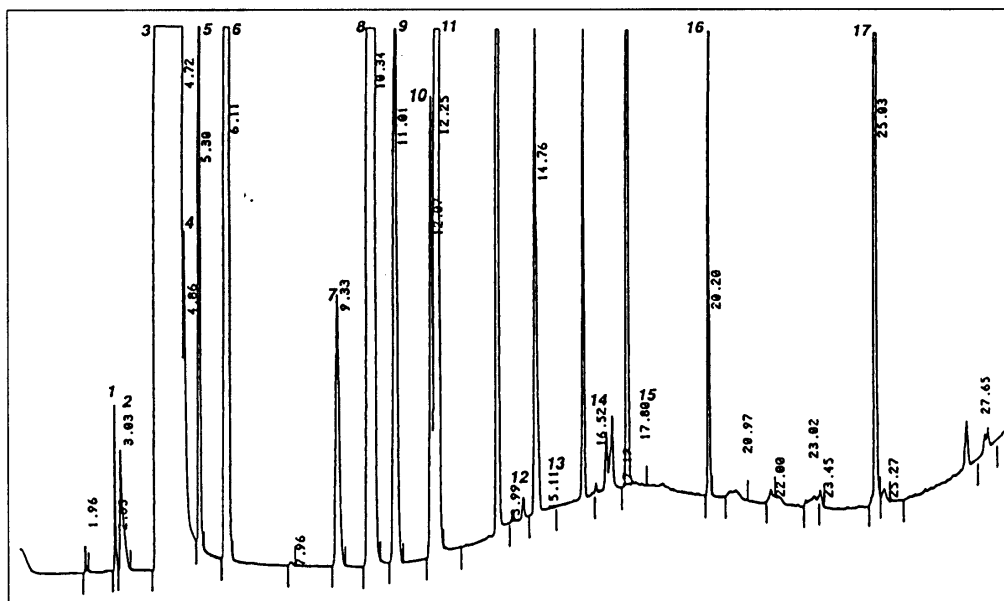
### Uchovávání

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 Těkavé 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                               |   |

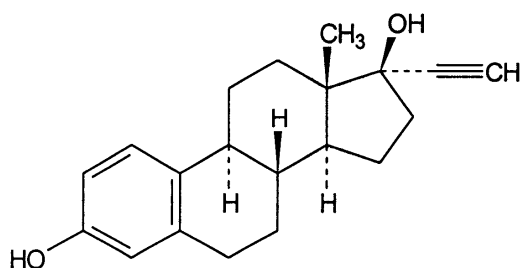
95. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ethinylestradiolum zní:

”

## † Ethinylestradiolum

Ethinylestradiol

2000



$C_{20}H_{24}O_2$

$M_r$  296,41

CAS 57-63-6

Je to 19-nor-17 $\alpha$ -pregna-1,3,5(10)-trien-20-in-3,17-diol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{24}O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý až slabě nažloutlý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných alkalických roztocích.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a C.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *ethinylestradiolu CRL*. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, zkoušená látka a referenční látka se odděleně rozpustí 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 G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 25 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 25 ml.

*Porovnávací roztok.* 25 mg *ethinylestradiolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se stejnou směsí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *lihu 96% R* a *toluenu R* (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se suší na vzduchu do vymizení pachu rozpouštědel a pak se zahřívá 10 min při 110 °C. Horká vrstva se postříká *kyselinou sírovou v lihu RS*. Pak se vrstva opět zahřívá 10 min při 110 °C a pozoruje se v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením, fluorescencí a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

## Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-27^{\circ}$  až  $-30^{\circ}$ , počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 1,25 g v *pyridinu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,1 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5 mg *17 $\alpha$ -estradiolu R* se rozpustí v mobilní fázi, přidá se 10,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fázi na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (45 + 55); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Upraví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na získaném chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Je-li chromatogram zaznamenaný za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: *17 $\alpha$ -estradiolu* asi 3,5 min a *ethinylestradiolu* asi 4,6 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *17 $\alpha$ -estradiolu* a *ethinylestradiolu* je nejméně 3,5; je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající 2,5násobku 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) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 0,75násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nastříkne se 20  $\mu$ l mobilní fáze jako kontrolní roztok. Nepřihlíží se k píkům mobilní fáze a k píkům s plochou menší než 0,025násobek 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

0,200 g se rozpustí ve 40 ml *tetrahydrofuranu R*, přidá se 5 ml roztoku *dusičnanu stříbrného R* (100 g/l) a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

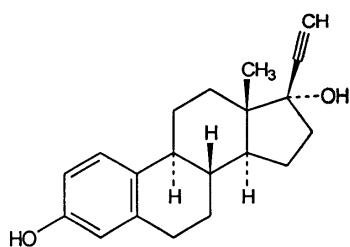
1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 29,64 mg  $C_{20}H_{24}O_2$ .

## Uchovávání

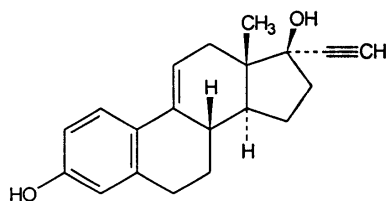
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

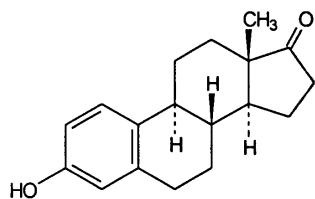
## Nečistoty



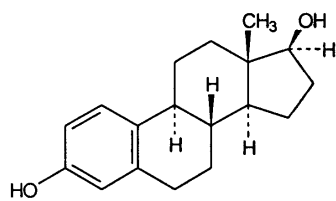
A. 17β-ethinylestradiol,



B. 9,11-didehydroethinylestradiol,



C. estron,



D. β-estradiol.

96. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ethisteronum se zrušuje.

97. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Ethylendiaminum doplňuje článek Ethylenglycoli monopalmitostearas, který zní:

”

## Ethylenglycoli monopalmitostearas<sup>1)</sup>

Ethylenglykolmonopalmitostearat



RZ2000

Je to směs ethylenglykolmono- a diesterů kyseliny stearové a palmitové. Obsahuje nejméně 50,0 % monoesterů připravených kondenzací ethylenglykolu a kyseliny stearové 50 rostlinného nebo živočišného původu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Bílá nebo téměř bílá voskovitá tuhá látka. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v horkém lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Stanovení obsahu (obsah monoesterů) je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 54 °C až 60 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 3,0; stanoví se s 10,0 g.

Číslo jodové (2.5.4.). Nejvýše 3,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 170 až 195; stanoví se s 2,0 g.

Podíl mastných kyselin. Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin má následující složení:

- kyselina stearová: 40,0 % až 60,0 %,
- součet obsahů kyseliny palmitové a kyseliny stearové je nejméně 90,0 %.

Volný ethylenglykol. Nejvýše 5,0 %; stanoví se postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

## Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného ethylenglykolu a monoesterů vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g ( $m$ ) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5,0 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění, je-li třeba, za mírného zahřátí. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky ( $M$ ).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží s přesností na 0,1 mg asi 2,5 mg, 5,0 mg, 10,0 mg a 20,0 mg *ethylenglykolu R*. Přidá se 5,0 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace ethylenglykolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (5  $\mu$ m, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 40  $\mu$ l každého porovnávacího roztoku. Jsou-li chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou relativní retenční časy vztažené k ethylenglykolu asi 0,83 pro monoestery a asi 0,76 pro diestery. Koncentrace ethylenglykolu ve zkoušeném roztoku ( $C$ ) v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného ethylenglykolu v procentech se vypočte ve zkoušené látce podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10},$$

Z plochy píků monoesterů ( $A$ ) a diesterů ( $B$ ) se vypočte procentuální obsah monoesterů podle vzorce:

$$\frac{A}{A+B} \cdot (100-D),$$

v němž značí:

$D$  - obsah volného ethylenglykolu v procentech a obsah volných mastných kyselin v procentech.

Obsah volných mastných kyselin v procentech se vypočte podle vzorce:

$$\frac{I_A \cdot 270}{561,1},$$

v němž značí:

$I_A$  - číslo kyselosti.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

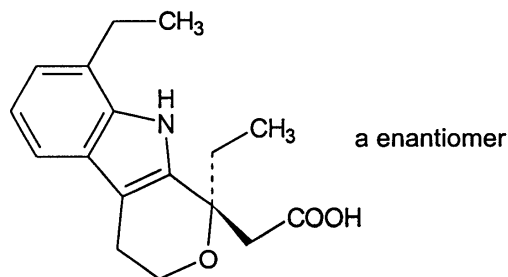
98. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Etilefrini hydrochloridum doplňuje článek Etodolacum, který zní:

”

## † Etodolacum

Etodolak

2000

C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 287,36

CAS 41340-25-4

Je to kyselina 2-[(1*R,S*)-1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 144 °C až 150 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *etodolaku CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*, předem aktivované zahříváním při 105 °C po dobu 1 h.

*Zkoušený roztok*. 10 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok*. 10 mg *etodolaku CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Deska s vrstvou se vloží do nenasycené komory obsahující směs objemových dílů roztoku *kyseliny askorbové R* (25 g/l) a *methanolu R* (20 + 80) a nechá se tam tak dlouho, dokud roztok nevystoupí 1 cm nad linii startu. Poté se vrstva vyjme a nechá se sušit nejméně 30 min.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *ethanolu R* a *toluenu R* (0,5 + 30 + 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 i velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.



## Zkoušky na čistotu

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním 2,50 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 5,0 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 mg *etodolaku nečistoty H CRL* a 1,0 mg *etodolaku CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50 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  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min a gradientového programu za následujících podmínek:
  - *mobilní fáze A* - směs objemových dílů *methanolu R* a roztoku připraveného následovně: 13,6 g *dihydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví roztokem *hydroxidu draselného R* (300 g/l) na hodnotu 7,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml (312 + 688),
  - *mobilní fáze B* - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 20	90 → 80	10 → 20	lineární gradient
20 - 40	80 → 50	20 → 50	lineární gradient
40 - 45	90	10	návrat k počátečním podmínkám
45 - 55	90	10	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 225 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Při zaznamenaní chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy nečistoty H asi 8 min a etodolaku asi 9 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími nečistotě H a etodolaku je nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 10  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 10  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního 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 %). Nepřehlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Chloridy.** Nejvýše 300  $\mu\text{g/g}$ . 1,0 g se rozpustí v 60 ml *methanolu R*, přidá se 10 ml *vody R* a 20 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a titruje se *dusičnanem stříbrným 0,01 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,01 mol/l VS* odpovídá 0,3545 mg Cl.

**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 0,5 %; stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

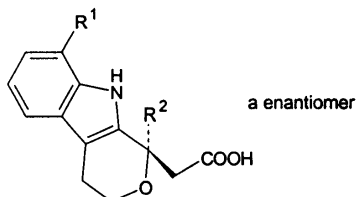
## Stanovení obsahu

0,250 g se rozpustí v 60 ml *methanolu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Provede se slepá zkouška.

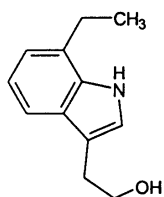
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 28,74 mg  $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ .

**Uchovávání**

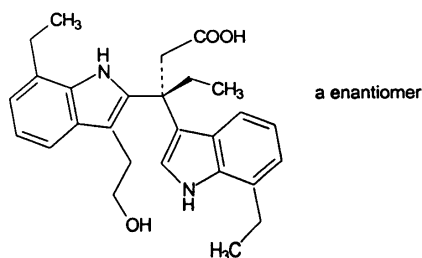
V dobře uzavřených obalech.  
Separandum.

**Nečistoty**

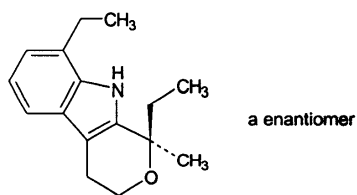
- A.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = CH_2-CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-1-ethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (8-deethylotodolak),
- B.  $R^1 = CH_3$ ,  $R^2 = CH_2-CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-1-ethyl-8-methyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano-[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (8-methyletodolak),
- C.  $R^1 = CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-8-ethyl-1-methyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano-[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (1-methyletodolak),
- D.  $R^1 = CH(CH_3)_2$ ,  $R^2 = CH_2-CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-1-ethyl-8-isopropyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (8-isopropyletodolak),
- E.  $R^1 = CH_2-CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = CH_2-CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-1-ethyl-8-propyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (8-propyletodolak),
- F.  $R^1 = CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = CH(CH_3)_2$ : kyselina 2-[(1*RS*)-8-ethyl-1-isopropyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (1-isopropyletodolak),
- G.  $R^1 = CH_2-CH_3$ ,  $R^2 = CH_2-CH_2-CH_3$ : kyselina 2-[(1*RS*)-8-ethyl-1-propyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]octová (1-propyletodolak),



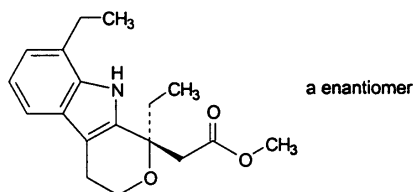
- H. 2-(7-ethylindol-3-yl)ethanol,



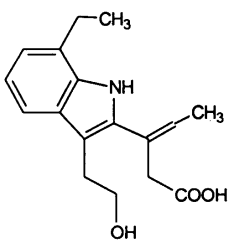
- I. kyselina (3*RS*)-3-[7-ethyl-3-(2-hydroxyethyl)indol-2-yl]-3-(7-ethylindol-3-yl)pentanová (dimer etodolaku),



J. (1*RS*)-1,8-diethyl-1-methyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol (dekarboxyetodolak),



K. methyl-2-[(1*RS*)-1,8-diethyl-1,3,4,9-tetrahydropyrano[3,4-*b*]indol-1-yl]acetat (methylester etodolaku),



L. kyselina (*EZ*)-3-[7-ethyl-3-(2-hydroxyethyl)-1*H*-indol-2-yl]-3-pentenová.

99. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ferrosi fumaras zní:

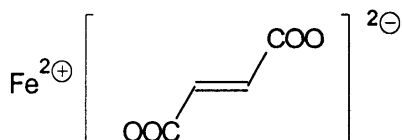
”

## Ferrosi fumaras

Fumaran železnatý

*Synonymum.* Ferrum fumaricum

2000



$\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$

$M_r$  169,90

CAS 141-01-5

Je to ferrium(II)-(E)-butendioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 93,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{C}_4\text{H}_2\text{FeO}_4$ .

### Vlastnosti

Červenooranžový nebo červenonědý jemný prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. Provede se tenkovrstevná chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* K 1,0 g se přidá 25 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny chlorovodíkové R a vody R a zahřívá se 15 min na vodní lázni. Ochladí se a zfiltruje. Filtrát se použije pro zkoušku totožnosti C. Zbytek na filtru se promyje 50 ml směsi objemových dílů kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a vody R (1 + 9). Promývací tekutiny se odstraní. Zbytek se suší při 100 °C až 105 °C. 20 mg zbytku se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 20 mg kyseliny fumarové CRL se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně 5  $\mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, dichlormethanu R, 1-butanolu R a heptanu R (12 + 16 + 32 + 44) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 15 min při 105 °C 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.

B. 0,5 g se smíchá s 1 g resorcinolu R. K 0,5 g této směsi v kelímku se přidá 0,15 ml kyseliny sírové R a mírně se zahřeje. Vznikne tmavě červená polotuhá hmota. Tato hmota se opatrně přidá ke 100 ml vody R; vznikne oranžově žluté zabarvení a roztok nevykazuje fluorescenci.

C. Filtrát získaný ve zkoušce totožnosti A vyhovuje zkoušce (a) na železo (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

*Roztok S.* 2,0 g se rozpustí mírným zahřátím ve směsi 10 ml kyseliny chlorovodíkové prosté olova R a 80 ml vody R. Potom se ochladí, zfiltruje se, je-li třeba, a zředí se vodou R na 100 ml.

*Sírany (2.4.13).* Zahřívá se 0,15 g s 8 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 20 ml vody destilované R. Ochladí se v ledové lázni, zfiltruje se a zředí se vodou destilovanou R na 30 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,2 %).

**Arsen (2.4.2).** 1,0 g se smíchá s 15 ml vody R a 15 ml kyseliny sírové R a zahřívá se do úplného vysrážení kyseliny fumarové. Ochladí se, přidá se 30 ml vody R a zfiltruje se. Sraženina se promyje vodou R. Filtrát a promývací tekutina se spojí a zředí se vodou R na 125 ml. 25 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (5 µg/g).

**Železité ionty.** Nejvýše 2,0 %. 3,0 g se v baňce se skleněnou zabroušenou zátkou rozpustí rychlým zahřátím k varu ve směsi 10 ml kyseliny chlorovodíkové R a 100 ml vody R. Vaří se 15 s, rychle se ochladí, přidají se 3 g jodidu draselného R, baňka se uzavře a nechá se 15 min stát chráněna před světlem. Přidají se 2 ml škrobu RS jako indikátoru a titruje se uvolněný jod thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS. Provede se slepá zkouška. Rozdíl spotřeb mezi titracemi odpovídá množství jodu uvolněného železitými ionty.

1 ml thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 5,585 mg železitého iontu.

**Kadmium.** 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 kadmia (0,1 % Cd) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 10% (V/V).

Změří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Chrom.** Nejvýše 200 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 chromu (0,1 % Cr) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 10% (V/V).

Změří se absorbance při 357,9 nm za použití chromové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Olovo.** Nejvýše 20 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 (10 µg Pb/ml) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 10% (V/V).

Změří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Rtuť.** Nejvýše 1 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 rtuti (10 µg Hg/ml) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 25% (V/V).

Výrobce doporučený postup: 5 ml roztoku S nebo 5 ml porovnávacího roztoku se umístí do reakční nádoby pro metodu studených par pro rtuť, přidá se 10 ml vody R a 1 ml chloridu cinatého RS1.

Změří se absorbance při 253,7 nm za použití rtuťové lampy s dutou katodou jako zdroje záření.

**Nikl.** Nejvýše 200 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 niklu (10 µg Ni/ml) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 10% (V/V).

Změří se absorbance při 232 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Zinek.** Nejvýše 500 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok S desetkrát zředěný. 1 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku zinku (10 µg Zn/ml) zředěním roztokem kyseliny chlorovodíkové prosté olova R 1% (V/V).

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 1,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Stanovení obsahu**

0,150 g se rozpustí mírným zahřátím v 7,5 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Ochladí se, přidá se 25 ml *vody R* a 0,1 ml *feroinu RS* a titruje se ihned *síranem ceričitým 0,1 mol/l VS* do změny oranžového zbarvení na světle modrozelené.

1 ml *síranu ceričitého 0,1 mol/l VS* odpovídá 16,99 mg  $C_4H_2FeO_4$ .

**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

“

100. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Flecainidi acetat zní:

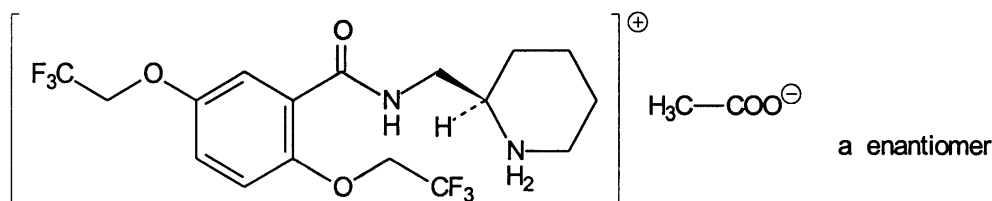
”

**† Flecainidi acetat**

Flecainidiumacetat



2000

 $C_{19}H_{24}F_6N_2O_5$  $M_r$  474,40

CAS 54143-56-5

Je to (*RS*)-2-[2,5-bis(2,2,2-trifluorethoxy)benzoylaminoethyl]piperidiniumacetat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{19}H_{24}F_6N_2O_5$ .

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický velmi hygroskopický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě a v ethanolu. Je snadno rozpustný ve zředěné kyselině octové a prakticky nerozpustný ve zředěné kyselině chlorovodíkové.

**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. Speci-  
fická absorbance v maximu je 61 až 65.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *flekainidumacetatu 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 stejným rozpouštědlem 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 *flekainidumacetatu CRL* a 25 mg *flekainidu 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
	90	10	ustalování
0 - 12	90 → 30	10 → 70	lineární gradient
12 - 17	30	70	izokraticky
17 - 19	30 → 90	70 → 10	lineární gradient
19 - 21	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).

**Nečistota B.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub>* pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 2 ml.

**Porovnávací roztok.** 10 mg *flekainidu nečistoty B CRL* se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 100 ml (roztok A). 0,10 g *flekainidumacetatu CRL* se rozpustí v roztoku A a zředí se methanolem R na 2 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5 µl každého roztoku. Využívá 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 nečistotě B intenzivnější než skvr-

na odpovídající nečistotě B 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 v sušárně 2 h při 60 °C při tlaku nepřesahujícím 0,6 kPa.

**Síranový popel (2.4.14).** Použije se platinový kelímeček. 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).

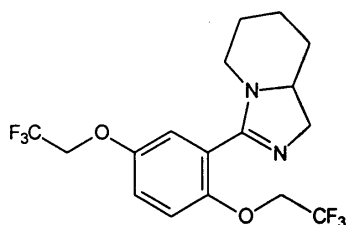
1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 47,44 mg C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>F<sub>6</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.

### Uchovávání

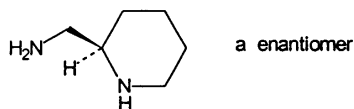
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

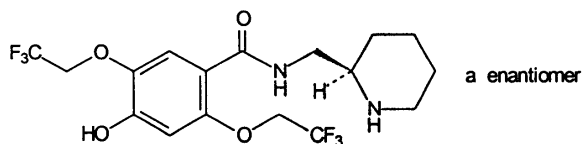
### Nečistoty



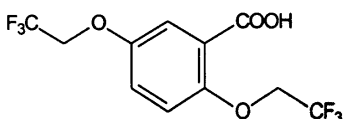
A. 3-[2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)fenyl]-1,5,6,7,8,8a-hexahydroimidazo[1,5-a]pyridin,



B. (RS)-(2-piperidyl)methanamin,

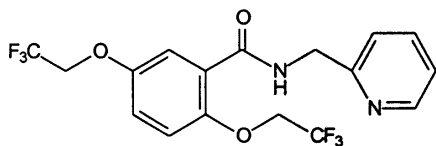


C. (RS)-4-hydroxy-N-(2-piperidylmethyl)-2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzamid,



D. kyselina 2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzoová,





E. N-(2-pyridylmethyl)-2,5-bis(2,2,2-trifluoroethoxy)benzamid.

“

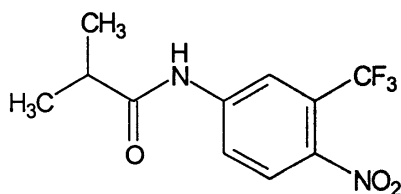
101. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Flurazepami hydrochloridum doplňují články Flutamidum a Flutrimazolium, které znějí:

”

## † Flutamidum

Flutamid

2000

 $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$  $M_r$  276,21

CAS 13311-84-7

Je to 2-methyl-N-[4-nitro-3-(trifluormethyl)fenyl]propanamid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$ .

### Vlastnosti

Světle žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a v lihu 96%.  
Taje při asi 112 °C.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *flutamidu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 2 mg flutamidu CRL a 2 mg flutamidu nečistoty C CRL se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R*; průtoková rychlost je 0,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu nebyla menší než 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy flutamidu asi 19 min a nečistoty C asi 14 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty C a flutamidu je nejméně 10,5.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 1,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty C s relativním retenčním časem asi 0,72 vztaheno k flutamidu není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, není 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, jejichž plocha je menší než 0,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ g 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

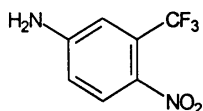
25,0 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 25,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) v maximu při 295 nm.

Vypočítá se obsah  $C_{11}H_{11}F_3N_2O_3$  za použití specifické absorbance, která má hodnotu 295.

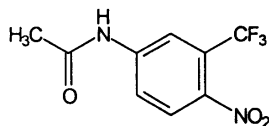
## Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

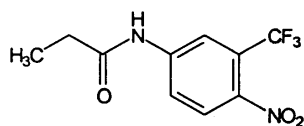
## Nečistoty



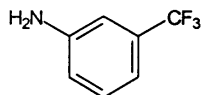
A. 4-nitro-3-(trifluormethyl)anilin,



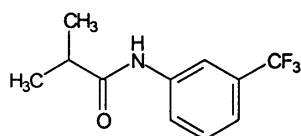
B. N-[4-nitro-3-(trifluormethyl)fenyl]acetamid,



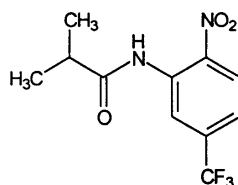
C. N-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)fenyl]propanamid,



D. 3-(trifluoromethyl)anilin,



E. 2-methyl-N-[3-(trifluoromethyl)fenyl]propanamid,

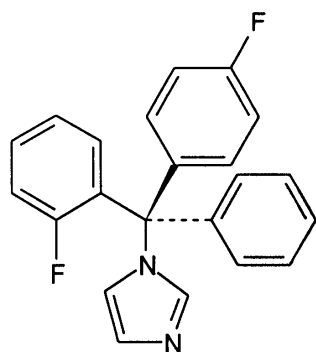


F. 2-methyl-N-[2-nitro-5-(trifluoromethyl)fenyl]propanamid.

## † Flutrimazolum

Flutrimazol

2000



a enantiomer

C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>M<sub>r</sub> 346,38

CAS 119006-77-8

Je to (*RS*)-1-[fenyl(2-fluorfenyl)(4-fluorfenyl)methyl]-1*H*-imidazol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v tetrahydrofuranu a dobře rozpustný v methanolu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: B.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Teplota tání (2.2.14). 161 °C až 166 °C.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *flutrimazolu CRL*.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu *F<sub>254</sub> pro TLC R*, která se zahřívá 1 h při 110 °C.

*Zkoušený roztok.* 20 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 20 mg *flutrimazolu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 20 mg *flutrimazolu CRL* a 10 mg *metronidazolbenzoátu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *2-propanolu R* a *ethylacetátu R* (10 + 90) po dráze odpovídající dvěma třetinám výšky desky. 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.

**D.** Asi 5 mg se smíchá s 45 mg *oxidu hořečnatého těžkého R* a žihá se v kelímku až do získání téměř bílého zbytku (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* do odbarvení roztoku. Zfiltruje se a 1,0 ml filtrátu se přidá k čerstvě připravené směsi 0,1 ml *alizarinu S RS* a 0,1 ml *dusičnan-oxidu zirkoničitého RS*. Promíchá se, nechá se stát 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

**Roztok S.** 1,00 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>7</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Optická otáčivost** (2.2.7). -0,05° až +0,05°; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 40,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *imidazolu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 30,0 mg *flutrimazolu nečistoty B CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 2,0 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchají a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 10,0 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (e).* 2,0 ml zkoušeného roztoku a 10,0 ml porovnávacího roztoku (c) se smíchají a zředí se mobilní fází na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (f).* 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 0,2 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagemem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 7,0 (0,03 mol/l)* a *acetonitrilu R* (40 + 60); průtoková rychlost je 1,3 ml/min,

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (e). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi prvním píkem (imidazol) a druhým píkem (nečistota B) je nejméně 2,0 a rozlišení mezi druhým a třetím píkem (flutrimazol) je nejméně 1,5. Faktor symetrie prvního a druhého píku není větší než 2,0.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (d) a 20 µl porovnávacího roztoku (f) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku:

- plocha píku imidazolu není větší než odpovídající plocha na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,1 %);
- plocha píku nečistoty B není větší než odpovídající plocha na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,3 %);
- plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího nečistotě B, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,1 %); součet ploch všech takových píků není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f) (0,3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (f).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce F na těžké kovy (10 µg/g). Použije se platinový kelímek. 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 v platinovém kelímku.

### Stanovení obsahu

0,300 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.

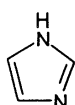
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 34,64 mg C<sub>22</sub>H<sub>16</sub>F<sub>2</sub>N<sub>2</sub>.

### Uchovávání

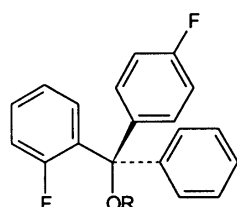
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A. imidazol,



a enantiomer

B. R = H: (RS)-fenyl(2-fluorfenyl)(4-fluorfenyl)methanol,

C. R = CH<sub>3</sub>: (RS)-fenyl(2-fluorfenyl)(4-fluorfenyl)methoxymethan.

102. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Fosfomycinum dinatricum doplňuje článek Fosfomycinum trometamoli, který zní:

”

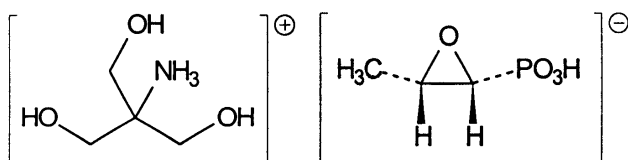
## † Fosfomycinum trometamoli

Fosfomycintrometamol

2000



*Synonymum.* Fosfomycinum trometamol

C<sub>7</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub>PM<sub>r</sub> 259,23

CAS 78964-85-9

Je to 1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-ylamonium-(2*R*,3*S*)-(3-methyloxiran-2-yl)hydrogenfosfonat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>7</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>7</sub>P.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: 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 *fosfomycintrometamolu CRL*.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *celulosity pro chromatografii R*.

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 50 mg *fosfomycintrometamolu CRL* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *vody R* a *2-propanolu R* (10 + 20 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší proudem teplého vzduchu a vystaví se působení jodových par, dokud se neobjeví skvrny. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá svou polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. K asi 15 mg se přidají 2 ml *vody R*, 1 ml *kyseliny chloristé R* a 2 ml *jodistanu sodného 0,1 mol/l RS*. Zahřívá se na vodní lázni po dobu 10 min a přidá se bez ochlazení 1 ml *molybdenanu hexaamonného RS5* a 1 ml *kyseliny aminohydroxy-naftalensulfonové RS*. Nechá se stát 30 min; vznikne modré zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

*Roztok S.* 1,00 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 20,0 ml.

*Hodnota pH* (2.2.3). 3,5 až 5,5; měří se roztok S.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-13,5^\circ$  až  $-12,5^\circ$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok S při 365 nm za použití rtuťové výbojky.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 5  $\mu$ l zkoušeného roztoku, 5  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a 5  $\mu$ l kontrolního roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času píku fosfomycinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha píku nečistoty A není větší než plocha odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %, počítáno jako soli trometamolu); plocha žádného píku, kromě hlavního píku, dvou píků trometamolu a píku nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %, počítáno jako soli trometamolu). Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a dvou píků trometamolu, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %, počítáno jako soli trometamolu). Nepřihlíží se k píku kontrolního roztoku a k píkům s plochou menší než je 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Fosforečnany.** 0,1 g se rozpustí ve 3 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 10 ml. K 5 ml tohoto zkoušeného roztoku se přidá 5 ml *vody R* a 5 ml *zkoumadla molybdenan-vanadičného R*. Důkladně se protřepe. Po 5 min není zbarvení zkoušeného roztoku intenzivnější než zbarvení u porovnávacího roztoku připraveného současně stejným postupem za použití 5 ml základního roztoku *fosforečnanů (5  $\mu$ g PO<sub>4</sub>/ml)* (500  $\mu$ g/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  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1  $\mu$ g Pb/ml)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,5 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29). *Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 0,60 g se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,60 g *fosfomycintrometamolu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 8,7 mg *fosfomycintrometamolu nečistoty A CRL* (disodná sůl) se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 20,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5 mg *fosfomycintrometamolu nečistoty A CRL* (disodná sůl) a 10 mg *fosfomycintrometamolu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 5,0 ml.

*Kontrolní roztok.* Roztok *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* (0,3 g/l) v mobilní fázi.

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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou tvoří roztok *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (10,89 g/l); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- refraktometrického detektoru udržovaného na teplotě 35 °C.

Jsou-li chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, jsou relativní retenční časy vzhledem k fosfomycinu u dvou píků trometamolu asi 0,3 a u nečistoty A 0,8.

Nastříkne se 5  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky fosfomycinu a nečistoty A nejméně 1,5. Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže je relativní směrodatná odchylka ploch píků fosfomycinu nejvýše 1,0 %. Střídavě se nastříkuje zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

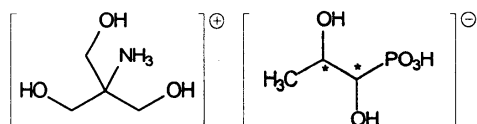
Vypočítá se obsah fosfomycintrometamolu v procentech.

## Uchovávání

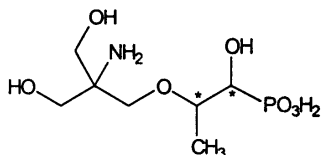
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před vlhkostí.

Separandum.

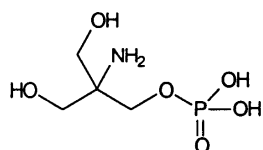
## Nečistoty



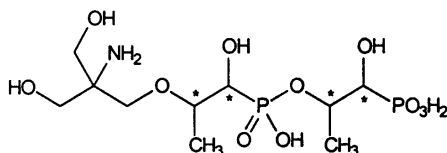
A. 1,3-dihydroxy-2-(hydroxymethyl)propan-2-ylamonium-(1,2-dihydroxypropyl)hydrogenfosfonat,



B. kyselina [2-(2-amino-3-hydroxy-2-hydroxymethylpropoxy)-1-hydroxypropyl]fosfonová,



C. (2-amino-3-hydroxy-2-hydroxymethylpropyl)dihydrogenfosfat (fosforečný ester trometamolu),



D. kyselina {2-[[[2-(2-amino-3-hydroxy-2-hydroxymethylpropoxy)-1-hydroxypropyl]fosfiniko]oxy]-1-hydroxypropyl} fosfonová (dimer trometamoyloxyfosfomycinu).

“

103. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Fructosum* doplňuje článek *Fucus*, který zní:

”

**Fucus**

Chaluha

*Synonymum.* *Fucus vesiculosus*

2000



Jsou to úlomky nebo práškovaná usušená stélka druhu *Fucus vesiculosus* L. nebo *F. serratus* L. nebo *Ascophyllum nodosum* Le JOLIS.

Obsahuje 0,03 % až 0,2 % jodu (A, 126,9), vztaženo na vysušenou drogu.



## Vlastnosti

Droga má slanou slizovitou chuť a nepříjemný mořský pach.  
Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

## Zkoušky totožnosti

- A. Rohovité černohnědé až zelenohnědé úlomky jsou někdy pokryté bílým náletem. Stélka je tvořena pentlicovitými vidličnatě větvenými čepelemi s vyniklým středním žebrem (nepravé cévy). *Fucus vesiculosus* - stélka listovitá celokrajná, někdy s vejčitými vzduchovými plovacími měchýřky umístěnými jednotlivě nebo v páru. Na konci vejčitých, mírně rozšířených větvích stélky jsou četné rozmnožovací orgány (tzv. konceptakula). *Fucus serratus* - stélka listovitá s okrajem zubatým, bez plovacích měchýřků. Větve nesoucí konceptakula jsou méně vyduté. *Ascophyllum nodosum* - stélka nepravidelně větvená, bez středního žebra, s jednotlivými vzduchovými měchýřky vejčitého tvaru. Na konci malých větví jsou srpkovitá konceptakula.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: úlomky tkáně s pravidelnými izodiametrickými buňkami s hnědým obsahem a úlomky vnitřní tkáně s bezbarvými protáhlými buňkami uspořádanými v dlouhá vlákna, mezi nimiž jsou velké slizové dutiny. Někdy jsou patrné ztlustlé buňky pseudocév uspořádané v řadách za sebou i v uzavřených skupinách.
- C. 5 g práškové drogy (355) se smíchá s 20 ml roztoku *kyseliny chlorovodíkové R 2% (V/V)*. Důkladně se protřepe a zfiltruje. Zbytek se promyje 10 ml *vody R* a zfiltruje se. Ke zbytku se přidá 10 ml roztoku *uhlíčitanu sodného R (200 g/l)*, protřepe se a odstředí. pH čiré supernatantní tekutiny se upraví *kyselinou sirovou R* na hodnotu 1,5; vzniká bílá vločkovitá sraženina.

## Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi.

**Těžké kovy.** Nejvýše 10 µg/g celkového obsahu kadmia, mědi, železa, olova, niklu a zinku a nejvýše 0,2 µg/g kadmia.

*Přístroj:*

Přístroj se skládá z následujících částí:

- tetrafluorethylenové digesční nádoby o objemu asi 120 ml, opatřené vzduchotěsným uzávěrem s ventilem umožňujícím upravení tlaku uvnitř nádoby a s tetrafluorethylenovou trubicí, kterou lze plyn vypouštět; nádobka se vzduchotěsně uzavře,
- mikrovlnné pícky s magnetronovou frekvencí 2450 MHz, s nastavitelným výkonem od 0 do 630 ±70 wattů při 1 % nárůstu, s programovatelným počítačem, s vnitřním prostorem pícky pokrytým tetrafluorethylenem a vybaveným odsávacím ventilátorem s proměnlivou rychlostí odsávání, s rotační kruhovou deskou a odsávací trubičkou k odvodu spalin,
- atomového absorpčního spektrometru s lampou s dutou katodou jako zdroje záření, grafitového atomizátoru a deuteriové lampy pro korekci pozadí.

*Postup:*

Laboratorní sklo a pomůcky se před použitím umyjí roztokem *kyseliny dusičné R (10 g/l)* ve *vodě R*.

**Zkoušený roztok.** Do digesční nádoby se převede předepsané množství zkoušené látky (asi 0,50 g práškové drogy (1400)). Přidá se 6 ml *kyseliny dusičné R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Nádobka se vzduchotěsně uzavře. Připraví se šest zkoušených roztoků.

**Kontrolní roztok.** Smíchá se 6 ml *kyseliny dusičné R* a 4 ml *kyseliny chlorovodíkové R*.

Šest digesčních nádobek se zkoušeným roztokem a jedna digesční nádobka s kontrolním roztokem se umístí do mikrovlnné pícky. Rozklad se provádí ve třech krocích za použití následujících podmínek:

- 80 % výkonu 15 min,
- 100 % výkonu 5 min,
- 80 % výkonu 20 min.

Na konci cyklu se nádoby nechají vychladnout, do každé se přidají 4 ml *kyseliny sirové R* a rozklad se opakuje za podmínek popsaných výše. Pak se nádoby ochladí na vzduchu a do každé se přidá 1,0 ml roztoku *dusičnanu hořeč-*

natého R (10 g/l) a 1,0 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (100 g/l) a zředí se redestilovanou vodou R na 50,0 ml.

Stanoví se obsah kadmia, mědi, železa, olova, niklu a zinku. Měření se provádí metodou standardního přídatku (2.2.23, *Metoda II*) s porovnávacími roztoky jednotlivých těžkých kovů a podmínek popsanych v tabulce č. 1.

Tab. 1

		Cd	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
vlnová délka	nm	228,8	324,8	248,3	232	283,3	213,9
šířka štěrbin	nm	0,5	0,5	0,2	0,2	0,5	0,5
proud lampy	mA	6	7	5	10	5	7
teplota pyrolýzy	°C	800	800	800	800	800	800
teplota atomizace	°C	1800	2300	2300	2500	2200	2000
pozadí		ano	ne	ne	ne	ne	ne
průtok dusíku	l/min	3	3	3	3	3	3

**Arsen (2.4.2).** 1 g práškované drogy vyhovuje limitní zkoušce A na arsen (1 µg/g); porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku arsenu (1 µg As/ml).

**Číslo bobtnavosti (2.8.4).** Nejméně 6.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 15,0 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 24,0 %.

**Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1).** Nejvýše 3,0 %.

### Stanovení obsahu

**Celkový jod.** 1,00 g práškované drogy se ve vysokém křemenném kelímku smíchá s 5 ml vody R a 5 g *hydroxidu draselného R*. Směs se promíchá skleněnou tyčinkou a zahřívá se na vodní lázni. Pak se přidá 1 g *uhličitanu draselného R*, promíchá se a suší se nejprve na vodní lázni a pak nad otevřeným plamenem. Teplota žhání nepřesáhne 600 °C. Po ochlazení se přidá 20 ml vody R a za míchání skleněnou tyčinkou se zahřeje opatrně k varu. Horká směs se zfiltruje neskládaným filtrem do kuželové baňky. Zbytek se promyje čtyřikrát 20 ml horké vody R, kelímek a filtr 50 ml horké vody R. Takto získané roztoky se spojí a po ochlazení se neutralizují *kyselinou sírovou zředěnou RS* za použití *oranže methylové RS*. Přidají se 3 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a 1 ml *bromové vody R*; roztok je žlutý. Po 5 min se přidá 0,6 ml roztoku *fenolu R* (50 g/l); roztok je čirý. Roztok se okyselí 5 ml *kyseliny fosforečné R*, přidá se 0,2 g *jodidu draselného R* a nechá se stát 5 min za ochrany před světlem. Titruje se *thiosíranem sodným 0,01 mol/l VS* za použití *škrobu RS* jako indikátoru.

1 ml *thiosíranu sodného 0,01 mol/l VS* odpovídá 0,2115 mg jodu.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

104. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Glutethimidum doplňují články Glyceroli dibehenas, Glyceroli distearas, Glyceroli monolinoleas a Glyceroli monooleates, které znějí:

”

## Glyceroli dibehenas

Glyceroldibehenat

2000



Je to směs diacylglycerolů, hlavně dibehenoylglycerolu, spolu s proměnlivými množstvími mono- a triacylglycerolů. Obsahuje 13,0 % až 21,0 % monoacylglycerolů, 40,0 % až 60,0 % diacylglycerolů a 21,0 % až 35,0 % triacylglycerolů získaných esterifikací glycerolu s kyselinou behenovou (kyselina dokosanová,  $C_{21}H_{43}COOH$ ).

### Vlastnosti

Tuhá voskovitá hmota nebo prášek nebo bílé nebo téměř bílé mastné vločky. Je nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu a částečně rozpustný v horkém lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 65 °C až 77 °C.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se rozpustí v toluenu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

*Porovnávací roztok.* 1,0 g glyceroldibehenatu CRL se rozpustí v toluenu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l obou roztoků 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. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají svojí polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti** (2.5.1). Nejvýše 4,0; stanoví se s 1,0 g. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů lihu 96% R a toluenu R, za mírného zahřátí.

**Číslo jodové** (2.5.4). Nejvýše 3,0.

**Číslo zmýdelnění** (2.5.6). 145 až 165; stanoví se s 2,0 g. Titruje se za současného zahřátí.

**Volný glycerol.** Nejvýše 1,0 %; stanoví se postupem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, *Metoda C*), teplota kolony se zvýší na 240 °C. Podíl mastných kyselin má následující složení:

- kyselina palmitová: nejvýše 3,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 5,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 10,0 %,
- kyselina behenová: nejméně 83,0 %,
- kyselina lignocerová: nejvýše 3 %,
- kyselina eruková: nejvýše 3,0 %.

**Nikl** (2.4.27). Nejvýše 1  $\mu$ g/g.

**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g. Jako rozpouštědlo se použije pyridin R.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného glycerolu a mono-, di- a triacylglycerolu vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky (*M*).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baňek se postupně naváží, s přesností na 0,1 mg, asi 2 mg, 5 mg, 10 mg a 20 mg *glycerolu R*. Přidá se po 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepáním se dobře promíchá. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace glycerolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5 μm, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku a po 40 μl každého porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke glycerolu pro monoacylglyceroly asi 0,82, pro diacylglyceroly asi 0,76 a pro triacylglyceroly asi 0,73. Koncentrace (*C*) glycerolu ve zkoušeném roztoku v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného glycerolu ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10}$$

Obsah mono-, di- a triacylglycerolů ve zkoušené látce v procentech se vypočte obvyklým způsobem (metodou normalizace).

## Glyceroli distearas<sup>1)</sup>

Glyceroldistearat



RZ2000

CAS 1323-83-7

Je to směs diacylglycerolů, hlavně distearoylglycerolu, spolu s proměnlivými množstvími mono- a triacylglycerolů. Obsahuje 8,0 % až 22,0 % monoacylglycerolů, 40,0 % až 60,0 % diacylglycerolů a 25,0 % až 35,0 % triacylglycerolů získaných částečnou glycerolózou rostlinných olejů obsahujících triacylglyceroly kyseliny palmitové nebo stearové nebo esterifikací glycerolu kyselinou stearovou 50 (typ I), kyselinou stearovou 70 (typ II) nebo kyselinou stearovou 95 (typ III) (viz článek *Acidum stearicum*). Mastné kyseliny mohou být rostlinného nebo živočišného původu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Tuhá voskovitá hmota nebo prášek nebo bílé nebo téměř bílé mastné vločky. Je nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu a částečně rozpustný v horkém lihu 96%.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

## Zkoušky totožnosti

A. Teplota tání (2.2.14). 50 °C až 60 °C (typ I a II), 50 °C až 70 °C (typ III).

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se rozpustí v dichlormethanu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

*Porovnávací roztok.* 1,0 g glyceroldistearatu CRL se rozpustí v dichlormethanu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl obou roztoků 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. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají její polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti a je v souladu s typem uvedeným v označení na obalu.

D. Zkouška Stanovení obsahu (obsah diacylglycerolu) je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

*Číslo kyselosti* (2.5.1). Nejvýše 6,0; stanoví se s 1,0 g. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů lihu 96% R a toluenu R, za mírného zahřívání.

*Číslo jodové* (2.5.4). Nejvýše 3,0.

*Číslo zmýdelnění* (2.5.6). 165 až 195; stanoví se s 2,0 g. Titruje se za současného zahřívání.

*Volný glycerol.* Nejvýše 1,0 %; stanoví se postupem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu.

*Podíl mastných kyselin.* Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda C). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

	Mastná kyselina použitá pro výrobu esterifikací	Podíl mastných kyselin
glyceroldistearat typu I	kyselina stearová 50	kyselina stearová: 40,0 % až 60,0 %; součet obsahů kyseliny palmitové a stearové: nejméně 90,0 %
glyceroldistearat typu II	kyselina stearová 70	kyselina stearová: 60,0 % až 80,0 %; součet kyseliny palmitové a stearové: nejméně 90,0 %
glyceroldistearat typu III	kyselina stearová 95	kyselina stearová: 90,0 % až 99,0 %; součet obsahů kyseliny palmitové a stearové: nejméně 96,0 %

*Nikl* (2.4.27). Nejvýše 1 µg/g.

*Voda, semimikrostanovení* (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g. Jako rozpouštědlo se použije pyridin R.

*Celkový popel* (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného glycerolu a mono-, di- a triacylglycerolu vylučovací chromatografií (2.2.30).

*Zkoušený roztok.* Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml tetrahydrofuranu R a třepe se do rozpouštění. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky (*M*).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží, s přesností na 0,1 mg, asi 2 mg, 5 mg, 10 mg a 20 mg *glycerolu R*. Přidá se po 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepáním se dobře promíchá. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace *glycerolu* v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5 μm, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*, průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku a po 40 μl každého porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke *glycerolu* pro monoacylglyceroly asi 0,84, pro diacylglyceroly asi 0,78 a pro triacylglyceroly asi 0,75. Koncentrace (*C*) *glycerolu* ve zkoušeném roztoku v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného *glycerolu* ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10}$$

Obsah mono-, di- a triacylglycerolů ve zkoušené látce v procentech se vypočte obvyklým způsobem (metodou normalizace).

## Označování

V označení na obalu se uvede typ *glyceroldistearatu*.

---

# Glyceroli monolinoleas

Glycerolmonolinolat



Je to směs monoacylglycerolů, hlavně monooleoyl- a monolinoleoylglycerolu, spolu s proměnlivými množstvími di- a triacylglycerolů. Obsahuje 32,0 % až 52,0 % monoacylglycerolů, 40,0 % až 55,0 % diacylglycerolů a 5,0 % až 20,0 % triacylglycerolů získaných částečnou *glycerolýzou* rostlinných olejů obsahujících hlavně triacylglyceroly kyseliny linolové (kyselina (Z,Z)-9,12-oktadekadienová). Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

## Vlastnosti

Jantarově žlutá olejovitá kapalina, která může být při pokojové teplotě polotuhé konzistence. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

## Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Číslo jodové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

*Porovnávací roztok.* 1,0 g *glycerolmonolinolatu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 μl obou roztoků 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. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají svojí polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

**Číslo kyselosti (2.5.1).** Nejvýše 6,0; stanoví se s 1,0 g.

**Číslo jodové (2.5.4).** 100 až 140.

**Číslo peroxidové (2.5.5, Metoda A).** Nejvýše 12,0; stanoví se s 2,0 g.

**Číslo zmýdelnění (2.5.6).** 160 až 180; stanoví se s 2,0 g.

**Volný glycerol.** Nejvýše 6,0 %; stanoví se postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda C). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina palmitová: 4,0 % až 20,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 6,0 %,
- kyselina olejová: 10,0 % až 35,0 %,
- kyselina linolová: nejméně 50,0 %,
- kyselina linolenová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina ikosenová: nejvýše 1,0 %.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R*.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g.

## Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného glycerolu a mono-, di- a triacylglycerolu vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky (*M*).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží, s přesností na 0,1 mg, asi 2,5 mg, 5 mg, 10 mg a 20 mg *glycerolu R*. Přidá se po 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepáním se dobře promíchá. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace glycerolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5 μm, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku a po 40 μl každého porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke glycerolu pro monoacylglyceroly asi 0,86, pro diacylglyceroly asi 0,80 a pro triacylglyceroly asi 0,76. Koncentrace (*C*) glycerolu ve zkoušeném roztoku v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného glycerolu ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10}$$

Obsah mono-, di- a triacylglycerolů ve zkoušené látce v procentech se vypočte obvyklým způsobem (metodou normalizace).

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

## Označování

V označení na obalu se uvede název a koncentrace antioxidační přísady.

**Glyceroli monooleates**<sup>1)</sup>

Glycerolmonooleaty

*Synonymum.* Glyceroli mono-oleates

Je to směs monoacylglycerolů, hlavně monooleoylglycerolu, spolu s proměnlivými množstvími di- a triacylglycerolů. Tyto jsou definovány jmenovitým obsahem monoacylglycerolů a získávají se částečnou glycerolýzou rostlinných olejů obsahujících hlavně triacylglyceroly kyseliny olejové nebo esterifikací glycerolu kyselinou olejovou. Tato mastná kyselina je rostlinného nebo živočišného původu.

	Jmenovitý obsah acylglycerolu (%)		
	40	60	90
monoacylglyceroly	32,0 - 52,0	55,0 - 65,0	90,0 - 101,0
diacylglyceroly	30,0 - 50,0	15,0 - 35,0	< 10,0
triacylglyceroly	5,0 - 20,0	2,0 - 10,0	< 2,0

Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

**Výroba**

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

**Vlastnosti**

Jantarově žlutá olejovitá kapalina, která může být při pokojové teplotě polotuhé konzistence. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu.

**Zkoušky totožnosti**

A. Zkouška Číslo jodové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 1,0 g se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

*Porovnávací roztok.* 1,0 g glycerolmonooleatu CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl obou roztoků 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. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají svojí polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

C. Zkouška Stanovení obsahu (obsah monoacylglycerolu) je zároveň zkouškou totožnosti.

**Zkoušky na čistotu**

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 6,0; stanoví se s 1,0 g.

Číslo jodové (2.5.4). 65,0 až 95,0.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 12,0; stanoví se s 2,0 g.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 150 až 170; stanoví se s 2,0 g.

Volný glycerol. Nejvýše 6,0 %; stanoví se postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.



**Podíl mastných kyselin.** Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, *Metoda C*). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina palmitová: nejvýše 12,0 %,
- kyselina stearová: nejvýše 6,0 %,
- kyselina olejová: nejméně 60,0 %,
- kyselina linolová: nejvýše 35,0 %,
- kyselina linolenová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina ikosenová: nejvýše 2,0 %.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů *methanolu bezvodého R* a *dichlormethanu R*.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g.

### Stanovení obsahu

Stanoví se obsahy volného glycerolu a mono-, di- a triacylglycerolu vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky (*M*).

**Porovnávací roztok.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží s přesností na 0,1 mg, asi 2,5 mg, 5 mg, 10 mg a 20 mg *glycerolu R*. Přidá se po 5 ml *tetrahydrofuranu R* a třepáním se dobře promíchá. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace glycerolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5 μm, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40 μl zkoušeného roztoku a po 40 μl každého porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke glycerolu pro monoacylglyceroly asi 0,85, pro diacylglyceroly asi 0,79 a pro triacylglyceroly asi 0,76. Koncentrace (*C*) glycerolu ve zkoušeném roztoku v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného glycerolu ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10}$$

Obsah mono-, di- a triacylglycerolů ve zkoušené látce v procentech se vypočte obvyklým způsobem (metodou normalizace).

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- jmenovitý obsah monoacylglycerolu,
- název a koncentrace antioxidační přísady.

105. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Glyceroli monostearas 40 - 50 zní:

”

## Glyceroli monostearas 40 - 55<sup>1)</sup>

Glycerolmonostearat 40 - 55



Je to směs monoacylglycerolů, hlavně monostearoylglycerolu, spolu s proměnlivými množstvími di- a triacylglycerolů. Obsahuje 40,0 % až 55,0 % monoacylglycerolů, 30,0 % až 45,0 % diacylglycerolů a 5,0 % až 15,0 % triacylglycerolů získaných při částečné glycerolýze rostlinných olejů obsahujících hlavně triacylglyceroly kyseliny palmitové nebo stearové nebo esterifikací glycerolu kyselinou stearovou 50 (typ I), kyselinou stearovou 70 (typ II) nebo kyselinou stearovou 95 (typ III), viz článek *Acidum stearicum*. Mastné kyseliny mohou být rostlinného nebo živočišného původu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Tuhá voskovitá hmota nebo mastný prášek nebo vločky, je bílý nebo téměř bílý. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% při 60 °C.

### Zkoušky totožnosti

- A. Teplota tání (2.2.15). 54 °C až 64 °C. Předem roztavená zkoušená látka se naplní do kapiláry a nechá se stát 24 h v dobře uzavřené nádobě.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.  
Zkoušený roztok. 1,0 g se rozpustí v dichlormethanu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.  
Porovnávací roztok. 1,0 g glycerolmonostearatu 40 - 55 CRL se rozpustí v dichlormethanu R za mírného zahřátí a zředí se stejným rozpouštědlem na 20 ml.  
Na vrstvu se nanese po 10 µl každého roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů hexanu R a etheru R (30 + 70) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem rhodaminu B R (0,1 g/l) v lihu 96% R a pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti a je v souladu s typem uvedeným na obalu.
- D. Zkouška Stanovení obsahu (obsah monoacylglycerolu) je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 3,0; stanoví se s 1,0 g. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů lihu 96% R a toluenu R, za mírného zahřívání.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3,0.

Číslo zmydlenění (2.5.6). 158 až 177; stanoví se s 2,00 g. Titruje se za současného zahřívání.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

**Volný glycerol.** Nejvýše 6,0 %; stanoví se způsobem uvedeným ve zkoušce Stanovení obsahu.

**Podíl mastných kyselin.** Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda C). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

	Mastná kyselina použitá pro výrobu esterifikací	Podíl mastných kyselin
glycerolmonostearat 40 - 55, typ I	kyselina stearová 50	kyselina stearová: 40,0 % až 60,0 %, součet obsahů kyseliny palmitové a stearové: nejméně 90,0 %
glycerolmonostearat 40 - 55, typ II	kyselina stearová 70	kyselina stearová: 60,0 % až 80,0 %, součet obsahů kyseliny palmitové a stearové: nejméně 90,0 %
glycerolmonostearat 40 - 55, typ III	kyselina stearová 95	kyselina stearová: 90,0 % až 99,0 %, součet obsahů kyseliny palmitové a stearové: nejméně 96,0 %

**Nikl (2.4.27).** Nejvýše 1 µg/g.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 1,0 %; 1,00 g se za mírného zahřátí rozpustí v pyridinu R.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Obsah volného glycerolu a mono-, di- a triacylglycerolů se stanoví vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se odváží asi 0,2 g (*m*) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5 ml tetrahydrofuranu R a třepe se do rozpuštění. Znovu se baňka zváží a vypočte se celkové množství rozpouštědla a látky (*M*).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baněk se naváží s přesností na 0,1 mg asi 2,5 mg, 5 mg, 10 mg a 20 mg glycerolu R. Přidá se po 5 ml tetrahydrofuranu R a třepáním se dobře promíchá. Baňky se znovu zváží a vypočte se koncentrace glycerolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografií délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné styrendivinybenzen-kopolymerem R (průměr částic 5 µm a velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je tetrahydrofuran R; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se po 40 µl každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené ke glycerolu: asi 0,86 pro monoacylglyceroly, asi 0,81 pro diacylglyceroly a asi 0,77 pro triacylglyceroly. Koncentrace (*C*) glycerolu ve zkoušeném roztoku v mg/g se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného glycerolu ve zkoušené látce v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{C \cdot M}{m \cdot 10}$$

Vypočítá se obsah mono-, di- a triacylglycerolů ve zkoušené látce v procentech obvyklým postupem (metoda normalizace).

### Označování

V označení na obalu se uvede typ glycerolmonostearatu 40 - 55.

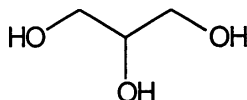
106. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Glycerolum a Glycerolum 85% znějí:

”

## Glycerolum

Glycerol

2000

 $C_3H_8O_3$  $M_r$  92,09

CAS 56-81-5

Je to 1,2,3-propantriol. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_3H_8O_3$ .

### Vlastnosti

Sirupovitá tekutina, na omak mastná, bezbarvá nebo téměř bezbarvá, čirá, silně hygroskopická. Je mísitelný s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustný v acetonu, prakticky nerozpustný v etheru, v mastných olejích a v silicích.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a 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. K 5 ml se přidá 1 ml *vody R* a důkladně se promíchá. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tohoto roztoku se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. glycerolu 85%*.
- C. 1 ml se smíchá s 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a směs se převrství 0,5 ml *dichromanu draselného RS*. Na styku obou vrstev vznikne modrý prstenec, který do 10 min nedifunduje do spodní vrstvy.
- D. 1 ml se na odpařovací misce zahřívá s 2 g *hydrogensíranu draselného R*. Vyvíjejí se páry (akrolein), které způsobí zčernání filtračního papíru napuštěného *tetraodortuńatanem draselným zásaditým RS*.

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 100,0 g se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 200,0 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S je čirý (2.2.1). 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 25 ml; tento roztok je bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

Kysele nebo zásaditě reagující látky. K 50 ml roztoku S se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Na změnu barvy indikátoru do růžova se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Ztitrovaný roztok se použije ke zkoušce Estery.

Index lomu (2.2.6). 1,470 až 1,475.

Aldehydy. K 7,5 ml roztoku S se v baňce se zabroušenou zátkou přidá 7,5 ml *vody R* a 1,0 ml *pararosanilinu odbarveného roztoku RS*. Baňka se uzavře a nechá se stát 1 h při teplotě  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Měří se absorbance roztoku při 552 nm (2.2.25). Absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 7,5 ml základního roztoku *formaldehydu* ( $5 \mu\text{g CH}_2\text{O/ml}$ ) a 7,5 ml *vody R*. Zkoušku nelze hodnotit, jestliže porovnávací roztok není růžový.

**Estery.** Ke ztitrovanému roztoku ze zkoušky Kysele nebo zásaditě reagující látky se přidá *hydroxid sodný 0,1 mol/l VS* tak, aby jeho celkově přidaný objem byl 10,0 ml. Vaří se 5 min pod zpětným chladičem, ochladí se, přidá se 0,5 ml *fenolfstaleinu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS*. Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejméně 8,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

**Nečistota A a příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 10,0 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,000 g *diethylenglykolu R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí zkoušeným roztokem na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou směsí síťovaného polykvanpropylfenylsiloxanu (6 %) a polydimethylsiloxanu (94 %) (tloušťka filmu 3 μm),
- *helia pro chromatografii R* jako nosného plynu s lineární rychlostí asi 38 cm/s a dělicím poměrem asi 10 : 1,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 100 °C až do nástřiku, pak se zvyšuje rychlostí 7,5 °C/min do 220 °C a 4 min se udržuje při 220 °C; teplota nástřikového prostoru je 220 °C a detektoru 250 °C.

Nastříkne se 0,5 μl porovnávacího roztoku (c). Upraví se citlivost systému tak, aby výška píku nečistoty A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou látky eluovány v následujícím pořadí: nečistota A a glycerol.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píkem odpovídajícím nečistotě A a píkem odpovídajícím glycerolu je nejméně 7,0.

Nastříkne se 0,5 μl zkoušeného roztoku, 0,5 μl porovnávacího roztoku (b) a 0,5 μl porovnávacího roztoku (d). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě píku odpovídajícího nečistotě A a píku s retenčním časem nižším než retenční čas glycerolu, není větší než polovina plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch píků s retenčním časem větším, než je retenční čas glycerolu, není větší než 2,5násobek plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Halogenované sloučeniny.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, 5 ml *vody R* a 50 mg *niklu Raneyova prostého halogenů R*. Zahřívá se 10 min na vodní lázni, nechá se vychladnout a zfiltruje se. Baňka a filtr se oplachují *vodou R* až objem filtrátu činí 25 ml. K 5 ml filtrátu se přidají 4 ml *lihu 96% R*, 2,5 ml *vody R*, 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a 0,05 ml *dusičnanu stříbrného RS2*, promíchá se a nechá se 2 min stát. Roztok neopalizuje intenzivněji než současně připravený porovnávací roztok připravený smícháním 7,0 ml základního roztoku *chloridů (5 μg Cl/ml)*, 4 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *vody R*, 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a 0,05 ml *dusičnanu stříbrného RS2 (35 μg/g)*.

**Cukry.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zahřívá se 5 min na vodní lázni. Přidají se 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* prostého uhličitánů (připraví se postupem popsáním pro *hydroxid sodný 1 mol/l VS* prostý uhličitánů (4.2.2), promíchá se a po kapkách se přidá 1 ml čerstvě připraveného *síranu měďnatého RS*; vznikne čirý modrý roztok, který během zahřívání na vodní lázni po dobu 5 min nezmění zbarvení ani nevznikne sraženina.

**Chloridy (2.4.4).** 1 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml; tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (10 μg/g). Připraví se porovnávací roztok tak, že 1 ml základního roztoku *chloridů (5 μg Cl/ml)* se zředí *vodou R* na 15 ml.

**Těžké kovy (2.4.8).** 8 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (5 μg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1 μg Pb/ml)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 2,0 %; stanoví se s 1,500 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,01 %; 5,00 g se zahřeje k varu a vyžihá se.

### Stanovení obsahu

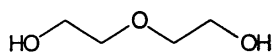
0,1000 g se dobře promíchá se 45 ml vody R. Přidá se 25,0 ml roztoku *jodistanu sodného R* (21,4 g/l) a nechá se 15 min stát za chránění před světlem. Pak se přidá 5,0 ml roztoku *ethylenglykolu R* (500 g/l) a nechá se stát 20 min za chránění před světlem. Po přidání 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátoru se titruje *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,21 mg  $C_3H_8O_3$ .

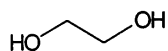
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

#### Nečistoty



A. diethylenglykol,



B. ethylenglykol,

C. propylenglykol.

## Glycerolum 85%

Glycerol 85%



2000

Je to vodný roztok, který obsahuje 83,5 % až 88,5 % 1,2,3-propantriolu ( $C_3H_8O_3$ ;  $M_r$  92,09).

### Vlastnosti

Sirupovitá tekutina, na omak mastná, bezbarvá nebo téměř bezbarvá, čirá, silně hygroskopická. Je mísitelný s vodou a s lihem 96%, těžce rozpustný v acetonu, prakticky nerozpustný v etheru, v mastných olejích a v silicích.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: A a 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 s *referenčním spektrem Ph. Eur. glycerolu 85%*.

C. 1 ml se smíchá s 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a směs se převrství 0,5 ml *dichromanu draselného RS*. Na styku obou vrstev vznikne modrý prstenec, který do 10 min nedifunduje do spodní vrstvy.

D. 1 ml se na odpařovací misce zahřívá s 2 g *hydrogensíranu draselného R*. Vytvoří se páry (akrolein), které způsobí zčernání filtračního papíru napuštěného *tetraiodortuňatanem draselným zásaditým RS*.

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 117,6 g se zředí vodou prostou oxidu uhličitého R na 200,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 25 ml; tento roztok je bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 50 ml roztoku S se přidá 0,5 ml *fenolftaleinu RS*; roztok je bezbarvý. Na změnu zbarvení indikátoru do růžova se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Ztitrovaný roztok se použije ke zkoušce Estery.

**Index lomu (2.2.6).** 1,449 až 1,455.

**Aldehydy.** K 7,5 ml roztoku S se v baňce se zabroušenou zátkou přidá 7,5 ml *vody R* a 1,0 ml *pararosanilinu odbarveného roztoku RS*. Baňka se uzavře a nechá se stát 1 h při teplotě  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Měří se absorbance roztoku při 552 nm (2.2.25). Absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 7,5 ml základního roztoku *formaldehydu (5  $\mu\text{g CH}_2\text{O/ml}$ )* a 7,5 ml *vody R*. Zkoušku nelze hodnotit, jestliže porovnávací roztok není růžový.

**Estery.** Ke ztitrovanému roztoku ze zkoušky Kysele nebo zásaditě reagující látky se přidá *hydroxid sodný 0,1 mol/l VS* tak, aby jeho celkově přidaný objem byl 10,0 ml. Vaří se 5 min pod zpětným chladičem, ochladí se, přidá se 0,5 ml *fenolftaleinu RS* a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS*. Na změnu zbarvení indikátoru se spotřebuje nejméně 8,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS*.

**Nečistota A a příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 10,0 ml roztoku S se zředí vodou R na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,000 g *diethylglykolu R* se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí zkoušeným roztokem na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí zkoušeným roztokem na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se smíchá s 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) a zředí se vodou R na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí vodou R na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřní stěnou pokrytou směsí síťovaného polykvanpropylfenylsiloxanu (6 %) a polydimethylsiloxanu (94 %) (tloušťka filmu 3  $\mu\text{m}$ ),
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu s lineární rychlostí asi 38 cm/s a dělicím poměrem asi 10 : 1,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 100  $^\circ\text{C}$  do nástřiku, pak se zvyšuje rychlostí 7,5  $^\circ\text{C}/\text{min}$  do 220  $^\circ\text{C}$  a 4 min se udržuje na 220  $^\circ\text{C}$ ; teplota nástřikového prostoru je 220  $^\circ\text{C}$  a detektoru 250  $^\circ\text{C}$ .

Nastříkne se 0,5  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (c). Upraví se citlivost systému tak, aby výška píku nečistoty A byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou látky eluovány v následujícím pořadí: nečistota A a glycerol.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení mezi píkem odpovídajícím nečistotě A a píkem odpovídajícím glycerolu je nejméně 7,0.

Nastříkne se 0,5  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku, 0,5  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b) a 0,5  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (d). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího nečistotě A není větší než polovina plochy odpovídajícího píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); plocha žádného píku, kromě píku odpovídajícího nečistotě A a píku s retenčním časem nižším než retenční čas glycerolu, není větší než polovina plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch píků s retenčním časem větším, než je retenční čas glycerolu, není větší než 2,5násobek plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než 0,05násobek plochy píku odpovídajícího nečistotě A na chromatogramu porovnávacího roztoku (d).

**Halogenované sloučeniny.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, 5 ml *vody R* a 50 mg *niklu Raneyova prostého halogenů R*. Zahřívá se 10 min na vodní lázni, nechá se vychladnout a zfiltruje se. Baňka a filtr se oplachují vodou R, až objem filtrátu činí 25 ml. K 5 ml filtrátu se přidají 4 ml *lihu 96% R*, 2,5 ml *vody R*, 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a 0,05 ml *dusičnanu stříbrného RS2*, promíchá se a nechá se 2 min stát. Roztok neopalizuje intenzivněji než současně připravený porovnávací roztok připravený smícháním 7,0 ml základního roztoku *chloridů (5  $\mu\text{g Cl/ml}$ )*, 4 ml *lihu 96% R*, 0,5 ml *vody R*, 0,5 ml *kyseliny dusičné R* a 0,05 ml *dusičnanu stříbrného RS2* (30  $\mu\text{g/g}$ ).

**Cukry.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml *kyseliny sírové zředěné RS* a zahřívá se 5 min na vodní lázni. Přidají se 3 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* prostého uhličitanů (připraví se postupem popsaným pro *hydroxid sodný 1 mol/l VS* prostý uhličitanů (4.2.2)), promíchá se a po kapkách se přidá 1 ml čerstvě připraveného *síranu měďnatého RS*; vznikne čirý modrý roztok, který během zahřívání na vodní lázni po dobu 5 min nezmění zbarvení ani nevznikne sraženina.

**Chloridy (2.4.4).** 1 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml; tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (10 µg/g). Připraví se porovnávací roztok tak, že 1 ml základního roztoku *chloridů (5 µg Cl/ml)* se zředí *vodou R* na 15 ml.

**Těžké kovy (2.4.8).** 8 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (5 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 12,0 % až 16,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,01 %; 5,00 g se zahřeje k varu a vyžihá se.

### Stanovení obsahu

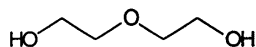
0,1000 g se dobře promíchá se 45 ml *vody R*. Přidá se 25,0 ml roztoku *jodistanu sodného R (21,4 g/l)* a nechá se 15 min stát za chránění před světlem. Pak se přidá 5,0 ml roztoku *ethylenglykolu R (500 g/l)* a nechá se stát 20 min za chránění před světlem. Přidá se 0,5 ml *fenolftaleinu RS* jako indikátor a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS*. Proveďte se slepá zkouška.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 9,21 mg  $C_3H_8O_3$ .

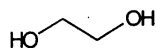
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

### Nečistoty



A. diethylenglykol,



B. ethylenglykol,

C. propylenglykol.

“



107. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Glyceromacrogoli 350 cocoas zní:

”

## Glyceromacrogoli cocoates

Glyceromakrogolkokoaty

*Synonymum.* Macrogoli glyceroli cocoates

2000



Jsou to směsi mono-, di- a triesterů oxyethylovaného glycerolu s mastnými kyselinami rostlinného původu se složením odpovídajícím složení mastných kyselin oleje extrahovaného z pevného vysušeného podílu endospermu *Cocos nucifera* L. Průměrný obsah oxyethylenových jednotek na molekulu je buď 7 jednotek na molekulu, nebo 23 jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota).

### Vlastnosti

Glyceromakrogol-7-kokoat je čirá nažloutlá olejovitá tekutina. Je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru petrolejovém (50 °C až 70 °C); glyceromakrogol-23-kokoat je dobře rozpustný ve vodě a v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru petrolejovém (50 °C až 70 °C).

Glyceromakrogol-7-kokoat má relativní hustotu asi 1,05 a glyceromakrogol-23-kokoat má relativní hustotu asi 1,09.

### Zkoušky totožnosti

- A. 1,0 g glyceromakrogol-7-kokoatu se rozpustí v 99 g směsi objemových dílů 2-propanolu R a vody R (10 + 90). Roztok se zahřeje na asi 65 °C; vznikne zákal. Pak se směs ochlazuje, dokud zákal nezmizí. Teplota, při které zákal zmizí je mezi 35 °C až 54 °C. Roztok glyceromakrogol-23-kokoatu (10 g/l) v roztoku chloridu sodného R (100 g/l) se zahřeje na asi 90 °C; vznikne zákal. Pak se směs ochlazuje, dokud zákal nezmizí. Teplota, při které zákal zmizí je v rozmezí 65 °C až 85 °C.
- B. Zkouška Číslo jodové, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>2</sub> (2.2.2, Metoda I).

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 modří bromthymolové RS1. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 5,0; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Číslo hydroxylové (2.5.3, Metoda A). Viz tabulka 1.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). Viz tabulka 1.

Tab. 1.

Počet oxyethylenových jednotek (jmenovitá hodnota)	Číslo hydroxylové	Číslo zmýdelnění (stanovené s 2,0 g)
7	170 - 210	85 - 105
23	80 - 100	40 - 50

**Číslo jodové (2.5.4).** Nejvýše 5,0.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, *Metoda A*). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina kapronová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina oktanová: 5,0 % až 10,0 %,
- kyselina dekanová: 4,0 % až 10,0 %,
- kyselina laurová: 40,0 % až 55 %,
- kyselina myristová: 14,0 % až 23 %,
- kyselina palmitová: 8,0 % až 12 %,
- kyselina stearová: 1,0 % až 5,0 %,
- kyselina olejová: 5,0 % až 10,0 %,
- kyselina linolová: nejvýše 3,0 %.

**Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25).** Nejvýše 1 µg/g ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g dioxanu. Při stanovení obsahu dioxanu se při výpočtu použije korekční faktor 1/5.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Označování

V označení na obalu se uvede počet oxyethylenových jednotek na molekulu (jmenovitá hodnota).

“

108. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Glyceromacrogoli oleas doplňuje článek Glyceromacrogoli 6 octanodecanoas, který zní:

”

---

## Glyceromacrogoli 6 octanodecanoas

Glyceromakrogol-6-oktanodekanoat

*Synonyma.* Macrogol 6 glyceroli caprylocapras, Glyceromacrogoli 300 octanodecanoas, Glyceromakrogol-300-oktanodekanoat



2000

Je to směs převážně mono- a diesterů polyoxyethylenových glyceroletherů hlavně s kyselinou oktanovou (kaprylovou) a kyselinou dekanovou (kaprinovou). Průměrný obsah oxyethylenových jednotek je 6 jednotek na molekulu. Glyceromakrogol-6-oktanodekanoat může být získán ethoxylací glycerolu a esterifikací s destilovanými mastnými kyselinami kokosového oleje nebo oleje z palmových jader nebo ethoxylací mono- a diacylglycerolů kyseliny oktanové a dekanové.

### Vlastnosti

Světle žlutá tekutina. Je částečně rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v ricinovém oleji, v glycerolu, v isopropanolu a v propylenglykolu.

Viskozita je asi 145 mPa.s.

## Zkoušky totožnosti

- A. 1,0 g se rozpustí v 99 g směsi objemových dílů 2-propanolu R a vody R (10 + 90). Roztok se zahřeje na asi 40 °C; vznikne zákal. Pak se směs ochlazuje, dokud zákal nezmizí. Teplota, při které zákal zmizí, je v rozmezí 15 °C až 35 °C.
- B. Zkouška Číslo zmýdelnění, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

## Zkoušky na čistotu

Vzhled. Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>2</sub> (2.2.2, Metoda I).

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 modří bromthymolové RSI. 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 5,0; stanoví se s 5,0 g.

Číslo hydroxylové (2.5.3). 165 až 225 (Metoda A).

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 85 až 105; stanoví se s 2,0 g.

Podíl mastných kyselin. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina kapronová: nejvýše 2,0 %,
- kyselina oktanová: 50,0 % až 80,0 %,
- kyselina dekanová: 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 ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g dioxanu. Při stanovení obsahu dioxanu se při výpočtu použije korekční faktor 1/5.

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,3 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

“

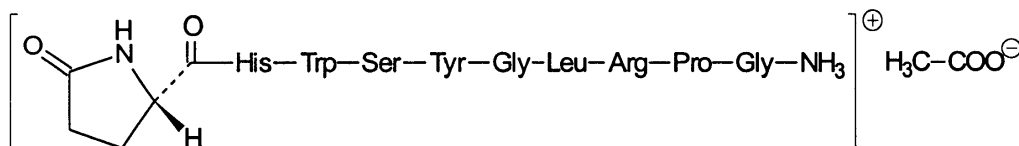
109. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Gonadorelini acetat zní:

”

## † Gonadorelini acetat

Gonadoreliniumacetat

2000



$\text{C}_{57}\text{H}_{79}\text{N}_{17}\text{O}_{15}$

$M_r$  1242,35

Je to sůl peptidu hypotalamu povzbuzujícího uvolnění hormonu stimulujícího folikuly a luteinizačního hormonu z hypofýzy s kyselinou octovou. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 95,0 % až 102,0 % peptidu  $\text{C}_{55}\text{H}_{75}\text{N}_{17}\text{O}_{13}$ . 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

- A. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku se přibližně shodují s retenčním časem a velikostí hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

Použije se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a) ze zkoušky Stanovení obsahu.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, vody R, methanolu R a dichlormethanu 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 se do proudu studeného vzduchu na tak dlouho, dokud se neodstraní přebytek chloru a povrch desky pod nanášecími body nedává již modré zbarvení s 0,05 ml škrobu s jodidem draselným RS. Postříká se škrobem s jodidem draselným RS; hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku polohou a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

### Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. Roztok (10 g/l) je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-54^\circ$  až  $-66^\circ$ , 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 základě stanoveného obsahu peptidu pro roztok 10 mg/100 ml.

**Aminokyseliny.** Proveďte se za použití analyzátoru aminokyselin. Přístroj se kalibruje směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	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 tvrzeného skla 100 mm dlouhé a s vnitřním průměrem 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50% (V/V). Zkumavka se ponoří do mrazicí směsi o teplotě  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tlak se sníží pod 133 Pa a zkumavka se těsně uzavře. Zahřívá se 16 h při  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Po ochlazení se zkumavka otevře a obsah se převede pomocí 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 vody *R* a znovu se odpaří 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 zastoupení aminokyselin se vypočítá z předpokladu, že jedna sedmina součtu látkového množství histidinu, kyseliny glutamové, leucinu, prolinu, glycinu a argininu odpovídá jedné. Hodnoty jsou v těchto rozmezích: 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; 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.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29), jak je popsáno ve zkoušce Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celého rozsahu zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku. Chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času gonadorelinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5 %). Nepřihlíží se k píkům s plochou menší než je 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Kyselina octová.** Nejvýše 7,5 %, provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 10,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 1,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se roztok kyseliny octové (0,60 g/l) v mobilní fázi za použití *kyseliny octové ledové R*.

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  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *methanolu R* a tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 3,0 připraveného takto: 0,7 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí vodou *R* na 1000 ml a pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 3,0 (20 + 80); průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Nastříkne se po 10  $\mu\text{l}$  každého roztoku. Vypočte 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).* Rozpustí se obsah lahvičky gonadorelinu CRL ve vodě R tak, aby získaná koncentrace byla 0,5 mg/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 oktadecylsilanizovaným 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/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 deklarováného 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 obalu,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

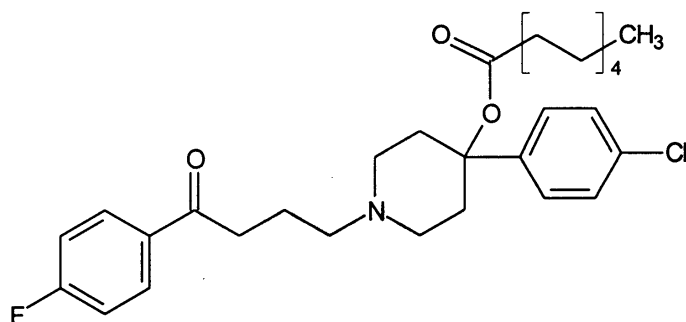
110. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Gummiresina myrrha doplňuje článek Haloperidoli decanoas, který zní:

”

## † Haloperidoli decanoas

Haloperidoldekanoat

2000



$C_{31}H_{41}ClFNO_3$

$M_r$  530,12

CAS 74050-97-8

Je to 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanoat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{31}H_{41}ClFNO_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný v lihu 96%, v methanolu a v dichlormethanu.

Taje při asi 42 °C.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *haloperidoldekanoatu CRL*. Zkouší se látky ve formě suspenze v *parafínu tekutém R*.
- B. K 0,1 g v pocelánovém kelímku se přidá 0,5 g *uhličitanu sodného bezvodého R* a zahřívá se nad plamenem po dobu 10 min. Nechá se vychladnout, zbytek se převede do 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

Vzhled roztoku. 2,0 g se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok  $H_5$  (2.2.2, *Metoda II*).

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připraví bezprostředně před použitím a chrání se před světlem.*

*Zkoušený roztok* 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 2,5 mg *bromperidoldekanoatu CRL* a 2,5 mg *haloperidoldekanoatu 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min a s následujícím gradientovým programem:
  - mobilní fáze A - roztok *tetrabutylamoniumhydrogensulfatu R* (27 g/l),
  - mobilní fáze B - *acetonitril R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	80 → 40	20 → 60	lineární gradient
30 - 35	40	60	izokraticky
35 - 40	40 → 80	60 → 20	přepnutí na počáteční podmínky
40 = 0	80	20	začátek dalšího gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 30 min *acetonitrem R* a potom 5 min mobilní fází o počátečním složení.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Je-li chromatogram zaznamenan za předepsaných podmínek, jsou retenční časy: haloperidoldekanoatu asi 24 min; bromperidoldekanoatu asi 24,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky haloperidoldekanoatu a bromperidoldekanoatu je nejméně 1,5. V případě potřeby se upraví gradient nebo časový program pro lineární gradientovou eluci.

Nastříkne se odděleně 10  $\mu$ l *methanolu R* jako kontrolní roztok, 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ 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 trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům kontrolního roztoku a k píkům s plochou menší než je 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší ve vakuu při 30 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky v platinovém kelímku.

## Stanovení obsahu

0,425 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé 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 53,01 mg  $C_{31}H_{41}ClFNO_3$ .

## Uchovávání

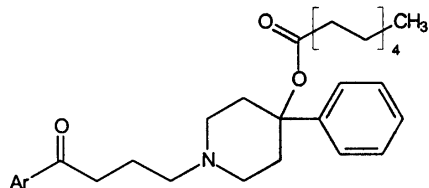
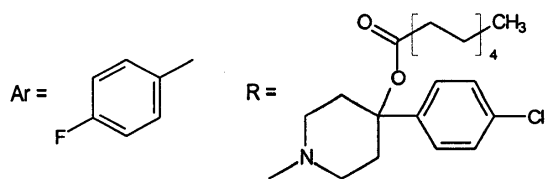
V dobře uzavřených obalech při teplotě místnosti pod 25 °C, chráněn před světlem.

Separandum.

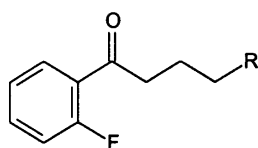
## Nečistoty

Stanovované nečistoty

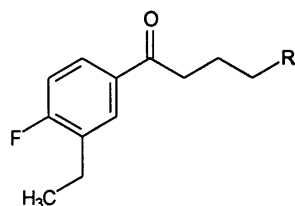




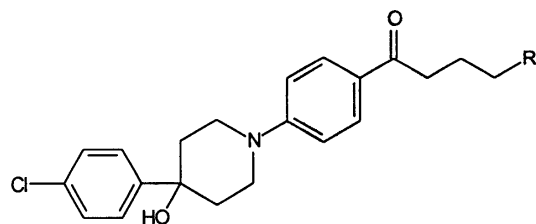
A. 4-fenyl-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanooat,



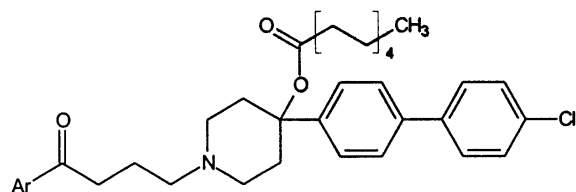
B. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(2-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanooat,



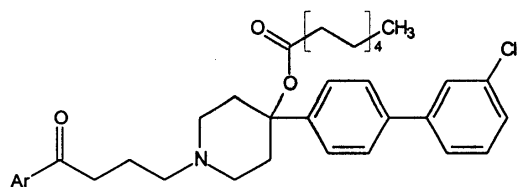
C. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(3-ethyl-4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanooat,



D. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-[4-(4-chlorfenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]fenyl]-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanooat,

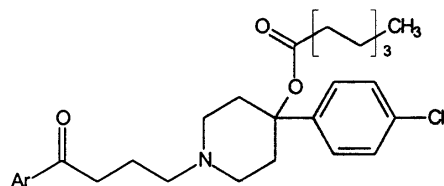


E. 4-(4'-chlorbifenyl-4-yl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldekanooat,

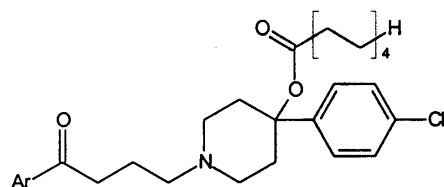


F. 4-(3'-chlorobiphenyl-4-yl)-1-[4-(4-fluorophenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldecanoat,

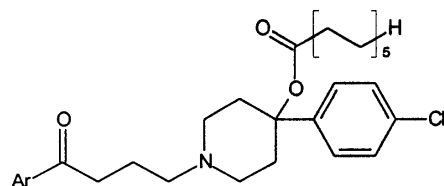
G. 4-[4-(4-chlorfenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorfenyl)-1-butanon (haloperidol),



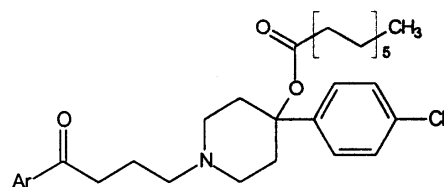
H. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldecanoat,



I. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-ylnonanoat,

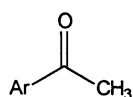


J. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-ylundekanoat,



K. 4-(4-chlorfenyl)-1-[4-(4-fluorfenyl)-4-oxobutyl]piperidin-4-yldecanoat,

*Ostatní detekovatelné nečistoty:*



L. (4-fluorfenyl)methylketon.

111. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Hamamelidis folium zní:

”

## Hamamelidis folium

Vilínový list

*Synonymum.* Folium hamamelidis

2000



Je to celý nebo řezaný usušený list druhu *Hamamelis virginiana* L.

Obsahuje nejméně 3,0 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol ( $C_6H_6O_3$ ;  $M_r$ 126,1), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. List je zelený nebo zelenohnědý, často rozlámaný, zmačkaný nebo slisovaný ve více nebo méně kompaktní hmotu. Čepel listu je široce vejčitá až obvejčitá, na bázi šikmá, nesouměrná, na konci zašpičatělá, zřídka tupá. Okraje čepele hrubě pilovité nebo zubaté. Žilnatina zpeřená, na spodní straně listu vyniklá. Obvykle čtyři až šest párů postranních žilek svírá s hlavní žilkou ostrý úhel a na okraji čepele se ohýbají, jemné žilky tak často svírají s postranními žilkami pravý úhel.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je hnědavě zelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky svrchní pokožka s buňkami s antiklinálními stěnami vlnitě zprohýbanými; spodní pokožka s průduchy převážně paracytickými (2.8.3); hvězdovité krycí chlupy buď celé, nebo polámané jsou tvořeny čtyřmi až dvanácti jednobuněčnými větvemi na bázi srostlými, jednotlivé buňky jsou protáhlé, kuželovité, zakřivené, obvykle až 250  $\mu$ m dlouhé, se ztlustlými stěnami, s dobře patrným luminem, často s hnědě zbarveným obsahem; průvodní vlákna zdřevnatělá, se stěnami ztlustlými, jednotlivá nebo ve skupinách, provázená komůrkovými vlákny s krystaly šťavelanu vápenatého; malé válcovité parenchymatické buňky palisádového parenchymu; nepravidelně tvarované buňky houbového parenchymu; sklereidy často protáhlé na jednom nebo obou koncích, 150  $\mu$ m až 180  $\mu$ m dlouhé, celé nebo jejich úlomky; úlomky prstencovité nebo šroubovitě ztlustlých cév; jednotlivé krystaly šťavelanu vápenatého.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.  
Zkoušený roztok. 1,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 10 ml lihu R 60% (V/V), protřepává se 15 min a pak se zfiltruje.  
Porovnávací roztok (a). 30 mg taninu R se rozpustí v 5 ml lihu R 60% (V/V).  
Porovnávací roztok (b). 5 mg kyseliny gallové R se rozpustí v 5 ml lihu R 60% (V/V).  
Na vrstvu se nanese do pruhů po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R a ethylformiatu R (10 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení se postříká chloridem železitým RS2 až do objevení modrošedých skvrn (fenolické sloučeniny). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v dolní třetině hlavní skvrna odpovídající polohou hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) a druhá úzká skvrna v horní části v poloze odpovídající skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou ve střední části další, méně intenzivně zbarvené skvrny.

### Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Nejvýše 7 % stonků a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí; stanoví se s 50 g drogy.

Ztráta sušením (2.2.32). Nejvýše 10,0 %; 2,000 g práškové drogy (355) se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 7,0 %.

Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1). Nejvýše 2,0 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení tříslovin v rostlinných drogách (2.8.14); použije se 0,750 g práškové drogy (180).

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

66

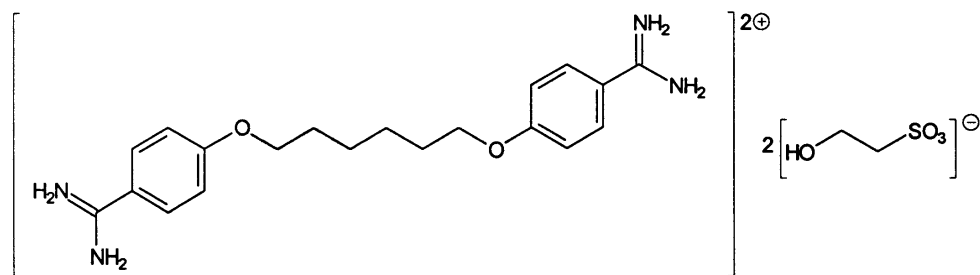
112. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Hexachlorophenum doplňuje článek Hexamidini diisetionas, který zní:

”

## † Hexamidini diisetionas

Hexamidiniumdiisetionat

2000



$C_{24}H_{38}N_4O_{10}S_2$

$M_r$  606,72

CAS 659-40-5

Je to 4,4'-(1,6-hexandiyldioxy)bisbenzamidinium-bis(2-hydroxyethansulfonat). Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{24}H_{38}N_4O_{10}S_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo nažloutlý krystalický prášek, hygroskopický. Je mírně rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

## Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *hexamidiniumdiisetionatu CRL*.

B. 40 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidá se po kapkách za třepání 1 ml roztoku *chloridu sodného R* (100 g/l) a nechá se 5 min stát. Pomalu se tvoří objemná třpytivá bílá sraženina.

## Zkoušky na čistotu

Vzhled roztoku. 0,5 g se rozpustí zahřátím na asi 70 °C ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10 ml. Chladí se na pokojovou teplotu po dobu 10 min až 15 min. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější barevný roztok intenzity 6 (2.2.2, *Metoda II*).

Kyselé nebo zásaditě reagující látky. 2,0 g se rozpustí zahřátím asi na 50 °C ve *vodě R* a zředí se jí při asi 50 °C na 20 ml. Nechá se ochladit na asi 35 °C a přidá se 0,1 ml *červeně methylové RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,25 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,05 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,05 mol/l VS*.

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 100,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází A na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 5 mg zkoušené látky a 5 mg *pentamidiniumdiisetionatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi A zředí se jí na 100 ml. 2 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází A na 5 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *styrendivynylbenzen-kopolymerem R* (8 µm),

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min:

- *mobilní fáze A* - smíchají se objemové díly *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,8 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,0 (20 + 80),

- *mobilní fáze B* - smíchají se stejné objemové díly *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,8 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,0,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 30	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
30 - 35	0	100	izokraticky
35 - 40	0 → 100	100 → 0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 263 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a) a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) nebyla menší než 50 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je rozlišení mezi píky *hexamidiniumdiisetionatu* a *pentamidiniumdiisetionatu* nejméně 5,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %) a nejvýše jeden takový pík má plochu větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %). 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 100 °C až 105 °C.

Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Stanovení obsahu**

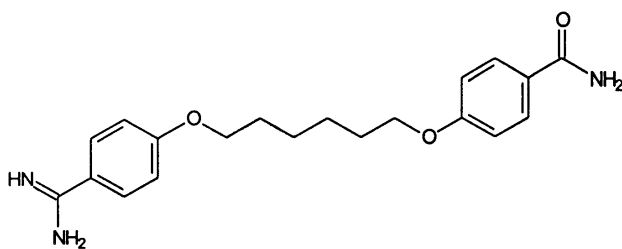
0,250 g se rozpustí v 50 ml *dimethylformamidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* pod proudem *dusíku R* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 30,35 mg  $C_{24}H_{38}N_4O_{10}S_2$ .

**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech.

Separandum.

**Nečistoty**

A. 4-[[6-(4-amidinofenoxy)hexyl]oxy]benzamid.

“

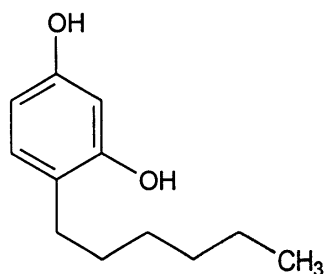
113. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Hexobarbitalum doplňuje článek Hexylresorcinolum, který zní:

”

**† Hexylresorcinolum**

Hexylresorcinol

2000



$C_{12}H_{18}O_2$

$M_r$  194,26

CAS 136-77-6

Je to 4-hexylbenzen-1,3-diol. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>12</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub>.

## Vlastnosti

Bezbarvý, nažloutlý nebo načervenalý krystalický prášek nebo jehličky. Působením světla nebo vzduchu se zbarvení látky mění na hnědorůžové. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

## Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14); 66 °C až 68 °C; tání se objevuje při asi 60 °C, následuje tuhnutí a druhé tání je v rozmezí 66 °C až 68 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *hexylresorcinolu 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 *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 0,1 ml roztoku S, viz *Zkoušky na čistotu*, se zředí *lihem 96% R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. 10 mg *hexylresorcinolu CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 10 mg *hexylresorcinolu CRL* a 10 mg *resorcinolu CRL* se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí stejných objemových dílů *2-butanolu R* a *pentanolu R* do dvou třetin délky vrstvy.

Vrstva se 5 min suší na vzduchu, pak se postříká 3 ml *anisaldehydu RS* a zahřívá se 5 min při 100 °C až 105 °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 od sebe oddělené hlavní skvrny.

D. 0,1 g se rozpustí v 1 ml *lihu 96% R*, přidá se 1 kapka *chloridu železitého RS1*; vzniká zelené zbarvení, které se změní na hnědé přidáním *amoniaku zředěného RS1*.

## Zkoušky na čistotu

*Roztok S*. 1,0 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Vzhled roztoku*. Roztok S je čirý (2.2.1).

*Kyselý reagující látka* (2.2.3). 0,5 g se rozpustí ve směsi 25 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 25 ml *etheru R* předem zneutralizované na *fenolftalein RS1*. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za intenzivního protřepávání po každém přidavku. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

*Příbuzné látky*. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok*. 0,1 g 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 200,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. 20,0 mg *fenolu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c)*. 20,0 mg *resorcinolu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (d)*. K 8,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidají 2,0 ml porovnávacího roztoku (b), 2,0 ml porovnávacího roztoku (c) a zředí se 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů roztoku *kyseliny octové ledové R* (3,0 g/l), jehož pH bylo upraveno *amoniakem zředěným RS1* na hodnotu 5,9 a *methanolu R* (25 + 75); průtoková rychlost je 1 ml/min,

- spektrofotometrického detektoru, 281 nm,
- injektorové smyčky.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (d). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky tří hlavních píků na chromatogramu byly nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi druhým píkem (fenol) a třetím píkem (hexylresorcinol) je nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku, 20 µl porovnávacího roztoku (a) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hexylresorcinolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou plochy píků odpovídajících fenolu a hexylresorcinolu větší než plochy odpovídajících píků na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,2 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píků odpovídajících fenolu a hexylresorcinolu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); 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 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,5 %; 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

Ve skleněné baňce se zabroušenou zátkou se rozpustí 0,100 g v 10 ml *methanolu R*, přidá se 30,0 mg *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* a 2 g *bromidu draselného R*. Třepe se do rozpuštění a přidá se 15 ml *kyseliny sírové zředěné RS*. Baňka se uzavře a nechá se 15 min stát ve tmě za stálého míchání. Pak se přidá 5 ml *dichlormethanu R* a roztok 1 g *jodidu draselného R* v 10 ml *vody R*, nechá se 15 min stát ve tmě za stálého míchání a titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 1 ml *škrobu RS* jako indikátoru. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška.

1 ml *bromičnanu draselného 0,0167 mol/l VS* odpovídá 4,857 mg  $C_{12}H_{18}O_2$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty

- A. fenol,
- B. resorcinol.



114. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Hydrochlorothiazidum zní:

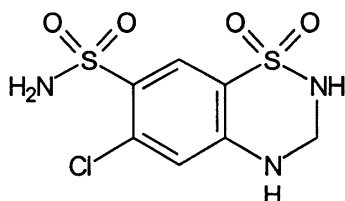
”

## † Hydrochlorothiazidum

Hydrochlorothiazid



corr2000

 $C_7H_8ClN_3O_4S_2$  $M_r$  297,73

CAS 58-93-5

Je to 6-chlor-7-sulfamoyl-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiazin-1,1-dioxid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu, mírně rozpustný v lihu 96%. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 50,0 mg se rozpustí v 10 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *hydroxidem sodným 0,01 mol/l RS* na 100,0 ml a měří se absorbance roztoku při 250 nm až 350 nm (2.2.25); roztok vykazuje absorpční maximum při 273 nm a při 323 nm. Poměr absorbance naměřené při 273 nm k absorpenci naměřené při 323 nm je 5,4 až 5,7.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *hydrochlorothiazidu CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50 mg *hydrochlorothiazidu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 25 mg *chlorothiazidu R* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se *ethylacetatem R* po dráze 10 cm. Vrstva se vysuší 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 (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

D. Asi 1 mg se opatrně zahřívá s 2 ml čerstvě připraveného roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (0,5 g/l) v ochlazené směsi objemových dílů *vody R* a *kyseliny sírové R* (35 + 65); vzniká fialové zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** 0,5 g upráškované zkoušené látky se 2 min třepe s 25 ml vody R a zfiltruje se. K 10 ml filtrátu se přidá 0,2 ml hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS a 0,15 ml červeně methylové RS; roztok je žlutý. Do vzniku červeného zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,4 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Rozpouštěcí roztok.** 50,0 ml směsi stejných objemových dílů acetonitrilu R a methanolu R se zředí tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 3,2 (1) na 200,0 ml.

**Zkoušený roztok.** 30,0 mg se rozpustí v 5 ml směsi stejných objemových dílů acetonitrilu R a methanolu R, je-li třeba za použití ultrazvuku, a zředí se tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 3,2 (1) na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 15,0 mg hydrochlorothiazidu CRL a 15,0 mg chlorothiazidu CRL se rozpustí ve 25,0 ml směsi stejných objemových dílů acetonitrilu R a methanolu R, je-li třeba za použití ultrazvuku, a zředí se tlumivým roztokem fosforečnanovým o pH 3,2 (1) na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem na 50,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem 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 pro chromatografii R (3 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 0,8 ml/min a s následujícími podmínkami lineárního gradientového programu:
  - mobilní fáze A - k 940 ml tlumivého fosforečnanového roztoku o pH 3,2 (1) se přidá 60,0 ml methanolu R a 10,0 ml tetrahydrofuranu R a promíchá se,
  - mobilní fáze B - ke směsi 500 ml methanolu R a 500 ml tlumivého fosforečnanového roztoku o pH 3,2 (1) se přidá 50,0 ml tetrahydrofuranu R a promíchá se,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 17	100 → 55	0 → 45	lineární gradient
17 - 30	55	45	izokratická eluce
30 - 35	55 → 100	45 → 0	lineární gradient
35 - 50	100	0	izokratická eluce
50 = 0	100	0	vracení na počáteční složení

- spektrofotometrického detektoru, 224 nm.

Kolona se nejméně 20 min ustaluje promýváním mobilní fází A. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu získaném s 10 μl porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: chlorothiazidu asi 7 min a hydrochlorothiazidu asi 8 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píkem odpovídajícím chlorothiazidu a píkem odpovídajícím hydrochlorothiazidu nejméně 2,5. Je-li třeba, upraví se složení mobilní fáze nebo se upraví časový program lineární gradientové eluce.

Nastříkne se odděleně 10 μl rozpouštěcího roztoku jako kontrolního roztoku, 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 dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %). Nepřihlíží se k píkům získaným s rozpouštěcím roztokem a k píkům s plochou menší než je 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Chloridy (2.4.4).** 1,0 g se rozpustí ve 25 ml acetonu R a zředí se vodou R na 30 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 μg/g). Připraví se porovnávací roztok za použití 10 ml základního roztoku chloridů (5 μg Cl/ml) a 5 ml acetonu R obsahujícího 15 % (V/V) vody R.

**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

0,120 g se rozpustí v 50 ml *dimethylsulfoxidu R* a titruje se *tetrabutylamoniumhydroxidem 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) do druhého inflexního bodu.

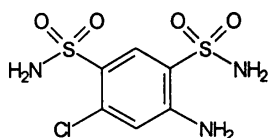
1 ml *tetrabutylamoniumhydroxidu 0,1 mol/l VS* odpovídá 14,88 mg  $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ .

## Uchovávání

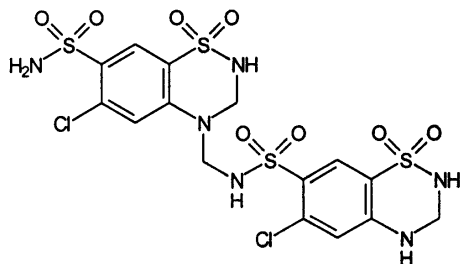
Separandum.

## Nečistoty

A. chlorothiazid,



B. 4-amino-6-chlorbenzen-1,3-disulfonamid (salamid),



C. 6-chlor-7-[[[(6-chlor-1,1-dioxido-7-sulfamoyl-2,3-dihydro-4*H*-1,2,4-benzothiadiazin-4-yl)methyl]amino]sulfonyl]-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazin-1,1-dioxid.

“

115. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Hydroxyzini dihydrochloridum zní:

”

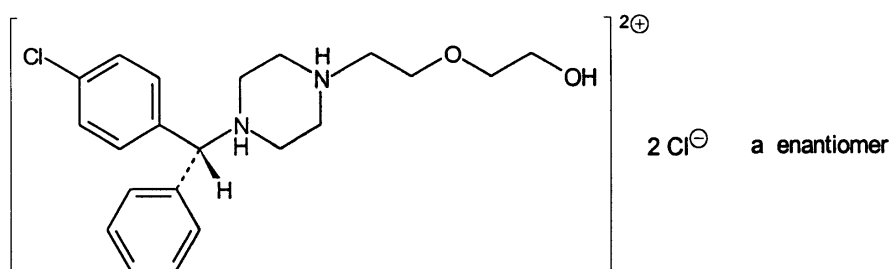
## † Hydroxyzini dihydrochloridum

Hydroxyziniumdichlorid

2000



*Synonymum.* Hydroxyzini hydrochloridum



$C_{21}H_{29}Cl_3N_2O_2$

$M_r$  447,83

CAS 2192-20-3

Je to (*RS*)-1-(4-chlorfenyl)fenylmethyl-4-[1-(1-hydroxyethyl)oxyethyl]piperazindiumdichlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{21}H_{29}Cl_3N_2O_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v lihu 96%, těžce rozpustný v acetonu.

Taje při asi 200 °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) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *hydroxyziniumdichloridu* CRL.

**B.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 0,50 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 0,50 g *hydroxyziniumdichloridu* CRL se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 0,50 g *mekloziniumchloridu R* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* a zředí se stejnou směsí na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se smíchá se 2 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se nanese odděleně po 2  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R*, *lihu 96% R* a *toluenu R* (1 + 24 + 75) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se *jodobismutitanem draselným RS2*. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, velikostí a zbarvením hlavní

skvmně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

C. 0,1 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 15 ml. Přidá se 15 ml nasyceného roztoku *trinitrofenolu R* v *lihu 96% R* a nechá se 15 min stát. Vzniklá sraženina se odfiltruje a rekrystalizuje z *lihu 96% R*. Pro začátek krystalizace je nezbytné třít stěny zkumavky skleněnou tyčinkou. Krystaly tají (2.2.14) při 189 °C až 192 °C.

D. 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 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a není intenzivněji zbarven než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_7$  (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Provede 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).** 10,0 mg *hydroxyziniumdichloridu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 3,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 200,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fázi na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony 0,15 m dlouhé a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R (3  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená následujícím způsobem: 0,5 g *methansulfonanu sodného R* se rozpustí ve směsi objemových dílů *triethylaminu R*, *acetonitrilu R* a *vody R* (14 + 300 + 686); pH se upraví *kyselinou sírovou R* na hodnotu 2,7; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a) 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) se měří výška (*A*) nad základní čarou píku těsně před hlavním píkem a výška (*B*) nad základní čarou nejnižšího bodu křivky (*B*) oddělujícího tento pík od píku hydroxyzinu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže *A* je větší než desetinásobek *B*.

Nastříkne se odděleně 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající 2,5násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než třetina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha 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).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku *olova (1  $\mu$ g Pb/ml)*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 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

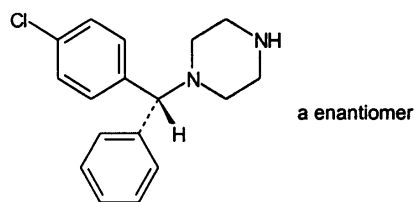
0,200 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 40 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 22,39 mg  $C_{21}H_{29}Cl_3N_2O_2$ .

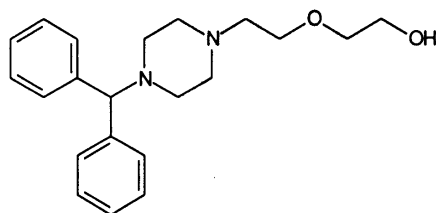
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

**Nečistoty**

A. 1-[(4-chlorofenyl)fenylmethyl]piperazin,



B. 2-{2-[4-(difenylmethyl)piperazin-1-yl]ethoxy} ethanol (dekloxyzin).

“

116. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Hydroxyethylcellulosum zní:

”

**Hyetellosum**

Hyetelosa

*Synonyma.* Hydroxyethylcellulosum, hydroxyethylcellulosa



2000

CAS 9004-62-0

Je to částečně O-(2-hydroxyethylovaná) celulosa.

**Vlastnosti**

Bílý nažloutle bílý nebo šedavě bílý prášek nebo granule. Je dobře rozpustná v horké vodě a ve studené vodě dává koloidní roztok. Je prakticky nerozpustná v acetonu, v lihu 96% a v toluenu.

**Zkoušky totožnosti**

A. 10 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zahřeje k varu; roztok zůstane čirý.

B. K 10 ml roztoku S se přidá 0,3 ml *kyseliny octové zředěné RS* a 2,5 ml roztoku *taninu R* (100 g/l); vznikne nažloutle bílá vložkovitá sraženina, která se rozpouští v *amoniaku zředěném RS1*.

- C. 1 g se ve zkumavce asi 160 mm dlouhé pečlivě smíchá se 2 g jemně upráškovaného *síranu manganatého R*. Do horní části zkumavky 2 cm hluboko se vloží proužek filtračního papíru, který je napuštěn čerstvě připravenou směsí objemových dílů roztoku *diethanolaminu R* (200 g/l) a roztoku *nitroprussidu sodného R* (50 g/l) (1 + 1), jejíž pH bylo upraveno *kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l RS* na hodnotu asi 9,8. Zkumavka se ponoří 8 cm hluboko do lázně se silikonovým olejem vyhřáté na 190 °C až 200 °C; proužek filtračního papíru se během 10 min zbarví modře. Současně se provede slepá zkouška.
- D. 0,2 g se bez zahřátí úplně rozpustí v 15 ml roztoku *kyseliny sírové R* (700 g/l). Roztok se za promíchávání převede do 100 ml ledové *vody R* a zředí se jí na 250 ml. K 1 ml tohoto roztoku se ve zkumavce za opatrného promíchávání a chlazení ve vodě s ledem přidá po kapkách 8 ml *kyseliny sírové R*. Poté se roztok zahřívá přesně 3 min na vodní lázni a ihned se ochladí ve vodě s ledem. K ochlazené směsi se opatrně přidá 0,6 ml *ninhydrinu RS2*, dobře se promíchá a nechá se stát při 25 °C; ihned vznikne růžové zbarvení, které se během 100 min nezmění na fialové.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Množství odpovídající 1,0 g vysušené látky se za promíchávání disperguje v 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a po 10 min se zředí *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 100 ml a míchá se do úplného rozpuštění.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze III (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>6</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,5 až 8,5; měří se roztok S.

**Zdánlivá viskozita.** 75 % až 140 % deklarované hodnoty. Množství odpovídající 2,00 g vysušené zkoušené látky se za promíchávání přeneso do 50 ml *vody R*, zředí se jí na 100,0 g a míchá se do úplného rozpuštění. Stanoví se viskozita (2.2.10) pomocí rotačního viskozimetru při 25 °C a při:

- smykové rychlosti 100 s<sup>-1</sup> pro látku s předpokládanou viskozitou pod 100 mPa.s,
- smykové rychlosti 10 s<sup>-1</sup> pro látku s předpokládanou viskozitou 100 mPa.s až 20 000 mPa.s,
- smykové rychlosti 1 s<sup>-1</sup> pro látku s předpokládanou viskozitou nad 20 000 mPa.s.

Jestliže je použití smykové rychlosti 1 s<sup>-1</sup>, 10 s<sup>-1</sup> nebo 100 s<sup>-1</sup> nevhodné, použije se smyková rychlost vyšší a smyková rychlost nižší a výsledku se dosáhne interpolací.

**Chloridy** (2.4.4). 1 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 30 ml. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (1,0 %).

**Dusičnany.** Jestliže *hyetelosa* má zdánlivou viskozitu 1000 mPa . s a nižší, vyhovuje zkoušce A.

A. 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 19 ml *vody R*, 2 ml *amoniaku 26% R*, 0,5 ml roztoku *síranu manganatého R* (10 g/l) a 1 ml roztoku *sulfanilamidu R* (10 g/l). Přidá se 0,1 g granulovaného *zinku R*, nechá se 30 min stát ve vodě s ledem za občasného zamíchání a potom se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (40). 10 ml filtrátu ve zkumavce se okyselí 2,5 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, přidá se 0,5 ml roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (10 g/l) a nechá se 15 min stát; fialově červené zbarvení roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití směsi 15 ml základního roztoku *dusičnanů* (10 µg NO<sub>3</sub>/ml) a 5 ml *vody R* (3,0 %).

Jestliže *hyetelosa* má zdánlivou viskozitu větší než 1000 mPa.s, vyhovuje zkoušce B.

B. 5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 10 ml. K 1 ml tohoto roztoku se přidá 19 ml *vody R*, 2 ml *amoniaku 26% R*, 0,5 ml roztoku *síranu manganatého R* (10 g/l) a 1 ml roztoku *sulfanilamidu R* (10 g/l). Přidá se 0,1 g granulovaného *zinku R*, nechá se 30 min stát ve vodě s ledem za občasného zamíchání a potom se zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (40). 10 ml filtrátu ve zkumavce se okyselí 2,5 ml *kyseliny chlorovodíkové R*, přidá se 0,5 ml roztoku *naftylethylendiamoniumdichloridu R* (10 g/l) a nechá se 15 min stát; fialově červené zbarvení roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití směsi 1 ml základního roztoku *dusičnanů* (10 µg NO<sub>3</sub>/ml) a 19 ml *vody R* (0,2 %).

**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).

**Glyoxal.** K 1,0 g se ve zkumavce se zabroušenou zátkou přidá 10,0 ml *ethanolu R*. Zkumavka se uzavře, mechanicky se třepe 30 min a odstředí se. Ke 2,0 ml supernatantní tekutiny se přidá 5,0 ml roztoku *methylbenzothiazolinonhydrata*

zonhydrochloridu R (4 g/l) v roztoku kyseliny octové ledové R 80% (V/V) ve vodě R a homogenizuje se třepáním. Po 2 h není roztok zbarven inten-zivněji než porovnávací roztok připravený současně stejným způsobem za použití 2,0 ml základního roztoku glyoxalu (20 µg C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/ml) místo 2,0 ml supernatantní tekutiny (200 µg/g).

**Ethylenoxid.** Nejvýše 1 µg/g; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* 1,00 g zkoušené látky (M<sub>T</sub>) se přeneso do 5ml lahvičky a přidá se 1,0 ml vody R.

*Porovnávací roztok (a).* 1,00 g (M<sub>R</sub>) zkoušené látky se přeneso do 5ml lahvičky a přidá se 0,2 ml (odpovídá 225 mg) ochlazeného ethylenoxidu RS a 0,8 ml vody R.

*Porovnávací roztok (b).* K 0,1 ml ethylenoxidu RS v 5ml lahvičce se přidá 0,1 ml čerstvě připraveného roztoku acetaldehydu R (10 mg/l).

*Lahvičky se ihned uzavřou zátkou s butyl-kaučukovou membránou a zátko se upevní hliníkovým nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem. Obsah lahviček se homogenizuje protřepáním.*

Podmínky statického head-space nástřiku jsou obvykle následující:

- rovnovážná teplota: 70 °C,
- doba ohřevu: 45 min,
- teplota převodové kapiláry: 75 °C,
- nosný plyn: *helium pro chromatografii R* nebo *dusík pro chromatografii R*,
- doba tlakování: 30 s,
- objem nástřiku: 1 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární skleněné nebo křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřním povrchem potaženým 1,0 µm vrstvou *polydimethylsiloxanu R*,
- *helia pro chromatografii R* nebo *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové lineární rychlosti asi 20 cm/s a dělicím poměru 1 : 20,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje 5 min na 50 °C, pak se zvyšuje rychlostí 30 °C/min do 230 °C a 5 min se udržuje na 230 °C, přičemž teplota nástřikového prostoru se udržuje na 150 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Nastříkne se 1,0 ml plynné fáze porovnávacího roztoku (b) a nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků na chromatogramu byly nejméně 15 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky acetaldehydu a ethylenoxidu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) je nejméně 3,5.

Nastříkne se odděleně po 1,0 ml plynné fáze zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku odpovídajícího ethylenoxidu není větší než polovina plochy píku ethylenoxidu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

Obsah ethylenoxidu v µg/g se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_T \cdot M_{EO} \cdot C}{0,25 \cdot (A_R \cdot M_T - A_T \cdot M_R)}, \text{ kde } C = \frac{C_{EO}}{M_{EO} \cdot 10},$$

v němž značí:

- A<sub>T</sub> - plochu píku ethylenoxidu na chromatogramu zkoušeného roztoku,
- A<sub>R</sub> - plochu píku ethylenoxidu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a),
- M<sub>EO</sub> - hmotnost absorbovaného ethylenoxidu (použitého pro přípravu *etylenoxidu RS*) v gramech,
- M<sub>T</sub> - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v gramech,
- M<sub>R</sub> - hmotnost zkoušené látky v porovnávacím roztoku (a) v gramech,
- C - korekční faktor, viz vzorec,
- C<sub>EO</sub> - obsah ethylenoxidu v mg/ml stanovený titračně.

**2-Chlorethanol.** Nejvýše 10 µg/g; stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* K 50 mg zkoušené látky (M<sub>T</sub>) se do 20ml lahvičky přidají 2 µl 2-propanolu R.

*Porovnávací roztok.* K 50 mg (M<sub>R</sub>) zkoušené látky se do 20ml lahvičky přidají 2 µl 2-chlorethanolu RS.

*Lahvičky se ihned uzavřou zátkou s butyl-kaučukovou membránou a zátko se upevní hliníkovým nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem. Obsah lahviček se homogenizuje protřepáním.*

Podmínky head-space nástřiku jsou obvykle následující:



Baňka se propláchne heliem při průtokové rychlosti 20 ml/min. Lahvičky se zahřívají 40 min při 110 °C. Doba trvání nástřiku je 5 min. Plynové extrakty se převedou do odlučovače tvořeného z trubičky 13,6 cm dlouhé a vnitřního průměru 4 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R* (150 μm) udržovaného při 50 °C.

Odlučovač se rychle zahřeje na 210 °C a promývá se heliem s průtokovou rychlostí 5 ml/min a tlakuje se plynem analytická kolona.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,53 mm s vnitřním povrchem potaženým 1,0 μm vrstvou *makrogolu 20 000 R* pro chromatografii,
- *helium* pro chromatografii *R* jako nosného plynu při průtokové lineární rychlosti asi 60 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje 6 min na 60 °C, pak se zvyšuje rychlostí 5 °C/min do 110 °C, potom se zvyšuje rychlostí 8 °C/min do 230 °C a 5 min se udržuje na 230 °C, přičemž teplota nástřikového prostoru se udržuje na 150 °C a teplota detektoru na 260 °C.

Zaznamenají se chromatogramy zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku.

Obsah 2-chlorethanolu v μg/g se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A_T \cdot C}{(A_R \cdot M_T) - (A_T \cdot M_R)},$$

v němž značí:

$A_T$  - plochu píku 2-chlorethanolu na chromatogramu zkoušeného roztoku,

$A_R$  - plochu píku 2-chlorethanolu na chromatogramu porovnávacího roztoku,

$M_T$  - hmotnost zkoušené látky ve zkoušeném roztoku v gramech,

$M_R$  - hmotnost zkoušené látky v porovnávacím roztoku v gramech,

$C$  - obsah 2-chlorethanolu v mikrogramech ve 2,0 μl *2-chlorethanolu RS*.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 10,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 4,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.

## Označování

V označení na obalu se uvede zjevná viskozita 2% roztoku v mPa.s.

117. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Hyperici herba* zní:

”

## Hyperici herba

Třezalková nat'

*Synonymum*. Herba hyperici

2000



Jsou to celé nebo řezané usušené kvetoucí vrcholky druhu *Hypericum perforatum* L.

Obsahuje nejméně 0,08 % hypericinů, počítáno jako hypericin ( $C_{30}H_{16}O_8$ ;  $M_r$  504,4), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Stonek jen nahoře větvený, lysý, se dvěma podélnými více nebo méně vyniklými tenkými lištami. Listy vstřicné, vejčité oválné, přisedlé, 15 mm až 30 mm dlouhé, celokrajné, bez palistů. Na okrajích listů černé žláznaté chlupy, čepel s četnými malými olejovými nádržkami, prosvítavě tečkovaná. Květy pětičetné, pravidelné, uspořádané v koncovém širokém vrcholíku vidlanů. Kališní lístky zelené, s ušty kopinatými, na okrajích s černými žláznatými chlupy, korunní lístky oranžově žluté, na okrajích s černými žláznatými chlupy, četné oranžově žluté tyčinky uspořádané ve třech svazečcích. Semeník třípouzdrý, blizna trojčetná, červená.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je zelenožlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky mnohohranných buněk pokožky se stěnami růžencovitě ztlustlými a paracytickými nebo anomocytickými průduchy (2.8.3); úlomky listu a kalicha s velkými olejovými nádržkami a červeně zbarvenými pigmentovými buňkami; tenkostěnné protáhlé buňky pokožky koruny s rovnými nebo vlnitými antiklinálními stěnami; cévy a cévice s tečkovanými stěnami a skupiny ztlustlých vláken; úlomky čtyřhranného zdřevnatělého tečkovaného parenchymu; vláknitá vrstva prášníků a protáhlé, tenkostěnné buňky tyčinky s rýhovanou kutikulou; četná pylová zrna se třemi klíčními póry a hladkou exinou, jednotlivá nebo shloučená; drúzy šťavelanu vápenatého.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 0,5 g práškové drogy (500) se míchá s 10 ml *methanolu R* 10 min ve vodní lázni při 60 °C a po ochlazení se zfiltruje.

*Porovnávací roztok*. 5 mg *rutinu R* a 5 mg *hyperosidu R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se nanese do pruhů (10 mm) 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 5  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Využívá se směs objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *vody R* a *ethylacetatu R* (6 + 9 + 90) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 10 min při 100 °C až 105 °C a pak se postříká roztokem *difenyloboryloxyethylaminu R* (10 g/l) v *methanolu R* a pak roztokem *makrogolu 400 R* (50 g/l) v *methanolu R*. Po 30 min se pozoruje v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině skvrna odpovídající *rutinu* a nad ní skvrna odpovídající *hyperosidu*, obě skvrny fluoreskují žlutooranžově. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v dolní třetině červenooranžově fluoreskující skvrny (*rutin* a *hyperosid*) a v dolní části horní třetiny chromatogramu je skvrna pseudo-*hypericinu* a nad ní skvrna *hypericinu*, obě fluoreskují červeně. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další žlutě nebo modře fluoreskující skvrny.

### Zkoušky na čistotu

*Cizí příměsi* (2.8.2). Nejvýše 3 % stonků o průměru více než 5 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 10,0 %. 1,000 g práškové drogy (500) se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.  
**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 7,0 %.

### Stanovení obsahu

**Zkoušený roztok.** 0,800 g práškové drogy (500) se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá se 60 ml směsí objemových dílů *vody R* a *tetrahydrofuranu R* (20 + 80) a vloží se magnetické míchadlo. Směs se vaří 30 min ve vodní lázni při 70 °C pod zpětným chladičem. Odstředí se (2 min při 700 g<sub>n</sub>) a supernatantní tekutina se převede do 250ml baňky. Zbytek drogy se smíchá s 60 ml směsí objemových dílů *vody R* a *tetrahydrofuranu R* (20 + 80). Směs se opět zahřívá 30 min pod zpětným chladičem. Odstředí se (2 min při 700 g<sub>n</sub>) a supernatantní tekutina se převede do téže odměrné baňky. Spojené roztoky se odpaří do sucha. Zbytek se převede 15 ml *methanolu R* za pomoci ultrazvuku do 25ml odměrné baňky. 250ml baňka se promyje *methanolem R*; promývací tekutina se přidá k roztoku v odměrné baňce a spojené tekutiny se zředí *methanolem R* na 25,0 ml. Opět se odstředí, 10 ml roztoku se zfiltruje filtrem ze slinutého skla (0,2 μm), první 2 ml filtrátu se odstraní. 5,0 ml filtrátu se převede do odměrné baňky a zředí se *methanolem R* na 25,0 ml.

Měří se absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku při 590 nm za použití *methanolu R* jako kontrolní tekutiny. Obsah hypericinů v procentech, vyjádřen jako hypericin (C<sub>30</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>), se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A \cdot 125}{m \cdot 870}$$

v němž značí:

*A* - absorbanci při 590 nm,

*m* - navážku drogy v gramech.

Specifická absorbance hypericinu má hodnotu 870.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

118. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Interferoni alfa-2 solutio concentrata zní:

”

## † Interferoni alfa-2 solutio concentrata

Koncentrovaný roztok interferonu alfa-2

2000



CDLPQTHSLG	SRRTLMLLAQ	MRXISLFSCL
KDRHDFGFPQ	EEFGNQFQKA	ETIPVLHEMI
QQIFNLFSTK	DSSAAWDETL	LDKFYTELYQ
QLNDLEACVI	QGVGVTTETPL	MKEDSILAVR
KYFQRITLYL	KEKKYSPCAW	EVVRAEIMRS
FSLSTNLQES	LRSKE	

Je to roztok bílkoviny vytvořené podle informace kódované genem pro alfa-interferon, subtyp alfa-2, která vykazuje alespoň v homologních buňkách nespecifickou protivirovou účinnost v průběhu metabolických buněčných procesů syntézy ribonukleové kyseliny a bílkovin. Koncentrovaný roztok interferonu alfa-2 vykazuje také antiproliferační účinnost. Různé typy interferonu alfa-2 se liší ve zbytku aminokyseliny v poloze 23 a označují se písmeny.

Označení	Zbytek v poloze 23 (X)
alfa-2a	Lys
alfa-2b	Arg

Tento článek se vztahuje na koncentrované roztoky interferonů alfa-2a a alfa-2b.

Účinnost koncentrovaného roztoku interferonu alfa-2 je nejméně  $1,4 \cdot 10^8$  m.j. v miligramu bílkoviny. Koncentrovaný roztok interferonu alfa-2 obsahuje nejméně  $2 \cdot 10^8$  m.j. interferonu alfa-2 v mililitru.

Koncentrovaný roztok interferonu alfa-2 vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

### Výroba

Vyrábí se metodou založenou na rekombinantní DNK (rDNK) technologii za použití bakterií jako hostitelských buněk. Vyrábí se v podmínkách určených ke snížení kontaminace výrobku mikroby na minimum.

Vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům:

**Bílkoviny odvozené z hostitelských buněk.** Limity schvaluje oprávněná autorita.

**DNK odvozená z hostitelských buněk nebo vektoru.** Limity schvaluje oprávněná autorita.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá tekutina.

### Zkoušky totožnosti

A. Stanovení účinnosti je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Proveďte se izoelektrická fokusace.

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek se zředí vodou R na koncentraci bílkoviny 1 mg/ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se roztok vhodného interferonu alfa-2 CRL (1 mg/ml) ve vodě R.

**Kalibrační roztok izoelektrických bodů v oblasti pH 3,0 až 10,0.** Připraví se a použije podle návodu výrobce.

Použije se vhodný přístroj spojený s recirkulační vodní lázní s kontrolovanou teplotou při 10 °C a gely pro izoelektrickou fokusaci s gradientem pH 3,5 až 9,5. S přístrojem se pracuje podle návodu výrobce. Jako anodový roztok se použije roztok kyseliny fosforečné R (98 g/l H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) a jako katodový roztok hydroxid sodný 1 mol/l RS. Vzorky se nanášejí na gel filtračními papírky. Filtrační papírky pro nanášení vzorku se umístí na gel těsně u katody.

Nanáší se odděleně 15 µl zkoušeného roztoku a 15 µl porovnávacího roztoku. Spustí se izoelektrická fokusace při 1500 V a 50 mA. Po 30 min se vypne proud, odstraní se filtrační papírky a znovu se připojí zdroj napětí na 1 h. Během fokusačního procesu se udržuje konstantní napětí. Po fokusaci se gel ponoří do vhodného objemu roztoku kyseliny trichloroctové R (115 g/l) a kyseliny sulfosalicylové R (34,5 g/l) ve vodě R a nádobou se 60 min opatrně pohybuje. Gel se přenese do směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R, ethanolu R a vody R (32 + 100 + 268) a promývá se 5 min. Pak se gel na 10 min ponoří do barvičeho roztoku modři kyselé 83 R (1,2 g/l) ve stejné směsi kyseliny octové ledové, ethanolu a vody předehřáté na 60 °C. Gel se promyje v několika nádobách stejnou směsí kyseliny octové ledové, ethanolu a vody a v této směsi se ponechá, dokud není pozadí bezbarvé (12 h až 24 h). Po odpovídajícím odbarvení se gel ponoří na 1 h do roztoku glycerolu R 10% (V/V) ve směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R, ethanolu R a vody R (32 + 100 + 268).

Hlavní pásy na elektroforeogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou hlavním pásům na elektroforeogramu porovnávacího roztoku. Do grafu se vynese závislost migračních vzdáleností ukazatelů izoelektrických bodů na jejich izoelektrických bodech a určí se izoelektrické body hlavních složek zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku; nelíší se o více než 0,2 hodnoty pI. Zkoušku lze hodnotit, jestliže ukazatele izoelektrických bodů jsou distribuovány po celé délce gelu a izoelektrické body hlavních pásů na elektroforeogramu porovnávacího roztoku leží mezi 5,8 a 6,3.

C. Hodnotí se elektroforeogramy ze zkoušky Nečistoty lišící se od interferonu alfa-2 molekulovými hmotnostmi, viz Zkoušky na čistotu, získané za redukčních podmínek. Hlavní pás na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) odpovídá svojí polohou hlavnímu pásu na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).

D. Provede se peptidové mapování.

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek se zředí vodou R na koncentraci bílkoviny 1,5 mg/ml. 25 µl se přenese do 1,5 ml polypropylenové nebo skleněné zkumavky. Přidá se 1,6 µl tlumivého roztoku fosforečnanového o pH 8,0 (1 mol/l), 2,8 µl čerstvě připraveného roztoku trypsinu pro peptidové mapování R (1,0 mg/ml) ve vodě R a 3,6 µl vody R a silně se promíchá. Zkumavka se uzavře a nechá se 18 h ve vodní lázni při 37 °C, pak se přidá 100 µl roztoku guanidiniumchloridu R (573 g/l) a dobře se promíchá. Přidá se 7 µl roztoku dithiothreitolu R (154,2 g/l) a dobře se promíchá. Uzavřená zkumavka se na 1 min ponoří do vroucí vody, pak se ochladí na pokojovou teplotu.

**Porovnávací roztok.** Připraví se současně stejným způsobem jako zkoušený roztok za použití roztoku příslušného interferonu alfa-2 CRL (1,5 mg/ml) ve vodě R.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm) s póry o velikosti 30 nm,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min, kterou jsou následující směsi:
  - 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 acetonitrem pro chromatografii R na 1000 ml,
- gradientového programu:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 8	100	0	izokraticky
8 - 68	100 → 40	0 → 60	lineární gradient
68 - 72	40	60	izokraticky
72 - 75	40 → 100	60 → 0	lineární gradient
75 - 80	100	0	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Kolona se ustaluje mobilní fází A nejméně 15 min.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže se chromatogramy obou roztoků kvalitativně podobají vhodnému *referenčnímu chromatogramu Ph.Eur. rozštěpeného interferonu alfa-2*. Profil chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá profilu chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

Nečistoty lišící se od interferonu alfa-2 molekulovými hmotnostmi. Zkouší se SDS-polyakrylamidovou gelovou elektroforézou (2.2.31). Zkouška se provádí v redukčních i v neredukčních podmínkách na rozlišovacích gelech s 14 % akrylamidu; k detekci se používá barvení stříbrem.

*Roztok pro vzorek (pro neredukční podmínky)*. Použije se *SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro vzorek RS*.

*Roztok pro vzorek (pro redukční podmínky)*. Použije se *SDS-PAGE koncentrovaný roztok pro vzorek pro redukující podmínky RS* obsahující 2-merkaptoethanol jako redukční činidlo.

*Zkoušený roztok (a)*. Zkoušený přípravek se zředí roztokem pro vzorek na koncentraci bílkoviny 0,5 mg/ml.

*Zkoušený roztok (b)*. 0,20 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí roztokem pro vzorek na 1 ml.

*Porovnávací roztok (a)*. Připraví se roztok vhodného *interferonu alfa-2 CRL* (0,625 mg/ml) v roztoku pro vzorek.

*Porovnávací roztok (b)*. 0,20 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí roztokem pro vzorek na 1 ml.

*Porovnávací roztok (c)*. 0,20 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí roztokem pro vzorek na 1 ml.

*Porovnávací roztok (d)*. 0,20 ml porovnávacího roztoku (c) se zředí roztokem pro vzorek na 1 ml.

*Porovnávací roztok (e)*. 0,20 ml porovnávacího roztoku (d) se zředí roztokem pro vzorek na 1 ml.

*Porovnávací roztok (f)*. Použije se roztok standardů molekulových hmotností vhodný pro kalibraci SDS-PAGE gelů v rozmezí 15 kDa až 67 kDa.

Zkoušené a porovnávací roztoky se na 2 min vloží v uzavřených zkumavkách na vodní lázeň.

Do jámek zaostřovacího gelu se nanese 10 µl porovnávacího roztoku (f) a po 50 µl z ostatních roztoků. Proveďte se elektroforéza za podmínek doporučených výrobcem přístroje a bílkoviny v gelu se obarví stříbrem.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže jsou splněna validační kritéria (2.2.31); na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (e) je vidět pás a na elektroforeogramech zkoušených roztoků (a) a (b) i na elektroforeogramech porovnávacích roztoků (a) až (e) je zřejmé odstupňování intenzity vybarvení.

Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) za redukčních podmínek mohou, kromě hlavního pásu, být méně intenzivní pásy s nižšími molekulovými hmotnostmi než hlavní pás; žádný takový pás není intenzivnější než hlavní pás na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (d) (1,0 %) a nejvýše tři takové pásy jsou intenzivnější než hlavní pás na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (e) (0,2 %).

Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku (a) za neredukčních podmínek mohou být, kromě hlavního pásu, méně intenzivnější pásy s vyšší molekulovou hmotností než hlavní pás; žádný takový pás není intenzivnější než hlavní pás na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (d) (1,0 %) a nejvýše tři takové pásy jsou intenzivnější než hlavní pás na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (e) (0,2 %).

**Příbuzné bílkoviny.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok*. Zkoušený přípravek se zředí *vodou R* na koncentraci bílkoviny 1 mg/ml.

*0,25% roztok peroxidu vodíku*. *Peroxid vodíku zředěný RS* se zředí *vodou R* na 0,25% roztok.

*Porovnávací roztok*. Zkoušený roztok se zředí vhodným množstvím 0,25% roztoku peroxidu vodíku tak, aby konečná koncentrace peroxidu vodíku byla 0,005% a nechá se stát při pokojové teplotě 1 h nebo po dobu, za kterou vznikne asi 5 % oxidovaného interferonu. Přidá se 12,5 mg *L-methioninu R* na mililitr roztoku a nechá se 1 h stát při pokojové teplotě. Roztoky se neuchovávají déle než 24 h 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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm) s póry o velikosti 30 nm,
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min, kterou jsou následující směsi:
  - *mobilní fáze A* - k 700 ml *vody R* se přidají 2 ml *kyseliny trifluoroctové R* a 300 ml *acetonitrilu pro chromatografii R*,
  - *mobilní fáze B* - k 200 ml *vody R* se přidají 2 ml *kyseliny trifluoroctové R* a 800 ml *acetonitrilu pro chromatografii R*,
- *gradientového programu*:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 1	72	28	izokraticky
1 - 5	72 → 67	28 → 33	lineární gradient
5 - 20	67 → 63	33 → 37	lineární gradient
20 - 30	63 → 57	37 → 43	lineární gradient
30 - 40	57 → 40	43 → 60	lineární gradient
40 - 42	40	60	izokraticky
42 - 50	40 → 72	60 → 28	lineární gradient
50 - 60	72	28	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Kolona se ustaluje nejméně 15 min mobilními fázemi v poměru počátečních podmínek gradientu. Nastříkuje se po 50 µl obou roztoků.

Na získaných chromatogramech se interferon alfa-2 eluuje při retenčním čase asi 20 min. Na chromatogramu porovnávacího roztoku se pík oxidovaného interferonu objeví při asi 0,9 hodnoty retenčního času vztaženého k hlavnímu píku. Zkoušku lze hodnotit, pokud rozlišení mezi píky odpovídající oxidovanému interferonu a interferonu je nejméně 1,0. Přihlíží se pouze k píkům, jejichž relativní retenční časy vzhledem k hlavnímu píku jsou v rozmezí 0,7 až 1,4. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 3,0 % celkové plochy všech píků. Součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 5,0 % celkové plochy všech píků.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 100 m.j. endotoxinu v objemu obsahujícím 1,0 mg bílkoviny.

## Stanovení účinnosti

### Bílkovina

*Zkoušený roztok.* Zkoušený přípravek se zředí vodou R na koncentraci interferonu alfa-2 asi 0,5 mg/ml.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se zásobní roztok albuminu hovězího R (0,5 mg/ml), z něhož se připraví osm ředění v rozmezí koncentrací 3 µg/ml až 30 µg/ml hovězího albuminu R.

Připraví se třicetinasobné a padesátinasobné ředění zkoušeného roztoku. Do zkumavek obsahujících 1,5 ml vody R (slepá zkouška) nebo 1,5 ml různých ředění zkoušeného roztoku nebo 1,5 ml porovnávacích roztoků se přidá po 1,25 ml v ten den připravené směsi, vzniklé smícháním 2,0 ml roztoku siranu měďnatého R (20 g/l) ve vodě R, 2,0 ml roztoku vínanu sodného R (40 g/l) ve vodě R a 96,0 ml roztoku uhličitanu sodného R (40 g/l) v hydroxidu sodném 0,2 mol/l RS. Po každém přidání se promíchá. Po asi 10 min se do každé zkumavky přidá 0,25 ml v ten den připraveného zkoumadla fosfomolybdenanwolframového R a po každém přidání se opět promíchá. Asi za 30 min se měří absorbance (2.2.25) každého roztoku při 750 nm proti kontrolní tekutině získané při slepé zkoušce. Z absorbancí osmi porovnávacích roztoků a odpovídajících obsahů bílkoviny se sestrojí kalibrační křivka, z níž se odečte obsah bílkoviny ve zkoušeném roztoku.

### Účinnost

Účinnost interferonu alfa-2 se stanoví porovnáním jeho ochranného působení proti virovému cytopatickému účinku s působením vhodného mezinárodního standardu lidského rekombinantního interferonu alfa-2 nebo referenčního přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách.

Mezinárodní jednotka je účinnost deklarovaného množství vhodného mezinárodního standardu. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhlašuje Světová zdravotnická organizace.

Zkouška se provádí vhodnou metodou založenou na následujícím uspořádání.

Použije se určená buněčná kultura citlivá na cytopatické působení vhodného viru (vhodná je buněčná linie lidských diploidních fibroblastů prostá mikrobiální kontaminace a citlivá na interferon, která je citlivá na virus encefalomyokarditidy) za standardních kultivačních podmínek.

Vhodné jsou následující buněčné kultury a viry: buňky MDBK (ATCC č. CCL22) nebo myši L-buňky (NCTC klon 929; ATCC č. CCL 1) jako buněčná kultura a virus vezikulární stomatitidy VSV, kmen Indiana (ATCC č. VR-158) jako infekční agens. Lze použít také buňky lidských diploidních fibroblastů FS-71, odpovídající na působení interferonu jako buněčná kultura a virus encefalomyokarditidy (ATCC č. VR-129B) jako infekční agens.

Použijí se tři nebo více různých zředění zkoušeného přípravku a porovnávacího přípravku v nejméně čtyřech souběžných stanoveních na mikrotitračních destičkách. Každé stanovení obsahuje kontrolní buňky, které nejsou vystaveny působení interferonu. Zvolí se taková ředění přípravku, kde nejnižší ředění již poskytuje ochranu a nejvyšší koncentrace poskytuje menší než maximální ochranu proti cytopatickému účinku viru. Ve vhodném čase se přidá cytopatický virus do všech jamek s výjimkou dostatečného počtu jamek v každém souběžném stanovení s neinfikovanými kontrolními buňkami. Cytopatický účinek viru se určí kvantitativně vhodnou metodou. Účinnost zkoušeného přípravku se vypočítá obvyklými statistickými metodami pro model rovnoběžnosti.

Stanovená účinnost je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti stanovené účinnosti ( $P = 0,95$ ) je 64 % až 156 % deklarované účinnosti.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nižší než  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- druh interferonu (alfa-2a nebo alfa-2b),
- způsob výroby.

“

119. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Interferoni alfa-2 solutio concentrata doplňuje článek Interferoni gamma-1b solutio concentrata, který zní:

”

## † Interferoni gamma-1b solutio concentrata

Koncentrovaný roztok interferonu gama-1b



2000

$\text{C}_{734}\text{H}_{1166}\text{N}_{204}\text{O}_{216}\text{S}_5$

$M_r$  16 464,76

Je to roztok N-terminální methionylové formy interferonu gama, bílkoviny, jež je vytvářena a vylučována lidskými T lymfocyty stimulovanými antigenem jako odpověď na virové infekce a na různá jiná agens. Má specifické imunomodulační vlastnosti, jako např. silné účinky při aktivaci fagocytů.

Bílkovina se skládá z nekovalentních dimerů dvou identických monomerů.

Vzorec monomeru :

MQDPYVKEAEN	LKKYFNAGHS	DVADNGTLFL
GILKNWKEES	DRKIMQSQIV	SFYFKLFFKNF
KDDQSIQKSV	ETIKEDMNVK	FFNSNKKKRD
DFEKLTYNSV	TDLNVQRKAI	HELIQVMAEL
SPAAKTGKRK	RSQMLFRGR	

Účinnost interferonu gama-1b je nejméně  $20 \cdot 10^6$  m.j. v miligramu bílkoviny. Koncentrovaný roztok interferonu gama-1b obsahuje nejméně  $30 \cdot 10^6$  m.j. interferonu gama-1b v mililitru.



Koncentrovaný roztok interferonu gama-1b vyhovuje požadavkům článku *Producta ab ADN recombinante*.

## Výroba

Vyrábí se metodou založenou na rekombinantní DNK technologii za použití bakterií jako hostitelských buněk. Vyrábí se v podmínkách určených ke snížení kontaminace mikroby na minimum.

Vyhovuje následujícím dodatečným požadavkům:

**Bílkoviny odvozené z hostitelských buněk.** Limit schvaluje oprávněná autorita.

**DNK odvozená z hostitelských buněk nebo vektoru.** Limit schvaluje oprávněná autorita.

## Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo slabě nažloutlá tekutina.

## Zkoušky totožnosti

A. Stanovení účinnosti je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Hodnotí se elektroforeogramy ze zkoušky Nečistoty lišící se od interferonu gama-1b molekulovými hmotnostmi. Hlavní pásy na elektroforeogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou hlavním pásům na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a).

C. Provede se peptidové mapování.

*Roztok A.* Připraví se roztok obsahující *trometamol R* (1,2 g/l), *octan sodný bezvodý R* (8,2 g/l) a *chlorid vápenatý R* (0,02 g/l) a jeho pH (2.2.3) se upraví *kyselinou octovou zředěnou RS* na hodnotu 8,3. Přidá se *polysorbát 20 R* do koncentrace 0,1 % (V/V).

*Zkoušený roztok.* Vhodným postupem se odsolí objem zkoušeného přípravku obsahující 1 mg bílkoviny. Např. se zfiltruje do mikrocentrifugační zkumavky a rekonstituuje se 500 µl roztoku A. Přidá se 10 µl čerstvě připraveného roztoku *trypsinu pro peptidové mapování R* (1 mg/ml) ve *vodě R* a jemně se míchá kroužením. Inkubuje se 24 h při 30 °C až 37 °C, přidá se 100 µl *kyseliny fosforečné R* na mililitr rozštěpeného vzorku a míchá se kroužením.

*Porovnávací roztok.* *Interferon gama-1b CRL* se zředí *vodou R* na koncentraci 1 mg/ml. Postupuje se jako u zkoušeného roztoku a zajistí se, aby všechny postupy byly provedeny současně a ve stejných podmínkách.

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

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* (10 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - (*tlumivý roztok fosforečnanový o pH 3,3 (0,05 mol/l)*). Roztok I: 7,80 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Roztok II: 0,33 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 100,0 ml. Smíchá se 920 ml roztoku I a 80 ml roztoku II. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3),
  - *mobilní fáze B* - *acetonitril pro chromatografii R*,
- následujících podmínek eluce (je-li třeba, může se gradient upravit, aby se zlepšilo dělení rozštěpené látky):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 30	100 → 80	0 → 20
30 - 50	80 → 60	20 → 40
50 - 51	60 → 30	40 → 70
51 - 59	30	70
59 - 60	30 → 100	70 → 0

- spektrofotometrického detektoru, 214 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Kolona se nejméně 15 min ustaluje mobilní fází s počátečním složením. Provede se slepá zkouška za použití výše uvedeného gradientu.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže se chromatogramy obou roztoků kvalitativně podobají *referenčnímu chromatogramu Ph.Eur. rozštěpeného interferonu gama-1b*. Profil chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá profilu chromatogramu porovnávacího roztoku.

**D.** Provede se N-terminální sekvenční analýza. Použije se automatický sekvenátor v pevné fázi v souladu s návodem výrobce. Vhodným způsobem se ustálí ekvivalent 100 µg interferonu gama-1b v roztoku *hydrogenuhlčitanu amoného R* (10 g/l) o pH 9,0.

Reverzní fázi kapalinové chromatografie se identifikují fenylothiohydantoin (PHT)-aminokyseliny uvolněné při každém sekvenčním cyklu. Postup se může provést s použitím kolony a zkoumadel doporučenými výrobcem sekvenčního zařízení při separaci PHT-aminokyselin.

Separční postup se kalibruje za použití:

- směsi PHT-aminokyselin poskytnutým výrobcem s podmínkami gradientu nastavenými tak, jak se uvádí k získání nejlepšího rozložení všech aminokyselin,
- vzorku ze slepého sekvenčního cyklu získaného podle doporučení výrobce zařízení.

Prvních patnáct aminokyselin je:

Met-Gln-Asp-Pro-Tyr-Val-Lys-Glu-Ala-Glu-Asn-Leu-Lys-Lys-Tyr.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled.** Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>7</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH (2.2.3).** 4,5 až 5,5; měří se zkoušený přípravek.

**Kovalentní dimery a oligomery.** Nejvýše 2 %; stanoví se vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek se zředí mobilní fází na koncentraci bílkovin 0,1 mg/ml.

**Porovnávací roztok (a).** *Interferon gama-1b CRL* se zředí mobilní fází na koncentraci bílkovin 0,1 mg/ml.

**Porovnávací roztok (b).** Připraví se směs následujících standardů molekulových hmotností: albumin hovězí, ovalbumin, trypsinogen, lysozym o koncentraci 0,1 mg/ml až 0,2 mg/ml pro každý standard.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* stupně vhodného pro frakcionaci globulárních bílkovin v rozpětí molekulových hmotností od 10 000 do 500 000 (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min, kterou je směs připravená následujícím postupem (tlumivý roztok fosforečnanu sodného o pH 6,8 (0,2 mol/l)). Roztok I: 31,2 g *dihydrogenfosforečnanu sodného R* a 1,0 g *dodecylsírnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Roztok II: 28,4 g *hydrogenfosforečnanu sodného R* a 1,0 g *dodecylsírnanu sodného R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000,0 ml. Smíchá se 450 ml roztoku I a 550 ml roztoku II. Je-li třeba, upraví se pH (2.2.3),
- spektrofotometrického detektoru, 210 nm až 214 nm.

Nastříkne se po 200 µl ze všech roztoků. Zkoušku lze hodnotit, jestliže: standardy molekulové hmotnosti porovnávacího roztoku (b) jsou zřetelně rozděleny; retenční čas hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je mezi retenčním časem trypsinogenu a lysozymu na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Porovnají se chromatogramy zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a). V porovnání s porovnávacím roztokem (a) není na zkoušeném roztoku žádná další prodleva ani pík.

Obsah kovalentních dimerů a oligomerů se vypočítá v procentech.

**Monomery a agregáty.** Nejvýše 2 %; stanoví se vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Roztok A.** Připraví se roztok *kyseliny jantarové R* (0,59 g/l) a *mannitolu R* (40 g/l) a jeho pH (2.2.3) se upraví *hydroxidem sodným RS* na hodnotu 5,0.

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek se zředí roztokem A na koncentraci bílkovin 1 mg/ml.

**Porovnávací roztok.** *Interferon gama-1b CRL* se zředí roztokem A na koncentraci bílkovin 1 mg/ml.

**Roztok pro rozlišení.** Připraví se 500 µl směsi obsahující *albumin hovězí R* (0,04 mg/ml) a *interferon gama-1b CRL* (0,2 mg/ml) v roztoku A. Tento roztok se použije do 24 h od přípravy.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *silikagelem hydrofilním pro chromatografii R* stupně vhodného pro frakcionaci globulárních bílkovin v rozpětí molekulových hmotností 10 000 až 300 000 (5  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze, kterou je roztok *chloridu draselného R* 1,2 mol/l (89,5 g/l). Průtoková rychlost je 0,8 ml/min,
- detektoru spektrofotometrického, 214 nm.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  roztoku pro rozlišení. Na získaném chromatogramu retenční čas hlavního píku odpovídá nativnímu dimeru interferonu gama-1b, asi 10 min; pík hovězího albuminu se eluuje při relativním retenčním čase asi 0,85 vzhledem k hlavnímu píku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky hovězího albuminu a interferonu gama-1b je nejméně 1,5.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku. Získané chromatogramy vykazují hlavní píky se shodnými retenčními časy. Obsah monomeru a agregátů v procentech se vypočítá z plochy píku monomeru a píků, které se elují před píkem nativního interferonu gama-1b na chromatogramu zkoušeného roztoku, obvyklým postupem (metodou normalizace). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla.

**Deamidované a oxidované formy a heterodimery.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29); obsah deamidovaných a oxidovaných forem je nejvýše 10 %, heterodimerů jsou nejvýše 3 %.

*Zkoušený roztok.* Zkoušený přípravek se zředí *vodou R* na koncentraci bílkovin 1 mg/ml.

*Porovnávací roztok.* *Interferon gama-1b CRL* se zředí *vodou R* na koncentraci bílkovin 1 mg/ml.

*Roztok pro rozlišení.* Použije se *validační roztok interferonu gama-1b CRL*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,075 m a vnitřního průměru 7,5 mm naplněné vhodným hydrofilním polymethakrylátem, silně kationty měnicím gelem (10  $\mu\text{m}$ , 100 nm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - (tlumivý roztok *octanu amonného o pH 6,5 (0,05 mol/l)*); roztok *octanu amonného R* (3,86 g/l), jehož pH se upraví *kyselinou octovou zředěnou RS* na hodnotu 6,5,
  - *mobilní fáze B* - (tlumivý roztok *octanu amonného o pH 6,5 (1,2 mol/l)*); roztok *octanu amonného R* (92,5 g/l), jehož pH se upraví *kyselinou octovou zředěnou RS* na hodnotu 6,5,
- gradientového programu s následujícími podmínkami (je-li třeba, upraví se pro zlepšení separace stoupání gradientu):

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 1	100	0
2 - 30	100 → 0	0 → 100
31 - 35	0	100
36 - 37	0 → 100	100 → 0
38 - 47	100	0

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Teplota kolony se udržuje při 35 °C.

Nastříkne se 25  $\mu\text{l}$  roztoku pro rozlišení. Na získaném chromatogramu je retenční čas hlavního píku asi 26 min. Deamidované a oxidované formy se elují společně při relativním retenčním čase asi 0,95 vzhledem k hlavnímu píku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení definované poměrem výšky píku odpovídajícího deamidovaným a oxidovaným formám k výšce nad základní linií dělicí oba píky je nejméně 1,2.

Nastříkne se 25  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 25  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku. Získané chromatogramy vykazují hlavní píky se shodnými retenčními časy. Obsah deamidovaného a oxidovaného interferonu gama-1b v procentech se vypočítá jako procenta z plochy hlavního píku. Relativní retenční čas heterodimerů je 0,7 až 0,85 vzhledem k hlavnímu píku. Obsah heterodimerů v procentech se vypočítá jako procenta ze součtu ploch všech píků.

**Nečistoty lišící se od interferonu gama-1b molekulovými hmotnostmi.** Stanoví se polyakrylamidovou gelovou elektroforézou (2.2.31). Zkouška se provádí za redukčních i neredukčních podmínek na rozlišovacích gelech s 15 % akrylamidu; k detekci se používá barvení stříbrem.

**Roztok pro vzorek (pro neredukční podmínky).** 3,78 g *trometamolu R*, 10,0 g *dodecylsiranu sodného R* a 0,100 g *modři bromfenolové R* se rozpustí ve *vodě R*. Přidá se 50,0 ml *glycerolu R* a zředí se *vodou R* na 80 ml. Upraví se pH (2.2.3) *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 6,8 a zředí se *vodou R* na 100 ml.

**Roztok pro vzorek (pro redukční podmínky).** 3,78 g *trometamolu R*, 10,0 g *dodecylsiranu sodného R* a 0,100 g *modři bromfenolové R* se rozpustí ve *vodě R*. Přidá se 50,0 ml *glycerolu R* a zředí se *vodou R* na 80 ml. Upraví se pH (2.2.3) *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 6,8 a zředí se *vodou R* na 100 ml. Bezprostředně před použitím se přidá *dithiothreitol R* do konečné koncentrace 0,250 mol/l.

**Zkoušený roztok.** Zkoušený přípravek se zředí *vodou R* na koncentraci bílkoviny 1 mg/ml. K 150 µl tohoto roztoku se přidá 38 µl roztoku pro vzorek.

**Porovnávací roztok (a).** Připraví se stejně jako zkoušený roztok, ale místo zkoušeného přípravku se použije *interferon gama-1b CRL*.

**Porovnávací roztok (b) (5 ng kontrola).** 50 µl roztoku *albuminu hovězího R* (0,01 mg/ml) se smíchá s 2000 µl *vody R* a 450 µl roztoku pro vzorek.

**Porovnávací roztok (c) (2 ng kontrola).** 20 µl roztoku *albuminu hovězího R* (0,01 mg/ml) se smíchá s 2000 µl *vody R* a 450 µl roztoku pro vzorek.

**Porovnávací roztok (d).** Použije se roztok standardů molekulových hmotností vhodných pro kalibraci SDS-polyakrylamidových gelů v rozpětí 10 kDa do 70 kDa.

Každý roztok se ve zkumavce nechá 15 min při pokojové teplotě a pak se uchovává na ledu.

Do jamek zaostřovacího gelu se nanese po 25 µl každého roztoku. Za podmínek doporučených výrobcem zařízení se provede elektroforéza a bílkoviny se detegují barvením stříbrem.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže splňuje validační kritéria (2.2.31); na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (b) a (c) je vždy vidět pás.

Hlavní pás na elektroforeogramu zkoušeného roztoku odpovídá intenzitou hlavnímu pásu na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a). Na elektroforeogramu zkoušeného roztoku není vidět žádný významný pás, který by nebyl přítomen na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (a) (0,01 %). Jako významný pás je definován jakýkoliv pás, jehož intenzita je stejná nebo větší než intenzita pásu na elektroforeogramu porovnávacího roztoku (c).

**Norleucin.** Nejvýše 0,2 molu *norleucinu* na mol *interferonu gama-1b*; stanoví se analýzou aminokyselin.

**Zkoušený roztok.** 2,5 ml zkoušeného přípravku se nanese na kolonu vhodnou pro odsolení bílkovin, která byla předtím ustálena 25 ml roztoku *kyseliny octové R* 10 % (V/V). Vzorek se eluuje 2,5 ml roztoku *kyseliny octové R* 10 % (V/V). Stanoví se obsah bílkovin měřením absorbance tohoto roztoku, jak je popsáno v odstavci Stanovení bílkovin. Objem obsahující množství odpovídající 100 µg *interferonu gama-1b* se napipetuje do každé ze tří reakčních lahvíček a odpaří se do sucha za sníženého tlaku.

Hydrolyza tří vzorků se provede takto: do každé reakční lahvičky se přidá 200 µl roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50 % (V/V) obsahující *fenol R* 1 % (V/V); vzorky se evakuují a vyčistí dusíkem, potom se hydrolyzují v plynné fázi. Lahvičky se 22 h zahřívají při 110 °C. Po hydrolyze se odpaří do sucha za sníženého tlaku.

Derivatizace vzorků se provede takto: bezprostředně před použitím se připraví směs objemových dílů *ethanolu R*, *vody R* a *triethylaminu R* (2 + 1 + 1). 50 µl tohoto roztoku se přidá do každé reakční lahvičky, lehce se protřepe a odpaří se za sníženého tlaku do sucha. Do každé lahvičky se přidá 50 µl směsi objemových dílů *ethanolu R*, *vody R*, *triethylaminu R* a *fenylisothiokyanat R* (7 + 1 + 1 + 1). Lehce se protřepe a nechá se stát asi 15 min při pokojové teplotě. Odpaří se do sucha za sníženého tlaku a vzorky se rekonstitují v 250 µl mobilní fáze A.

**Zásobní roztok *norleucinu*.** Připraví se roztok *DL-norleucinu R* (250 nmol/ml) v *kyselině chlorovodíkové* 0,01 mol/l *RS*. Tento roztok se může uchovávat 2 měsíce při 4 °C.

**Zásobní roztok *leucinu*.** Připraví se roztok *leucinu R* (250 nmol/ml) v *kyselině chlorovodíkové* 0,01 mol/l *RS*. Tento roztok se může uchovávat 2 měsíce při 4 °C.

**Porovnávací roztok.** V každé ze tří reakčních lahvíček se smíchá 10 µl zásobního roztoku *norleucinu* a 100 µl zásobního roztoku *leucinu*. Odpaří se do sucha za sníženého tlaku a provede se derivatizace vzorku, jak je předepsáno pro přípravu zkoušeného roztoku.

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* (4 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min,

- mobilní fáze A - smíchají se objemové díly roztoku octanu sodného R (19 g/l), který obsahuje triethylamin R 0,05 % (V/V) a jehož pH bylo kyselinou octovou zředěnou RS upraveno na hodnotu 6,4, s objemovými díly mobilní fáze B (70 + 30),
- mobilní fáze B - smíchají se objemové díly vody R a acetonitrilu R (40 + 60),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 7	100	0	izokraticky
7 - 7,1	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
7,1 - 10	0	100	promývání
10 - 10,1	0 → 100	100 → 0	lineární gradient
10,1 - 15	100	0	znovuustalování

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje při 43 °C.

Nastříkne se 50 µl ze všech roztoků.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku se identifikují píky odpovídající leucinu a norleucinu. Retenční čas norleucinu je 6,2 min až 7 min.

Vypočítá se obsah norleucinu (v molech norleucinu na mol interferonu gama-1b) z ploch píku leucinu a norleucinu na chromatogramech porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku za předpokladu, že na mol interferonu gama-1b připadá 10 molů leucinu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 5 m.j. endotoxinu v objemu obsahujícím 20.10<sup>6</sup> m.j. interferonu gama-1b.

### Stanovení obsahu a účinnosti

**Bílkovina (2.2.25).** Zkoušený přípravek se zředí vodou R na koncentraci interferonu 1 mg/ml. Zaznamená se absorpční spektrum mezi 220 nm a 340 nm. Změří se hodnota absorbance v maximu při 280 nm, po korekci na rozptýlené světlo v důsledku zákalu změřené při 316 nm. Koncentrace interferonu gama-1b se vypočítá s použitím specifické absorbance, která má hodnotu 7,5.

**Účinnost.** Účinnost se stanoví vyhodnocením vzestupu exprese DR-antigenů lidských leukocytů (HLA-DR) způsobené interferonem gama-1b přítomným ve zkoušených roztocích při kultivaci buněk a srovnáním tohoto vzestupu se stejným účinkem vhodného mezinárodního standardu lidského rekombinantního interferonu gama nebo porovnávacího přípravku kalibrovaného v mezinárodních jednotkách.

Mezinárodní jednotka je účinnost obsažená v deklarovaném množství mezinárodního standardu. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Mezinárodní zdravotnická organizace.

Stanovení se provede vhodnou metodou, založenou na následujícím uspořádání.

Použijí se buňky COLO 205 v podmínkách standardní kultury. Tří až pětidenní nárůst COLO 205 buněk v baňce se trypsinizuje a připraví se buněčná suspenze o koncentraci 1,0 · 10<sup>6</sup> buněk v mililitru. Na mikrotitrační destičky o 96 jamkách se do každé jamky přidá 100 µl zředěného média. Do jamek určených pro slepou zkoušku se dá ještě jednou po 100 µl tohoto média. Na destičku se přidá po 100 µl od všech zkoušených roztoků a provede se řada dvojnásobných ředění, aby se získala standardní křivka. Pak se do všech jamek přidá po 100 µl buněčné suspenze a destička se inkubuje v podmínkách vhodných pro kultivaci buněk.

Po kultivaci se odstraní růstové médium a buňky se promyjí a fixují na destičku. Přidá se protilátka schopná detegovat HLA-DR exprimovaný v důsledku přítomnosti interferonu gama-1b a inkubuje se ve vhodných podmínkách. Po promytí destičky se provede inkubace s protilátkou konjugovanou se značeným enzymem, která je schopná detegovat anti-HLA-DR protilátku. Po tomto inkubačním kroku se destička opláchne a přidá se roztok vhodného substrátu. Reakce se zastaví, měří se absorbance roztoku a obvyklými statistickými metodami se vypočítá účinnost zkoušeného přípravku.

Zjištěná specifická účinnost je 80 % až 125 % deklarované účinnosti. Interval spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) zjištěné účinnosti je v rozmezí 70 % až 140 %.

**Uchovávání**

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem a při teplotě  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ .  
Separandum.

“

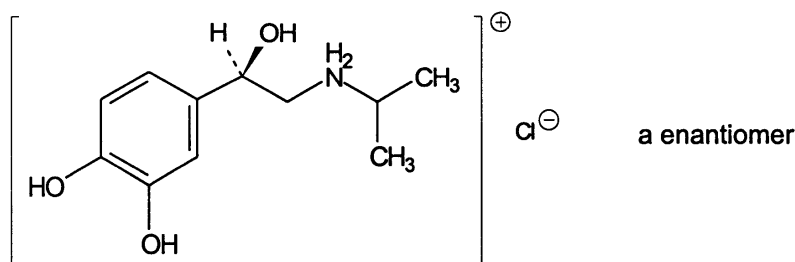
120. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Isoprenalini hydrochloridum zní:

”

**† Isoprenalini hydrochloridum**

Isoprenaliniumchlorid

2000

 $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3$  $M_r$  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  $\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{ClNO}_3$ .

**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.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14).  $165\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$ , za rozkladu.

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*; zbarvení se změní nejprve na modré potom na červené.

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 zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok H<sub>7</sub> nebo HŽ<sub>7</sub> (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 fázi 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 fázi 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 oktadecylsilanizovaným 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 píku isoprenalinu k šumu 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 pikům, 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.*

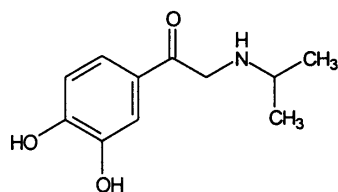
0,150 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny mravenčí bezvodé* R a přidá se 50 ml *acetanhydridu* R. Titruje se *kyselinou chloristou* 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé* 0,1 mol/l VS odpovídá 24,77 mg C<sub>11</sub>H<sub>18</sub>ClNO<sub>3</sub>.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu, chráněn před světlem.

Separandum.

**Nečistoty**

A. (3,4-dihydroxyfenyl)isopropylaminomethylketon.

“

121. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Isotretinoinum zní:

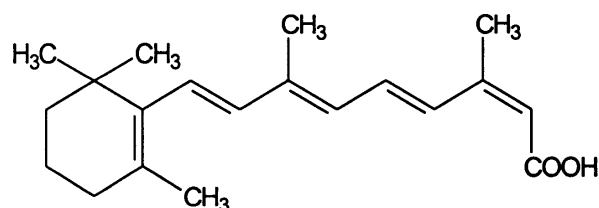
”

**† Isotretinoinum**

Isotretinoin



2000

 $C_{20}H_{28}O_2$  $M_r$  300,44

CAS 4759-48-2

Je to kyselina (2Z,4E,6E,8E)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{28}O_2$ .

**Vlastnosti**

Žlutý nebo světle oranžový krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v lihu 96%. Vlivem tepla, světla a vzduchu se rozkládá, zejména v roztoku.

*Všechny postupy se provádějí co nejrychleji a za ochrany před světlem; použijí se čerstvě připravené roztoky.*

**Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 75,0 mg se rozpustí v 5 ml dichlormethanu R a ihned se zředí okyseleným 2-propanolem R (připraví se zředěním 1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS 2-propanolem R na 1000 ml) na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se zředí



okyseleným 2-propanolem R na 100,0 ml (roztok A). 5,0 ml roztoku A se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 300 až 400 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 354 nm. Specifická absorbance v maximu je 1290 až 1420.

**B.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *isotretinoinu CRL*.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *isotretinoinu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10 mg *isotretinoinu CRL* a 10 mg *tretinoinu CRL* se rozpustí v *dichlormethanu R* a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *acetonu R*, *etheru prostého peroxidických látek R* a *cyklohexanu R* (2 + 4 + 40 + 54) 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.

**D.** Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml *chloridu antimonitého RS*; vzniká intenzivní červené zbarvení, které se později změní na fialové.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 0,100 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10,0 mg *tretinoinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 0,5 ml zkoušeného roztoku se promíchá a zředí se *methanolem R* na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanisovaným pro chromatografii R* (3  $\mu$ m),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (5 + 225 + 770); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 355 nm.

Odděleně se nastříkne po 10  $\mu$ l každého z porovnávacích roztoků (b), (c) a (d) a zkoušeného roztoku. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) nebyla menší než 70 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *isotretinoinu* a *tretinoinu* na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího *tretinoinu* není větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku *tretinoinu*, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 0,5 g vyhovuje limitní zkoušce (d) na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 16 h ve vakuu.

**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 *acetonu 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 30,04 mg C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>.

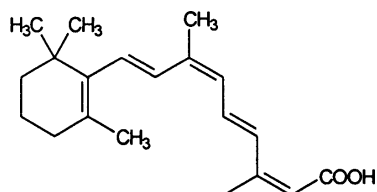
## Uchování

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující 25 °C. Doporučuje se chránit zbylý obsah otevřeného použitého obalu v atmosféře inertního plynu.

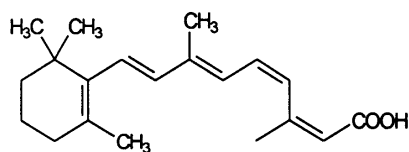
Separandum.

## Nečistoty

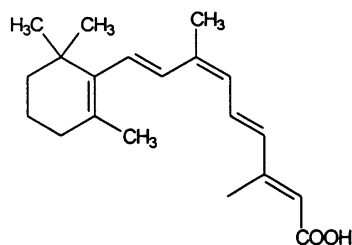
A. tretinoin,



B. kyselina (2*Z*,4*E*,6*Z*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 9,13-di-*cis*-retinoová),



C. kyselina (2*Z*,4*Z*,6*E*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 11,13-di-*cis*-retinoová),



D. kyselina (2*E*,4*E*,6*Z*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 9-*cis*-retinoová),

E. oxidační produkty isotretinoinu.

“

122. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Kalii nitras zní:

”

## Kalii nitras

Dusičnan draselný

2000



$\text{KNO}_3$

$M_r$  101,10

CAS 7757-79-1

Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{KNO}_3$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě, velmi snadno rozpustný ve vroucí vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. Vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

B. Roztok S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkouškám na draslík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 10,0 g se rozpustí ve vodě prostě oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R a zředí se stejným rozpouštědlem na 100 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Kyselý nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml modři bromthymolové RS1. Ke změně zbarvení roztoku se spotřebuje nejvýše 0,5 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS nebo hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS.

**Redukující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,5 ml kyseliny sírové zředěné RS a 2 ml roztoku jodidu zinečnatého a škrobu RS; roztok do 2 min nezmodrá.

**Chloridy (2.4.4).** Pokud je látka určena k výrobě očních přípravků, zkouší se na chloridy. 2,5 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (20  $\mu\text{g/g}$ ).

**Sírany (2.4.13).** 10 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (150  $\mu\text{g/g}$ ).

**Amonium (2.4.1).** 1 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na amonium (100  $\mu\text{g/g}$ ). Pokud je látka určena k výrobě očních přípravků, vyhovuje limitní zkoušce na amonium (50  $\mu\text{g/g}$ ).

**Vápník (2.4.3).** 10 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na vápník (100  $\mu\text{g/g}$ ). Pokud je látka určena k výrobě očních přípravků, vyhovuje limitní zkoušce na vápník (50  $\mu\text{g/g}$ ).

**Železo (2.4.9).** 5 ml roztoku S se zředí vodou R na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (20  $\mu\text{g/g}$ ). Pokud je látka určena k výrobě očních přípravků, vyhovuje limitní zkoušce na železo (10  $\mu\text{g/g}$ ).

**Sodík.** Nejvýše 0,1 %, stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, Metoda II).

**Zkoušený roztok.** 1,00 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se za použití základního roztoku sodíku (200  $\mu\text{g Na/ml}$ ) a podle potřeby se zředí vodou R.

Měří se emisní intenzita při 589 nm.

**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).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

### Stanovení obsahu

Připraví se chromatografická kolona délky 0,3 m a vnitřního průměru 10 mm naplněná 10 g *katexu silně kyselého R* smíchaného s *vodou prostou oxidu uhličitého R*. Hladina kapaliny musí být po celou dobu 1 cm nad hladinou měniče iontů. Kolona se promyje 100 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* průtokovou rychlostí asi 5 ml/min a potom se promývá *vodou prostou oxidu uhličitého R* (při plném otevření uzávěru kolony) až do neutrální reakce eluátu na *papír lakmusový modrý R*. 0,200 g zkoušené látky se ve vhodné nádobce rozpustí ve 2 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*, nechá se protéci kolonou průtokovou rychlostí asi 3 ml/min a přitom se zachycuje eluát. Nádobka se vymyje 10 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a vzniklý roztok se rovněž nechá stejnou průtokovou rychlostí protéci kolonou. Nakonec se kolona promyje 200 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* (při plném otevření uzávěru kolony) do neutrální reakce eluátu na *papír lakmusový modrý R*. Spojené eluáty se titrují *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za použití *fenolftaleinu RS* jako indikátoru.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 10,11 mg KNO<sub>3</sub>.

### Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka vhodná pro oční použití.

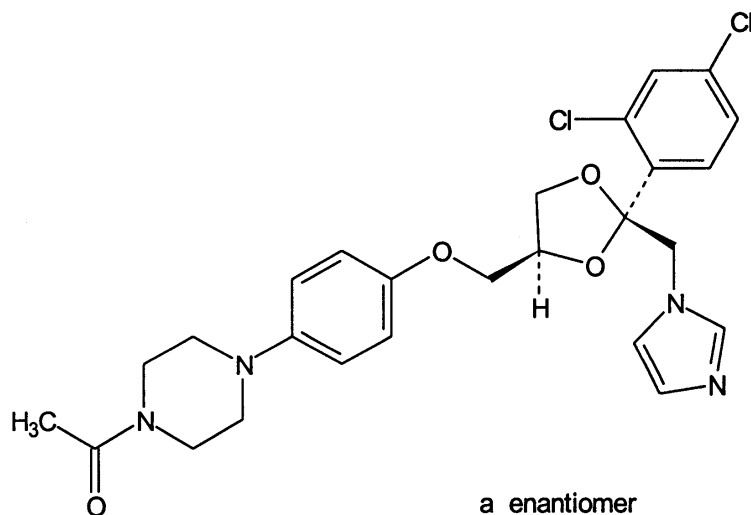
“

123. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Ketoconazolum zní:

”

## † Ketoconazolum

Ketokonazol



$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$

$M_r$  531,44

CAS 65277-42-1

Je to 1-acetyl-4-{4-[[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]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 dichlormethanu, dobře rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: 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  $\mu$ 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 veličností 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 HŽ<sub>4</sub> (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 oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3  $\mu$ 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 *acetonitrem R* a potom se nejméně 5 min ustaluje počáteční mobilní fází.

Nastříkne se 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 10  $\mu$ 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 odděleně 10  $\mu$ l *methanolu R* jako kontrolní kapaliny, 10  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ 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 %). Nepřehlídí 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).

**Těžké kovy** (2.4.8). 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ 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 v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé 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).

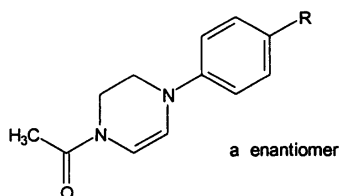
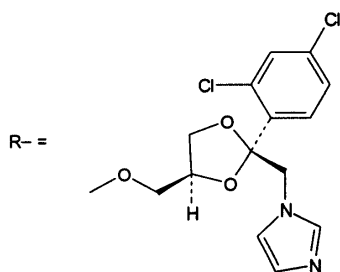
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 26,57 mg  $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ .

## Uchovávání

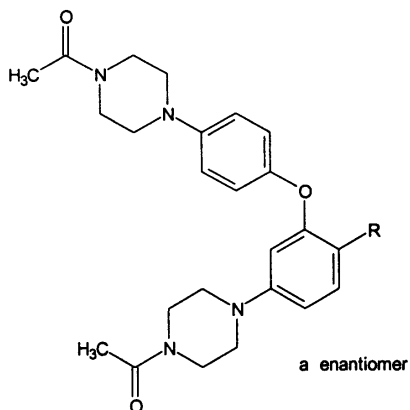
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

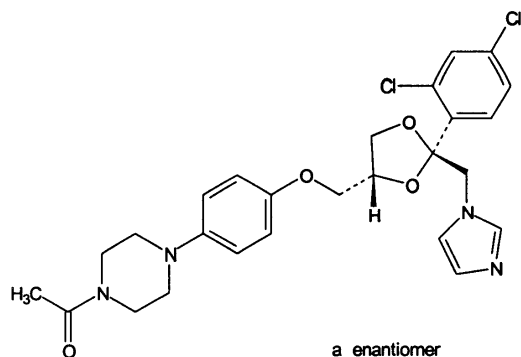
## Nečistoty



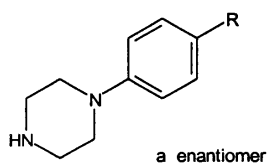
A. 1-acetyl-4-{4-[[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]-1,2,3,4-tetrahydropyrazin,



B. 1-acetyl-4-{4-[[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]-3-[4-(4-acetyl-1-piperazinyl)fenoxy]fenyl]piperazin,



C. 1-acetyl-4-{4-[[[(2*RS*,4*RS*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazolyl-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]}piperazin,



D. 1-{4-[[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorofenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]fenyl]}piperazin.

“

124. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Leucinum doplňuje článek Leuprorelinum, který zní:

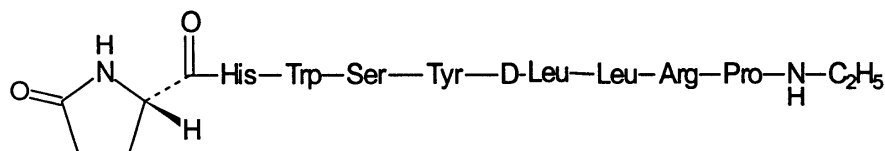
”

## † Leuprorelinum

Leuprorelin



2000



$C_{59}H_{84}N_{16}O_{12}$

$M_r$  1209,40

CAS 53714-56-0

Je to syntetický nonapeptidový analog peptidu hypotalamu, gonadorelinu. Získává se chemickou syntézou a je dostupný jako acetat. Počítáno na bezvodou, kyseliny octové prostou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % peptidu  $C_{59}H_{84}N_{16}O_{12}$ .



## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek.

## Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem referenčního spektra *Ph. Eur. leuprorelinu*. Měří se tablety látek připravené za použití *bromidu draselného R*.

B. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Stanovení obsahu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

## Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-38,0^\circ$  až  $+42,0^\circ$ , počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním zkoušené látky v roztoku *kyseliny octové R* (1 %) (V/V) tak, aby se získala koncentrace 10,0 mg/ml.

Aminokyseliny. Stanoví se analyzátozem aminokyselin. Přístroj se nastaví směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenylalanin
kyselina asparagová	prolin	isoleucin	

a polovinu ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, jako např. *DL-norleucin R*.

Zkoušený roztok. 1,0 mg se naváží do pečlivě vymyté zkumavky z tvrdého skla délky 100 mm a vnitřního průměru 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50 % (V/V). Zkumavka se vloží do mrazicí směsi při  $-5^\circ\text{C}$ , vytvoří se podtlak nepřevyšující 133 Pa a zataví se. Poté se 16 h zahřívá na  $110^\circ\text{C}$  až  $115^\circ\text{C}$ . Zkumavka se po ochlazení otevře a její obsah se převede do 10ml baňky pomocí pěti dávek *vody R* po 0,2 ml. Odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Zbytek se rozpustí ve *vodě R* a odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Tento postup se ještě jednou opakuje. Zbytek se rozpustí v tlumivém roztoku vhodném pro použitý analyzátor aminokyselin a zředí se jím na vhodný objem.

Do analyzátoru aminokyselin se přesně odměří vhodné množství zkoušeného roztoku tak, aby píky aminokyselin přítomných v největších množstvích zaujímaly nejméně 90 % celé stupnice zapisovače.

Obsah jednotlivých aminokyselin se vyjádří v molech. Relativní zastoupení aminokyselin se vypočítá z předpokladu, že jedna sedmina součtu molů histidinu, kyseliny glutamové, leucinu, prolinu, tyrosinu a argininu se rovná 1. Hodnoty pro jednotlivé aminokyseliny jsou v těchto rozmezích: kyselina glutamová 0,85 až 1,1; prolin 0,85 až 1,1; leucin 1,8 až 2,2; tyrosin 0,85 až 1,1; histidin 0,85 až 1,1 a arginin 0,85 až 1,1. Ostatní aminokyseliny jsou přítomny pouze ve stopách, kromě tryptofanu.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) za použití postupu popsaného ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku (a) a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (c). Chromatogramy se zaznamenávají 90 min. Když jsou chromatogramy zaznamenány za předepsaných podmínek, relativní retenční časy látek vztahované k hlavnímu píku jsou: D-Ser-leuprorelin 0,8; D-His-leuprorelin 0,9; L-Leu-leuprorelin 1,2; O-acetyl-Ser-leuprorelin 1,5.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha píku odpovídajícího O-acetyl-Ser-leuprorelinu není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku O-acetyl-Ser-leuprorelinu, není větší než polovina hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (2,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c).

Kyselina octová. 4,7 % až 9,0 %; 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.** Připraví se roztok *kyseliny octové ledové R* (0,10 g/l) v mobilní fázi. Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- ocelové nerezové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,2 ml/min:
  - *mobilní fáze A* - 0,7 ml *kyseliny fosforečné R* se zředí *vodou R* na 1000 ml a pH se upraví *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 3,0,
  - *mobilní fáze B* - *methanol R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku a 10 µl zkoušeného roztoku.

**Voda**, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 5,0 %.

**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 nejvýše 16,7 m.j. endotoxinu v miligramu. Stanoví se metodou D Chromogenní peptidovou kinetickou metodou.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,3 %.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok (a).** Připraví se roztok zkoušené látky v mobilní fázi tak, aby obsahoval 1,0 mg/ml.

**Zkoušený roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** Připraví se roztok *leuproreluinu CRL* v mobilní fázi tak, aby obsahoval 1,0 mg/ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

**Roztok pro rozlišení.** 5,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *vodou R* na 50,0 ml. K 5 ml tohoto roztoku se přidá 100 µl *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*, silně se protřepe, zahřívá se v sušárně 60 min při 100 °C a ihned se ochladí. K tomuto roztoku se přidá 50 µl *kyseliny fosforečné zředěné RS* a silně se protřepe.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (3 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená takto: 15,2 g *triethylaminu R* se rozpustí v 800 ml *vody R*, pH (2.2.3) se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,0 a zředí se *vodou R* na 1000 ml (roztok A). Ke 150 ml směsi objemových dílů *1-propanolu R* a *acetonitrilu R* (2 + 3) se přidá 850 ml roztoku A; průtoková rychlost je 1,0 ml/min až 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Nastříkne se 20 µl roztoku pro rozlišení a chromatogram se zaznamenává po dobu 60 min. Průtoková rychlost se upraví tak, aby retenční čas hlavního píku činil přibližně 41 min až 49 min. Pík odpovídající D-His-leuproreluinu eluuje při relativním retenčním čase 0,9 vzhledem k hlavnímu píku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem odpovídajícím D-His leuproreluinu a píkem leuproreluinu je nejméně 1,5 a faktor symetrie pro leuprorelin je 0,8 až 1,5.

Nastříkne se odděleně 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku (b) a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Obsah leuprorelinu ( $C_{59}H_{84}N_{16}O_{12}$ ) se vypočítá z ploch piků na chromatogramech zkoušeného roztoku (b) a porovnávacího roztoku (b) a z deklarovaného obsahu  $C_{59}H_{84}N_{16}O_{12}$  v *leuprorelinu CRL*.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu, chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující 30 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilním vzduchotěsném zabezpečeném obalu.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- hmotnost peptidu v obalu,
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prostá bakteriálních endotoxinů.

“

125. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Lichen islandicus* zní:

”

---

## Lichen islandicus

Lišejník islandský

2000



Je to celá nebo řezaná usušená stélka druhu *Cetraria islandica* (L.) ACHARIUS s. l.

### Vlastnosti

Droga má hořkou slizovitou chuť.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Stélka, až 15 cm dlouhá nepravidelně vidličnatě větvená, je tvořena hladkými, žlábkovitými nebo téměř plochými, tuhými, křehkými proužky 0,3 cm až 1,5 cm širokými a asi 0,5 mm silnými, občas zubatými, na okrajích brvitými (pyknidie). Svrchní strana stélky je nazelenalá až zelenohnědá, spodní strana šedobílá až světle hnědá s bělavými vpadlými skvrnami (tzv. dýchací otvory). V paždí terminálních cípů stélky jsou velmi zřídka patrná hnědá, miskovitá apothecia.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je šedohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: četné úlomky pseudoparenchymu, který je tvořen ve vnější korové části ztlustlými hyfami s úzkým lumenem a v následující vrstvě hyfami se širokým lumenem, které se volně proplétají; v dřevné části jsou mezi hyfami nazelenalé až nahnědlé buňky řasy o průměru až 15  $\mu$ m; někdy úlomky okraje stélky s pohárkovitými nebo válcovitými spERMogoniemi o průměru až asi 160  $\mu$ m a délce až asi 400  $\mu$ m.

- C. 1,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 10 ml *vody R* a vaří se 2 min až 3 min. Šedohnědý roztok po vychladnutí tvoří gel.
- D. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Jiné druhy lišejníků. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je fialová až šedá skvrna kyseliny fumarprotocetrarové v poloze těsně pod skvrnou kyseliny kávové na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou další méně intenzivní skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 5 %.

**Jiné druhy lišejníků.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 g práškované drogy (355) se smíchá s 5 ml *acetonu R* a zahřívá se 2 min až 3 min ve vodní lázni, po ochlazení se zfiltruje.

**Porovnávací roztok.** 5 mg *anetholu R* a 5 mg *kyseliny kávové R* se rozpustí ve 2 ml *acetonu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *acetonu R*, *methanolu R*, *kyseliny octové ledové R* a *toluenu R* (5 + 5 + 10 + 80) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS* a zahřívá se 5 min až 10 min při 100 °C až 105 °C, přitom se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní polovině šedomodrá až fialovomodrá skvrna (kyselina kávová) a v horní polovině modrá až modrofialová skvrna (anethol). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není patrná červenofialová skvrna v poloze těsně pod skvrnou anetholu na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**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 3,0 %.

**Číslo bobtnavosti (2.8.4).** Nejméně 4,5; použije se práškovaná droga (355).

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

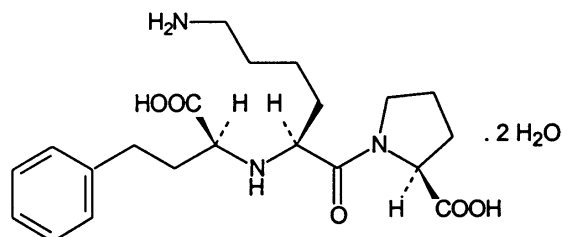
“

126. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Lisinoprilum dihydricum zní:

”

## Lisinoprilum dihydricum

Dihydrát lisinoprilu



$C_{21}H_{31}N_3O_5 \cdot 2H_2O$

$M_r$  441,52  
 $M_r$  bezvodého 405,49

CAS 83915-83-7

Je to dihydrát N-{N-[(1S)-3-fenyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolinu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{21}H_{31}N_3O_5$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v acetonu a v ethanolu.

### Zkouška totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *dihydrátu lisinoprilu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-43^\circ$  až  $-47^\circ$ ; počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,5 g v *octanu zinečnatém RS* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

Příbuzné látky. Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg *dihydrátu lisinoprilu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází A 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*,

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,8 ml/min je směsí mobilní fáze A a B:

- *mobilní fáze A* - směs 30 objemových dílů *acetonitrilu R* a 970 objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (3,12 g/l), jehož pH se upraví na hodnotu 5,0 roztokem *hydroxidu sodného R* (50 g/l),

- *mobilní fáze B* - směs 200 objemových dílů *acetonitrilu R* a 800 objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (3,12 g/l), jehož pH se upraví na hodnotu 5,0 roztokem *hydroxidu sodného R* (50 g/l),
- *gradientového programu*:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 35	100 → 70	0 → 30	lineární gradient
35 - 45	70	30	izokratická eluce
45 - 50	70 → 100	30 → 0	návrat k počátečním podmínkám
50 = 0	100	0	začátek dalšího gradientu

- spektrofotometrického detektoru, 210 nm.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy mobilní fází A nejméně 30 min. Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 20 µl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Získaný chromatogram se podobá vzorovému chromatogramu danému s *dihydrátem lisinoprilu pro test způsobilosti CRL* v tom, že pík lisinoprilu je mezi píky lisinoprilu nečistoty A a lisinoprilu nečistoty E. Měří se výšky píků lisinoprilu nečistoty A a lisinoprilu nečistoty E nad základní linií (A1 a A2) a výšky nejnižších bodů křivky nad základní linií oddělujících tyto píky od píku lisinoprilu (B1 a B2). Zkoušku lze hodnotit, jestliže výška A1 je větší než devítinásobek výšky B1 a výška A2 je větší než devítinásobek výšky B2.

Je-li třeba, upraví se pH mobilní fáze na hodnotu 4,5 *kyselinou fosforečnou R* a chromatografický postup se opakuje. U některých kolon je nutné pro dostatečné rozdělení píků lisinoprilu nečistoty A, lisinoprilu a lisinoprilu nečistoty E upravit hodnotu pH na 4,0. Pokud se po této úpravě posunou retenční časy píků lisinoprilu nečistoty C a lisinoprilu nečistoty D tak, že vyhodnocení je obtížné, zvýší se obsah mobilní fáze B z 30 % na 40 % v rozmezí 35 min až 45 min od startu a tato koncentrace se udržuje po dobu 10 min. Před dalším nástřikem se kolona promývá mobilní fází A (100 %) po dobu 10 min.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku odpovídajícího lisinoprilu nečistotě E není větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku lisinoprilu nečistoty E, není větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech těchto píků není větší než 0,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla, k píkům vyskytujícím se v prvních třech minutách a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

Voda, semimikrostanovení (2.5.12). 8,0 % až 9,5 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

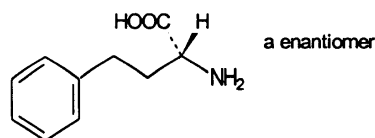
Síranový popel (2.4.14). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

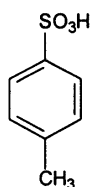
0,350 g se rozpustí v 50 ml *vody destilované R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 40,55 mg C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>.

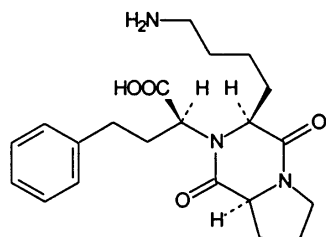
### Nečistoty



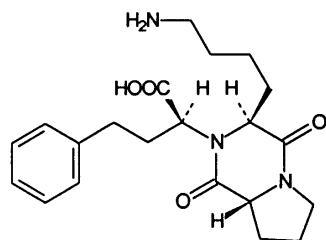
A. kyselina (RS)-2-amino-4-fenylbutanová,



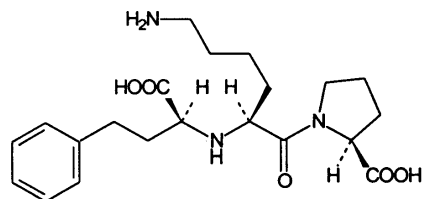
B. kyselina 4-toluensulfonová,



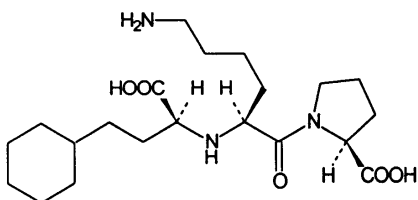
C. kyselina (*S*)-2-[(3*S*,8*aS*)-3-(4-aminobutyl)-1,4-dioxo-1,2,3,4,6,7,8,8*a*-oktahydropyrrolo[1,2-*a*]piperazin-2-yl]-4-fenylbutanová (*S,S,S*-diketopiperazin),



D. kyselina (*S*)-2-[(3*S*,8*aR*)-3-(4-aminobutyl)-1,4-dioxo-1,2,3,4,6,7,8,8*a*-oktahydropyrrolo[1,2-*a*]piperazin-2-yl]-4-fenylbutanová (*R,S,S*-diketopiperazin),



E. N-{N-[(*R*)-3-fenyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin (*R,S,S*-izomer lisinoprilu),



F. N-{N-[(*S*)-3-cyklohexyl-1-karboxypropyl]-L-lysyl}-L-prolin (cyklohexylový analog).

127. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Lysini hydrochloridum doplňuje článek Macrogola, který zní:

”

## Macrogola

Makrogoly

2000



Jsou to směsi polymerů s obecným vzorcem  $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$  odpovídající průměrné relativní molekulové hmotnosti jmenovité hodnoty ( $n$ ) uvedené v označení na obalu. Může být přidána vhodná stabilizační přísada.

### Vlastnosti

Čiré viskózní bezbarvé nebo téměř bezbarvé hygroskopické tekutiny nebo bílé nebo téměř bílé pevné látky voskového nebo parafinového vzhledu, jsou mísitelné nebo velmi snadno rozpustné ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu, prakticky nerozpustné v mastných a minerálních olejích.

### Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Viskozita, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. K 1 g se ve zkumavce přidá 0,5 ml *kyseliny sírové R*, uzavře se zátkou opatřenou zahnutou trubicí a zahřívá se do vzniku bílého dýmu, který se zavádí trubicí do 1 ml *chloridu rtuťnatého RS*; vzniká objemná bílá krystalická sraženina.
- C. K 0,1 g se přidá 0,1 g *thiokyanatanu draselného R* a 0,1 g *dusičnanu kobaltnatého R* a pečlivě se promíchá skleněnou tyčinkou. Přidá se 5 ml *dichlormethanu R* a protřepe se; kapalná fáze se zbarví modře.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 12,5 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 50 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, *Metoda II*).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** 5,0 g se rozpustí v 50 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a přidá se 0,15 ml *modři bromthymolové RS1*; roztok je žlutý nebo zelený. Ke změně zbarvení indikátoru do modra se spotřebuje nejvýše 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Viskozita (2.2.9).** Viskozita se vypočte s předpokládanou hodnotou hustoty uvedenou v následující tabulce 1.

Tab. 1

Typ makrogolu	Kinematická viskozita $\nu$ (mm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	Dynamická viskozita $\eta$ (mPa.s)	Hustota (g/cm <sup>3</sup> )
300	71 - 94	80 - 105	1,120
400	94 - 116	105 - 130	1,120
1000	20,4 - 27,7	22 - 30	1,080
1500	31 - 46	34 - 50	1,080
3000	69 - 93	75 - 100	1,080
3350	76 - 110	83 - 120	1,080
4000	102 - 158	110 - 170	1,080
6000	185 - 250	200 - 270	1,080
8000	240 - 472	260 - 510	1,080
20 000	2500 - 3200	2700 - 3500	1,080
35 000	10 000 - 13 000	11 000 - 14 000	1,080



U makrogolů, jejichž relativní molekulová hmotnost je vyšší než 400, se stanovuje viskozita jejich roztoků o koncentraci 500 g/l.

**Teplota tuhnutí (2.2.18).** Viz tabulka 2.

**Tab. 2**

Typ makrogolu	Teplota tuhnutí (°C)
1000	35 - 40
1500	42 - 48
3000	50 - 56
3350	53 - 57
4000	53 - 59
6000	55 - 61
8000	55 - 62
20 000	nejméně 57
35 000	nejméně 57

**Hydroxylové číslo.** Do suché kuželové baňky opatřené zpětným chladičem se přenese množství zkoušené látky  $m$  v g, viz tabulka 3. Přidá se 25,0 ml *ftalanhydridu RS*, míchá se do rozpuštění a pak se vaří 60 min pod zpětným chladičem na varné desce a nechá se ochladit. Chladič se opláchne nejprve 25 ml *pyridinu R* a potom 25 ml *vody R*, přidá se 1,5 ml *fenolfaleinu RS* a titruje se *hydroxidem sodným 1 mol/l VS* do světle růžového zbarvení ( $n_1$  ml). Proveďte se slepá zkouška ( $n_2$  ml). Hydroxylové číslo se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{56,1 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$$

Je-li u makrogolů s relativní molekulovou hmotností větší než 1000 obsah vody větší než 0,5 %, suší se zkoušený vzorek vhodné hmotnosti 2 h při 100 °C až 105 °C a stanovení hydroxylového čísla se provede s vysušeným vzorkem.

**Tab. 3**

Typ makrogolu	Hydroxylové číslo	$m$ (g)
300	340 - 394	1,5
400	264 - 300	1,9
1000	107 - 118	5,0
1500	70 - 80	7,0
3000	34 - 42	12,0
3350	30 - 38	12,0
4000	25 - 32	14,0
6000	16 - 22	18,0
8000	12 - 16	24,0
20 000	-	-
35 000	-	-

**Redukující látky.** 1 g se rozpustí v 1 ml roztoku *resorcinolu R* (10 g/l), je-li třeba za mírného zahřátí. Přidají se 2 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Po 5 min není roztok intenzivněji zbarvený než porovnávací roztok Č<sub>3</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

#### Formaldehyd

**Zkoušený roztok.** K 1,00 g se přidá 0,25 ml *kyseliny chromotropové sodné soli RS*, ochladí se v ledové lázni a přidá se 5,0 ml *kyseliny sírové R*. Po 15 min se pomalu doplní *vodou R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 0,430 g *formaldehydu R* se zředí *vodou R* na 100 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100 ml. V 10ml odměrné baňce se smíchá 1,00 ml tohoto roztoku s 0,25 ml *kyseliny chromotropové sodné soli RS*, ochladí se v ledové lázni a přidá se 5,0 ml *kyseliny sírové R*. Nechá se stát 15 min a pak se pomalu doplní *vodou R* na 10 ml.

**Kontrolní roztok.** 1,00 ml *vody R* se smíchá s 0,25 ml *kyseliny chromotropové sodné soli RS* v 10ml odměrné baňce, ochladí se v ledové lázni a přidá se 5,0 ml *kyseliny sírové R*. Roztok se pak pomalu doplní *vodou R* na 10 ml.

Měří se absorbance při 567 nm proti kontrolnímu roztoku; absorbance zkoušeného roztoku není vyšší než absorbance porovnávacího roztoku (15 µg/g).

**Ethylenglykol a diethylenglykol.** *Zkouška se provádí u makrogolů, jejichž relativní molekulová hmotnost je menší než 1000.* Nejvýše 0,4 %; počítáno jako součet obsahu ethylenglykolu a diethylenglykolu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

*Zkoušený roztok.* 5,00 g se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok.* 0,10 g ethylenglykolu R a 0,50 g diethylenglykolu R se rozpustí v acetonu R a zředí se jím na 100,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí acetonem R na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 1,8 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné křemelinou silanizovanou pro plynovou chromatografii R impregnovanou 5 % makrogolu 20 000 R,
- dusíku pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 30 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Je-li třeba, stabilizuje se kolona 15 h zahříváním při 200 °C. Teplota nástřikového prostoru a detektoru se udržuje na 250 °C. Počáteční teplota kolony se upraví tak, aby retenční čas diethylenglykolu byl 14 min až 16 min.

Natříkne se po 2 µl každého roztoku a teplota kolony se zvýší o asi 30 °C rychlostí 2 °C/min, ale nepřevýší 170 °C. Proveďte se pět opakovaných nástřiků, aby se ověřila reprodukovatelnost odezvy.

Změří se plochy piků odpovídajících ethylenglykolu a diethylenglykolu na chromatogramech zkoušeného a porovnávacího roztoku. Vypočítá se obsah ethylenglykolu a diethylenglykolu ve zkoušeném roztoku.

**Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25).** Nejvýše 1 µg/g ethylenoxidu a nejvýše 10 µg/g dioxanu. Při stanovení obsahu dioxanu se při výpočtu použije korekční faktor 1/5.

**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 (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (2 µg Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše množství uvedené níže; stanoví se s 2,00 g zkoušené látky.

Tab. 4

Jmenovitá molekulová hmotnost makrogolu	Obsah vody (%)
nejvýše 1000	nejvýše 2,0
více než 1000	nejvýše 1,0

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- název a koncentrace přidané stabilizační přísady,
- typ makrogolu.

“

128. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Macrogolum 300, Macrogolum 400, Macrogolum 1000, Macrogolum 1500, Macrogolum 3000, , Macrogolum 4000, Macrogolum 6000, Macrogolum 20 000 a Macrogolum 35 000 se zrušují:

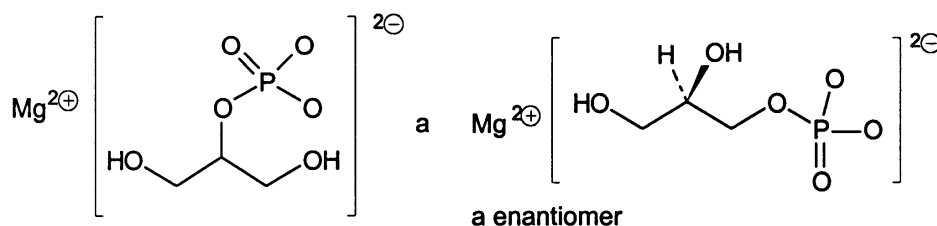
129. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Macrogoli stearas doplňují články Magnesii glycerophosphas a Magnesii hydrogenoaspartas dihydricus, které znějí:

”

## Magnesii glycerophosphas

Glycerofosforečnan hořečnatý

2000


 $\text{C}_3\text{H}_7\text{MgO}_6\text{P}$ 
 $M_r 194,39$ 

CAS 927-20-8

Je to směs různých dílů magnesium-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethylfosfátu a magnesium-(*RS*)-2,3-dihydroxypropylfosfátu, které mohou být hydratovány. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 11,0 % až 12,5 % Mg.

### Vlastnosti

Bílý hygroskopický prášek, prakticky nerozpustný v lihu 96%. Je rozpustný ve zředěných roztocích kyselin.

### Zkoušky totožnosti

- A. 1 g se ve zkumavce smíchá s 1 g *hydrogensiranu draselného R*, uzavře se zátkou opatřenou skleněnou trubicí a silně se zahřívá do vývinu bílého dýmu, který se trubicí zavádí na proužek filtračního papíru napuštěný čerstvě připraveným roztokem *nitroprussidu sodného R* (10 g/l). Filtrační papír se barví při styku s *piperidinem R* modře.
- B. 0,1 g se žihá v kelímku. Ke zbytku se přidá 5 ml *kyseliny dusičné R* a zahřívá se 1 min na vodní lázni, poté se zfiltruje. Filtrát vyhovuje zkoušce (b) na fosforečnany (2.3.1).
- C. Vyhovuje zkoušce na hořčík (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 stejným rozpouštědlem na 50 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje silněji než porovnávací suspenze III (2.2.1).

**Kyselé reagující látky.** 1,0 g se rozpustí ve 100 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 1,5 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Glycerol a látky rozpustné v lihu 96%.** 1,0 g se 2 min protřepává s 25 ml *lihu 96% R*, zfiltruje se a zbytek na filtru se promyje 5 ml *lihu 96% R*. Spojené filtráty se odpaří na vodní lázni do sucha a zbytek se suší 1 h při 70 °C. Zbytek váží nejvýše 15 mg (1,5 %).

**Chloridy (2.4.4).** 1,0 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100 ml. 3,5 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,15 %).

**Fosforečnany (2.4.11).** 4 ml roztoku S se zředí vodou R na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na fosforečnany (0,5 %).

**Sírany (2.4.13).** 3 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,1 %).

**Železo (2.4.9).** 67 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (150 µg/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** Ke 20 ml roztoku S se přidá 15 ml kyseliny chlorovodíkové R a 2 min se protřepává s 25 ml isobutylmethylketonu R. Nechá se stát, vodná vrstva se oddělí a odpaří se do sucha. Zbytek se rozpustí v 2,5 ml kyseliny octové R a zředí se 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 (1 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 12,0 %. 1,000 g se zahřívá 4 h v sušárně při 150 °C.

### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí ve 40 ml vody R. Proveďte se chelatometrická titrace hořčičku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 2,431 mg Mg.

### Uchovávání

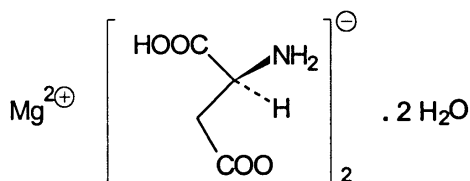
Ve vzduchotěsných obalech.

## Magnesii hydrogenoaspartas dihydricus

Dihydrát magnesiumhydrogenaspartatu

*Synonymum.* Magnesii aspartas dihydricus

2000



$\text{C}_8\text{H}_{12}\text{MgN}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$M_r$  324,53

$M_r$  bezvodého 288,50

Je to magnesium-bis[(S)-2-aminohydrogenbutan-1,4-dioat]. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{MgN}_2\text{O}_8$ .

### Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě.

### Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

- B.** 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).
- C.** Asi 15 mg se žihá, až se získá bílý zbytek. Ten se rozpustí v 1 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, zneutralizuje se hydroxidem sodným zředěným RS na papír lakmusový červený R a podle potřeby se zfiltruje; roztok vyhovuje zkoušce na hořčík (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 stejným rozpouštědlem na 100 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 6,0 až 8,0, měří se roztok S.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $+20,5^\circ$  až  $+23,0^\circ$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g v kyselině chlorovodíkové 5 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 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 dihydrátu magnesiumhydrogenaspartatu 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 dihydrátu magnesiumhydrogenaspartatu CRL a 10 mg kyseliny glutamové CRL se rozpustí ve 2 ml vody R a zředí se jí na 25 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ 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 v sušárně při  $100^\circ\text{C}$  až  $105^\circ\text{C}$ .

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.

**Chloridy** (2.4.4). 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (200  $\mu\text{g/g}$ ).

**Sírany** (2.4.13). 12 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (500  $\mu\text{g/g}$ ). Zkouška se hodnotí po 30 min.

**Amonium** (2.4.1). 50 mg vyhovuje limitní zkoušce B na amonium (200  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 0,1 ml základního roztoku amonia (100  $\mu\text{g NH}_4/\text{ml}$ ).

**Železo** (2.4.9). 0,33 g se v dělicí nálevce rozpustí v 10 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS, třikrát se 3 min třepe 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 (30  $\mu\text{g/g}$ ).

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g se mírným zahřátím rozpustí ve 20 ml vody R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10  $\mu\text{g/g}$ ). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). 10,0 % až 14,0 %. 0,100 g chráněn před vlhkostí se rozpustí v 10 ml formamidu R1 při  $50^\circ\text{C}$ , přidá se 10 ml methanolu bezvodého R a ochladí. Proveďte se slepá zkouška.

### Stanovení obsahu

0,260 g se rozpustí v 10 ml vody R a provede se chelatometrická titrace hořčíku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 28,85 mg  $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{MgN}_2\text{O}_8$ .

## Uchovávání

A. V dobře uzavřených obalech.

## Nečistoty

B. kyselina (S)-2-aminobutan-1,4-diová (kyselina asparagová).

“

130. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Magnesii stearas zní:

”

## Magnesii stearas<sup>1)</sup>

Stearan hořečnatý

*Synonymum.* Magnesium stearicum



CAS 557-04-0

Je to směs hořečnatých solí různých mastných kyselin, převážně kyseliny stearové ( $C_{18}H_{36}O_2$ ,  $M_r$  284,48) a kyseliny palmitové ( $C_{16}H_{32}O_2$ ,  $M_r$  256,43) a malých množství ostatních mastných kyselin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 4,0 % až 5,0 % Mg ( $A_r$  24,305). Frakce mastných kyselin obsahuje nejméně 40,0 % kyseliny stearové a součet obsahů kyseliny stearové a kyseliny palmitové je nejméně 90,0 %.

## Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

## Vlastnosti

Bílý velmi jemný lehký prášek, mastný na omak. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v ethanolu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* C, D

*Alternativní sestava zkoušek:* A, B a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Zbytek získaný při přípravě roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, nemá teplotu tuhnutí (2.2.18) nižší než 53 °C.

B. Číslo kyselosti mastných kyselin (2.5.1). 195 až 210; stanoví se za použití 0,200 g zbytku získaného při přípravě roztoku S a rozpuštěného ve 25 ml předepsané směsi rozpouštědel.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 45 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Podíl mastných kyselin. Retenční časy hlavních píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají retenčním časům hlavních píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

D. 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, vyhovuje zkoušce na hořčík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** K 5,0 g se přidá 50 ml *etheru prostého peroxidických látek R*, 20 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 20 ml *vody destilované R* a zahřívá se pod zpětným chladičem až do úplného rozpuštění. Pak se ochladí a přenesení do dělicí nálevky. Vodná vrstva se oddělí a etherová vrstva se protřepe dvakrát 4 ml *vody destilované R*. Vodné výtřepky se spojí s vodnou vrstvou, promyjí se 15 ml *etheru prostého peroxidických látek R* a zředí na 50 ml *vodou destilovanou R* (roztok S). Organická vrstva se odpaří do sucha a zbytek se vysuší při 100 °C až 105 °C. Zbytek se použije ve zkouškách totožnosti A a B.

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 1,0 g se přidá 20 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a 1 min se vaří za stálého třepání, pak se ochladí a přefiltruje. K 10 ml filtrátu se přidá 0,05 ml *modře bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,5 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS* nebo *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Chloridy (2.4.4).** 0,5 ml roztoku S zředěného na 15 ml *vodou R* vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,1 %).

**Sírany (2.4.13).** 0,3 ml roztoku S zředěného na 15 ml *vodou destilovanou R* vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,5 %).

**Kadmium.** Nejvýše 3 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

**Zkoušený roztok.** K 50,0 mg se v polytetrafluorethylenové digesční nádobě se přidá 0,5 ml směsi objemových dílů *kyseliny chlorovodíkové R* a *kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R (1 + 5)*. Digeruje se 5 h při 170 °C. Po ochlazení se zbytek rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 5,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku *kadmia (10 µg Cd/ml) R*, je-li třeba, zředěného roztokem *kyseliny chlorovodíkové R 1% (V/V)*.

Měří se absorbance při 228,8 nm za použití kadmiové 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 II*).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok připravený ve zkoušce na kadmium.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml) R*, je-li třeba, zředěného *vodou R*.

Měří se absorbance při 283,3 nm nebo 217,0 nm (podle přístroje) za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Nikl.** Nejvýše 5 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

**Zkoušený roztok.** Použije se roztok připravený ve zkoušce na kadmium.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se porovnávací roztoky za použití základního roztoku *niklu (10 µg Ni/ml) R*, je-li třeba, zředěného *vodou R*.

Měří se absorbance při 232,0 nm za použití niklové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 6,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Mikrobiologická čistota.** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše 10<sup>3</sup> v gramu; stanoví se metodou na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli*.

### Stanovení obsahu

**Hořčík.** K 0,500 g ve 250ml kuželové baňce se přidá 50 ml směsi stejných objemových dílů *1-butanolu R* a *ethanolu R*, 5 ml *amoniaku 26% R*, 3 ml *tlumivého roztoku s chloridem amonným o pH 10,0*, 30,0 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* a 15 mg *černě eriochromové T s chloridem sodným R*. Zahřívá se na 45 °C až 50 °C do vzniku čirého roztoku a titruje se *síranem zinečnatým 0,1 mol/l VS* z modrého zbarvení na fialové. Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *edetanu disodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 2,431 mg Mg.

## Podíl mastných kyselin

Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se vaří 10 min v kuželové baňce pod zpětným chladičem s 5 ml roztoku *fluoridu boritého R* (140 g/l) v *methanolu R*. Zpětným chladičem se přidají 4,0 ml *heptanu R* a vaří se opět 10 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 20 ml nasyceného roztoku *chloridu sodného R*. Protřepe se, nechají se oddělit fáze a z organické fáze se odeberou asi 2 ml a vysuší se 0,2 g *síranu sodného bezvodého R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *heptanem R* na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok.** Připraví se stejným způsobem a za stejných podmínek jako zkoušený roztok za použití 50,0 mg *kyseliny palmitové CRL* a 50,0 mg *kyseliny stearové CRL* místo zkoušené látky.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární křemenné kolony délky 30 m vnitřního průměru 0,32 mm a vnitřní stěnou pokrytou vrstvou *makrogolu 20 000 R* (tloušťka vrstvy 0,5 μm),
- *helium pro chromatografi R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 2,4 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

s následujícím programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 2	70	5	izotermicky lineární gradient izotermicky
	2 - 36	70 → 240		
	36 - 41	240		
nástříkový prostor detektor		220		
		260		

Nastříkne se 1 μl porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas methylpalmitatu vztažen k retenčnímu času methylsteearatu asi 0,88. Zkoušku lze hodnotit, je-li rozlišení mezi píky odpovídajícími methylpalmitatu a methylsteearatu nejméně 5,0.

Nastříkne se 1 μl zkoušeného roztoku. Obsah kyseliny stearové a kyseliny palmitové v procentech se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem, nepřihlíží se k píku rozpouštědla.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech.



131. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Melissae folium* zní:

”

## Melissae folium

Meduňkový list

*Synonymum*. Folium melissae

2000



Je to usušený list druhu *Melissa officinalis* L. Obsahuje nejméně 4,0 % hydroxyskořicových derivátů, počítáno jako kyselina rozmarýnová ( $C_{18}H_{16}O_8$ ;  $M_r$  360,3), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Droga má charakteristický pach po citrónu.

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Listy mají řapík proměnlivé délky, jsou oválné, srdčité až 8 cm dlouhé a 5 cm široké. Čepel je tenká, na spodní straně se sbíhavou, vyniklou, síťovitou žilnatinou; okraj čepele je hrubě zubatý nebo vroubkovaný. List na svrchní straně světle zelený, na spodní straně světlejší.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je nazelenalý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky listu s buňkami se stěnami zprohýbanými; jednobuněčné krátké přímé kuželovité krycí chlupy s jemně proužkovanou kutikulou; mnohobuněčné jednořadé krycí chlupy s kulovitou koncovou buňkou a silnou, bradavčitou kutikulou; osmibuněčné žláznaté chlupy typu *Lamiaceae*; žláznaté chlupy s jednobuněčnou až třibuněčnou nohou a jednobuněčnou nebo řidčeji dvoubuněčnou hlavičkou; diacytické průduchy (2.8.3) jen na spodní straně listu.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 2,0 g práškové drogy (355) se v 250ml baňce s kulatým dnem smíchá se 100 ml *vody R* a destiluje se 1 h za použití destilačního přístroje pro Stanovení silic v rostlinných drogách (2.8.12), do dělené trubice se přidá 0,50 ml *xylenu R*. Po ukončení destilace se organická fáze převede pomocí malého množství *xylenu R*, jímž se promyje dělená trubice, do 1ml baňky a zředí se jím na 1,0 ml.

*Porovnávací roztok*. 1,0  $\mu$ l *citronellalu R* a 10,0  $\mu$ l *citralu R* se rozpustí v 25 ml *xylenu R*.

Na vrstvu se nanese do pruhů 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 10  $\mu$ l porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *hexanu R* (10 + 90) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se *anisaldehydem RS*, zahřívá se 10 min až 15 min při 100 °C až 105 °C a přitom se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině šedofialová až modrofialová dvojité skvrna (citral) a nad ní šedá až šedofialová skvrna (citronellal). Na chromatogramu zkoušeného roztoku skvrny odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku a mezi nimi je červenofialová skvrna (epoxykaryofylen). Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další skvrny.

### Zkoušky na čistotu

*Cizí příměsí* (2.8.2). Nejvýše 10 % stonků o průměru větším než 1 mm a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí. Stanoví se s 20 g drogy.

*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 %.

**Stanovení obsahu**

**Základní roztok.** K 0,200 g práškové drogy (355) se přidá 190 ml *lihu R 50% (V/V)* a vaří se 30 min ve vodní lázni pod zpětným chladičem, po ochlazení se zfiltruje. Filtr se promyje 10 ml *lihu R 50% (V/V)*. Filtrát a promývací tekutina se spojí v odměrné baňce a zředí se *lihem R 50% (V/V)* na 200,0 ml.

**Zkoušený roztok.** K 1,0 ml základního roztoku se ve zkumavce přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS*, 2 ml roztoku připraveného rozpuštěním 10 g *dusitanu sodného R* a 10 g *molybdenanu sodného R* ve 100 ml *vody R*, pak se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS*, zředí se *vodou R* na 10,0 ml a promíchá se.

**Kontrolní roztok.** Ve druhé zkumavce se k 1,0 ml základního roztoku přidají 2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,5 mol/l RS*, 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a zředí se *vodou R* na 10,0 ml.

Měří se ihned absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku při 505 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah hydroxyskořicových derivátů v procentech, počítáno jako kyselina rozmarýnová (C<sub>18</sub>H<sub>16</sub>O<sub>8</sub>), se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{A \cdot 5}{m},$$

v němž značí:

*A* - absorbanci zkoušeného roztoku při 505 nm,

*m* - hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance kyseliny rozmarýnové je 400.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

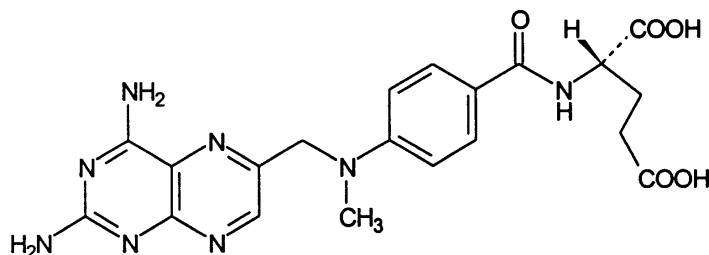
“

132. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Methotrexatum zní:

”

**† Methotrexatum**

Methotrexat

C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>M<sub>r</sub> 454,44

CAS 59-05-2

Je to kyselina (*S*)-2-[4-[[[(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl]methylamino]benzoylamino]pentandiová. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>20</sub>H<sub>22</sub>N<sub>8</sub>O<sub>5</sub>.

## Vlastnosti

Žlutý nebo oranžový krystalický hygroskopický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, v lihu 96% a v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích minerálních kyselin a ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů a uhličitánů.

## Zkoušky totožnosti

- A. 0,250 g se rozpustí v roztoku *uhličitanu sodného R* (14 g/l) a zředí se jím na 25,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) je +19° až +24°, počítáno na bezvodou látku.
- B. 10 mg se rozpustí v roztoku *hydroxidu sodného R* (4 g/l) a zředí se jím na 100 ml. 10 ml tohoto roztoku se zředí roztokem *hydroxidu sodného R* (4 g/l) na 100 ml. Měří se absorbance (2.2.25) roztoku při 230 nm až 380 nm. Roztok vykazuje tři absorpční maxima; při 258 nm, 302 nm a 371 nm. Poměr absorbance v maximum při 302 nm k absorbanci v maximum při 371 nm je 2,8 až 3,3.
- C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *methotrexatu CRL*.

## Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29) způsobem popsaným ve zkoušce Stanovení obsahu, ale za použití spektrofotometrického detektoru při 265 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu rozlišení mezi píky nečistoty D a methotrexatu je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b) a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času methotrexatu.

Je-li chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, přibližné relativní retenční časy jsou následující:

nečistota A	0,2,
nečistota B	0,3,
nečistota C	0,4,
nečistota D	0,8,
nečistota E	2,3.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha nejvýše pěti píků, kromě hlavního píku, je větší než 0,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %) a žádný takový pik nemá plochu větší než je plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,6násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,3 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**(R)-Methotrexat.** Nejvýše 3,0 %. Stanoví se kapalinovou chromatografií (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 fází na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 4,0 mg *(RS)-methotrexatu R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *albuminem hovézím R* navázaným na *silikagel pro chromatografii R* (tloušťka filmu 7 µm; velikost pórů 30 nm),
- mobilní fáze, kterou je roztok připravený takto: k 500 ml roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* (7,1 g/l) se přidá 600 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného monohydrátu R* (6,9 g/l) a promíchá se. pH se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 6,9. K 920 ml této směsi se přidá 80 ml *1-propanolu R*; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 302 nm.

Nastříkne se po 20 µl každého roztoku. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) rozlišení mezi píky odpovídajícími *(S)-methotrexatu a (R)-methotrexatu* je nejméně 3,0.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku odpovídajícího *(R)-methotrexatu* větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (3,0 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce C na těžké kovy (50 µg/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 5 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 13,0 %; stanoví se s 0,10 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.* 25,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 250,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *methotrexatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 250,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 0,5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 25,0 mg zkoušené látky a 25,0 mg *methotrexatu nečistoty D CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 250,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

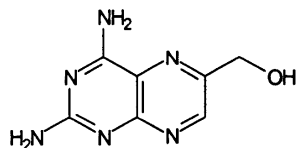
- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku připraveného takto: 7,8 g *kyseliny citronové R* a 17,9 g *hydrogenfosforečnanu sodného bezvodého R* se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 1000 ml (7 + 93); průtoková rychlost je 1,2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 302 nm.

Nastříkne se šestkrát porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku methotrexatu je nejvýše 2,0 %. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Obsah methotrexatu v procentech se vypočítá za použití chromatogramů zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku (a).

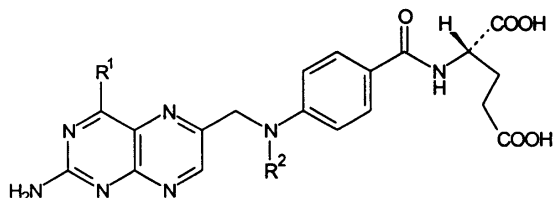
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty

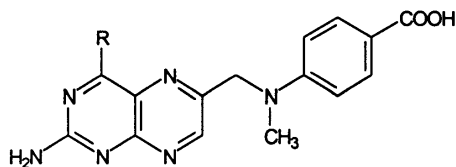


A. (2,4-diaminopteridin-6-yl)methanol,



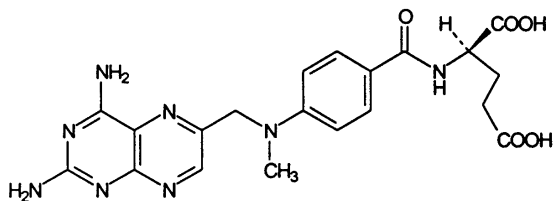
B.  $R^1 = \text{NH}_2$ ,  $R^2 = \text{H}$ : kyselina (S)-2-{4-[[2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl]amino]benzoylamino}pentandiová (kyselina 4-aminolistová, aminopterin),

C.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{CH}_3$ : kyselina (S)-2-{4-[[2-amino-4-hydroxypteridin-6-yl)methyl]methylamino]benzoylamino}pentandiová (kyselina N-methyllová, methopterin),



D. R = OH: kyselina 4-[[[(2-amino-4-hydroxypteridin-6-yl)methyl]methylamino]benzoová (kyselina N<sup>10</sup>-methylpteroová),

E. R = NH<sub>2</sub>: kyselina 4-[[[(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl]methylamino]benzoová (kyselina 2,4-diamino-N<sup>10</sup>-methylpteroová, APA),



F. kyselina (*R*)-2-[4-[[[(2,4-diaminopteridin-6-yl)methyl]methylamino]benzoylamino]pentandiová [(*R*)-methotrexat].

“

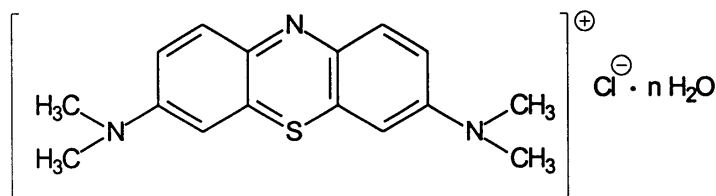
133. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Methylthioninii chloridum ad usum externum zní:

”

## † Methylthioninii chloridum<sup>1)</sup>

Methylthioniniumchlorid

*Synonyma.* Methylthioninium chloratum, methylenová modř



C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S · nH<sub>2</sub>O

M<sub>r</sub> bezvodého 319,85

CAS 61-73-4 (bezvodého)

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 2, 250 (2000). Závazné od 1. 7. 2000

Je to *n*-hydrát 3,7-bis(dimethylamino)fenothiazin-5-iumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>ClN<sub>3</sub>S.

### Vlastnosti

Tmavě modrý krystalický prášek měďnatého lesku nebo zelené krystaly bronzového lesku. Je dobře rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. 10 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové zředěné RS* a zředí se jí na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* na 100 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 240 nm až 800 nm. Roztok vykazuje čtyři absorpční maxima při 255 nm až 260 nm, 285 nm až 290 nm, 675 nm až 685 nm a 740 nm až 750 nm.

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. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 10 mg *methylthioniumchloridu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R* a *1-propanolu R* (20 + 80) po dráze 8 cm. Vrstva se usuší na vzduchu chráněna před světlem a pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na obou chromatogramech nad hlavní skvrnou se mohou objevit vedlejší skvrny.

C. Asi 1 mg se rozpustí v 10 ml *vody R*, přidá se 1 ml *kyseliny octové ledové R*, 0,1 g *zinku práškového R* a zahřeje se k varu. Roztok se odbarví. Potom se zfiltruje a filtrát se protřepe. Roztok se na vzduchu zbarví modře.

D. 50 mg se žihá s 0,5 g *uhlíčitánu sodného bezvodého R*, ochladí se, zbytek se rozpustí v 10 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje. Filtrát bez dalšího přidání *kyseliny dusičné zředěné RS* vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Látky nerozpustné v *methanolu*. K 1,0 g se přidá 20 ml *methanolu R* a 5 min se vaří pod zpětným chladičem. Potom se zfiltruje přes předem zvážený filtr ze slinutého skla (40) a filtr se promývá *methanolem R*, až je filtrát bezbarvý. Potom se filtr vysuší při 100 °C a zváží. Zbytek váží nejvýše 10,0 mg (1,0 %).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 15,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 15,0 mg *methylthioninu nečistoty A CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml. K 1,0 ml tohoto roztoku se přidá 1,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází 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 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (7 µm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a směsi 3,4 ml *kyseliny fosforečné R* a 1000 ml *vody R* (27 + 73); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 246 nm.

Nastříkne se po 20 µl každého roztoku. Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku zkoušené látky (retenční čas asi 11 min) na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) byla nejméně 80 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píkem nečistoty A a píkem methylthioniumchloridu je nejméně 1,5. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku nečistoty A není větší než 5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (5,0 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %); součet ploch všech takových píků není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Kovy.** Provede se atomová emisní spektrometrie (2.2.22) v argonovém plazmatu za použití konvenčního optického systému nebo hmotnostního spektrometru jako detektoru. V případě použití hmotnostního spektrometru se použije indium jako vnitřní standard.

**Zkoušený roztok.** 100 mg v 10ml odměrné baňce se rozpustí mícháním v 9 ml vody R, přidá se 100,0 µl roztoku india (10 µg/ml) připraveného ze základního roztoku pro atomovou spektrometrii (1,000 g/l) v kyselině dusičné R pětikrát zředěné vodou R. Zředí se vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Do 100ml odměrné baňky se převede 10,0 ml porovnávacího roztoku obsahujícího 1,00 µg/ml každého stanovovaného kovu připraveného ředěním vodou R každého základního roztoku pro atomovou spektrometrii (1,000 g/l) pro odpovídající prvek. Přidá se 1,00 ml roztoku india (10 µg/ml) připraveného ze základního roztoku pro atomovou spektrometrii (1,000 g/l) v kyselině dusičné R pětikrát zředěné vodou R. Zředí se vodou R na 100,0 ml.

**Kontrolní roztok.** Roztok india (10 µg/ml) se zředí stokrát vodou R a použije se pro zkoušený roztok a pro porovnávací roztoky.

Prvek	Optická detekce			Hmotnostní detekce
	Signál (nm)	Pozadí 1 (nm)	Pozadí 2 (nm)	Izotop
hliník	396,15	396,05	396,25	27
kadmium	214,44	214,37	214,51	114
chrom	283,56	283,49	283,64	*
měď	327,40	327,31	327,48	65
cín**	190,00	189,90	190,10	118
železo	238,20	238,27	238,14	*
mangan	260,57	260,50	260,64	55
rtuť***	253,70	253,60	253,80	200
molybden	202,03	202,02	202,04	95
nikl	231,60	231,54	231,66	60
olovo**	217,00	216,90	217,10	208
zinek	213,86	213,80	213,91	66
indium				115

\* Prvek obtížně stanovitelný hmotnostním spektrometrem jako detektorem.

\*\* Nejcitlivější linie při použití optické detekce.

\*\*\* Rtuť je často nemožné stanovit konvenční optickou spektrometrií; může být stanovena použitím zařízení pro stanovení hydridů.

Prvek	Maximální obsah v µg/g
hliník	100
kadmium	1
chrom	10
měď	100
cín	10
železo	100
mangan	10
rtuť	1
molybden	10
nikl	10
olovo	10
zinek	100

**Ztráta sušením** (2.2.32). 8,0 % až 22,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,25 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí zahřátím ve 30 ml *vody R*, ochladí se, přidá se 50,0 ml *dichromanu draselného RS1* a zředí se *vodou R* na 100,0 ml. Nechá se 10 min stát, potom se zfiltruje a prvních 20 ml filtrátu se odstraní. 50,0 ml filtrátu se převede do baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 50 ml *kyseliny sírové zředěné RS*, 8,0 ml *jodidu draselného RS* a nechá se stát 5 min chráněn před světlem. Potom se přidá 80 ml *vody R* a titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití 2 ml *škrobu RS* jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Proveďte se slepá zkouška.

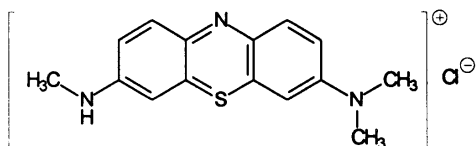
1 ml *thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 10,66 mg  $C_{16}H_{18}ClN_3S$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A. 3-(dimethylamino)-7-(methylamino)fenothiazin-5-iumchlorid.



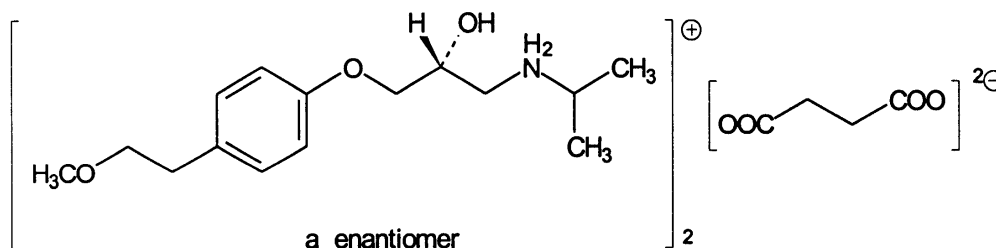
134. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Metoclopramidum doplňuje článek Metoprololi succinas, který zní:

”

## † Metoprololi succinas

Metoprololiumsukcinat

2000

 $C_{34}H_{56}N_2O_{10}$  $M_r$  652,83

CAS 98418-47-4

Je to bis{N-isopropyl-(2*RS*)-2-hydroxy-3-[4-(2-methoxyethyl)fenoxy]propylamonium}butandioat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{34}H_{56}N_2O_{10}$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu, mírně rozpustný v lihu 96% a velmi těžce rozpustný v ethylacetatu.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz Obecné zásady (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14): 137 °C až 139 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety metoprololiumsukcinatu CRL.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu oktadecylsilanizovaného s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

Zkoušený roztok. 15 mg se rozpustí ve 2 ml methanolu R.

Porovnávací roztok (a). 15 mg metoprololiumsukcinatu CRL se rozpustí ve 2 ml methanolu R.

Porovnávací roztok (b). 15 mg oxprenololiumchloridu CRL a 15 mg metoprololiumsukcinatu CRL se rozpustí ve 2 ml methanolu R.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se v nenasyčené komoře směsi objemových dílů kyseliny chloristé R, methanolu R a vody R (0,5 + 50 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší proudem teplého 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.** 0,500 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a je bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 7,0 až 7,6; měří se roztok S.

**Optická otáčivost** (2.2.7).  $-0,10^\circ$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok S.

## Příbuzné látky

A. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 0,50 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok.* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí methanolem R na 50 ml. 5 ml tohoto roztoku se dále zředí methanolem R na 50 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ l každého roztoku. Na dno komory obsahující směs objemových dílů methanolu R a ethylacetatu R (20 + 80) se umístí dvě kádinky každá se 30 ml amoniaku 26% R a nechá se sytit nejméně 1 h před použitím. Vyvíjí se po dráze 12 cm. Vrstva se suší na vzduchu alespoň 3 h a potom se vystaví na nejméně 15 h působení jodových par. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,2 %).

B. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 mg metoprololiumsukcinatu CRL a 3,0 mg metoprololu nečistoty D 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. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* Je-li požadován (viz dále), musí se připravovat v digestoři. Tento roztok se používá pouze pro určení retenčního času nečistoty C. 10 mg metoprololiumsukcinatu CRL se rozpustí v 10 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS. Tento roztok se převede do odpařovací misky o průměru 10 cm. Miska se umístí na 6 h pod lampu emitující ultrafialové světlo při 254 nm (2.1.3) tak, aby povrch roztoku byl umístěn asi 5 cm od lampy. 0,5 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 25 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která se připraví následovně: 3,9 g octanu amonného R se rozpustí v 810 ml vody R, přidají se 2,0 ml triethylaminu R, 10,0 ml kyseliny octové ledové R, 3,0 ml kyseliny fosforečné R, 190 ml acetonitrilu R a promíchá se; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy metoprololu asi 9 min a nečistoty D asi 12 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky metoprololu a nečistoty D je nejméně 4,0. V případě potřeby se upraví množství acetonitrilu v mobilní fázi.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává 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) (0,1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než pětinašobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Je-li některý z limitů překročen a pokud se objeví pík s retenčním časem asi 4,5 min (nečistota C), připraví se porovnávací roztok (c). Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu zkoušeného roztoku se plocha píku odpovídajícího hlavnímu píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (nečistota C) vydělí deseti: tato vypočtená plocha není

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, jejichž plocha je menší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g se rozpustí ve 20 ml *vody R*. 12 ml 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

0,250 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

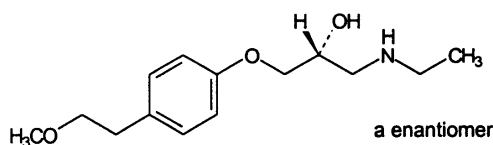
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 32,64 mg  $C_{34}H_{56}N_2O_{10}$ .

### Uchovávání

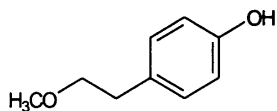
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty

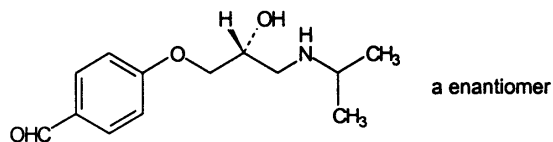
*kapalinovou chromatografií:*



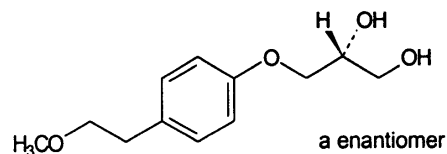
A. (2*RS*)-1-ethylamino-3-[4-(2-methoxyethyl)fenoxy]-2-propanol,



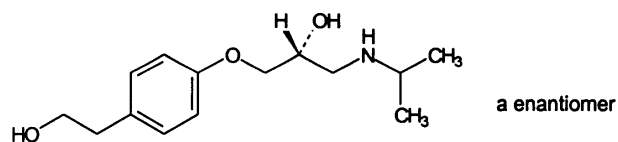
B. 4-(2-methoxyethyl)fenol,



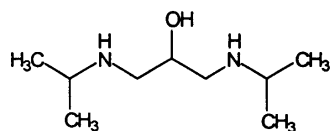
C. 4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-(isopropylamino)propoxy]benzaldehyd,



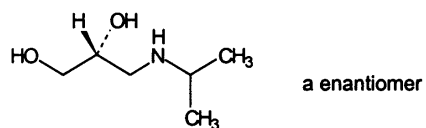
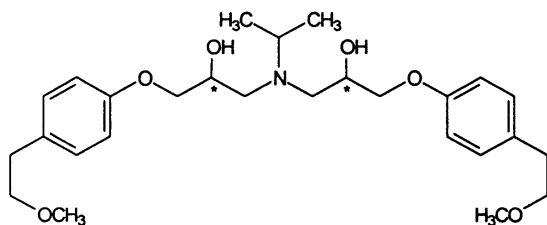
D. (2*RS*)-3-[4-(2-methoxyethyl)fenoxy]-1,2-propandiol,

E. (2*RS*)-1-[4-(2-hydroxyethyl)phenoxy]-3-isopropylamino-2-propanol,

tenkovrstvou chromatografií:



F. 1,3-bis(isopropylamino)-2-propanol,

G. (2*RS*)-3-(isopropylamino)-1,2-propandiol,

H. 1,1'-(isopropylimino)bis{3-[4-(2-methoxyethyl)phenoxy]-2-propanol}.

135. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Mitoxantroni dihydrochloridum doplňuje článek Mometasoni furoas, který zní:

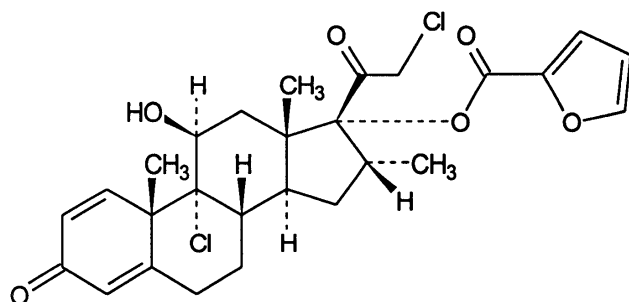
”

## † Mometasoni furoas

Mometasonfuroat



2000



$C_{27}H_{30}Cl_2O_6$

$M_r$  521,44

CAS 83919-23-7

Je to 9,21-dichlor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-17-yl-furan-2-karboxylat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{27}H_{30}Cl_2O_6$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu a v dichlormethanu, těžce rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 220 °C, za rozkladu.

### 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 *mometasonfuroatu* CRL.

B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok (a). 20 mg *mometasonfuroatu* CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 20 ml.

Porovnávací roztok (b). 10 mg *beclometasondipropionatu* CRL se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ 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 a dichlormethanu R (15 + 77). 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 polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a). Vrstva se postříká kyselinou sírovou v lihu RS. Zahřívá se 10 min při 120 °C nebo dokud se neobjeví skvrny a nechá se zchladnout. Chromatogramy se pozorují v denním světle a v ultrafialovém světle při 365 nm. Hlavní skvrna na

chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou a zbarvením v 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), při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm jsou dvě skvrny, které nemusí být zcela odděleny.

- C. Asi 2 mg se přidají ke 2 ml *kyseliny sírové R* a třepe se do rozpuštění. Během 15 min se roztok zbarví světle žlutě. Při pozorování v ultrafialovém světle při 365 nm není pozorována fluorescence roztoku. Roztok se přidá k 10 ml *vody R* a promíchá se. Zbarvení roztoku vybledne a není patrna žádná fluorescence.
- D. 80 mg se smíchá s 0,30 g *bezvodého uhličitanu sodného R* a žihá se v kelímku, dokud se nezíská téměř bílý zbytek. Nechá se zchladnout a 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

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** +50° až +55°, počítáno na vysušenou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 50,0 mg v *lihu 96% R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). *Roztoky se připravují těsně před použitím.*

**Rozpouštěcí roztok.** Připraví se směs stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R*, do níž se přidá 0,1 objemového dílu *kyseliny octové R*.

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí v rozpouštěcím roztoku a zředí se jím na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 2 mg *mometasonfuroatu CRL* a 6 mg *beklometasondipropionatu CRL* se rozpustí v rozpouštěcím roztoku a zředí se jím na 10,0 ml. 0,25 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí rozpouštěcím roztokem 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 stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R*; průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b) a citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek jsou retenční časy: *mometasonfuroatu* asi 17 min a *beklometasondipropionatu* asi 22 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *mometasonfuroatu* a *beklometasondipropionatu* je nejméně 6. V případě potřeby se upraví koncentrace *acetonitrilu* v mobilní fázi.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 0,6násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 1,2násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,6 %). Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

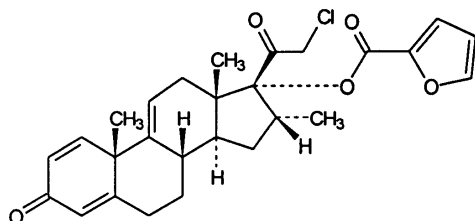
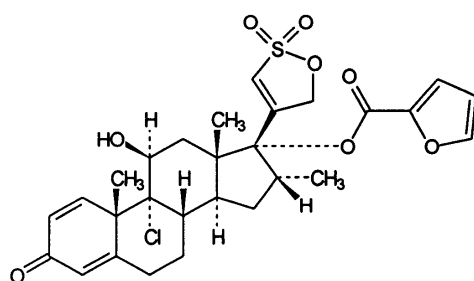
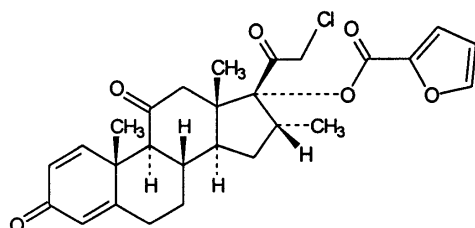
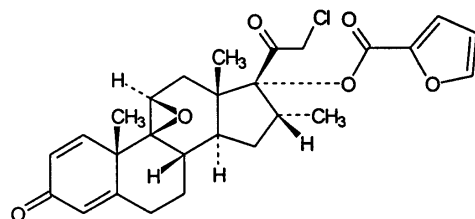
**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

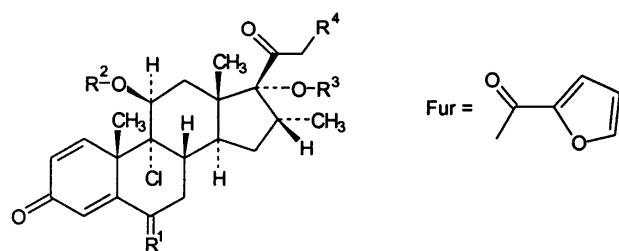
## Stanovení obsahu

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. Změří se absorbance (2.2.25) v maximu při 249 nm a vypočítá se obsah  $C_{27}H_{30}Cl_2O_6$  za použití specifické absorbance, která má hodnotu 481.

**Uchovávání**

Separandum.

**Nečistoty**A. 21-chlor-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-1,4,9(11)-pregnatrien-17-yl-furan-2-karboxylat,B. 9-chlor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ -methyl-17 $\beta$ -(5H-1,2-oxathiol-4-yl)-3-oxo-1,4-androstadien-17-yl-furan-2-karboxylat-S,S-dioxid,C. 21-chlor-16 $\alpha$ -methyl-3,11,20-trioxo-1,4-pregnadien-17-yl-furan-2-karboxylat,D. 21-chlor-9,11 $\beta$ -epoxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-9 $\beta$ -pregna-1,4-dien-17-yl-furan-2-karboxylat,

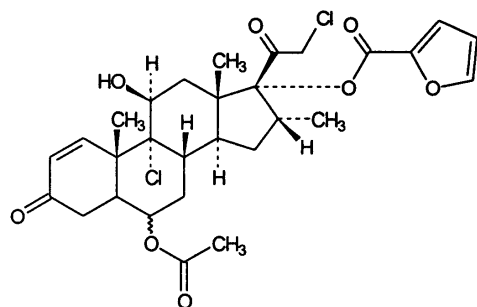


E.  $R^1 = H_2$ ,  $R^2 = R^3 = \text{Fur}$ ,  $R^4 = \text{Cl}$ : 9,21-dichlor-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-11 $\beta$ ,17-diyl-bis(furan-2-karboxylat),

F.  $R^1 = O$ ,  $R^2 = H$ ,  $R^3 = \text{Fur}$ ,  $R^4 = \text{Cl}$ : 9,21-dichlor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,6,20-trioxo-1,4-pregnadien-17-yl-furan-2-karboxylat,

G.  $R^1 = H_2$ ,  $R^2 = R^3 = H$ ,  $R^4 = \text{Cl}$ : 9,21-dichlor-11 $\beta$ ,17-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-1,4-pregnadien-3,20-dion (mometason),

H.  $R^1 = H_2$ ,  $R^2 = H$ ,  $R^3 = \text{Fur}$ ,  $R^4 = \text{OH}$ : 9-chlor-11 $\beta$ ,21-dihydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-1,4-pregnadien-17-yl-furan-2-karboxylat,



I. 6 $\xi$ -acetoxy-9,21-dichlor-11 $\beta$ -hydroxy-16 $\alpha$ -methyl-3,20-dioxo-1-pregnen-17-yl-furan-2-karboxylat.



136. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Morphini hydrochloridum zní:

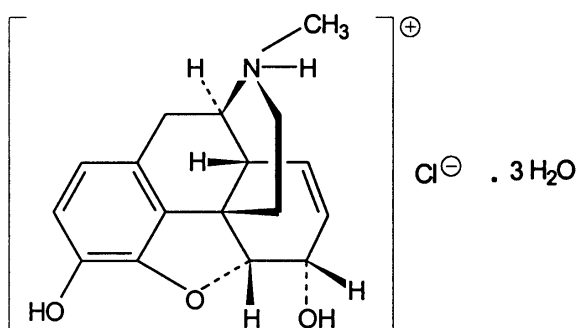
”

## §§ Morphini hydrochloridum trihydricum

Trihydrát morfiniumchloridu

2000

*Synonyma.* Morphini hydrochloridum, Morphinium chloratum, morfiniumchlorid



$C_{17}H_{20}ClNO_3 \cdot 3H_2O$

$M_r$  375,85  
 $M_r$  bezvodého 321,80

CAS 6055-06-7  
CAS 52-26-6

Je to trihydrát 7,8-didehydro-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,6 $\alpha$ -dihydroxy-17-methylmorfiniumchloridu. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{17}H_{20}ClNO_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo bezbarvé hedvábně lesklé jehlicovité krystaly, někdy je zformován do kostek; v suché atmosféře zvětrává. Je dobře rozpustný ve vodě a v glycerolu, těžce rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- 10 mg se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 250 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 285 nm. Specifická absorbance v maximum je asi 41.
- 10 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) při 265 nm až 350 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 298 nm. Specifická absorbance v maximum je asi 70.
- K asi 1 mg upráškované zkoušené látky na porcelánové misce se přidá 0,5 ml formaldehydu v kyselině sírové *RS*; vzniká červenofialové zbarvení, které přechází na fialové.
- Asi 5 mg se rozpustí v 5 ml vody *R* a přidá se 0,15 ml čerstvě připraveného roztoku hexakvanoželezitanu draselného *R* (10 g/l) a 0,05 ml chloridu železitého *RSI*; ihned vznikne modré zbarvení.
- Asi 5 mg se rozpustí v 5 ml vody *R*, přidá se 1 ml peroxidu vodíku zředěného *RS*, 1 ml amoniaku zředěného *RSI* a 0,05 ml roztoku síranu měďnatého *R* (40 g/l); vzniká červené zbarvení.
- Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).
- Vyhovuje zkoušce na alkaloidy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,50 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<sub>6</sub> nebo HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kysele nebo zásaditě reagující látky.** K 10 ml roztoku S se přidá 0,05 ml červeně methylové RS. Zbarvení indikátoru se změní přidáním nejvýše 0,2 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS nebo 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** –110° až –115°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 0,10 g se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů lihu 96% R a vody R a zředí se stejnou směsí na 10 ml.

**Porovnávací roztok.** 50 mg kodeiniumfosfatu R se rozpustí v 5 ml zkoušeného roztoku. 0,1 ml tohoto roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů lihu 96% R a vody R na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů amoniaku 26% R, acetonu R, ethanolu R, vody R a toluenu R (2,5 + 32,5 + 24,5 + 10,5 + 35) připravenou v daném pořadí po dráze 15 cm. Vrstva se vysuší v proudu vzduchu, postříká se jodobis-mutitanem draselným RS a suší se 15 min v proudu vzduchu. Postříká se peroxidem vodíku zředěným RS. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvma odpovídající kodeinu intenzivnější než odpovídající skvma na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %) a žádná skvma, kromě hlavní skvmy a skvmy odpovídající kodeinu, není intenzivnější než skvma morfinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvmy.

**Mekonat.** K 10 ml roztoku S se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové R a 0,1 ml chloridu železitého RS1; absorbance (2.2.25) měřená při 480 nm není větší než 0,05 (0,2 %). Jako kontrolní tekutina se použije roztok připravený současně a stejným způsobem za použití 10 ml vody R místo roztoku S.

**Ztráta sušením (2.2.32).** 12,0 % až 15,0 %; 0,500 g se suší v sušárně při 130 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se se zbytkem ze zkoušky Ztráta sušením.

## Stanovení obsahu

0,350 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím, v 30 ml kyseliny octové bezvodé R. Po ochlazení se přidá 6 ml octanu rtuťnatého RS, 0,1 ml violeti krystalové RS jako indikátoru a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 32,18 mg C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>3</sub>.

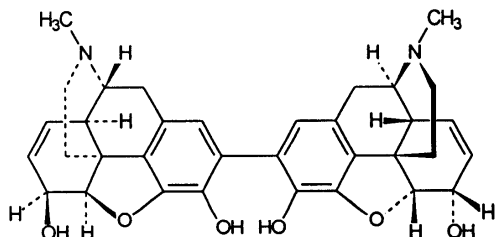
## Uchovávání

Chráněn před světlem.

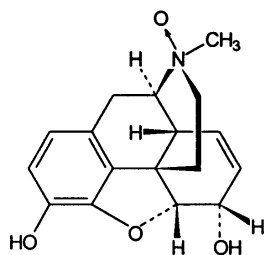
Omamná látka.

## Nečistoty

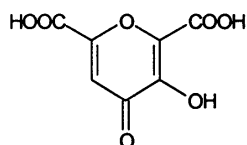
A. kodein,



B. 2,2'-bimorfin (pseudomorfin),



C. morfin-N-oxid,



C. kyselina 3-hydroxy-4-oxo-4*H*-pyran-2,6-dikarboxylová (kyselina mekonová).

“

137. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Morphini sulfas zní:

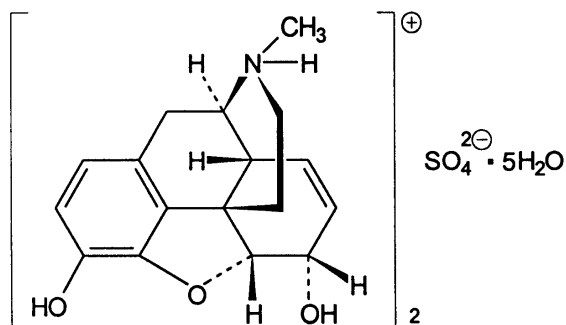
”

## §§ Morphini sulfas pentahydricus

Pentahydrát morfiniumsulfatu

*Synonyma.* Morphini sulfas, morfiniumsulfat

2000



$C_{34}H_{40}N_2O_{10}S \cdot 5H_2O$

$M_r$  758,82  
 $M_r$  bezvodého 668,76

CAS 6211-15-0

Je to pentahydrát bis(7,8-didehydro-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,6 $\alpha$ -dihydroxy-17-methylmorfinanium)sulfátu. Počítáno na bezvodou a ethanolu prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny C<sub>34</sub>H<sub>40</sub>N<sub>2</sub>O<sub>10</sub>S.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je dobře rozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v toluenu.

### 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. morfiniumsulfátu.
- 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 jedno 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 formaldehydu v kyselině sírové RS; 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<sub>6</sub> nebo HŽ<sub>5</sub> (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 desky s vrstvou silikagelu G pro TLC 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 kodeiniumfosfátu 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  $\mu$ l každého roztoku. Vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů amoniaku 26% R, acetonu R, ethanolu R, vody R a toluenu R (2,5 + 32,5 + 24,5 + 10,5 + 35) připravenou v daném pořadí po dráze 10 cm. Rozpouštědla se smíchají v uvedeném pořadí. Vrstva se usuší v proudě vzduchu, postříká se jodobismutitanem draselným RS a opět se suší 15 min v proudě vzduchu. Poté se postříká peroxidem vodíku zředěným RS. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající nečistotě A není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,5 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající nečistotě A, není intenzivnější než skvr-

na na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a nejvýše dvě takové 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  $C_{34}H_{40}N_2O_{10}S$ .

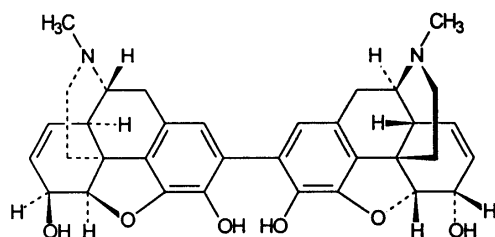
### Uchovávání

Chráněn před světlem.

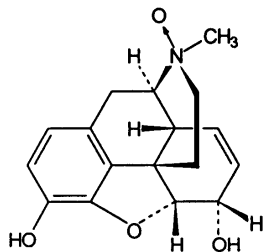
Omamná látka.

### Nečistoty

A. kodein,



B. 2,2'-bimorfin (pseudomorfin),



C. morfin-N-oxid.

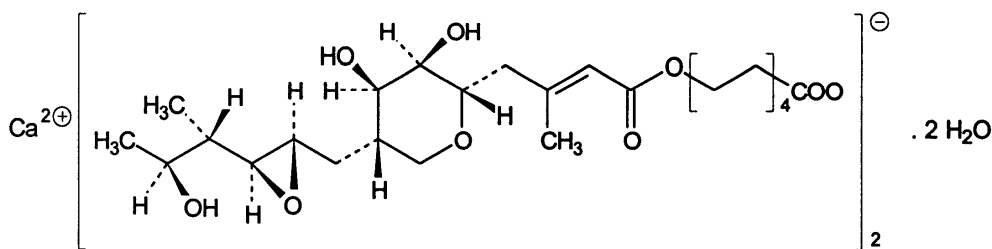
138. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Morphini sufas doplňují články Mupirocinum calcicum dihydricum a Mupirocinum, které znějí:

”

## † Mupirocinum calcicum dihydricum

Dihydrát vápenaté soli mupirocinu

2000



$C_{52}H_{86}O_{18}Ca \cdot 2H_2O$

$M_r$  1075,34

CAS 115074-43-6

Je to dihydrát kalcium-bis{9-[[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*S*)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanoatu}. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 93,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{52}H_{86}O_{18}Ca$ .

### Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům uvedeným v článku *Producta fermentationis*.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v ethanolu a v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur.* dihydrátu vápenaté soli mupirocinu.

B. Vyhovuje zkoušce (a) na vápník (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Specifická optická otáčivost (2.2.7).  $-16^\circ$  až  $-20^\circ$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

Příbuzné látky. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

Zkoušený roztok. 50,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R* na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* pH 10 ml porovnávacího roztoku (a) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 2,0 a nechá se 20 h stát.

*Porovnávací roztok (c).* 25 mg *lithné soli mupirocinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 200,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné *silikagelem oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *vody R*, *tetrahydrofuranu R* a roztoku *octanu amonného R* (10,5 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, (20 + 30 + 50); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu rozlišení mezi druhým ze dvou píků hydrolyzačních produktů a píkem mupirocinu je nejméně 7,0. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas nečistoty C vzhledem k mupirocinu asi 0,75. Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času mupirocinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího nečistotě C není větší než 1,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (2,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího nečistotě C, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 2,25násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Chloridy (2.4.4).** 10,0 mg se rozpustí ve směsi 1 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a 15 ml *methanolu R*. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,5 %).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 3,0 % až 4,5 %, stanoví se s 0,500 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se roztokem *octanu amonného R* (7,5 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, na 200,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *lithné soli mupirocinu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se roztokem *octanu amonného R* (7,5 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, na 200,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* pH 10 ml zkoušeného roztoku se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 2,0 a nechá se 20 h stát.

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, kterou je směs objemových dílů *vody R*, *tetrahydrofuranu R* a roztoku *octanu amonného R* (10,5 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, (19 + 32 + 49); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

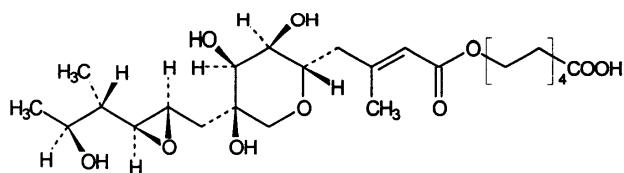
Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi druhým ze dvou píků hydrolyzačních produktů a píkem mupirocinu na získaném chromatogramu je nejméně 7,0. Šestkrát se nastříkne porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku mupirocinu je nejvýše 1,0 %. Nastříkne se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

Vypočítá se obsah vápenaté soli mupirocinu v procentech vynásobením obsahu lithné soli mupirocinu v procentech číslem 1,038.

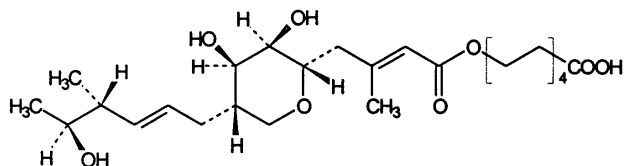
## Uchovávání

Separandum.

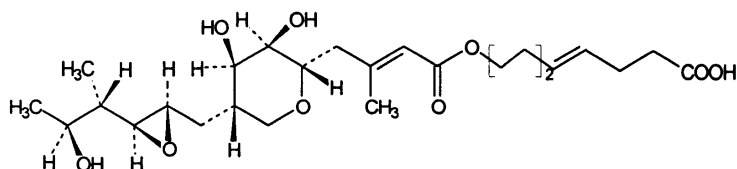
## Nečistoty



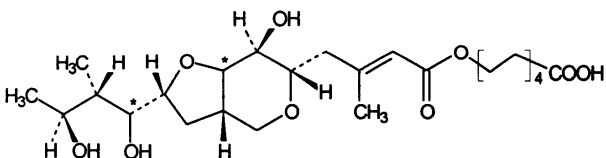
A. kyselina 9-[[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*S*)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-5-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová (kyselina pseudomonová B),



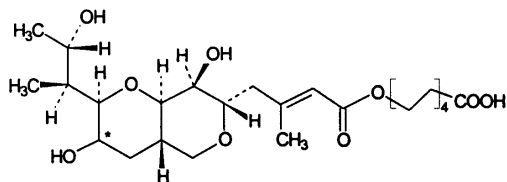
B. kyselina 9-[[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-3,4-dihydroxy-5-[(*E*)-(4*S*,5*S*)-5-hydroxy-4-methyl-2-hexenyl]-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová (kyselina pseudomonová C),



C. kyselina 9-[[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*S*)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]-4-nonenová (kyselina pseudomonová D),

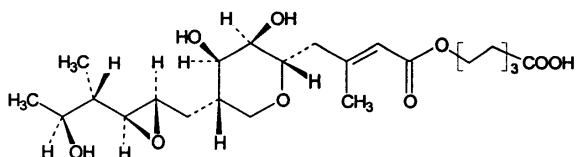


D. kyselina 9-[[4-[(2*R*,3*aS*,6*S*,7*R*)-2-[(2*S*,3*S*)-1,3-dihydroxy-2-methylbutyl]-7-hydroxy-2,3,3*a*,4,6,7,7*a*-heptahydro-4*H*-furo[3,2-*c*]pyran-6-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová,

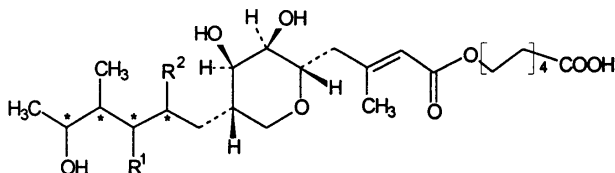


E. kyselina 9-[[4-[(2*R*,3*RS*,4*aS*,7*S*,8*S*,8*aR*)-3,8-dihydroxy-2-[(1*R*,2*S*)-2-hydroxy-1-methylpropyl]-3,4,4*a*,7,8,8*a*-hexahydro-2*H*,5*H*-pyrano[3,2-*c*]pyran-7-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová,



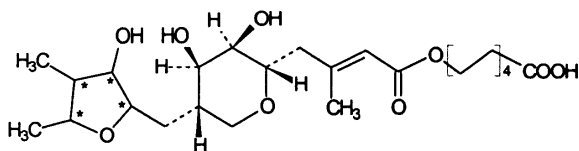


F. kyselina 7-{{[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*S*)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}heptanová,



G.  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = \text{Cl}$ : kyselina 9-{{[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(2-chlor-3,5-dihydroxy-4-methylhexyl)-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová,

H.  $R^1 = \text{Cl}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ : kyselina 9-{{[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-(3-chlor-2,5-dihydroxy-4-methylhexyl)-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová,

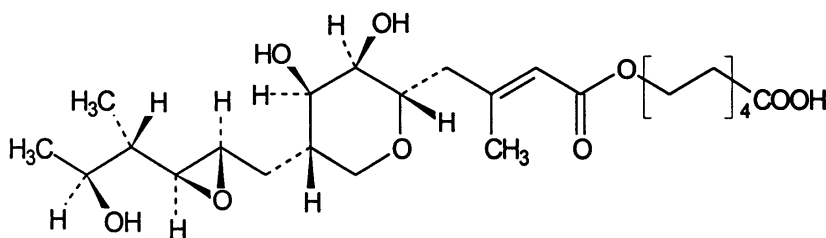


I. kyselina 9-{{[4-[3,4-dihydroxy-5-(3-hydroxy-4,5-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydrofuran-2-yl)methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová.

## † Mupirocinum

Mupirocin

2000



$\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_9$

$M_r$  500,63

CAS 12650-69-0

Je to kyselina 9-{{[4-[(2*S*,3*R*,4*R*,5*S*)-5-[(2*S*,3*S*,4*S*,5*S*)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 93,0 % až 100,5 % sloučeniny  $\text{C}_{26}\text{H}_{44}\text{O}_9$ .

## Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům uvedeným v článku *Producta fermentationis*.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, ethanolu a v dichlormethanu. Vykazuje polymorfismus.

## Zkoušky totožnosti

Infrachervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. mupirocinu*. Poměr absorbance při  $840\text{ cm}^{-1}$  k absorbanci při  $805\text{ cm}^{-1}$  a poměr absorbance rozštěpeného píku při  $1720\text{ cm}^{-1}$  jsou shodné s odpovídajícími poměry absorbancí v referenčním spektru.

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,5 až 4,0; měří se čerstvě připravený nasycený roztok (asi 10 g/l) ve vodě prosté oxidu uhličitého R.

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-17^\circ$  až  $-21^\circ$ , počítáno na bezvodou látku. Měří se roztok připravený rozpuštěním 0,50 g v *methanolu R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Příbuzné látky**. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok**. 50,0 mg se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a)**. 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí na 50,0 ml směsí stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R*.

**Porovnávací roztok (b)**. pH 10 ml porovnávacího roztoku (a) se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 2,0 a nechá se stát 20 h.

**Porovnávací roztok (c)**. 25 mg *lithné soli mupirocinu CRL* se rozpustí ve směsi stejných objemových dílů roztoku *octanu sodného R* (13,6 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 4,0, a *methanolu R* a zředí se stejnou směsí 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 oktylsilanizovaným pro chromatografii R* (5  $\mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *vody R*, *tetrahydrofuranu R* a roztoku *octanu amonného R* (10,5 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, (20 + 30 + 50); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 240 nm.

Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na získaném chromatogramu rozlišení mezi druhým ze dvou píků hydrolyzačních produktů a píkem mupirocinu je nejméně 7,0. Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (c). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek je relativní retenční čas nečistoty C vzhledem k mupirocinu asi 0,75. Nastříkne se 20  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a 20  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Chromatogram zkoušeného roztoku se zaznamenává po dobu odpovídající 3,5násobku retenčního času mupirocinu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídajícího nečistotě C není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty C, není větší než polovina plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než trojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (6 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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.** 25,0 mg se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se roztokem *octanu amonného R* (7,5 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, na 200,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 25,0 mg *lišné soli mupirocinu CRL* se rozpustí v 5 ml *methanolu R* a zředí se roztokem *octanu amonného R* (7,5 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, na 200,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** pH 10 ml zkoušeného roztoku se upraví *kyselinou chlorovodíkovou R* na hodnotu 2,0 a nechá se stát 20 h.

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, kterou je směs objemových dílů *vody R*, *tetrahydrofuranu R* a roztoku *octanu amonného R* (10,5 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou octovou R* na hodnotu 5,7, (19 + 32 + 49); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

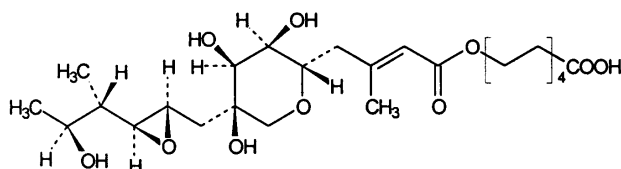
Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi druhým ze dvou píků hydrolyzačních produktů a píkem mupirocinu na získaném chromatogramu je nejméně 7,0. Šestkrát se nastříkne porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku mupirocinu je nejvýše 1,0 %. Nastříkuje se zkoušený roztok a porovnávací roztok (a).

## Uchovávání

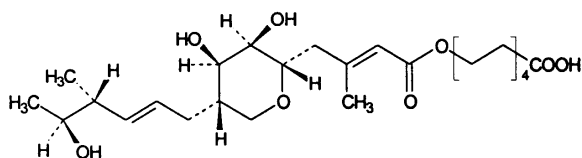
Uchovává se chráněn před světlem.

Separandum.

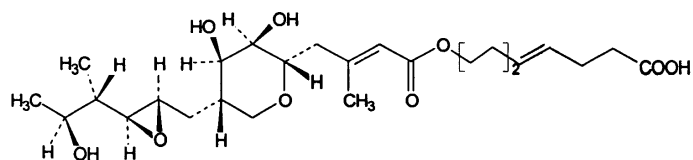
## Nečistoty



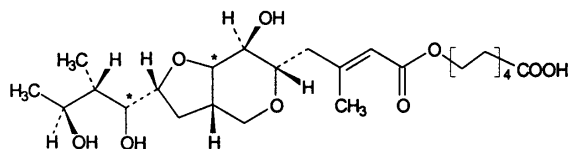
A. kyselina 9-[[4-[(2S,3R,4R,5S)-5-[(2S,3S,4S,5S)-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-5-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová (kyselina pseudomonová B),



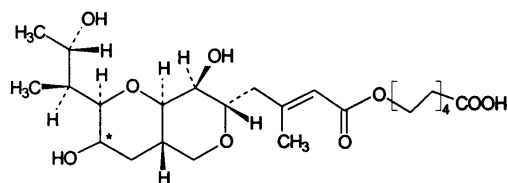
B. kyselina 9-[[4-[(2S,3R,4R,5S)-3,4-dihydroxy-5-[(E)-(4S,5S)-5-hydroxy-4-methyl-2-hexenyl]-3,4,5,6-tetrahydro-2H-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy]nonanová (kyselina pseudomonová C),



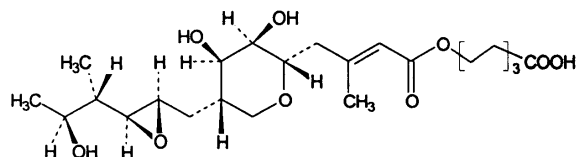
C. kyselina 9-{{4-[[2*S*,3*R*,4*R*,5*S*]-5-[[2*S*,3*S*,4*S*,5*S*]-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}-4-nonenová (kyselina pseudomonová D),



D. kyselina 9-{{4-[[2*R*,3*aS*,6*S*,7*R*]-2-[[2*S*,3*S*]-1,3-dihydroxy-2-methylbutyl]-7-hydroxy-2,3,3*a*,4,6,7,7*a*-heptahydro-4*H*-furo[3,2-*c*]pyran-6-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová,



E. kyselina 9-{{4-[[2*R*,3*RS*,4*aS*,7*S*,8*S*,8*aR*]-3,8-dihydroxy-2-[[1*R*,2*S*]-2-hydroxy-1-methylpropyl]-3,4,4*a*,7,8,8*a*-hexahydro-2*H*,5*H*-pyrano[3,2-*c*]pyran-7-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}nonanová,



F. kyselina 7-{{4-[[2*S*,3*R*,4*R*,5*S*]-5-[[2*S*,3*S*,4*S*,5*S*]-2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl]-3,4-dihydroxy-3,4,5,6-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]-3-methylkrotonoyl]oxy}heptanová.

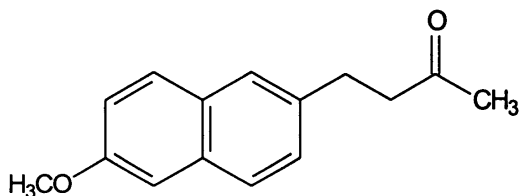
139. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Nabumetonum zní:

”

## † Nabumetonum

Nabumeton

2000



$C_{15}H_{16}O_2$

$M_r$  228,29

CAS 42924-53-8

Je to 4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-2-butanon. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 % 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  $\mu$ l zkoušeného roztoku (a), 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (c). Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) plocha žádného píku odpovídajícího nabumetonu nečistotě F není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího nabumetonu nečistotě F, není větší než plocha 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).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce C na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ 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 1,0 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok (a).* 50,0 mg se rozpustí v acetonitrilu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Zkoušený roztok (b). 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí acetonitrilem R na 25,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí acetonitrilem R na 5,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 20,0 mg nabumetonu CRL se rozpustí v acetonitrilu R a zředí se jím na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí acetonitrilem R na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 0,5 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí acetonitrilem R na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (c). 1,5 mg nabumetonu nečistoty F CRL se rozpustí v acetonitrilu R a zředí se jím na 100,0 ml.

Porovnávací roztok (d). 4 mg nabumetonu nečistoty D CRL se rozpustí v acetonitrilu 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 0,15 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R (4 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:
  - mobilní fáze A - směs objemových dílů tetrahydrofuranu R, acetonitrilu pro chromatografii R, roztoku kyseliny octové ledové R 0,1% (V/V) ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R (12 + 28 + 60),
  - mobilní fáze B - směs objemových dílů tetrahydrofuranu R, acetonitrilu pro chromatografii R, roztoku kyseliny octové ledové R 0,1% (V/V) ve vodě prosté oxidu uhličitého R připravené z vody destilované R (24 + 56 + 20),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 12	100	0	izokraticky
12 - 28	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
28 - 33	0	100	izokraticky
33 - 34	0 → 100	100 → 0	lineární gradient
34 - 35	100	0	izokraticky

- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (d). 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 11 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) je rozlišení mezi píky nabumetonu a nečistoty D nejméně 1,5. Šestkrát se nastříkne porovnávací roztok (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka pro plochu píku nabumetonu je nejvýše 1,0 %. Nastříkne se střídavě zkoušený roztok (b) a porovnávací roztok (a).

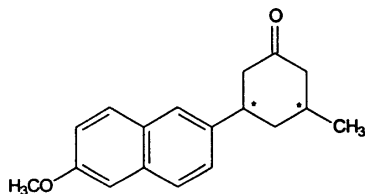
Vypočítá se obsah nabumetonu v procentech za použití chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

## Uchovávání

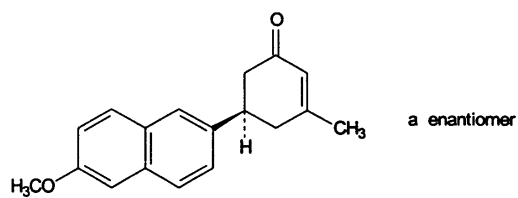
Uchovává se chráněn před světlem.

Separandum.

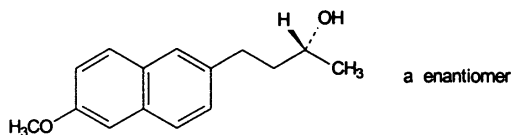
## Nečistoty



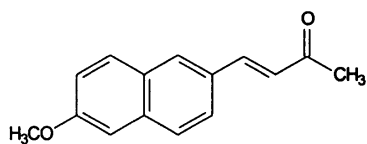
A. 5-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-methylcyclohexanon,



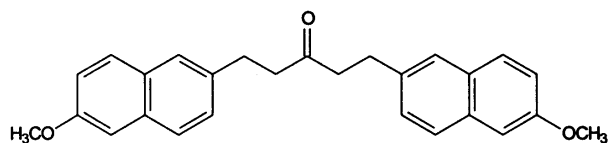
B. (5*RS*)-5-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-methyl-2-cyklohexen-1-on,



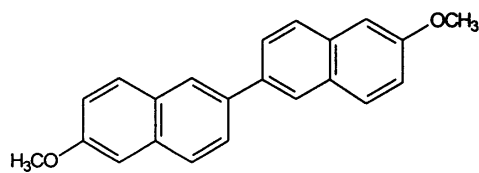
C. (2*RS*)-4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-2-butanol,



D. (*E*)-4-(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-buten-2-on,



E. 1,5-bis(6-methoxynaftalen-2-yl)-3-pentanon,



F. 6,6'-dimethoxy-2,2'-binaftyl.

140. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Naloxoni hydrochloridum zní:

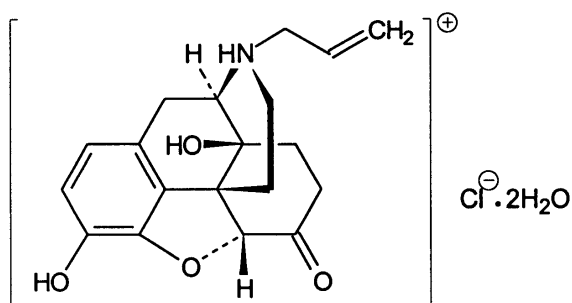
”

## † Naloxoni hydrochloridum dihydricum

Dihydrát naloxoniumchloridu

*Synonymum.* Naloxoni hydrochloridum

2000



$C_{19}H_{22}ClNO_4 \cdot 2H_2O$

$M_r$  399,87

CAS 51481-60-8

$M_r$  bezvodého 363,84

Je to dihydrát 17-allyl-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,14-dihydroxy-6-oxo-morfinaniumchloridu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{19}H_{22}ClNO_4$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v toluenu.

### 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 *dihydrátu naloxoniumchloridu CRL*.

**B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 8 mg se rozpustí v 0,5 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 1 ml.

*Porovnávací roztok.* 8 mg *dihydrátu naloxoniumchloridu CRL* se rozpustí v 0,5 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 1 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se chráněn před světlem směsí objemových dílů *methanolu R* a horní vrstvy směsi 60 ml *amoniaku zředěného RS2* a 100 ml *1-butanolu R* (5 + 95) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší v proudu vzduchu a postříká se čerstvě připraveným roztokem *hexakvanoželezitanu draselného R* (5 g/l) v *chloridu železitém RS1*. Pozoruje se v denním světle. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**C.** Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).



## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,50 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 zásadité reagující látky.** K 10,0 ml roztoku S se přidá 0,05 ml červeně methylové RS. Ke změně zbarvení roztoku se spotřebuje nejvýše 0,2 ml hydroxidu sodného 0,02 mol/l VS nebo nejvýše 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové 0,02 mol/l VS.

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-170^\circ$  až  $-181^\circ$ , počítáno na bezvodou látku; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 0,125 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10,0 mg dihydrátu naloxoniumchloridu CRL a 10,0 mg naloxonu nečistoty A CRL se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 20,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l RS na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné silikagelem oktysilanizovaný s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii R (5  $\mu$ m),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,5 ml/min a s následujícím lineárním gradientovým programem:
  - mobilní fáze A - smíchá se 20 ml acetonitrilu R, 40 ml tetrahydrofuranu R a 940 ml roztoku připraveného takto: rozpustí se 1,17 g oktansulfonátu sodného R v 1000 ml vody R. pH se upraví roztokem kyseliny fosforečné R 50% (V/V) na hodnotu 2,0 a zfiltruje se (roztok kyseliny oktansulfonové),
  - mobilní fáze B - smíchá se 170 ml acetonitrilu R, 40 ml tetrahydrofuranu R a 790 ml roztoku kyseliny oktansulfonové,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
0 - 40	100 → 0	0 → 100	lineární gradient izokraticky
40 - 50	0	100	

- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Odděleně se nastříkne po 20  $\mu$ l každého roztoku.

Zkoušku lze hodnotit: jestliže pík odpovídající naloxonu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) má poměr signálu k šumu alespoň 10; jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky nečistoty A a naloxonu je nejméně 4,0. Je-li třeba, upraví se chromatografické podmínky.

Jsou-li chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, retenční čas naloxonu je asi 11 min a relativní retenční čas nečistoty A, vztažený k naloxonu, je asi 0,8. 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 píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 7,5 % až 11,0 %; stanoví se s 0,200 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,2 %; stanoví se s 0,50 g zkoušené látky.

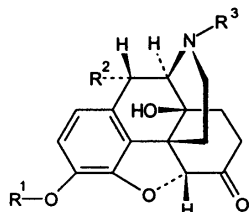
## Stanovení obsahu

0,300 g se rozpustí v 50 ml lihu 96% R, přidá se 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS a titruje se hydroxidem sodným v ethanolu 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Odečte se spotřeba hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS mezi dvěma inflexními body.

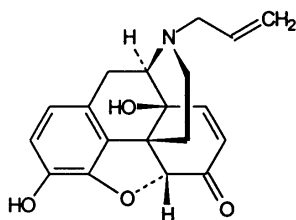
1 ml hydroxidu sodného v ethanolu 0,1 mol/l VS odpovídá 36,38 mg C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>4</sub>.

**Uchovávání**

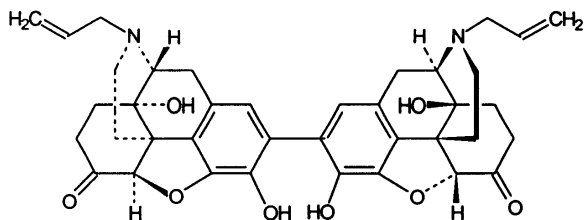
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

- A.  $R^1 = R^2 = R^3 = H$ : 4,5 $\alpha$ -epoxy-3,14-dihydroxymorfinan-6-on (noroxymorfon),  
 B.  $R^1 = R^3 = CH_2-CH=CH_2$ ,  $R^2 = H$ : 17-allyl-3-allyloxy-4,5 $\alpha$ -epoxy-14-hydroxymorfinan-6-on (3-O-allylnaloxon),  
 C.  $R^1 = H$ ,  $R^2 = OH$ ,  $R^3 = CH_2-CH=CH_2$ : 17-allyl-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,10 $\alpha$ ,14-trihydroxymorfinan-6-on (10 $\alpha$ -hydroxynaloxon),



- D. 17-allyl-7,8-didehydro-4,5 $\alpha$ -epoxy-3,14-dihydroxymorfinan-6-on (7,8-didehydronaloxon),



- E. 17,17'-diallyl-4,5 $\alpha$ :4',5' $\alpha$ -diepoxy-3,3',14,14'-tetrahydroxy-2,2'-bimorfinanyl-6,6'-dion (2,2'-binaloxon).

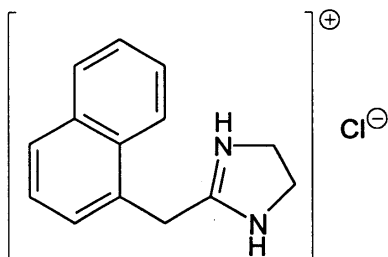
141. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Naphazolini hydrochloridum a Naphazolini nitras znějí:

”

## †† Naphazolini hydrochloridum

Nafazoliniumchlorid

2000

 $C_{14}H_{15}ClN_2$  $M_r 246,74$ 

CAS 550-99-2

Je to 2-(1-naftylmethyl)-4,5-dihydro-1H-imidazoliumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{15}ClN_2$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.  
Taje při asi 259 °C, za rozkladu.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: B a D.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 50,0 mg se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS a zředí se jí na 250,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm. Roztok vykazuje čtyři absorpční maxima, při 270 nm, 280 nm, 287 nm a 291 nm. Specifická absorbance v maximu při 270 nm je 230 až 245, v maximu při 280 nm je 265 až 290, v maximu při 287 nm je 190 až 200 a v maximu při 291 nm je 180 až 195.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety nafazoliniumchloridu CRL.
- C. Asi 0,5 mg se rozpustí v 1 ml methanolu R a přidá se 0,5 ml čerstvě připraveného roztoku nitroprussidu sodného R (50 g/l) a 0,5 ml roztoku hydroxidu sodného R (20 g/l). Nechá se 10 min stát, přidá 1 ml roztoku hydrogenuhličitanu sodného R (80 g/l); vzniká fialové zbarvení.
- D. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,50 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).

**Kyselce nebo zásadité reagující látky.** K 20 ml roztoku S se přidá 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 0,6 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS.

**Naftylacetyلهthylendiamin.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 40 mg se rozpustí ve 2 ml methanolu R.

**Porovnávací roztok.** 40 mg nafazoliniumchloridu CRL se rozpustí v 1 ml methanolu R (roztok a). Odděleně se rozpustí 2 mg naftylacetyلهthylendiaminu CRL v 10 ml methanolu R (roztok b). 0,5 ml roztoku (a) a 0,5 ml roztoku (b) se smíchá.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R a methanolu R (1,5 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min při 100 °C až 105 °C, postříká se roztokem ninhydrinu R (5 g/l) v methanolu R a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající naftylacetyلهthylendiaminu není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

**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 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 hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS mezi dvěma inflexními body.

1 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS odpovídá 24,67 mg C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>.

#### Uchovávání

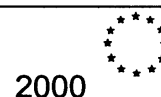
Chráněn před světlem.

Venenum.

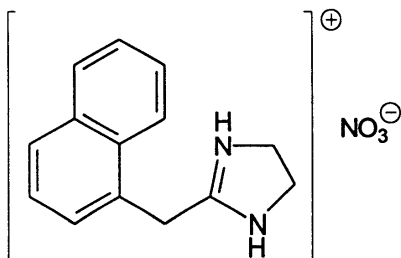
## †† Naphazolini nitras

Nafazoliniumnitrat

Synonymum. Naphazolinium nitricum



2000



C<sub>14</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>

M<sub>r</sub> 273,29

CAS 5144-52-5

Je to 2-(1-naftylmethyl)-4,5-dihydro-1*H*-imidazoliumnitrat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{14}H_{15}N_3O_3$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A, C a E.

Alternativní sestava zkoušek: A, B, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 167 °C až 170 °C.

B. 50 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,01 mol/l RS* a zředí se jí na 250,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí *kyselinou chlorovodíkovou 0,01 mol/l RS* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 230 nm až 350 nm. Roztok vykazuje čtyři absorpční maxima při 270 nm, 280 nm, 287 nm a 291 nm. Specifická absorbance v maximu při 270 nm je asi 215, v maximu při 280 nm je asi 250, v maximu při 287 nm je asi 175 a v maximu při 291 nm je asi 170.

C. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *nafazoliniumnitratu CRL*.

D. Asi 0,5 mg se rozpustí v 1 ml *methanolu R* a přidá se 0,5 ml čerstvě připraveného roztoku *nitroprussidu sodného R* (50 g/l) a 0,5 ml roztoku *hydroxidu sodného R* (20 g/l). Nechá se 10 min stát, přidá 1 ml roztoku *hydrogenuhlčitanu sodného R* (80 g/l); vzniká fialové zbarvení.

E. Asi 10 mg se rozpustí v 5 ml *vody R*, přidá se 0,2 g *oxidu hořečnatého R* a 30 min se mechanicky třepe. Potom se přidá 10 ml *chloroformu R* a znovu se silně protřepe. Po oddělení vrstev se vodná vrstva zfiltruje a odpaří se do sucha. Zbytek vyhovuje zkoušce na dusičnany (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,5 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*).

Hodnota pH (2.2.3). 5,0 až 6,5; měří se roztok S.

*Naftylacetyلهنديamin*. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 40 mg se rozpustí ve 2 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok*. 40 mg *nafazoliniumnitratu CRL* se rozpustí v 1 ml *methanolu R* (roztok a). Odděleně se rozpustí 2 mg *naftylacetyلهنديaminu CRL* v 10 ml *methanolu R* (roztok b). 0,5 ml roztoku (a) a 0,5 ml roztoku (b) se smíchá.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *amoniaku 26% R* a *methanolu R* (1,5 + 100) po dráze 15 cm. Vrstva se suší 5 min při 100 °C až 105 °C, postříká se roztokem *ninhydrinu R* (5 g/l) v *methanolu R* a zahřívá se 10 min při 100 °C až 105 °C. Na chromatogramu zkoušeného roztoku žádná skvrna odpovídající *naftylacetyلهنديaminu* není intenzivnější než odpovídající skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (0,5 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

*Chloridy* (2.4.4). 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (330 µg/g).

*Ztráta sušením* (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,00 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 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 27,33 mg  $C_{14}H_{15}N_3O_3$ .

**Uchovávání**

Chráněn před světlem.  
Venenum.

“

142. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Natrii cyclamas zní:

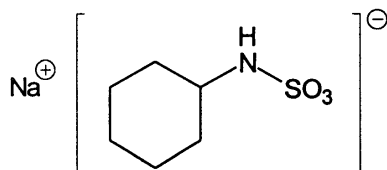
”

**Natrii cyclamas**

Natriumcyklamát

*Synonymum.* Cyklamát sodný

2000

 $C_6H_{12}NNaO_3S$  $M_r$  201,22

CAS 139-05-9

Je to natrium-N-cyklohexylsulfamat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_6H_{12}NNaO_3S$ .

**Vlastnosti**

Bílý krystalický prášek nebo bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a těžce rozpustný v lihu 96%.

**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 se shoduje se spektrem *natriumcyklamatu CRL*.

B. Hodnotí se chromatogramy získané při zkoušce Kyselina amidosírová, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) polohou, zbarvením a velikostí odpovídá hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

- C. K 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 1 ml vody R, 2 ml dusičnanu stříbrného RS1 a protřepe se; vznikne bílá krystalická sraženina.
- D. K 1 ml roztoku S se přidá 5 ml vody R, 2 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a 4 ml chloridu barnatého RS1 a promíchá se; roztok je čirý. Přidají se 2 ml dusitanu sodného RS; vznikne objemná bílá sraženina a uniká plyn.
- E. Směs 1 ml roztoku S a 1 ml vody R vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5 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 bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH (2.2.3).** 5,5 až 7,5; měří se roztok S.

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S měřená při 270 nm není větší než 0,10.

**Kyselina amidosírová.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu G R.

**Zkoušený roztok (a).** Použije se roztok S.

**Zkoušený roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,10 g natriumcyklamatu CRL se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg kyseliny amidosírové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 2 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů amoniaku 26% R, vody R, ethylacetatu R a 1-propanolu R (10 + 10 + 20 + 70) po dráze 12 cm. Vrstva se usuší v proudu teplého vzduchu, zahřívá se 5 min při 105 °C a ještě horká se postříká chlornanem sodným RS zředěným na koncentraci aktivního chloru (5 g/l). Suší se v proudu studeného vzduchu, až se vrstva pod nanesenými body barví nejvýše slabě modře kapkou škrobu s jodidem draselným RS; dbá se, aby nedošlo k prodlouženému působení studeného vzduchu. Potom se postříká škrobem s jodidem draselným RS a do 5 min se hodnotí chromatogramy. Žádná skvrna odpovídající kyselině amidosírové na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Anilin, cyklohexylamin a dicyklohexylamin.** Nejvýše 1 µg/g anilinu, 10 µg/g cyklohexylaminu a 1 µg/g dicyklohexylaminu. Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití tetradekanu R jako vnitřního standardu.

**Roztok vnitřního standardu.** 2 µl tetradekanu R se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok.** 2,00 g se rozpustí ve 20 ml vody R a přidá se 0,5 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS a protřepe se s 30 ml toluenu R. 20,0 ml vrchní vrstvy se protřepe se 4 ml směsí stejných objemových dílů kyseliny octové zředěné RS a vody R. Spodní vrstva se oddělí a přidá se 0,5 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS a 0,5 ml roztoku vnitřního standardu. Protřepe se a spodní vrstva se ihned po oddělení použije pro chromatografii.

**Porovnávací roztok.** 10,0 mg (asi 12 µl) cyklohexylaminu R, 1,0 mg (asi 1,1 µl) dicyklohexylaminu R a 1,0 mg (asi 1 µl) anilinu R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1000,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku se zředí vodou R na 100,0 ml (roztok (a)). K 20,0 ml roztoku (a) se přidá 0,5 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS a protřepe se s 30 ml toluenu R. 20,0 ml vrchní vrstvy se protřepe se 4 ml směsí stejných objemových dílů kyseliny octové zředěné RS a vody R. Spodní vrstva se oddělí a přidá se 0,5 ml hydroxidu sodného koncentrovaného RS a 0,5 ml roztoku vnitřního standardu. Protřepe se a spodní vrstva se ihned po oddělení použije pro chromatografii.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kapilární křemenné kolony 25 m dlouhé a o vnitřním průměru 0,32 mm s vnitřní stěnou pokrytou vrstvou (0,51 µm) poly(difenyl)(dimethyl)siloxanu R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 1,8 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru,
- injektoru s průtokovou rychlostí děličem 20 ml/min,

s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámka
kolona	0 - 1	85	8	izotermicky lineární gradient izotermicky
	1 - 9	85 → 150		
	9 - 13	150		
nástříkový prostor		250		
detektor		270		

Nastříkne se po 1,5 µl každého roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy vztažené k cyklohexylaminu (asi 2,3 min) následující: tetradekan asi 1,4, dicyklohexylamin asi 4,3 a anilin asi 4,5.

**Sírany (2.4.13).** 1,5 ml roztoku S se zředí vodou destilovanou R na 15 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (0,1 %).

**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).

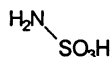
**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 4 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

### Stanovení obsahu

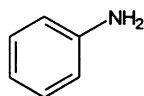
0,150 g se rozpustí bez zahřívání v 60 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 20,12 mg C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>NNaO<sub>3</sub>S.

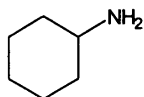
### Nečistoty



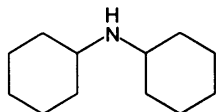
A. kyselina amidosírová (kyselina sulfamová),



B. anilin (fenylamin),



C. cyklohexylamin,



D. dicyklohexylamin.

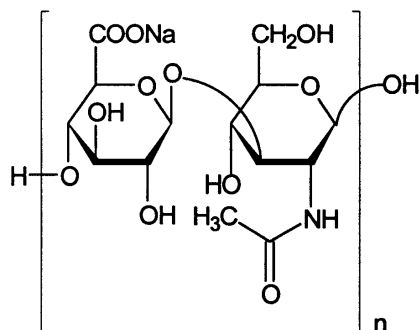


143. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii fusidas doplňuje článek Natrii hyaluronas, který zní:

”

## Natrii hyaluronas

Natriumhyaluronat



$(C_{14}H_{20}NNaO_{11})_n$

CAS 9067-32-7

Je to sodná sůl kyseliny hyaluronové, glykosaminoglykan skládající se z kyseliny D-glukuronové a N-acetyl-D-glukosamindisacharidových jednotek. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 95,0 % až 105,0 % natriumhyaluronatu. Vnitřní viskozita je 90 % až 120 % hodnoty uvedené v označení.

### Výroba

Natriumhyaluronat se extrahuje z kohoutích hřebínků nebo se získává fermentací ze *Streptococci*, Lancefield Groups A a C. Vyrábí se metodami navrženými tak, aby se minimalizovali nebo odstranili původci infekce. Je-li vyráběn fermentací grampozitivních bakterií, musí být prokázáno, že výrobní postup snižuje nebo odstraňuje pyrogenní nebo zánětlivé složky buněčné stěny.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý velmi hygroskopický prášek nebo vláknitý shluk. Je mírně rozpustný až dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v acetonu, v ethanolu a v etheru.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. natriumhyaluronatu.

B. Vyhovuje zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. Zváží se množství zkoušené látky odpovídající 0,10 g vysušené látky a přidá se 30,0 ml roztoku chloridu sodného R (9 g/l). Opatrně se míchá za pomoci míchačky do úplného rozpuštění (asi 12 h).

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1).

**Absorbance (2.2.25).** Absorbance roztoku S měřená při 600 nm není větší než 0,01.

**Hodnota pH (2.2.3).** 5,0 až 8,5; zkoušená látka se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R tak, aby vzniklý roztok obsahoval množství odpovídající 5 mg vysušené látky v mililitru.

**Vnitřní viskozita.** *Natriumhyaluronat je velmi hygroskopický a musí být chráněn před vlhkostí během vážení.*

*Tlumivý roztok (chlorid sodný 0,15 mol/l RS v tlumivém roztoku fosforečnanovém o pH 7,0 (0,01 mol/l). Rozpustí se 0,78 g dihydrogenfosforečnanu sodného R a 4,50 g chloridu sodného R ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml (roztok A). Rozpustí se 1,79 g hydrogenfosforečnanu sodného R a 4,5 g chloridu sodného R ve vodě R a zředí se jí na 500,0 ml (roztok B). Smíchají se roztoky A a B tak, aby se dosáhlo hodnoty pH 7,0. Filtruje se přes filtr ze slinutého skla (4).*

*Zkoušený roztok (a) (koncentrace  $c_1$  natriumhyaluronatu). Naváží se 0,200 g ( $m_{op}$ ) (pozn.: tato hodnota je pouze orientační a měla by být upravena po prvním měření viskozity zkoušeného roztoku (a)) zkoušené látky a zředí se 50,0 g ( $m_{os}$ ) tlumivého roztoku při 4 °C. Roztok se protřepává 24 h při 4 °C. Naváží se 5,00 g ( $m_{1p}$ ) tohoto roztoku a zředí se 100,0 g ( $m_{1s}$ ) tlumivého roztoku při 25 °C. Roztok se 20 min promíchává třepáním. Zfiltruje se přes filtr ze slinutého skla (100) a prvních 10 ml se odstraní.*

*Zkoušený roztok (b) (koncentrace  $c_2$  natriumhyaluronatu). Naváží se 30,0 g ( $m_{2p}$ ) zkoušeného roztoku (a) a doplní se 10,0 g ( $m_{2s}$ ) tlumivého roztoku při 25 °C. Roztok se 20 min promíchává třepáním. Zfiltruje se přes filtr ze slinutého skla (100) a prvních 10 ml se odstraní.*

*Zkoušený roztok (c) (koncentrace  $c_3$  natriumhyaluronatu). Naváží se 20,0 g ( $m_{3p}$ ) zkoušeného roztoku (a) a zředí se 20,0 g ( $m_{3s}$ ) tlumivého roztoku při 25 °C. Roztok se 20 min promíchává třepáním. Zfiltruje se přes filtr ze slinutého skla (100) a prvních 10 ml se odstraní.*

*Zkoušený roztok (d) (koncentrace  $c_4$  natriumhyaluronatu). Naváží se 10,0 g ( $m_{4p}$ ) zkoušeného roztoku (a) a zředí se 30,0 g ( $m_{4s}$ ) tlumivého roztoku při 25 °C. Roztok se 20 min promíchává třepáním. Zfiltruje se přes filtr ze slinutého skla (100) a prvních 10 ml se odstraní.*

Měří se doba průtoku tlumivého roztoku ( $t_0$ ) a doba průtoku pro čtyři zkoušené roztoky ( $t_1, t_2, t_3$  a  $t_4$ ) při  $(25,00 \pm 0,03)$  °C (2.2.9). Použije se vhodný viskozimetr (specifikace: konstanta viskozimetru je asi  $0,005 \text{ mm}^2/\text{s}^2$ , kinematická viskozita je v rozmezí 1 až  $5 \text{ mm}^2/\text{s}$ , vnitřní průměr trubice R je 0,53 mm, objem části C je 5,6 ml, vnitřní průměr trubice N v rozmezí 2,8 mm až 3,2 mm) s nálevkovitým dolním kapilárním koncem. Použije se stejný viskozimetr pro všechna měření; všechny doby průtoku se měří třikrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže se výsledky neliší více než 0,35 % od průměru a jestliže doba průtoku  $t_1$  není menší než 1,6 a není větší než 1,8násobku  $t_0$ . Není-li tomu tak, upraví se hodnota  $m_{op}$  a postup se opakuje.

**Výpočet relativních viskozit.** Pokud jsou hustoty roztoků natriumhyaluronatu a rozpouštědla téměř shodné, relativní viskozity  $\eta_{ri}$  ( $\eta_{r1}, \eta_{r2}, \eta_{r3}$  a  $\eta_{r4}$ ) se vypočítají z poměru dob průtoku odpovídajících roztoků  $t_i$  ( $t_1, t_2, t_3$  a  $t_4$ ) k době průtoku  $t_0$ , ale bere se v úvahu faktor korekce kinetické energie kapiláry ( $B = 30\,800 \text{ s}^3$ ) podle následujícího vztahu:

$$\eta_{ri} = \frac{t_i - \frac{B}{t_i^2}}{t_0 - \frac{B}{t_0^2}}$$

**Výpočet koncentrací**

*Výpočet koncentrace  $c_1$  (vyjádřená v  $\text{kg}/\text{m}^3$ ) natriumhyaluronatu ve zkoušeném roztoku (a):*

$$c_1 = m_{op} \cdot \frac{x}{100} \cdot \frac{100 - h}{100} \cdot \frac{1}{m_{op} + m_{os}} \cdot \frac{m_{1p}}{m_{1p} + m_{1s}} \cdot \rho_{25},$$

v němž značí:

$x$  - obsah natriumhyaluronatu v procentech získaný při stanovení obsahu,

$h$  - ztrátu sušením v %,

$\rho_{25}$  -  $1005 \text{ kg}/\text{m}^3$  (hustota zkoušeného roztoku při 25 °C).

*Výpočet dalších koncentrací*

$$c_2 = c_1 \cdot \frac{m_{2p}}{m_{2s} + m_{2p}},$$

$$c_3 = c_1 \cdot \frac{m_{3p}}{m_{3s} + m_{3p}},$$

$$c_4 = c_1 \cdot \frac{m_{4p}}{m_{4s} + m_{4p}}.$$

#### Výpočet vnitřní viskozity

Vnitřní viskozita  $[\eta]$  se vypočítá lineární regresní analýzou, metodou nejmenších čtverců použitím Martinovy rovnice:

$$\log\left(\frac{\eta_r - 1}{c}\right) = \log[\eta] + k[\eta]c.$$

Dekadický antilogaritmus zadržení je vnitřní viskozita vyjádřená v  $\text{m}^3/\text{kg}$ .

**Síranové glykosaminoglykany.** Je-li produkt extrahován z kohoutích hřebínků, vyhovuje následujícímu požadavku. Je třeba dodržovat vhodná bezpečnostní opatření pro práci s kyselinou chloristou při vyšší teplotě.

**Zkoušený roztok.** Množství zkoušené látky odpovídající 50,0 mg vysušené látky se převede do zkumavky délky 150 mm a vnitřního průměru 16 mm a rozpustí se v 1,0 ml kyseliny chloristé R.

**Porovnávací roztok.** 0,149 g síranu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml. 10,0 ml se zředí vodou R na 100,0 ml. 1,00 ml se odpaří ve zkumavce délky 150 mm a vnitřního průměru 16 mm v ohřivacím bloku při 90 °C až 95 °C a zbytek se rozpustí v 1,0 ml kyseliny chloristé R. Každá zkumavka se uzavře kouskem skleněné vaty. Zkumavky se umístí do ohřivacího bloku nebo do lázně se silikonovým olejem (180 °C) a zahřívá se do vzniku čirého bezbarvého roztoku (asi 12 h). Zkumavky se vyjmou a ochladí se při pokojové teplotě. Do každé zkumavky se přidají 3,0 ml roztoku chloridu barnatého R (33,3 g/l), uzavřou se a intenzivně se protřepe. Zkumavky se nechají 30 min stát. Každá zkumavka se znovu protřepe a změří se absorbance (2.2.25) při 660 nm za použití vody R jako kontrolní tekutiny. Absorbance zkoušeného roztoku není vyšší než absorbance porovnávacího roztoku (1 %).

**Nukleové kyseliny.** Absorbance (2.2.25) roztoku S při 260 nm je nejvýše 0,5.

**Bílkoviny.** Nejvýše 0,3 %. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, jsou nejvýše 0,1 %.

**Zkoušený roztok (a).** Zkoušená látka se rozpustí ve vodě R tak, aby se získal roztok, obsahující množství odpovídající asi 10 mg vysušené látky v mililitru.

**Zkoušený roztok (b).** Smíchají se stejné objemové díly zkoušeného roztoku (a) a vody R.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se ze zásobního roztoku albuminu hovězího R (0,5 mg/ml) ve vodě R. Připraví se 5 ředění zásobního roztoku obsahující 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  až 50  $\mu\text{g}/\text{ml}$  albuminu hovězího R.

Přidají se 2,0 ml čerstvě připraveného vinanu měďnatého RS3 do zkumavek obsahujících 2,0 ml vody R (kontrolní roztok), 2,0 ml zkoušených roztoků (a) nebo (b) nebo 2,0 ml porovnávacích roztoků. Po každém přidání se zamíchá. Po asi 10 min se do každé zkumavky přidá 0,50 ml zkoumadla fosfomolybdenan-wolframového R, připraveného těsně před použitím. Po každém přidavku se zamíchá. Po 30 min se změří absorbance (2.2.25) každého roztoku při 750 nm proti kontrolnímu roztoku. Obsah bílkovin ve zkoušeném roztoku se určí z kalibrační křivky získané z pěti porovnávacích roztoků.

**Chloridy (2.4.4).** Rozpustí se 67 mg ve 100 ml vody R. 15 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (0,5 %).

**Železo.** Nejvýše 80  $\mu\text{g}/\text{g}$ ; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda II).

**Zkoušený roztok.** Množství zkoušené látky odpovídající 0,25 g vysušené látky se rozpustí v 1 ml kyseliny dusičné R zahříváním na vodní lázni. Ochladí se a zředí se vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se dva porovnávací roztoky stejným způsobem jako zkoušený roztok. K rozpuštěné zkoušené látce se přidá 1,0 ml, resp. 2,0 ml základního roztoku železa (10  $\mu\text{g Fe}/\text{ml}$ ).

Změří se absorbance při 248,3 nm za použití železné lampy s dutou katodou jako zdroje záření, transmisního svazku 0,2 nm a plamene vzduch-acetylen.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 20,0 %; 0,500 g se suší 6 h při 100 °C až 110 °C nad oxidem fosforečným R.

**Mikrobiální znečištění.** Celkový počet živých aerobních mikroorganismů (2.6.12) je nejvýše  $10^2$  v gramu; stanoví se s 1 g zkoušené látky.

**Sterilita (2.6.1).** Pokud je látka určena k výrobě sterilních lékových forem 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 0,5 m.j. endotoxinu v miligramu. Pokud je látka určena k výrobě očních přípravků nebo intraartikulárních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 0,05 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Obsah kyseliny glukuronové se stanoví reakcí s karbazolem, způsobem popsáným dále.

*Zkoumadlo A.* 0,95 g *tetraboritanu sodného R* se rozpustí ve 100,0 ml *kyseliny sírové R*.

*Zkoumadlo B.* 0,125 g *karbazolu R* se rozpustí ve 100,0 ml *ethanolu R*.

*Zkoušený roztok. Přípraví se ve trojím provedení.* 0,170 g se rozpustí ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 g. 10,0 g tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 200,0 g.

*Porovnávací zásobní roztok.* Rozpustí se 0,100 g *kyseliny D-glukuronové R* předem vysušené do konstantní hmotnosti ve vakuu nad *oxidem fosforečným R (2.2.32)* ve *vodě R* a zředí se jí na 100,0 g.

*Porovnávací roztoky.* Přípraví se pět ředění porovnávacího zásobního roztoku, která obsahují od 6,5  $\mu\text{g/g}$  do 65  $\mu\text{g/g}$  *kyseliny D-glukuronové R*. 25 zkumavek, označených 1 až 25, se umístí do ledové lázně. Přidá se 1,0 ml z pěti porovnávacích roztoků ve trojím provedení do zkumavek 1 až 15 (zkumavky s porovnávacími roztoky), 1,0 ml ze tří zkoušených roztoků ve trojím provedení do zkumavek 16 až 24 (zkumavky se zkoušenými roztoky) a 1,0 ml *vody R* do zkumavky 25 (kontrolní roztok). Do každé zkumavky se přidá 5,0 ml čerstvě připraveného zkoumadla A. Zkumavky se těsně uzavřou plastovými uzávěry, obsah se protřepe a umístí se přesně na 15 min na vodní lázeň. Ochladí se v ledové lázni a do každé zkumavky se přidá 0,20 ml zkoumadla B. Zkumavky se opět uzavřou, protřepou se a opět se umístí přesně na 15 min na vodní lázeň. Ochladí se na pokojovou teplotu a měří se absorbance (2.2.25) roztoků při 530 nm proti kontrolnímu roztoku.

Průměrná koncentrace kyseliny D-glukuronové ve zkoušených roztocích se stanoví z průměrných absorbancí odečtených z kalibrační křivky získané pro každý porovnávací roztok.

Vypočítá se obsah natriumhyaluronátu v procentech podle vztahu:

$$\frac{c_g}{c_s} \cdot Z \cdot \frac{100}{100 - h} \cdot \frac{401,3}{194,1},$$

v němž značí:

$c_g$  - průměr koncentrací kyseliny D-glukuronové ve zkoušených roztocích v miligramech na gram,

$c_s$  - průměr koncentrací zkoušené látky ve zkoušených roztocích v miligramech na gram,

$Z$  - stanovený obsah  $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_7$  v *kyselině D-glukuronové R* v procentech,

$h$  - ztrátu sušením v procentech,

401,3 - relativní molekulovou hmotnost disacharidového fragmentu,

194,1 - relativní molekulovou hmotnost kyseliny glukuronové.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem a vlhkostí. Jestliže je látka sterilní, uchovává se ve sterilních vzduchotěsných zabezpečených obalech.

**Označování**

V označení na obalu se uvede:

- vnitřní viskozita,
- původ látky,
- zamýšlené použití látky,
- kde je to vhodné, zda je látka sterilní,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro jiné parenterální použití než intraartikulární,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro parenterální použití, včetně intraartikulárního,
- kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro oční použití.

“

144. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Natrii nitroprussias doplňuje článek Natrii octanoas, který zní:

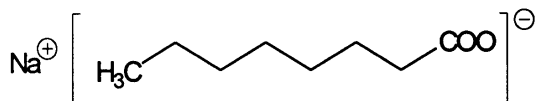
”

**Natrii octanoas**

Natriumoktanoat

*Synonymum.* Natrii caprylas

2000

 $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NaO}_2$  $M_r$  166,20

CAS 1984-06-1

Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NaO}_2$ .

**Vlastnosti**

Bílý krystalický prášek. Je velmi snadno rozpustný nebo snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v kyselině octové, mírně rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v acetonu.

**Zkoušky totožnosti**

A. Hodnotí se chromatogramy získané při zkoušce Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Retenční čas a velikost hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku přibližně odpovídá retenčnímu času a velikosti hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

B. K 0,2 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 0,3 ml vody R. Roztok vyhovuje zkoušce (b) na sodík (2.3.1).

**Zkoušky na čistotu**

Roztok S. 2,5 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). 8,0 až 10,5; měří se roztok S.

**Příbuzné látky.** Provede se plynová chromatografie (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 0,116 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 5 ml. Přidá se 1 ml kyseliny sírové R 2,8% (V/V) a protřepe se s 10 ml ethylacetatu R. Organická vrstva se oddělí a vysuší nad síranem sodným bezvodým R.

**Porovnávací roztok (a).** 0,10 g kyseliny oktanové CRL se rozpustí v ethylacetatu R a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí ethylacetatem R na 100 ml. 5 ml tohoto roztoku se zředí ethylacetatem R na 50 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou makroglem 20 000 2-nitrotereftalatem R (tloušťka vrstvy je 0,25 μm),
  - helia pro chromatografii R jako nosného plynu při průtokové rychlosti 15 ml/min,
  - plamenoionizačního detektoru,
  - dělicího poměru 1/100,
- s následujícím teplotním programem:

	Čas (min)	Teplota (°C)	Rychlost (°C/min)	Poznámky
kolona	0 - 1	100	-	izotermicky
	1 - 25	100 → 220	5	lineární gradient
	25 - 35	220		izotermicky
nástříkový prostor		250		
detektor		250		

Nastříkne se 1 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže hlavní pík na chromatogramu má poměr signálu k šumu nejméně 5.

Nastříkne se 1 μl zkoušeného roztoku a 1 μl porovnávacího roztoku (a). Obsah příbuzných látek v procentech se vy počítá obvyklým postupem (metodou normalizace) z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku. Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,5násobek plochy píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) a k píkům rozpouštědla. Obsah žádné příbuzné látky není větší než 0,3 % a součet obsahů příbuzných látek není větší než 0,5 %.

**Těžké kovy** (2.4.8). 2,0 g se rozpustí v kyselině octové ledové R a zředí se jí na 10 ml. Přidá se 10 ml lihu 96% R. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (10 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku olova (10 μg Pb/ml) a 9 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny octové ledové R a lihu 96% R.

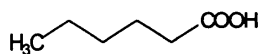
**Voda, semimikrostanovení** (2.5.12). Nejvýše 3,0 %, stanoví se s 1,000 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

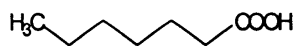
0,150 g se rozpustí v 50 ml kyseliny octové bezvodé R a titruje se kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS odpovídá 16,62 mg C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NaO<sub>2</sub>.

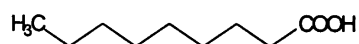
## Nečistoty



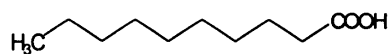
A. kyselina hexanová,



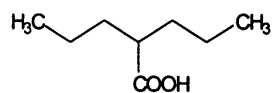
B. kyselina heptanová,



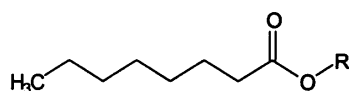
C. kyselina nonanová,



D. kyselina dekanová,

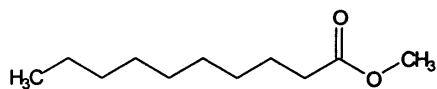


E. kyselina valproová,

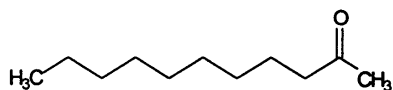


F. R = CH<sub>3</sub>: methyloktanoat,

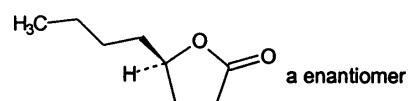
G. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: ethyloktanoat,



H. methyldekanooat,



I. 2-undekanon,



a enantiomer

J. (*RS*)-5-butyltetrahydrofuran-2-on (laktón kyseliny  $\gamma$ -hydroxyoktanové).

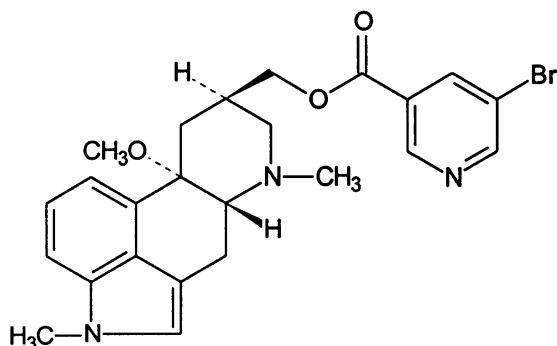
145. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Netilmicini sulfas doplňuje článek Nicergolinum, který zní:

”

## † Nicergolinum

N

Nicergolin

C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>M<sub>r</sub> 484,39

CAS 27848-84-6

Je to 10 $\alpha$ -methoxy-1,6-dimethylergolin-8 $\beta$ -ylmethyl-(5-bromnikotinát). Počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku, obsahuje 98,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>24</sub>H<sub>26</sub>BrN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>.

### Vlastnosti

Téměř bílý až slabě žlutý jemný krystalický prášek bez pachu. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v chloroformu a pyridinu, mírně rozpustný v lihu 96% a v methanolu.

Vykazuje polymorfismus (krystalická modifikace I taje při asi 135 °C a krystalická modifikace II taje při asi 124 °C).

### Zkoušky totožnosti

- Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- Teplota tání (2.2.14). 134 °C až 137 °C.
- Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *nicergolinu CRL*. Měří se tablety látek s *bromidem draselným R*.
- Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Příbuzné látky, 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).

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 0,5 g se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 10 ml.

Vzhled roztoku. Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>5</sub> (2.2.2, Metoda II).



**Specifická optická otáčivost (2.2.7).**  $-16^{\circ}$  až  $-19^{\circ}$ , počítáno na bezvodou a rozpouštědel prostou látku. Měří se roztok připravený rozpouštěním 0,250 g v pyridinu R a zředěním stejným rozpouštědlem na 25,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí za míchání pomocí ultrazvuku v acetonitrilu pro chromatografii R a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 50,0 mg nicergolinu CRL a 5,0 mg chlornicergolinu R se rozpustí za míchání pomocí ultrazvuku v acetonitrilu pro chromatografii R a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí acetonitrem pro chromatografii 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  $\mu$ m),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů triethylaminu R, vody R a acetonitrilu pro chromatografii R (10 + 440 + 550); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 288 nm.

Kolona se ustálí promýváním mobilní fází po dobu asi 25 min.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem nicergolinu a píkem chlornicergolinu je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška píku na získaném chromatogramu byla nejméně 15 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající trojnásobku retenčního času nicergolinu. Při zaznamenání chromatogramu za předepsaných podmínek je retenční čas nicergolinu asi 12 min a relativní retenční časy vztažené k nicergolinu jsou následující: kyselina 5-bromnikotinová asi 0,2, meluol asi 0,3, normicergolin asi 0,6, 10 $\alpha$ -hydroxynicergolin asi 0,8, chlornicergolin asi 0,9 a  $\alpha,\alpha$ -nicergolin asi 1,7.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než plocha píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1,0 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha poloviny hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D na těžké kovy (20  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 1,0 %; stanoví se s 0,400 g zkoušené látky.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Zbytková rozpouštědla.** Celkový obsah zbytkových rozpouštědel je nejvýše 0,5 %, obsah dichlormethanu je nejvýše 0,05 %.

Provede se plynová chromatografie se statickým head-space nástřikem (2.2.28) a obsah zbytkových rozpouštědel se stanoví metodou přímé kalibrace.

**Roztok síranu sodného.** 15,2 g síranu sodného R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok.** 0,100 g se v lahvičce pro nástřik vzorku rozpustí v 1,0 ml dimethylformamidu R a přidá se 0,5 ml roztoku síranu sodného. Lahvička se uzavře pryžovou zátkou pokrytou polytetrafluorethylenem a zajistí se hliníkovým uzávěrem. Po ustálení rovnováhy za níže uvedených podmínek se k analýze odebere 1,0 ml plynné fáze.

**Porovnávací roztok (a).** Rozpustí se po 60 mg acetonu R, dichlormethanu R, etheru R, lihu 96% R, methanolu R a toluenu R v 15 ml dimethylformamidu R a zředí se jím na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá k 15 ml dimethylformamidu R a zředí se jím na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se smíchá v lahvičce pro nástřik vzorku s 0,5 ml roztoku síranu sodného. Lahvička se uzavře pryžovou zátkou pokrytou polytetrafluorethylenem a zajistí se hliníkovým uzávěrem. Po ustálení rovnováhy za níže uvedených podmínek se k analýze odebere 1,0 ml plynné fáze.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,25 mm s vnitřní stěnou pokrytou zesíťovanými 6 % polykyanopropylfenylsiloxanu R a 94 % polydimethylsiloxanu R (tloušťka filmu 1,25  $\mu$ m),
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu; lineární průtoková rychlost při 50  $^{\circ}$ C je asi 35 cm/s,

- injektoru s děličem 1 : 20,
- plamenoionizačního detektoru,
- konstantního tlaku na kolonu 240 kPa.

Teplota kolony se udržuje na 50 °C po dobu 6 min, potom se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 200 °C, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 200 °C a teplota detektoru na 250 °C.

Mohou být použity tyto podmínky head-space nástřiku:

- teplota pro ustavení rovnováhy: 80 °C,
- doba ustavování rovnováhy: 25 min (cyklus 2 min mícháno a 1 min staticky),
- teplota přechodové kapiláry: 85 °C,
- nástřikovaný objem: 1,0 ml.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) rozlišení dvou nejbližších píků je nejméně 1,0.

Vypočítá se obsah jednotlivých zbytkových rozpouštědel v procentech ve zkoušené látce. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka ploch ze dvou stanovení není větší než 15 %.

### Stanovení obsahu

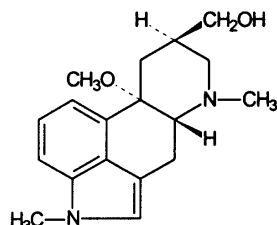
0,400 g se rozpustí v 50,0 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20). Současně se provede slepá zkouška.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 48,44 mg  $C_{24}H_{26}BrN_3O_3$ .

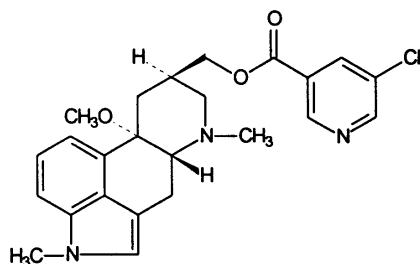
### Uchovávání

Při teplotě 0 °C až 5 °C, chráněn před světlem.  
Separandum.

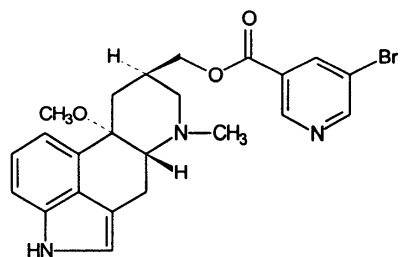
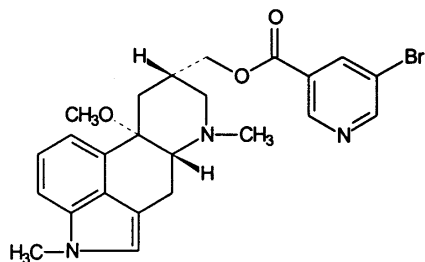
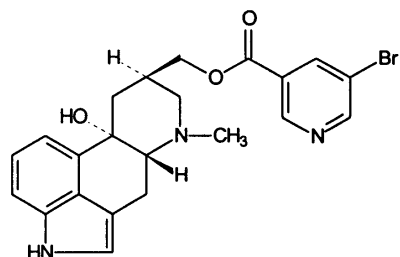
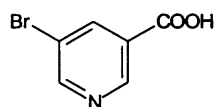
### Nečistoty



A. 10α-methoxy-1,6-dimethylergolin-8β-ylmethanol (meluol),



B. 10α-methoxy-1,6-dimethylergolin-8β-ylmethyl-(5-chlornikotinat) (chlornicergolin),

C. 10 $\alpha$ -methoxy-6-methylergolin-8 $\beta$ -ylmethyl-(5-bromnikotinát) (normicergolin),D. 10 $\alpha$ -methoxy-1,6-dimethylergolin-8 $\alpha$ -ylmethyl-(5-bromnikotinát) ( $\alpha,\alpha$ -nicergolin),E. 10 $\alpha$ -hydroxy-6-methylergolin-8 $\beta$ -ylmethyl-(5-bromnikotinát) (10 $\alpha$ -hydroxynicergolin),

F. kyselina 5-bromnikotinová.

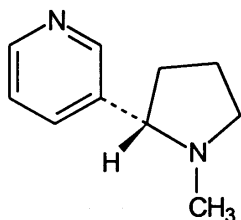
146. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nicotinamidum doplňuje článek Nicotinum, který zní:

”

## †† Nicotinum

Nikotin

2000

 $C_{10}H_{14}N_2$  $M_r$  162,23

CAS 54-11-5

Je to 3-[(2*S*)-1-methylpyrrolidin-2-yl]pyridin. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{10}H_{14}N_2$ .

### Vlastnosti

Bezbarvá nebo nahnědlá viskózní těkává hygroskopická kapalina. Je dobře rozpustný ve vodě, mísitelný s ethanolem.

### 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 s referenčním spektrem nikotinu Ph. Eur.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 1,0 g se rozpustí ve vodě *R* a zředí se jí na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $\check{Z}_5$ ,  $H\check{Z}_5$  nebo  $\check{C}_5$  (2.2.2, Metoda II).

**Specifická optická otáčivost** (2.2.7).  $-140^\circ$  až  $-152^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním 1,00 g v ethanolu *R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 4 mg nikotinditartratu *CRL* a 2 mg myosminu *R* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 0,4 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi na 100,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,10 m a vnitřního průměru 8 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii *R* (4  $\mu$ m),

- mobilní fáze připravené následujícím způsobem: 2,31 g *dodecylsiranu sodného R* se rozpustí ve směsi 250 ml *acetonitrilu R* a 750 ml roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (13,6 g/l) a za použití *hydroxidu sodného R* nebo *kyseliny fosforečné R* se nastaví pH na hodnotu 4,5; průtoková rychlost je 1,5 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 25  $\mu$ l porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy nikotinu asi 13 min a nečistoty D asi 11 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi pikem nečistoty D, který je eluován nejbližší píku nikotinu a píkem nikotinu je nejméně 1,5. Je-li třeba, upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi.

Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu získaného s 25  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 25  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 25  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku 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) (0,4 %), součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,8 %). 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 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

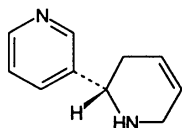
60,0 mg se rozpustí v 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,11 mg  $C_{10}H_{14}N_2$ .

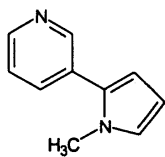
### Uchování

Ve vzduchotěsných obalech pod dusíkem, chráněn před světlem.  
Venenum.

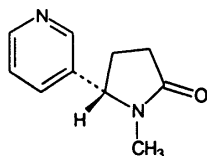
### Nečistoty



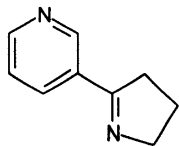
A. 3-[(2S)-1,2,3,6-tetrahydropyridin-2-yl]pyridin (anatabin),



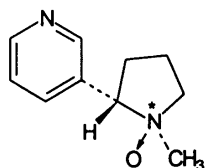
B. 3-(1-methyl-1H-pyrrol-2-yl)pyridin ( $\beta$ -nikotyrim),



C. (5S)-1-methyl-5-(3-pyridyl)pyrrolidin-2-on (kotlinin),



D. 3-(4,5-dihydro-3H-pyrrol-2-yl)pyridin (myosmin),



a epimer na N\*

E. (1*R*,2*S*)-1-methyl-2-(3-pyridyl)pyrrolidin-1-oxid (nikotin-N-oxid).

“

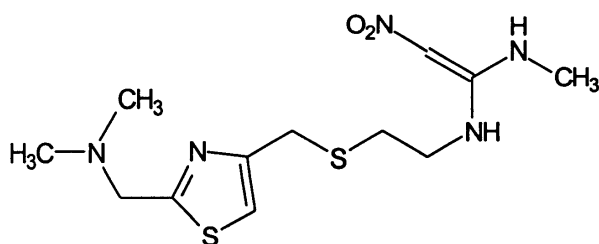
147. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Nitrogenum doplňují články Nizatidinum a Nonoxinolum 9, které znějí:

”

## Nizatidinum

Nizatidin

2000

 $C_{12}H_{21}N_5O_2S_2$  $M_r$  331,45

CAS 76963-41-2

Je to (*EZ*)-*N*-{2-[[[2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl]methyl]thio]ethyl}-*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{21}N_5O_2S_2$ .

### Vlastnosti

Téměř bílý nebo slabě nahnědlý krystalický prášek. Je mírně rozpustný ve vodě a dobře rozpustný v methanolu.

## Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: C.*

*Alternativní sestava zkoušek: A, B a D, viz Obecné zásady (1.2).*

**A.** Teplota tání (2.2.14). 131 °C až 134 °C.

**B.** 0,10 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) při 220 nm až 350 nm. Roztok vykazuje dvě absorpční maxima, při 242 nm a 325 nm. Poměr absorbance změřené v maximu při 325 nm k absorbanci v maximu při 242 nm je 2,2 až 2,5.

**C.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *nizatidinu CRL*.

**D.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 50 mg se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 50 mg *nizatidinu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 50 mg *nizatidinu CRL* a 50 mg *ranitidiniumchloridu CRL* 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*, *amoniak 32% R*, *2-propanolu R* a *ethylacetatu R* (2 + 4 + 15 + 25) po dráze odpovídající 2/3 výšky desky. Vrstva se usuší na vzduchu a vystaví se parám jodu, dokud nejsou skvrny zřetelně viditelné. Pozoruje se v denním světle. 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

**Vzhled roztoku.** 0,2 g se rozpustí v roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* (10 g/l) a zředí se jím na 20 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok *Ž<sub>5</sub>* (2.2.2, *Metoda II*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 8,5 až 10,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,2 g ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 20 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) způsobem popsaným ve Stanovení obsahu s tím rozdílem, že se nahradí směs mobilních fází gradientovým programem za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 3	76	24	izokraticky
3 - 20	76 → 50	24 → 50	lineární gradient
20 - 45	50	50	izokraticky
45 - 50	50 → 76	50 → 24	lineární gradient
50 - 60	76	24	ustalování

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže retenční čas *nizatidinu* je 10 min až 20 min a faktor symetrie píku odpovídajícího *nizatidinu* je nejvýše 2,0.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky *nizatidinu* (první pík) a nečistoty F (druhý pík) je nejméně 2,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku (a). Na chromatogramu není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 0,3násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,3 %) a součet ploch všech těchto píků není větší než 1,5násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1,5 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,03násobek 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 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).

**Zkoušený roztok (a).** 50,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (24 + 76) a zředí se stejnou směsí na 10,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 15,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (24 + 76) 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 B a mobilní fáze A (24 + 76) na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 15,0 mg *nizatidinu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (24 + 76) a zředí se stejnou směsí na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 5 mg *nizatidinu CRL* a 0,5 mg *nizatidinu nečistoty F CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (24 + 76) 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 4,6 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaný pro chromatografii R* (5 μm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min, kterou je směs objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (35 + 65):
  - *mobilní fáze A* - 5,9 g *octanu amonného R* se rozpustí v 760 ml *vody R*. Přidá se 1 ml *diethylaminu R*, pH se upraví *kyselinou octovou R* na hodnotu 7,5,
  - *mobilní fáze B* - *methanol R*,
- spektrofotometrického detektoru, 254 nm.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže retenční čas *nizatidinu* je 8 min až 10 min a faktor symetrie píku odpovídajícímu *nizatidinu* je nejvýše 2,0.

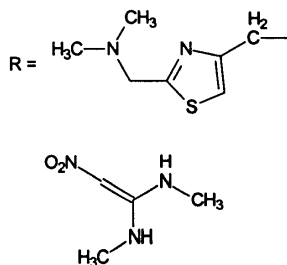
Porovnávací roztok (b) se nastříkne šestkrát. Zkoušku lze hodnotit, jestliže relativní směrodatná odchylka plochy píku *nizatidinu* je nejvýše 2,0 %.

Nastříkne se 20 μl zkoušeného roztoku (b) a 20 μl porovnávacího roztoku (b). Obsah *nizatidinu* v procentech se vypočítá z ploch píků a deklarovaného obsahu *nizatidinu CRL*.

### Uchovávání

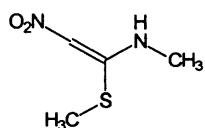
V dobře uzavřených obalech.

### Nečistoty

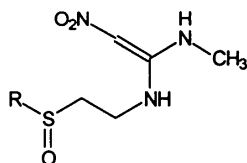


A. (*EZ*)-*N,N'*-dimethyl-2-nitroethen-1,1-diamin,



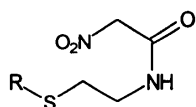


B. (*EZ*)-*N*-methyl-1-methylthio-2-nitroethen-1-amin,

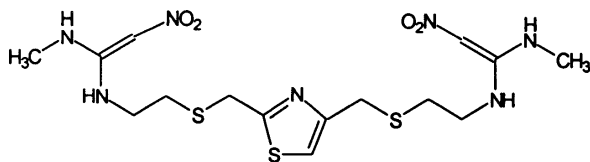


C. (*EZ*)-*N*-{2-[[[2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl]methyl]sulfinyl]ethyl}-*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin,

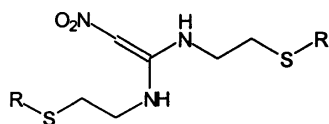
D. *R*-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>; *N,N*-dimethyl{4-[[2-(2-aminoethyl)thio]methyl]thiazol-2-yl}methylamin,



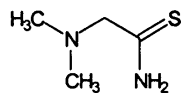
E. *N*-{2-[[[2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl]methyl]thio]ethyl}-2-nitroacetamid,



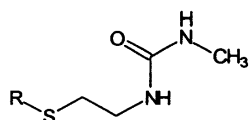
F. (*EZ*)-*N*<sup>1</sup>,*N*<sup>1'</sup>-[thiazol-2,4-diylbis(methylthioethylen)]bis(*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin),



G. (*EZ*)-*N,N'*-bis{2-[[[2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl]methyl]thio]ethyl}-2-nitroethen-1,1-diamin,

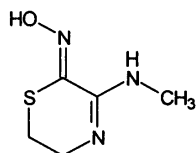


H. 2-(dimethylamino)thioacetamid,



I. N-{2-[[[2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl]methyl]thio]ethyl}-N'-methylmočovina,

J. R-OH: {2-[(dimethylamino)methyl]thiazol-4-yl}methanol,



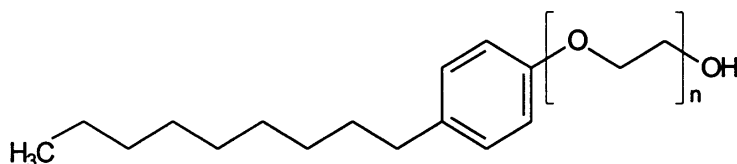
K. 3-methylamino-5,6-dihydro-2H-1,4-thiazin-2-onoxim.

## Nonoxinol 9

Nonoxinol 9



2000



CAS 26027-38-3

Je to tekutá směs obsahující hlavně monononylfenylethery makrogolů odpovídajících vzorců:  $C_9H_{19}C_6H_4-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ , kde průměrná hodnota  $n$  je asi 9, ale může být mezi 4 a 16. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 95,0 % až 105,0 % sloučeniny vyjádřené jako  $\alpha$ -(4-nonylfenyl)- $\omega$ -hydroxynona(oxyethylen).

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá až světležlutá viskózní kapalina, mísitelná s vodou, lihem 96% a olejem olivovým.

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *nonoxinolu CRL*. Látky se zkouší jako tenké filmy mezi destičkami *chloridu sodného R*.

B. Hodnotí se chromatogramy získané ze Stanovení obsahu. Retenční časy píků na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají přibližně retenčním časům píků na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,2; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky rozpuštěné v 50 ml předepsané směsi rozpouštědel.

Makrogol. Nejvýše 1,6 %. Asi 10,000 g se převede do 250ml kádinky, přidá se 100 ml *ethylacetatu R* a magnetickou míchačkou se plynule míchá do rozpuštění. Pomocí 100 ml roztoku *chloridu sodného R* (292 g/l) se převede do 500ml dělicí nálevky opatřené skleněnou zátkou. Nálevka se uzavře a 1 min se protřepává, pak se opatrně otevře, do směsi se

ponoří teploměr a dělicí nálevka se postaví tak, aby byla částečně umístěna ve vodní lázni při 50 °C. Dělicí nálevkou se jemně pohybuje tak, aby vnitřní teplota dosáhla 40 °C až 45 °C, pak se ihned vyjme z lázně, vnější povrch se osuší a spodní vrstva se vypustí do jiné 500ml dělicí nálevky. Stejným způsobem se vrchní vrstva extrahuje *ethylacetatem R* a podruhé se extrahuje 100 ml čerstvě připraveného roztoku *chloridu sodného R* (292 g/l). Obě spodní vrstvy se spojí, promyjí se 100 ml *ethylacetatu R* a spodní vrstva se vypustí do čisté 500ml dělicí nálevky, ethylacetatová vrstva se odstraní. Spodní vrstva se protřepe dvakrát se 100 ml *dichlormethanu R*. Spodní vrstvy se vypustí přes složený filtrační papír, spojí se v 250ml kádince a odpaří se na vodní lázni do sucha. Pokračuje se v zahřívání až do vymizení pachu dichlormethanu. Kádinka se ochladí, přidá se 25 ml *acetonu R* a zbytek se rozpustí za použití magnetické míchačky. Zfiltruje se přes složený filtrační papír do zvážené 250ml kádinky, filtr se dvakrát promyje 25 ml *acetonu R*. Odpaří se na vodní lázni do sucha a suší se 1 h při 60 °C ve vakuu. Po ochlazení se kádinka zváží.

**Teplota zakalení.** 52 °C až 56 °C. 1,0 g se převede do 250ml kádinky, přidá se 99 g *vody R* a míchá se do rozpuštění. Asi 30 ml tohoto roztoku se převede do 70ml zkumavky. Zkumavka se zahřívá na vodní lázni za plynulého míchání teploměrem do zakalení roztoku. Zkumavka se ihned vyjme z vodní lázně tak, aby se teplota nezvýšila o více než 2 °C a pokračuje se v míchání.

Teplota zakalení je teplota, při které se roztok dostatečně vyčeří tak, aby byla plně vidět celá rtuťová nádobka teploměru.

**Zbytkový ethylenoxid a dioxan (2.4.25).** Nejvýše 1 µg/g ethylenoxidu a nejvýše 50 µg/g dioxanu.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky.

## Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 50,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethylacetatu R* a *hexanu R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 25,0 ml a promíchá se.

**Porovnávací roztok.** 50,0 mg *nonoxinolu 9 CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *ethylacetatu R* a *hexanu R* (20 + 80) a zředí se stejnou směsí rozpouštědel na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem pro chromatografii, diolem R* (10 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
  - mobilní fáze A - směs objemových dílů *ethylacetatu R* a *hexanu R* (20 + 80),
  - mobilní fáze B - směs objemových dílů *methanolu R* a *ethylacetatu R* (2,5 + 97,5),
- gradientového programu za použití následujících podmínek:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 2	100	0	ustalování
2 - 10	100 → 84	0 → 16	lineární gradient
10 - 20	84 → 70	16 → 30	lineární gradient
20 - 30	70 → 62	30 → 38	lineární gradient
30 - 40	62 → 57	38 → 43	lineární gradient
40 - 50	57 → 54	43 → 46	lineární gradient
50 - 70	54 → 50	46 → 50	lineární gradient
70 - 75	50	50	izokraticky
75 - 76	50 → 100	50 → 0	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 280 nm.

Nastříkne se 100 µl zkoušeného roztoku a 100 µl porovnávacího roztoku.

Oligomery nonoxinolu eluují jako dobře rozlišené ostré piky. Pro stanovení oligomerů se použijí retenční časy.

Měří se odezva každého píku.

Součet ploch píků odpovídajících nonoxinolům s délkou řetězce  $n < 4$  nebo  $n > 16$  není větší než 1,0 % součtu ploch píků odpovídajících nonoxinolům s délkou řetězce  $n = 4$  až  $n = 16$ .

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

“

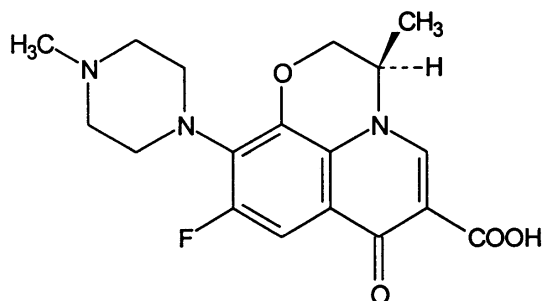
148. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Octyldodecanolum doplňuje článek Ofloxacinum, který zní:

”

## † Ofloxacinum

Ofloxacin

2000



a enantiomer

 $C_{18}H_{20}FN_3O_4$  $M_r$  361,37

CAS 83380-47-6

Je to kyselina (*RS*)-9-fluor-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyri-do[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-karboxylová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ .

### Vlastnosti

Bledě nebo jasně žlutý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v kyselině octové ledové, těžce rozpustný až dobře rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v methanolu.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *ofloxacinu CRL*.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance** (2.2.25). 0,5 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l *RS* a zředí se jí na 100,0 ml. Absorbance roztoku měřená při 440 nm není větší než 0,25.

**Optická otáčivost (2.2.7).**  $-0,10$  až  $+0,10^\circ$ ; měří se roztok připravený rozpuštěním  $0,300$  g ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* ( $10 + 40$ ) a zředěním stejnou směsí na  $10$  ml.

**Nečistota A.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou *silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R* ( $2 \mu\text{m}$  až  $10 \mu\text{m}$ ).

**Zkoušený roztok.**  $0,250$  g se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* ( $10 + 40$ ) a zředí se stejnou směsí na  $5,0$  ml.

**Porovnávací roztok.**  $10$  mg *ofloxacinu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* ( $10 + 40$ ) a zředí se stejnou směsí na  $100,0$  ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po  $10 \mu\text{l}$  každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *ethylacetatu R* ( $1 + 1 + 2$ ) po dráze  $10$  cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při  $254$  nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žádná skvrna odpovídající nečistotě A intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku ( $0,2$  %).

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29). *Roztoky se připraví těsně před použitím.*

**Zkoušený roztok.**  $10,0$  mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* ( $10 + 60$ ) a naředí se stejnou směsí na  $50,0$  ml.

**Porovnávací roztok (a).**  $1,0$  ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* ( $10 + 60$ ) na  $50,0$  ml.  $1,0$  ml tohoto roztoku se zředí stejnou směsí na  $10,0$  ml.

**Porovnávací roztok (b).**  $10,0$  mg *ofloxacinu nečistoty E CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* ( $10 + 60$ ) a zředí se stejnou směsí na  $100,0$  ml.  $10,0$  ml tohoto roztoku se smíchá s  $5,0$  ml zkoušeného roztoku a zředí se směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* ( $10 + 60$ ) na  $50,0$  ml.  $1,0$  ml tohoto roztoku se dále zředí stejnou směsí na  $50,0$  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* ( $5 \mu\text{m}$ ),
- mobilní fáze, kterou je směs připravená následujícím způsobem:  $4,0$  g *octanu amonného R* a  $7,0$  g *chloristanu sodného R* se rozpustí v  $1300$  ml *vody R*, pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu  $2,2$  a poté se přidá  $240$  ml *acetonitrilu R*. Průtoková rychlost mobilní fáze se nastaví tak, aby retenční čas ofloxacinu byl asi  $20$  min,
- spektrofotometrického detektoru,  $294$  nm.

Teplota kolony se udržuje na  $45$  °C.

Nastříkne se  $10 \mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výšky dvou hlavních píků na získaném chromatogramu byly nejméně  $50$  % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistoty E a ofloxacinu je nejméně  $2,0$ .

Nastříkne se  $10 \mu\text{l}$  zkoušeného roztoku a  $10 \mu\text{l}$  porovnávacího roztoku (a). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající  $2,5$ násobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) ( $0,2$  %) a součet ploch všech těchto píků není větší než  $2,5$ násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) ( $0,5$  %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než  $0,1$ násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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* ( $10 \mu\text{g Pb/ml}$ ).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše  $0,2$  %;  $1,000$  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.

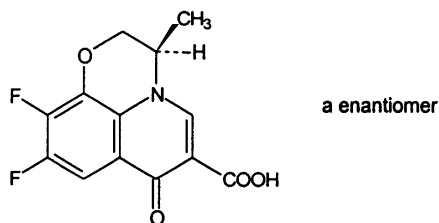
## Stanovení obsahu

$0,300$  g se rozpustí ve  $100$  ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potencio-metrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

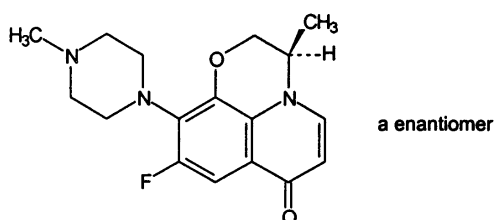
$1$  ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá  $36,14$  mg  $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_4$ .

**Uchovávání**

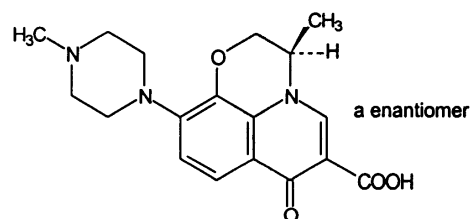
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

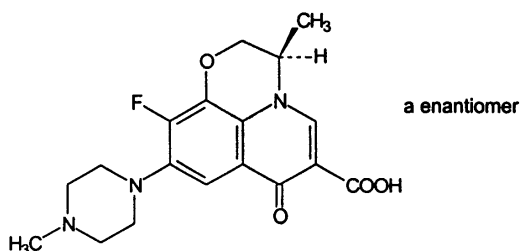
A. kyselina (*RS*)-9,10-difluor-3-methyl-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-karboxylová (FPA),



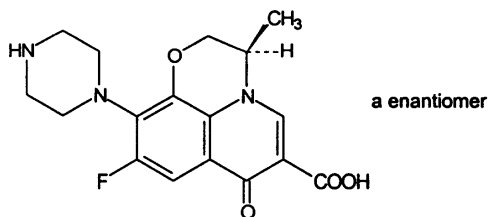
B. (*RS*)-9-fluor-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-7-on,



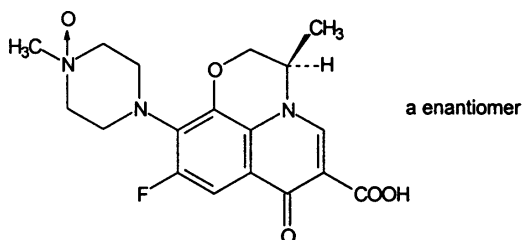
C. kyselina (*RS*)-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-karboxylová,



D. kyselina (*RS*)-10-fluor-3-methyl-9-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-karboxylová,



E. kyselina (*RS*)-9-fluor-3-methyl-10-(1-piperazinyl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-karboxylová,



F. (*RS*)-4-(9-fluor-6-karboxy-3-methyl-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-10-yl)-1-methylpiperazin-1-oxid.

“

149. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Oleomacrogolum doplňuje článek Olivae oleum raffinatum, který zní:

”

## Olivae oleum raffinatum

Olivový olej čištěný



2000

CAS 8001-25-0

Je to mastný olej získaný čištěním surového olivového oleje, získaného ze zralých plodů *Olea europaea* L. lisováním za studena nebo jiným vhodným mechanickým způsobem. Může být přidána vhodná antioxidační přísada.

### Vlastnosti

Čirá bezbarvá nebo až zelenožlutá průhledná tekutina. Je prakticky nerozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým (50 °C až 70 °C). Je-li ochlazen, začíná se kalit při teplotě asi 10 °C; při teplotě asi 0 °C tuhne na měkkou hmotu.

Relativní hustota je asi 0,913.

## Zkoušky totožnosti

A. Zkouška Absorbance, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

B. Proveďte se zkouška Totožnost olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky odpovídá charakteristickému chromatogramu olivového oleje. Pro určité druhy čištěného olivového oleje je rozdíl velikosti skvrn E a F méně významný než na charakteristickém chromatogramu.

## Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 0,5; stanoví se s 10,0 g.

Číslo peroxidové (2.5.5, Metoda A). Nejvýše 10,0. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je nejvýše 5,0.

**Nezmýdelnitelné látky.** Nejvýše 1,5 %. 5,0 g (*m* g) se v baňce na 150 ml smíchá s 50 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*. Zahřívá se 1 h pod zpětným chladičem na vodní lázni za častého protřepávání. Pak se přidá zpětným chladičem 50 ml *vody R*, protřepe se a po ochlazení se převede do dělicí nálevky. Baňka se promyje po částech celkem 50 ml *etheru petrolejového R1* a promývací tekutiny se přidají do dělicí nálevky. Intenzivně se protřepává 1 min a po rozdělení vrstev se vodná vrstva převede do druhé dělicí nálevky. Tvoří-li se emulze, přidají se malá množství *lihu 96% R* nebo koncentrovaného roztoku *hydroxidu draselného R*. Vodná vrstva se protřepe dvakrát 50 ml *etheru petrolejového R1*. Spojené vrstvy etheru petrolejového se převedou do třetí dělicí nálevky a promyjí se třikrát 50 ml *lihu R 50% (V/V)*. Vrstva etheru petrolejového se převede do předem zvážené 250ml baňky. Dělicí nálevka se promyje několikrát malým množstvím *etheru petrolejového R1*, promývací tekutiny se spojí s roztokem v baňce. Ether petrolejový se odpaří na vodní lázni, baňka se zbytkem se suší 15 min ve vodorovné poloze při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení v exsikátoru se zváží (*a* g). Sušení se vždy po 15 min opakuje tak dlouho, dokud není rozdíl hmotností dvou po sobě následujících vážení menší než 0,1 %. Zbytek se rozpustí ve 20 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného po přidání 0,1 ml *modři bromfenolové RS*. Je-li třeba, titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS (b ml)*.

Vypočítá se obsah nezmýdelnitelných látek v procentech podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot (a - 0,032 \cdot b)}{m},$$

v němž značí:

*a* - hmotnost zbytku po vysušení v gramech,

*b* - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* v mililitrech,

*m* - hmotnost zkoušené látky v gramech.

Pokud 0,032*b* je větší než 5 % hodnoty *a*, zkouška je neplatná a musí se opakovat.

**Zásaditě reagující nečistoty (2.4.19).** Vyhovuje zkoušce Zásaditě reagující látky v mastných olejích.

**Absorbance (2.2.25).** 1,00 g se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. Absorbance měřená v maximu při 270 nm je 0,20 až 1,20.

**Podíl mastných kyselin.** Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin oleje má následující složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než C<sub>16</sub>: nejvýše 0,1 %,
- kyselina palmitová: 7,5 % až 20,0 %,
- kyselina palmitolejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 16,3): nejvýše 3,5 %,
- kyselina stearová: 0,5 % až 5,0 %,
- kyselina olejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,3): 56,0 % až 85,0 %,
- kyselina linolová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,9): 3,5 % až 20,0 %,
- kyselina linolenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 19,7): nejvýše 1,2 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,7 %,
- kyselina ikosenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 20,3): nejvýše 0,4 %,
- kyselina behenová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina lignocerová: nejvýše 0,2 %.

**Steroly (2.4.23).** Podíl sterolů oleje má následující složení:



- součet obsahů  $\beta$ -sitosterolu,  $\Delta 5,23$ -stigmastadienolu, klerosterolu, sitostanolu,  $\Delta 5$ -avenasterolu a  $\Delta 5,24$ -stigmastadienolu: nejméně 93,0 %,
- cholesterol: nejvýše 0,5 %,
- $\Delta 7$ -stigmasterol: nejvýše 0,5 %,
- kampesterol: nejvýše 4,0 %.

Obsah  $\Delta 7$ -stigmasterolu není větší než obsah kampesterolu.

**Sezamový olej.** 10 ml zkoušené látky se v odměrném válci se zabroušenou zátkou protřepává asi 1 min se směsí 0,5 ml roztoku *furfuralu R* (3,5 ml/l) v *acetanhydridu R* a 4,5 ml *acetanhydridu R*. Zfiltruje se filtračním papírem impregnovaným *acetanhydridem R*. K filtrátu se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R*; nevzniká modrozelené zbarvení.

**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 *dekanolu R* a *methanolu bezvodého R* jako rozpouštědla.

#### Uchovávání

Ve zcela naplněných dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem při teplotě nepřevyšující 25 °C. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, uchovává se v inertní atmosféře.

#### Označení

V označení na obalu se uvede:

- kde je to vhodné, zda je látka vhodná pro výrobu parenterálních lékových forem,
- název a koncentrace přidaného antioxidantu,
- název inertního plynu.

“

150. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Olivae oleum* zní:

”

## Olivae oleum virginale

Olivový olej panenský

*Synonymum.* *Olivae oleum virgineum*



CAS 8001-25-0

Je to mastný olej získaný ze zralých plodů *Olea europaea* L. lisováním za studena nebo jiným vhodným mechanickým způsobem.

#### Vlastnosti

Čirá žlutá nebo zelenožlutá průhledná tekutina, charakteristického pachu. Je prakticky nerozpustný v lihu 96%, mísitelný s etherem petrolejovým (50 °C až 70 °C). Je-li ochlazen, začíná se kalit při teplotě asi 10 °C; při teplotě asi 0 °C tuhne na měkkou hmotu.

Relativní hustota je asi 0,913.

## Zkouška totožnosti

Provede se zkouška Totožnost olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky odpovídá charakteristickému chromatogramu olivového oleje. Pro určité druhy olivového oleje je rozdíl velikosti skvrn E a F méně významný než na charakteristickém chromatogramu.

## Zkoušky na čistotu

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 2,0; stanoví se s 5,0 g.

Číslo peroxidové (2.5.5, Metoda A). Nejvýše 20,0.

**Nezmýdelnitelné látky.** Nejvýše 1,5 %. 5,0 g (*m* g) se v baňce na 150 ml smíchá s 50 ml *hydroxidu draselného v lihu 2 mol/l RS*. Zahřívá se 1 h pod zpětným chladičem na vodní lázni za častého protřepávání. Pak se přidá zpětným chladičem 50 ml *vody R*, protřepe se a po ochlazení se převede do dělicí nálevky. Baňka se promyje po částech celkem 50 ml *etheru petrolejového R1* a promývací tekutiny se přidají do dělicí nálevky. Intenzivně se protřepává 1 min a po rozdělení vrstev se vodná vrstva převede do druhé dělicí nálevky. Tvoří-li se emulze, přidají se malá množství *lihu 96% R* nebo koncentrovaného roztoku *hydroxidu draselného R*. Vodná vrstva se protřepe dvakrát 50 ml *etheru petrolejového R1*. Spojené vrstvy etheru petrolejového se převedou do třetí dělicí nálevky a promyjí se třikrát 50 ml *lihu R 50% (V/V)*. Vrstva etheru petrolejového se převede do předem zvážené 250ml baňky. Dělicí nálevka se promyje několikrát malým množstvím *etheru petrolejového R1*, promývací tekutiny se spojí s roztokem v baňce. Ether petrolejový se odpaří na vodní lázni, baňka se zbytkem se suší 15 min ve vodorovné poloze při 100 °C až 105 °C. Po ochlazení v exsikatoru se zváží (*a* g). Sušení se vždy po 15 min opakuje tak dlouho, dokud není rozdíl hmotností dvou po sobě následujících vážení menší než 0,1 %. Zbytek se rozpustí ve 20 ml *lihu 96% R* předem zneutralizovaného po přidání 0,1 ml *modři bromfenolové RS*. Je-li třeba, titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS (b ml)*.

Vypočítá se obsah nezmýdelnitelných látek v procentech podle vzorce:

$$\frac{100 \cdot (a - 0,032 \cdot b)}{m},$$

v němž značí:

- a* - hmotnost zbytku po vysušení v gramech,
- b* - spotřebu *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* v mililitrech,
- m* - hmotnost zkoušené látky v gramech.

Pokud 0,032*b* je větší než 5 % hodnoty *a*, zkouška je neplatná a musí se opakovat.

**Absorbance (2.2.25).** 1,00 g se rozpustí v *cyklohexanu R* a zředí se jím na 100,0 ml. Absorbance měřená v maximu při 270 nm není vyšší než 0,20. Poměr absorbance naměřené při 232 nm k absorbanci naměřené při 270 nm je větší než 8.

**Podíl mastných kyselin.** Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin oleje má následující složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než C<sub>16</sub>: nejvýše 0,1 %,
- kyselina palmitová: 7,5 % až 20,0 %,
- kyselina palmitolejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 16,3): nejvýše 3,5 %,
- kyselina stearová: 0,5 % až 5,0 %,
- kyselina olejová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,3): 56,0 % až 85,0 %,
- kyselina linolová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 18,9): 3,5 % až 20,0 %,
- kyselina linolenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 19,7): nejvýše 1,2 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 0,7 %,
- kyselina ikosenová (délkou řetězce odpovídá makrogoladipatu 20,3): nejvýše 0,4 %,
- kyselina behenová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina lignocerová: nejvýše 0,2 %.

**Steroly (2.4.23).** Podíl sterolů oleje má následující složení:

- součet obsahů β-sitosterolu, Δ5,23-stigmastadienolu, klerosterolu, sitostanolu, Δ5-avenasterolu a Δ5,24-stigmastadienolu: nejméně 93,0 %,
- cholesterol: nejvýše 0,5 %,
- Δ7-stigmasterol: nejvýše 0,5 %,

- kampesterol: nejvýše 4,0 %.

Obsah  $\Delta^7$ -stigmasterolu není větší než obsah kampesterolu.

**Sezamový olej.** 10 ml zkoušené látky se v odměrném válci se zabroušenou zátkou protřepává asi 1 min se směsí 0,5 ml roztoku *furfuralu R* (3,5 ml/l) v *acetanhydridu R* a 4,5 ml *acetanhydridu R*. Zfiltruje se filtračním papírem impregnovaným *acetanhydridem R*. K filtrátu se přidá 0,2 ml *kyseliny sírové R*; nevzniká modrozelené zbarvení.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných, dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem při teplotě nepřevyšující 25 °C.

“

151. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Olivae oleum* doplňuje článek *Olsalazinum dinatricum*, který zní:

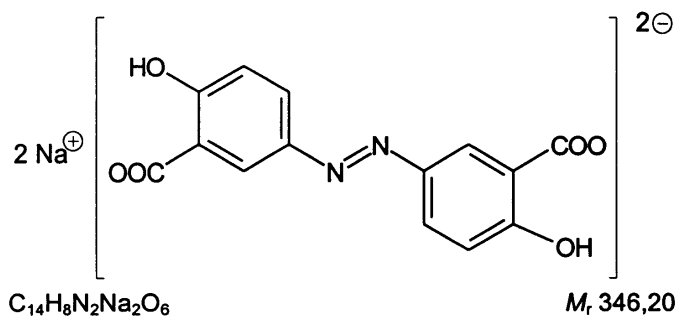
”

## † Olsalazinum dinatricum

Disodná sůl olsalazinu

*Synonymum.* Olsalazinum natricum

2000



Je to dinatrium-4,4'-dihydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylat. Počítáno na vysušenou a octanů prostou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{14}H_8N_2Na_2O_6$ .

### Vlastnosti

Žlutý jemný krystalický prášek. Je mírně rozpustná ve vodě, dobře rozpustná v dimethylsulfoxidu a velmi těžce rozpustná v methanolu.

Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek:* B a D.

*Alternativní sestava zkoušek:* A, C a D, viz *Obecné zásady* (1.2).

- A. 40,0 mg se rozpustí v 5 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS* a zředí se roztokem *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (7,8 g/l), jehož pH bylo upraveno *hydroxidem sodným koncentrovaným RS* na hodnotu 7,2, na 100,0 ml (tlumivý roztok). 2,0 ml tohoto roztoku se zředí tlumivým roztokem na 100,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 240 nm až 400 nm. Roztok vykazuje absorpční maxima při 255 nm a 362 nm. Poměr absorbance naměřené v maximu při 255 nm k absorbanci naměřené v maximu při 362 nm je 0,53 až 0,56.
- B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *disodné soli olsalazinu CRL*. Jestliže se spektra 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 *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok*. 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku zředěného RS2* a *lihu 96% R* (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.  
*Porovnávací roztok (a)*. 10 mg *disodné soli olsalazinu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *amoniaku zředěného RS2* a *lihu 96% R* (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 10 ml.  
*Porovnávací roztok (b)*. 5 mg *sulfasalazinu CRL* se rozpustí v porovnávacím roztoku (a) a zředí se jím na 5 ml.  
 Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *acetonu R* a *dichlormethanu R* (5 + 50 + 60) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a potom se pozoruje 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. K 0,5 g se přidají 2 ml *kyseliny sírové R* a postupně se zahřívá do spálení a pokračuje se v zahřívání do vzniku téměř bílého nebo našedlého zbytku. V žihání se pokračuje při teplotě nepřevyšující 800 °C. Potom se zbytek rozpustí v 10 ml vroucí *vody R* a zfiltruje se. 2 ml filtrátu vyhovují zkoušce (a) na sodík (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Octany.** Nejvýše 1,0 %. Stanoví se iontovou chromatografií.

*Zkoušený roztok*. 0,125 g se rozpustí ve 25,0 ml *vody R*, přidá se 1,0 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a odstředí se. Potom se roztok zfiltruje filtrem 0,45 µm a také dalším vhodným filtrem.

*Porovnávací roztok (a)*. 0,140 g *octanu sodného R*, 0,150 g *mravenčanu sodného R* a 0,180 g *siranu draselného R* se rozpustí ve 100 ml *vody R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b)*. Za použití vhodného množství *octanu sodného R* se připraví nejméně 5 porovnávacích roztoků o výsledné koncentraci octanu 10 µg/ml až 50 µg/ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- iontového chromatografu,
- separační kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru 6 mm,
- potlačovací kolony,
- mobilní fáze, kterou je *kyselina chlorovodíková 0,0001 mol/l RS*; průtoková rychlost je 0,9 ml/min,
- vodivostního detektoru nastaveného na 10 µS.cm<sup>-1</sup>.

Nastříkne se 0,1 ml porovnávacího roztoku (a). Na chromatogramu jsou tři oddělené píky. Nastříkne se 0,1 ml zkoušeného roztoku a 0,1 ml porovnávacího roztoku (b). Z průměrných hodnot získaných s porovnávacími roztoky se sestrojí kalibrační křivka a koncentrace octanu ve zkoušeném roztoku se odečte z kalibrační křivky. Měří se plocha píku octanu. Vypočítá se obsah octanů v procentech podle vzorce:

$$\frac{c \cdot 26,0 \cdot 10^{-3} \cdot 100}{m},$$

v němž značí:

- c* - koncentraci octanů ve zkoušeném roztoku (µg/ml) stanovenou lineární interpolací z kalibrační křivky sestrojené z hodnot pro porovnávací roztok (b),
- m* - navážku vzorku (mg).

**Příbuzné látky.** Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 25,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fázi A na 100,0 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 20,0 mg *disodné soli olsalazinu pro test způsobilosti CRL* se rozpustí v mobilní fázi A a zředí se jí na 25,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4,0 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1 ml/min a s následujícím gradientovým programem:
  - *mobilní fáze A* - 2,38 g *tetrabutylamoniumhydrogensulfátu R* a 3,6 g *hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 7,6 a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. 700 ml tohoto roztoku se smíchá s 300 ml *methanolu R*,
  - *mobilní fáze B* - 4,75 g *tetrabutylamoniumhydrogensulfátu R* a 3,6 g *hydrogenfosforečnanu sodného dihydrátu R* se rozpustí v 900 ml *vody R*, pH se upraví *hydroxidem sodným zředěným RS* na hodnotu 7,6 a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml. 350 ml tohoto roztoku se smíchá se 650 ml *methanolu R*,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	55	45	izokraticky
15 - 45	55 → 0	45 → 100	lineární gradient
45 - 50	0 → 55	100 → 45	přepnutí na původní podmínky
50 - 65	55	45	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 360 nm.

Teplota kolony se udržuje na 30 °C.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a), citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže získaný chromatogram odpovídá chromatogramu *disodné soli olsalazinu pro test způsobilosti CRL*. Je-li třeba, upraví se podíl mobilní fáze A (s vyšším podílem mobilní fáze A se zvyšuje retenční čas).

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %), a plocha pouze jednoho z těchto píků je větší než plocha 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) (2 %). Nepřehlídí se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**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 2,0 %; 1,000 g se suší v sušárně při 150 °C.

## Stanovení obsahu

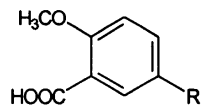
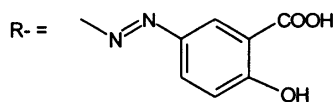
0,100 g se rozpustí v 15 ml *ethylenglykolu R*. Přidá se 40 ml *dioxanu R*, 0,2 ml roztoku *chloridu draselného R* (224 g/l) a titruje se *kyselinou chlorovodíkovou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Proveďte se slepá zkouška. Nalezená spotřeba se upraví podle obsahu octanů. Molekulová hmotnost octanu je 59,0.

1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* odpovídá 17,31 mg C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>6</sub>.

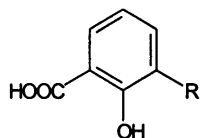
## Uchovávání

Separandum.

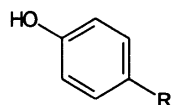
## Nečistoty



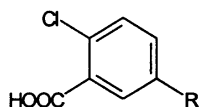
A. kyselina 4-hydroxy-4'-methoxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,



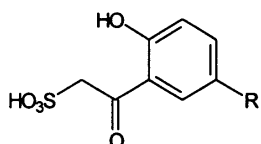
B. kyselina 2',4-dihydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,



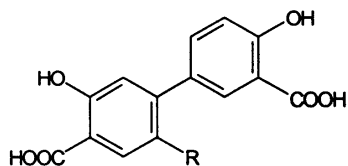
C. kyselina 4,4'-dihydroxyazobenzen-3-karboxylová,



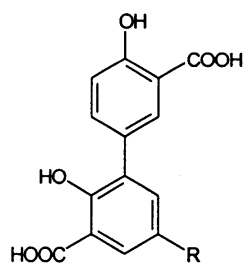
D. kyselina 4'-chlor-4-hydroxyazobenzen-3,3'-dikarboxylová,



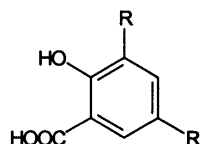
E. kyselina 4,4'-dihydroxy-3'-(2-sulfoacetyl)azobenzen-3-karboxylová,



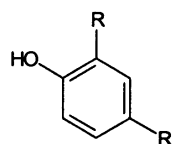
F. kyselina 4,4'-dihydroxy-2'-(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azobenzen-3,5'-dikarboxylová,



G. kyselina 4,4'-dihydroxy-3'--(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azobenzen-3,5'-dikarboxylová,



H. kyselina 4,4'-dihydroxy-3'--[(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azo]azobenzen-3,5'-dikarboxylová,



I. kyselina 4,4'-dihydroxy-3'--[(4-hydroxy-3-karboxyfenyl)azo]azobenzen-3-karboxylová.

66

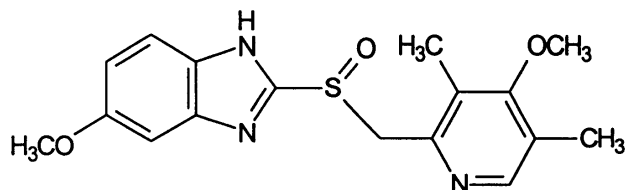
152. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Omeprazolium zní:

”

## † Omeprazolium

Omeprazol

2000



$C_{17}H_{19}N_3O_3S$

$M_r$  345,42

CAS 73590-58-6

Je to (*RS*)-5-methoxy-2-[[[4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfinyl]-1*H*-benzimidazol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v lihu 96% a v methanolu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

### Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: 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) polohou a velikostí odpovídá hlavní skvrně 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 % *omeprazolu nečistoty F* nebo *omeprazolu nečistoty G*).

**Omeprazol nečistota C.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC 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<sub>F</sub>* vyšším, než má skvrna odpovídající *omeprazolu*, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,1 %).

**Příbuzné látky.** Provede 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 *omeprazolu 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),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *hydrogenfosforečnanu sodného R* (1,4 g/l), jehož pH bylo předem upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 7,6; (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 je nejméně 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 přidavku. 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 síťovaného *poly[(kvanpropyl)(methyl)][(fenyl)(methyl)]siloxanu R*,
- *dušiku 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

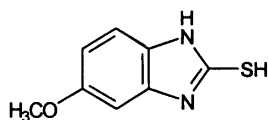
1,100 g se rozpustí ve směsi 10 ml *vody R* a 40 ml *lihu 96% R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS* odpovídá 0,1727 g  $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ .

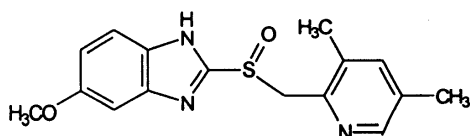
### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.  
Separandum.

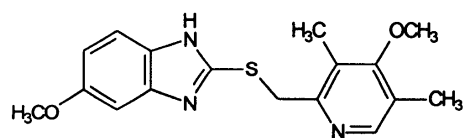
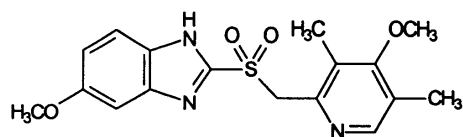
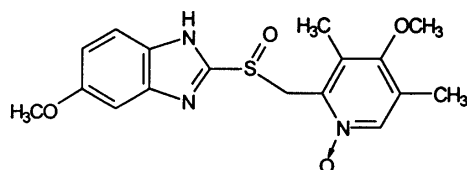
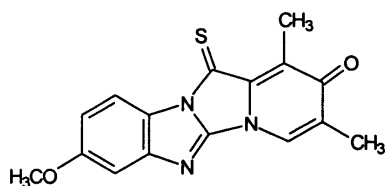
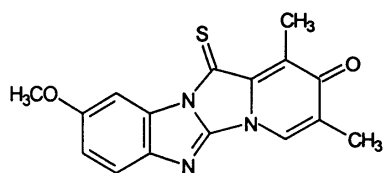
### Nečistoty



A. 5-methoxy-1H-benzimidazol-2-thiol,



B. 5-methoxy-2-[(3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfinyl-1H-benzimidazol,

C. 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]thio-1*H*-benzimidazol (ufiprazol),D. 5-methoxy-2-[(4-methoxy-3,5-dimethyl-2-pyridyl)methyl]sulfonyl-1*H*-benzimidazol (omeprazolsulfon),E. 4-methoxy-2-[(5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-yl)sulfinyl]methyl-3,5-dimethylpyridin-1-oxid,F. 2,12-dihydro-8-methoxy-1,3-dimethyl-12-thioxobenzo[4,5]pyrido[1,2-*c*]imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-on,G. 2,12-dihydro-9-methoxy-1,3-dimethyl-12-thioxobenzo[4,5]pyrido[1,2-*c*]imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-on.

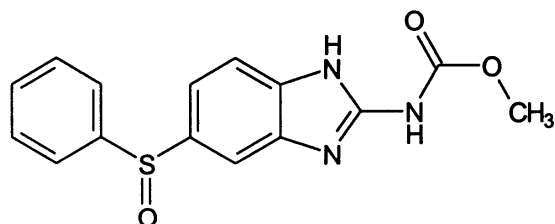
153. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Oxazepamum doplňuje článek Oxfendazolium ad usum veterinarium, který zní:

”

## † Oxfendazolium ad usum veterinarium

Oxfendazol pro veterinární použití

2000



$C_{15}H_{13}N_3O_3S$

$M_r$  315,35

CAS 53716-50-0

Je to methyl-(5-fenylsulfinyl-1H-benzimidazol-2-yl)karbamát. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_{15}H_{13}N_3O_3S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96% a v dichlormethanu. Vykazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *oxfendazolu pro veterinární použití CRL*. Pokud se 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.
- 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).

### Zkoušky na čistotu

- Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.
- Zkoušený roztok (a).** 25 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a ethylacetatu (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 5 ml.
- Zkoušený roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R a ethylacetatu R (1 + 4) na 100 ml.
- Porovnávací roztok (a).** 25 mg *oxfendazolu pro veterinární použití CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a ethylacetatu R (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 5 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R a ethylacetatu R (1 + 4) na 100 ml.
- Porovnávací roztok (b).** 5 mg *fenbendazolu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a ethylacetatu R (1 + 4) a zředí se stejnou směsí na 100 ml.
- Porovnávací roztok (c).** K 5 ml zkoušeného roztoku (b) se přidá 10 ml porovnávacího roztoku (b).

Na vrstvu se nanese odděleně po 20 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *ethylacetatu R* (5 + 95) 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 fenbendazolu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající fenbendazolu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) jsou dvě zřetelně oddělené hlavní skvrny.

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C při tlaku, nepřevyšujícím 0,7 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 3 ml *kyseliny mravenčí bezvodé R* a přidá se 40 ml *kyseliny octové bezvodé R*. Titruje se *kyseleinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

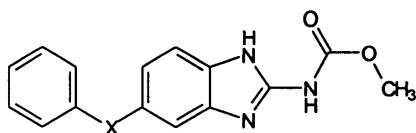
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 31,54 mg  $C_{15}H_{13}N_3O_3S$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

### Nečistoty



A. X = S: methyl-(5-fenylthio-1*H*-benzimidazol-2-yl)karbamát (fenbendazol),

B. X = SO<sub>2</sub>: methyl-(5-fenylsulfonyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)karbamát.

“

154. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Oxytocini solutio concentrata zní:

”

## † Oxytocini solutio

Roztok oxytocinu

*Synonymum.* Oxytocini solutio concentrata



2000

Je to roztok oxytocinu, cyklického nonapeptidu se strukturou hormonu produkovaného zadním lalokem hypofýzy. Stimuluje kontrakce dělohy a vylučování mléka u vnímavých savců. Získává se chemickou syntézou. Je dostupný jako nerozplněný roztok s deklarovanou koncentrací nejméně 0,25 mg oxytocinu v mililitru rozpouštědla, které může obsa-

hovat vhodnou protimikrobní konzervační přísadu. Obsahuje 95,0 % až 105,0 % množství peptidu  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$  deklarovaného v mililitru. 1 mg peptidu oxytocinu ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) odpovídá 600 m.j.

## Vlastnosti

Čirá bezbarvá kapalina.

## Zkouška totožnosti

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

Hodnota pH (2.2.3). 3,0 až 5,0.

**Aminokyseliny.** Stanoví se analyzátozem aminokyselin. Přístroj se nastaví směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenylalanin
kyselina asparagová	prolin	isoleucin	

a polovinu ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, např. *DL-norleucin R*.

**Zkoušený roztok.** Množství přípravku odpovídající 0,25 mg peptidu se převede do pečlivě vymyté zkumavky z tvrzeného skla délky 100 mm a vnitřního průměru 6 mm. Odpaří se do sucha. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R 50 % (V/V)*. Zkumavka se vloží do mrazicí směsi při  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , vytvoří se podtlak nepřevyšující 133 Pa a zataví se. Poté se 16 h zahřívá na  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$  až  $115\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Zkumavka se po ochlazení otevře a její obsah se převede do 10ml baňky pomocí pěti dávek *vody R* po 0,2 ml. Odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Zbytek se rozpustí ve *vodě R* a odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Tento postup se ještě jednou opakuje. Zbytek se rozpustí v tlumivém roztoku vhodném pro použití analyzátor aminokyselin a zředí se stejným rozpouštědlem na vhodný objem.

Do analyzátoru aminokyselin se přesně odměří vhodné množství zkoušeného roztoku tak, aby píky aminokyselin přítomných v největších množstvích zaujímaly většinu stupnice záznamu.

Obsah jednotlivých aminokyselin se vyjádří v molech. Relativní zastoupení aminokyselin se vypočítá z předpokladu, že jedna šestina součtu molů kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, prolinu, glycinu, isoleucinu a leucinu se rovná 1. Hodnoty pro jednotlivé aminokyseliny jsou v těchto rozmezích: kyselina asparagová 0,95 až 1,05; kyselina glutamová 0,95 až 1,05; prolin 0,95 až 1,05; glycin 0,95 až 1,05; leucin 0,90 až 1,10; isoleucin 0,90 až 1,10; tyrosin 0,7 až 1,05; polovina cystinu 1,4 až 2,1. Ostatní aminokyseliny jsou přítomny jen ve stopách.

**Příbuzné peptidy.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) za použití postupu popsaného ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 50  $\mu\text{l}$  zkoušeného roztoku. Na získaném chromatogramu není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 1,5 % celkové plochy piků; součet ploch všech piků, kromě hlavního píku, není větší než 5 % celkové plochy piků. Nepřihlíží se k pikům rozpouštědla a k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1 % plochy hlavního píku.

**Sterilita (2.6.1).** Pokud je přípravek určen k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Pokud je přípravek určen k výrobě parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího bakteriální endotoxiny, vyhovuje zkoušce na bakteriální endotoxiny, obsahuje-li nejvýše 300 m.j. endotoxinu v miligramu oxytocinu.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Použije se zkoušený přípravek.

**Porovnávací roztok.** Obsah lahvičky oxytocinu CRL se rozpustí v roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného R (15,6 g/l) se zředí jím na 20,0 ml.

**Roztok pro rozlišení.** Obsah lahvičky oxytocin/desmopressinu pro validaci CRL se rozpustí v 500 µl roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného R (15,6 g/l).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 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 - roztok dihydrogenfosforečnanu sodného R (15,6 g/l),
  - mobilní fáze B - směs stejných objemových dílů acetonitrilu R a vody R,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	70 → 40	30 → 60	lineární gradient
30 - 30,1	40 → 70	60 → 30	návrat k počátečním podmínkám
30,1 - 45	70	30	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy směsí objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (30 + 70).

Nastříkne se 25 µl roztoku pro rozlišení. Při dodržení předepsaných podmínek jsou retenční časy: oxytocinu asi 7,5 min; desmopressinu asi 10 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky desmopressinu a oxytocinu nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 25 µl porovnávacího roztoku a 25 µl zkoušeného roztoku. Obsah oxytocinu ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) se vypočítá z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a po-rovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$  v oxytocinu CRL.

### Uchovávání

Chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li přípravek sterilní, uchovává se ve sterilním vzduchotěsném zabezpečeném obalu.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah peptidu oxytocinu v miligramech sloučeniny  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$  v mililitru,
- zda je přípravek sterilní,
- zda je přípravek prostý bakteriálních endotoxinů,
- název protimikrobní konzervační přísady.

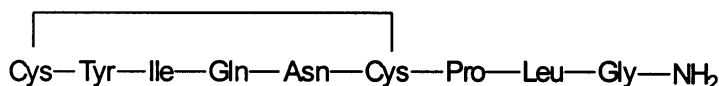
155. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Oxytocinum zní:

”

## † Oxytocinum

Oxytocin

2000



$\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2$

$M_r$  1007,19

CAS 50-56-6

Je to cyklický nonapeptid se strukturou hormonu produkovaného zadním lalokem hypofýzy. Stimuluje kontrakce dělohy a vylučování mléka u vnímavých savců. Získává se chemickou syntézou a je dostupný v lyofilizované formě jako octan. Počítáno na bezvodou a kyseliny octové prostou látku, obsahuje 93,0 % až 102,0 % peptidu  $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2$ . 1 mg peptidu oxytocinu ( $\text{C}_{43}\text{H}_{66}\text{N}_{12}\text{O}_{12}\text{S}_2$ ) odpovídá 600 m.j.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý hygroskopický prášek. Je velmi snadno rozpustný ve vodě a ve zředěných roztocích kyseliny octové a v ethanolu.

### Zkouška totožnosti

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

**Hodnota pH** (2.2.3). 3,0 až 6,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,200 g ve vodě prosté oxidu uhličitého *R* a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

**Aminokyseliny.** Stanoví se analyzátozem aminokyselin. Přístroj se nastaví směsí obsahující ekvimolární množství amoniaku, glycinu a L-forem následujících aminokyselin:

lysin	threonin	alanin	leucin
histidin	serin	valin	tyrosin
arginin	kyselina glutamová	methionin	fenylalanin
kyselina asparagová	prolin	isoleucin	

a polovinu ekvimolárního množství L-cystinu. K validaci metody se použije vhodný vnitřní standard, např. *DL-norleucin R*.

**Zkoušený roztok.** 1,0 mg se naváží do pečlivě vymyté zkumavky z tvrzeného skla délky 100 mm a vnitřního průměru 6 mm. Přidá se vhodné množství roztoku *kyseliny chlorovodíkové R* 50 % (V/V). Zkumavka se vloží do mrazicí směsi při  $-5\text{ }^\circ\text{C}$ , vytvoří se podtlak nepřevyšující 133 Pa a zataví se. Poté se 16 h zahřívá na  $110\text{ }^\circ\text{C}$  až  $115\text{ }^\circ\text{C}$ . Zkumavka se po ochlazení otevře a její obsah se převede do 10ml baňky pomocí pěti dávek *vody R* po 0,2 ml. Odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Zbytek se rozpustí ve vodě *R* a odpaří se do sucha za sníženého tlaku nad *hydroxidem draselným R*. Tento postup se ještě jednou opakuje. Zbytek se rozpustí v tlumivém roztoku vhodném pro použitý analyzátor aminokyselin a zředí se stejným rozpouštědlem na vhodný objem.

Do analyzátoru aminokyselin se přesně odměří vhodné množství zkoušeného roztoku tak, aby píky aminokyselin přítomných v největších množstvích zaujímaly většinu stupnice záznamu.

Obsah jednotlivých aminokyselin se vyjádří v molech. Relativní zastoupení aminokyselin se vypočítá z předpokladu, že jedna šestina součtu molů kyseliny asparagové, kyseliny glutamové, prolinu, glycinu, isoleucinu a leucinu se rovná 1. Hodnoty pro jednotlivé aminokyseliny jsou v těchto rozmezích: kyselina asparagová 0,95 až 1,05; kyselina glutamová 0,95 až 1,05; prolin 0,95 až 1,05; glycin 0,95 až 1,05; leucin 0,90 až 1,10; isoleucin 0,90 až 1,10; tyrosin 0,7 až 1,05; polovina cystinu 1,4 až 2,1. Ostatní aminokyseliny jsou přítomny jen ve stopách.

**Příbuzné peptidy.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29) za použití postupu popsaného ve Stanovení obsahu.

Nastříkne se 50 µl zkoušeného roztoku. Na získaném chromatogramu není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než 1,5 % celkové plochy píků; součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než 5 % celkové plochy píků. Nepřihlíží se k píkům rozpouštědla a k píkům, jejichž plocha je menší než 0,1 % plochy hlavního píku.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 5,0 %; stanoví se s nejméně 50 mg zkoušené látky.

**Kyselina octová.** 6,0 % až 10,0 %; stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28) za použití *dioxanu R* jako vnitřního standardu.

*Zkoušený roztok (a).* 20,0 mg se rozpustí v 1,0 ml *vody R*.

*Zkoušený roztok (b).* 20,0 mg se rozpustí v 1,0 ml *vody R* a přidá se 10 µl *dioxanu R*.

*Porovnávací roztok.* 1,0 mg *kyseliny octové ledové R* se rozpustí v 1,0 ml *vody R* a přidá se 10 µl *dioxanu R*.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- skleněné kolony délky 2 m a vnitřního průměru 2 mm naplněné *ethylvinylbenzen-divinylbenzen kopolymerem R* (125 µm až 180 µm),
- *dusíku pro chromatografii R* jako nosného plynu,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 150 °C, detektoru na 200 °C a injektoru na 180 °C.

Nastříkne se 0,5 µl každého roztoku. Vypočítá se obsah kyseliny octové v oxytocinu.

**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 300 m.j. endotoxinu v miligramu.

## Stanovení obsahu

Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* Připraví se roztok zkoušené látky v roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l) tak, aby v mililitru obsahoval 0,25 mg oxytocinu.

*Porovnávací roztok.* Obsah lahvičky *oxytocinu CRL* se rozpustí v roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l) se zředí jím na 20,0 ml.

*Roztok pro rozlišení.* Obsah lahvičky *oxytocin/desmopressinu pro validaci CRL* se rozpustí v 500 µl roztoku *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l).

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,12 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* - roztok *dihydrogenfosforečnanu sodného R* (15,6 g/l),
  - *mobilní fáze B* - směs stejných objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R*,



Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 30	70 → 40	30 → 60	lineární gradient
30 - 30,1	40 → 70	60 → 30	návrat k počátečním podmínkám
30,1 - 45	70	30	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 220 nm.

Kolona se promývá do ustavení rovnováhy směsí objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (30 + 70).

Nastříkne se 25 µl roztoku pro rozlišení. Při dodržení předepsaných podmínek jsou retenční časy: oxytocinu asi 7,5 min; desmopressinu asi 10 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže je rozlišení mezi píky desmopressinu a oxytocinu nejméně 5,0.

Nastříkne se odděleně 25 µl porovnávacího roztoku a 25 µl zkoušeného roztoku. Obsah oxytocinu ( $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ ) se vypočítá z ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku a z deklarovaného obsahu  $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$  v *oxytocinu CRL*.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsném obalu, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C. Je-li látka sterilní, uchovává se ve sterilním vzduchotěsném zabezpečeném obalu.

Separandum.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- obsah peptidu oxytocinu ( $C_{43}H_{66}O_{12}S_2$ ),
- zda je látka sterilní,
- zda je látka prosta bakteriálních endotoxinů.

“

156. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Parnaparinum natricum* doplňují články *Passiflorae herba*, *Pefloxacini mesilas dihydricus* a *Penbutololi sulfas*, které znějí:

”

## Passiflorae herba

Mučenková nať

*Synonymum*. Herba passiflorae

2000



Je to rozlámaná nebo řezaná usušená nadzemní část druhu *Passiflora incarnata* L., může také obsahovat květy a/nebo plody.

Obsahuje nejméně 1,5 % flavonoidů, počítáno jako vitexin ( $C_{21}H_{20}O_{10}$ ;  $M_r$  432,4), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Zelený až zelenošedý nebo nahnědlý stoněk je dřevnatý, dutý, podélně rýhovaný, lysý nebo roztroušeně chlupatý, obvykle o průměru méně než 8 mm. Listy zelené nebo zelenohnědé, střídavé, jemně zubaté a chlupaté, hluboce dělené do tří špičatých laloků, střední lalok je největší. Hlavní žilka na spodní straně listu silně vyniklá. Řapík chlupatý, v blízkosti čepele se dvěma tmavě zbarvenými nektarii. Četné úponky vyrůstají v paždí listů, jsou jemné, hladké, na průřezu okrouhlé, na konci spirálovitě stočené. Květy (jsou-li přítomné v droze) jsou paprscité, se třemi malými listenci a pěti bílými, protáhlými lístky korunními a s několika řadami nitkovitých petaloidních přívěšků (korunka). Plody (jsou-li přítomné v droze) jsou nazelenalé až nahnědlé, zploštělé, oválné, uvnitř s několika zploštělými hnědožlutými, tečkovanými semeny.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je světle zelený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Droga je charakteristická těmito znaky: úlomky pokožky listu s buňkami se stěnami zprohýbanými a s anomocytickými průduchy (2.8.3); četné drúzy šťavelanu vápenatého jednotlivé nebo uspořádané podél žilnatin; četná vlákna stonku jednotlivá nebo ve skupinách provázená tečkovanými cévami a cévicemi; jednobuněčné až tříbuněčné, jednořadé, tenkostěnné, přímé nebo lehce zakřivené chlupy, na konci zašpičatělé nebo někdy hákovitě zahnuté. Jsou-li v droze přítomné květy, je patrná papilózní pokožka koruny a korunky a pylová zrna se síťovitou exinou; jsou-li v droze přítomny zralé plody jsou patrné roztroušené hnědě zbarvené tříslouvné buňky a hnědožluté tečkované úlomky osemení.

C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce, Jiné druhy rodu *Passiflora*, viz Zkoušky na čistotu.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku je v poloze pod skvrnou rutinu na chromatogramu porovnávacího roztoku intenzivně žlutě fluoreskující skvrna a nad ní skvrna fluoreskující zeleně (diglykosylflavon), pod skvrnou odpovídající hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku je žlutě fluoreskující skvrna (isorientin) a nad ní zeleně fluoreskující skvrna (isovitexin). Nad skvrnou odpovídající hyperosidu na chromatogramu porovnávacího roztoku je hnědožlutě fluoreskující skvrna (orientin) a nad ní zeleně fluoreskující skvrna (vitexin). Dvě posledně jmenované skvrny mohou být nepřítomné. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být patrné další skvrny.

### Zkoušky na čistotu

Cizí příměsi (2.8.2). Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi.

**Jiné druhy rodu *Passiflora*.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 1,0 g práškové drogy (355) se smíchá s 5 ml methanolu R a vaří se 10 min pod zpětným chladičem. Po ochlazení se zfiltruje.

**Porovnávací roztok.** 2,0 mg rutinu R a 2,0 mg hyperosidu R se zahřátím rozpustí v 10 ml methanolu R.

Na vrstvu se odděleně nanese do pruhů po 10 µl každého roztoku. Vytvoří se směs objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé R, vody R, 2-butanonu R a ethylacetátu R (10 + 10 + 30 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem difenylboryloxyethylaminu 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 pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině žlutohnědě fluoreskující skvrna (rutin), ve střední třetině žlutohnědě fluoreskující skvrna (hyperosid). Na chromatogramu zkoušeného roztoku nejsou intenzivní zelenožluté nebo oranžovožluté fluoreskující skvrny mezi skvrnami odpovídajícími diglykosylflavonům a isoorientinu (*P. coerulea* a *P. edulis*).

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 13,0 %.

**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.

### Stanovení obsahu

**Základní roztok.** 0,200 g práškové drogy (250) se ve 100ml baňce s kulatým dnem smíchá se 40 ml lihu R 60% (V/V) a za častého protřepávání se zahřívá 30 min pod zpětným chladičem ve vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se zfiltruje přes chomáček vaty do 100ml baňky. Chomáček vaty se zbytkem drogy se převede zpět do baňky s kulatým dnem. Přidá se 40 ml lihu R 60% (V/V) a opět se zahřívá 10 min pod zpětným chladičem ve vodní lázni při 60 °C. Po ochlazení se směs a první filtrát ze 100ml baňky zfiltrují papírovým filtrem do 100ml odměrné baňky. Varná baňka, 100ml baňka i filtr se promyjí lihem R 60% (V/V) a promývací tekutina se přidá do odměrné baňky, spojené roztoky se zředí lihem R 60% (V/V) na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok.** 5,0 ml základního roztoku se odpaří v baňce za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 10 ml směsi objemových dílů methanolu R a kyseliny octové ledové R (10 + 100). Přidá se 10 ml směsi obsahující roztok kyseliny borité R (25,0 g/l) a roztok kyseliny šťavelové R (20,0 g/l) v kyselině mravenčí bezvodé R a zředí se kyselinou octovou bezvodou R na 25,0 ml.

**Kontrolní roztok.** 5,0 ml základního roztoku se odpaří ve druhé baňce za sníženého tlaku do sucha. Zbytek se rozpustí v 10 ml směsi objemových dílů methanolu R a kyseliny octové ledové R (10 + 100) a převede se do 25ml odměrné baňky. Přidá se 10 ml kyseliny mravenčí bezvodé R a zředí se kyselinou octovou bezvodou R na 25,0 ml.

Po 30 min se měří absorbance (2.2.25) zkoušeného roztoku při 401 nm proti kontrolnímu roztoku.

Obsah celkových flavonoidů v procentech, vyjádřeno jako vitexin (C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>O<sub>10</sub>), se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{A \cdot 0,8}{m},$$

v němž značí:

*A* - absorbanci zkoušeného roztoku při 401 nm,

*m* - hmotnost zkoušené drogy v gramech.

Specifická absorbance vitexinu má hodnotu 628.

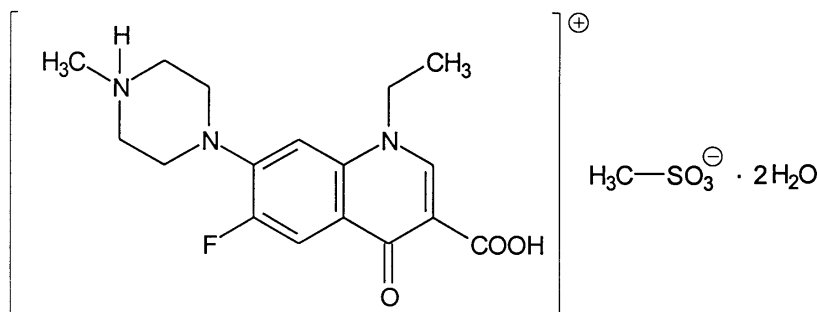
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněna před světlem.

† **Pefloxacini mesilas dihydricus**

Dihydrát pefloxaciniummesilatu

2000

 $C_{18}H_{24}FN_3O_6S \cdot 2H_2O$  $M_r$  465,50  
 $M_r$  bezvodého 429,47

CAS 70458-95-6

Je to dihydrát 4-(1-ethyl-6-fluor-3-karboxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-7-yl)-1-methylpiperaziniummethansulfonatu. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,5 % sloučeniny  $C_{18}H_{24}FN_3O_6S$ .

**Vlastnosti**

Jemný bílý nebo téměř bílý prášek. Je snadno rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v dichlormethanu.

**Zkoušky totožnosti**

**A.** Odděleně se rozpustí 0,1 g zkoušené látky a 0,1 g dihydrátu pefloxaciniummesilatu CRL v 10 ml vody R. Přidá se 5 ml hydroxidu sodného 1 mol/l RS, pH roztoku se upraví kyselinou fosforečnou R na hodnotu  $7,4 \pm 0,1$  a protřepe se dvakrát 30 ml dichlormethanu R. Organické vrstvy se spojí, vysuší se nad síranem sodným bezvodým R, a odpaří se do sucha. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zbytku zkoušené látky se shoduje se spektrem zbytku dihydrátu pefloxaciniummesilatu CRL. Měří se tablety připravené ze zbytků po odpaření za použití bromidu draselného R.

**B.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 40 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 1 ml.

*Porovnávací roztok.* 60 mg kyseliny methansulfonové R se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10 ml.

Na vrstvu se nanese po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů vody R, amoniaku 17,5% RS, 1-butanolu R a acetonu R (5 + 10 + 20 + 65) po dráze 15 cm.

Vrstva se usuší na vzduchu, pak se postříká roztokem červeně bromkresolové R (0,4 g/l) v lihu R (50% V/V), jehož pH bylo upraveno hydroxidem sodným 1 mol/l RS na hodnotu 10.

Skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídá polohou, zbarvením a velikostí skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Zkoušky na čistotu**

**Roztok S.** 1,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 10,0 ml.

**Vzhled roztoku (2.2.1).** Roztok S hodinu po přípravě neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než nejpodobnější porovnávací barevný roztok intenzity 3 (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH (2.2.3).** 3,5 až 4,5; měří se roztok připravený zředěním 1 ml roztoku S vodou prostou oxidu uhličitého R na 10,0 ml.

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 20,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 mg *pefloxacinu nečistoty B CRL* a 25,0 mg *pefloxacinu nečistoty C CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí mobilní fází na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 10,0 mg *norfloxacinu nečistoty A CRL* (odpovídá *pefloxacinu nečistotě F*) 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 0,15 m a vnitřního průměru 6 mm naplněné *vinyl-polymerem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R*, roztoku *cetrimoniumbromidu R* (2,70 g/l) a *kyseliny borité R* (6,18 g/l), jehož pH bylo přesně upraveno *hydroxidem sodným 1 mol/l RS* na hodnotu 8,30 a *thiodiethylen-glykolu R* (30 + 70 + 0,2); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 258 nm a 273 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a) a zaznamená se chromatogram při vlnové délce 273 nm. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky nečistot B a C je nejméně 1,5.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy zkoušeného roztoku se zaznamenávají při 258 nm a při 273 nm po dobu odpovídající čtyřnásobku retenčního času pefloxacinu (asi 60 min). Zaznamenají se chromatogramy porovnávacího roztoku (b) při 258 nm. Při zaznamenávání chromatogramů za předepsaných podmínek, lze určit relativní retenční časy podle následující tabulky:

**Tab. 1.**

	Přibližný relativní retenční čas	Korekční faktor
Nečistota E	0,2	-
Nečistota D	0,3	-
Nečistota A	0,5	-
Nečistota G	0,8	1,4
Pefloxacin	1	-
Nečistota C	1,7	2,4
Nečistota B	1,8	-
Nečistota H	2,4	1,8
Nečistota F	3,5	1,0

Z chromatogramu zkoušeného roztoku získaného při 258 nm se vypočítá obsah nečistot C, F, G a H v procentech za použití plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (metoda vnějšího standardu) získaného při 258 nm a příslušných korekčních faktorů uvedených v tabulce.

Z chromatogramu zkoušeného roztoku získaného při 273 nm se vypočítá obsah nečistot A, B, D a E a neznámých nečistot v procentech za použití ploch píků obvyklým postupem (metodou normalizace). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,0005násobek plochy hlavního píku na chromatogramu zkoušeného roztoku.

Obsah žádné z nečistot není vyšší než 0,5 % a nejvýše tři nečistoty mohou být zastoupeny v množství mezi 0,2 % a 0,5 %. Celkový obsah nečistot není vyšší než 1,0 %.

**Těžké kovy (2.4.8).** 0,250 g vyhovuje limitní zkoušce E na těžké kovy (10 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1,0 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** 7,0 % až 8,5 %; stanoví se s 50,0 mg zkoušené látky za použití směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 50) jako rozpouštědla.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

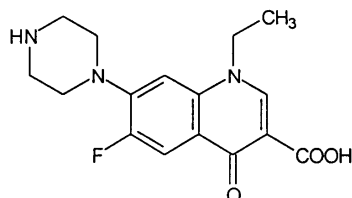
### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 15,0 ml *kyseliny octové bezvodé R*, přidá se 75,0 ml *acetanhydridu R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

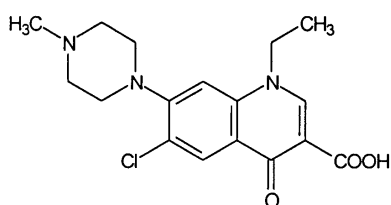
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 21,48 mg C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>6</sub>S.

**Uchovávání**

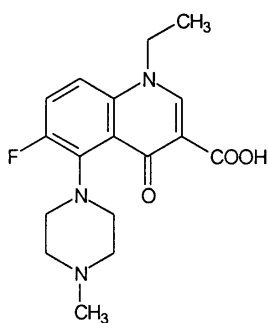
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

**Nečistoty**

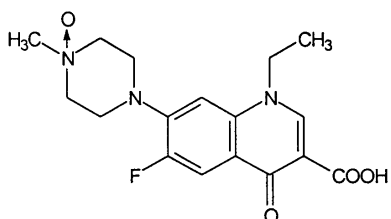
A. kyselina 1-ethyl-6-fluor-4-oxo-7-(1-piperazinyl)-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová (demetylovaný pefloxacin neboli norfloxacin),



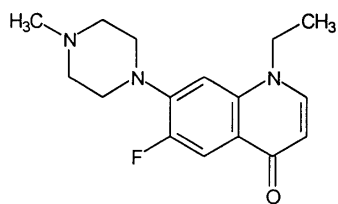
B. kyselina 1-ethyl-6-chlor-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová (chlorovaný analog pefloxacinu),



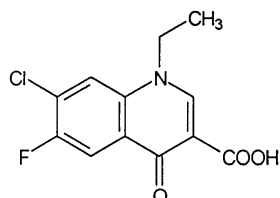
C. kyselina 1-ethyl-6-fluor-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová (isopefloxacin),



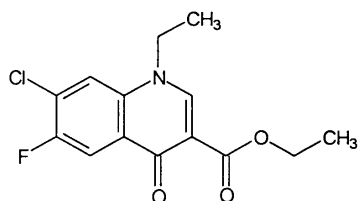
D. 4-(1-ethyl-6-fluor-3-karboxy-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-7-yl)-1-methylpiperazin-1-oxid (N-oxid pefloxacinu),



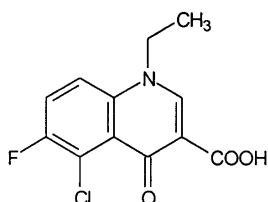
E. 1-ethyl-6-fluor-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-1,4-dihydrochinolin-4-on (dekarboxylovaný pefloxacin),



F. kyselina 7-chlor-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová (N-ethylkyselina) (*norfloxacin nečistota A*),



G. ethyl-7-chlor-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylat (N-ethylester),

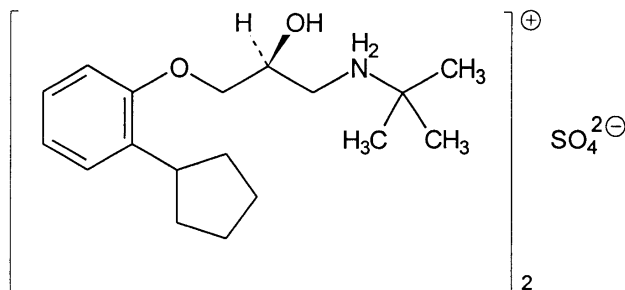


H. kyselina 5-chlor-1-ethyl-6-fluor-4-oxo-1,4-dihydrochinolin-3-karboxylová (iso-N-ethylkyselina).

## † Penbutololi sulfas

Penbutololiumsulfat

2000

 $C_{36}H_{60}N_2O_8S$  $M_r$  680,95

CAS 38363-32-5

Je to bis{[(2*S*)-3-(2-cyklopentylfenoxy)-2-hydroxypropyl]terc.butylamonium}sulfat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{36}H_{60}N_2O_8S$ .

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je těžce rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v methanolu, prakticky nerozpustný v cyklohexanu.

**Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A, C 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 *penbutololiumsulfatu CRL*.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 40 mg se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok.* 40 mg *penbutololiumsulfatu CRL* se rozpustí v 1 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R*, *1-butanolu R* a *ethylacetatu R* (10 + 20 + 35 + 35) 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.

C. 50 mg se rozpustí ve směsi 5 ml *vody R* a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*. Roztok vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

D. Zkouška Specifická optická otáčivost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

**Zkoušky na čistotu**

*Roztok S.* 1,00 g se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 20,0 ml.

*Kysele nebo zásaditě reagující látky.* Ke 4 ml roztoku S se přidají 4 ml *vody prosté oxidu uhličitého R*. 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.

*Specifická optická otáčivost* (2.2.7).  $-23^\circ$  až  $-25^\circ$ , počítáno na vysušenou látku; měří se roztok S.

*Příbuzné látky.* Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).



**Zkoušený roztok.** 40,0 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (40 + 60) a zředí se jí na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 4,0 mg zkoušené látky a 1,0 mg *penbutololu nečistoty A CRL* se rozpustí v 5,0 ml směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (40 + 60).

**Porovnávací roztok (b).** 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (40 + 60) na 200,0 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 1,0 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí směsí objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (40 + 60) na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 5,0 mg *penbutololu nečistoty A CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů mobilní fáze B a mobilní fáze A (40 + 60) a zředí se jí na 50,0 ml. 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejnou 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 *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),

- mobilní fáze s průtokovou rychlostí 1,0 ml/min:

- *mobilní fáze A* - smíchají se objemové díly *acetonitrilu pro chromatografii R* a *methanolu R* (39 + 61),

- *mobilní fáze B* - 11 g *heptansulfonanu sodného R* se rozpustí v 1000 ml *vody R*, přidá se 5,0 ml *triethylaminu R* a pH se upraví *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,7,

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	60	40	izokraticky
15 - 35	60 → 80	40 → 20	lineární gradient
35 - 36	80 → 60	20 → 40	lineární gradient

- spektrofotometrického detektoru, 270 nm.

Nastříkne se 10 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška druhého píku (*penbutolol*) byla nejméně 20 % celé stupnice zapisovače. Rozlišení mezi dvěma hlavními píky je nejméně 6,0.

Nastříkne se po 10 µl všech dalších roztoků. Na chromatogramu zkoušeného roztoku: plocha žádného píku odpovídajícího nečistotě A není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku nečistoty A, 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).

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce F 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).** 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

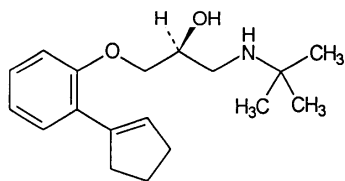
0,500 g se rozpustí ve 40 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se *kyselinou chloristou 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence.

1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 68,10 mg C<sub>36</sub>H<sub>60</sub>N<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S.

## Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

**Nečistoty**

A. (2*S*)-1-[2-(1-cyklopenten-1-yl)fenoxy]-3-terc.butylamino-2-propanol.

“

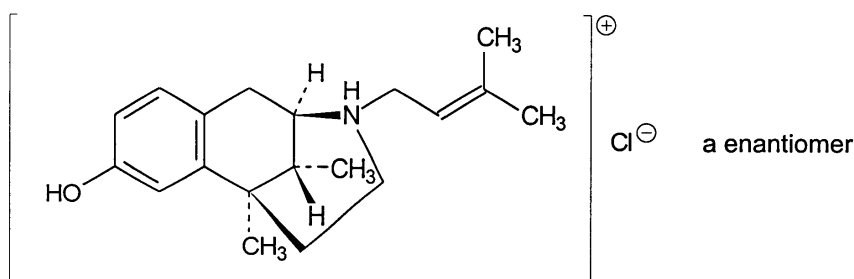
157. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Pentamidini diisetionas doplňují články Pentazocini hydrochloridum a Pentazocinum, které znějí:

”

**§† Pentazocini hydrochloridum**

Pentazociniumchlorid

2000

C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>ClNOM<sub>r</sub> 321,89

CAS 64024-15-3

Je to (2*RS*,6*RS*,11*RS*)-8-hydroxy-6,11-dimethyl-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazociniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>ClNO.

**Vlastnosti**

Bílý nebo téměř bílý prášek, mírně rozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a mírně rozpustný v dichlor-methanu.

Vykazuje polymorfismus.

## Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. pentazocinium-chloridu.
- B. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 6,0; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,1 g v 10 ml vody prostě oxidu uhličitého R.

**Absorbance** (2.2.25). 0,100 g se rozpustí ve směsi 20 ml vody R a 1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml. Specifická absorbance v maximu při 278 nm je 0,59 až 0,63, počítáno na vysušenou látku.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27), za použití desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R.

**Zkoušený roztok.** 0,20 g se rozpustí ve 3 ml methanolu R a zředí se dichlormethanem R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1 ml zkoušeného roztoku se zředí dichlormethanem R na 100 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí dichlormethanem R na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů isopropylaminu R, methanolu R a dichlormethanu R (3 + 3 + 94) po dráze odpovídající 2/3 délky chromatografické desky. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Vrstva se zahřívá 15 min při 100 °C až 105 °C, po ochlazení se vystaví působení jodových par a opět se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Při obou pozorováních: žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a nejvýše čtyři takové skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,25 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

**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 32,19 mg C<sub>19</sub>H<sub>28</sub>ClNO.

## Uchovávání

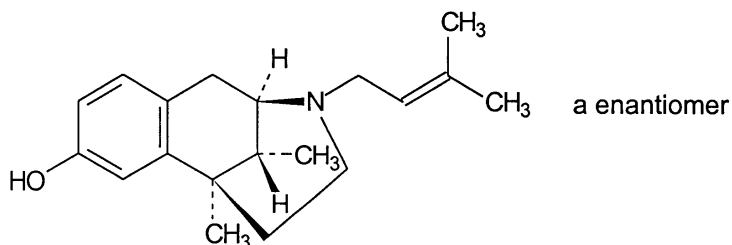
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

## §† Pentazocinum

Pentazocin

2000

C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NOM<sub>r</sub> 285,41

CAS 359-83-1

Je to (2*RS*,6*RS*,11*RS*)-6,11-dimethyl-3-(3-methyl-2-butenyl)-1,2,3,4,5,6-hexahydro-2,6-methano-3-benzazocin-8-ol. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v lihu 96% a snadno rozpustný v dichlormethanu.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje s referenčním spektrem *Ph. Eur. pentazocinu (forma A)*.

### Zkoušky na čistotu

**Absorbance** (2.2.25). 0,100 g se rozpustí ve směsi 20 ml vody R a 1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml. K 10,0 ml tohoto roztoku se přidá 1 ml kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS a zředí se vodou R na 100,0 ml. Specifická absorbance v maximu při 278 nm je 0,67 až 0,71, počítáno na vysušenou látku.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R.

*Zkoušený roztok.* 0,20 g se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1 ml zkoušeného roztoku se zředí dichlormethanem R na 100 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí dichlormethanem R na 10 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 5 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí dichlormethanem R na 20 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *isopropylaminu R, methanolu R* a *dichlormethanu R* (3 + 3 + 94) po dráze odpovídající 2/3 výšky chromatografické desky. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Vrstva se zahřívá 15 min při 100 °C až 105 °C, po ochlazení se vystaví působení jodových par a opět se pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm. Při obou pozorováních: žádná skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku, kromě hlavní skvrny, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a nejvýše čtyři takové skvrny jsou intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,25 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 0,5 %; 1,000 g se suší 4 h při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 0,7 kPa.

**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* 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 28,54 mg C<sub>19</sub>H<sub>27</sub>NO.

**Uchovávání**

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

“

158. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Phenacetinum se zrušuje.

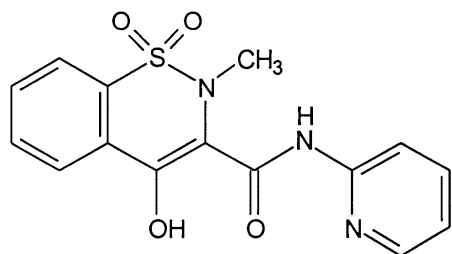
159. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Piroxicamum zní:

”

**† Piroxicamum**

Piroxikam

2000

C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>SM<sub>r</sub> 331,35

CAS 36322-90-4

Je to 4-hydroxy-2-methyl-3-[(2-pyridyl)aminokarbonyl]-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

**Vlastnosti**

Bílý nebo slabě žlutý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v ethanolu.

Vyazuje polymorfismus.

**Zkouška totožnosti**

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *piroxikamu CRL*. Tablety se připraví s bromidem draselným. Pokud se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená

látku i referenční látku v minimálním objemu *dichlor-methanu R*, odpaří se do sucha na vodní lázni a se zbytky se zaznamenají nová spektra.

### Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 75 mg se rozpustí, je-li třeba mírným zahřátím, v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *piroxikamu CRL* a 10 mg *piroxikamu nečistoty B CRL* se rozpustí v *acetonitrilu R* a zředí se jím na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *acetonitrilem R* na 10,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *acetonitrilem R* 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 oktadecylsilanizovaným deaktivovaným pro chromatografii bazických látek R* (5 μm),
- mobilní fáze, která je směsí objemových dílů *acetonitrilu R* a roztoku *dihydrogenfosforečnanu draselného R* (6,81 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 3,0 (40 + 60); průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 230 nm.

Teplota kolony se udržuje na 40 °C.

Nastříkne se po 20 μl každého roztoku. Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající pětinásobku retenčního času piroxikamu. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je rozlišení mezi oběma hlavními píky nejméně 3,0 a faktor symetrie píku piroxikamu je nejvýše 1,5.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha žádného píku, kromě hlavního píku, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %) a součet ploch těchto píků není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,4 %). Nepřihlíží se k pikům, jejichž plocha je menší než 0,1 násobek 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). 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 4 h ve 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 60 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 bodu ekvivalence (2.2.20).

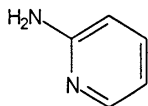
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 33,14 mg C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S.

### Uchovávání

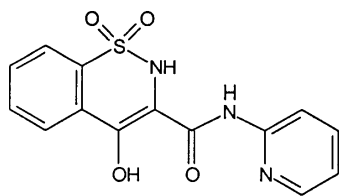
Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

Separandum.

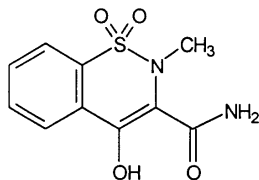
### Nečistoty



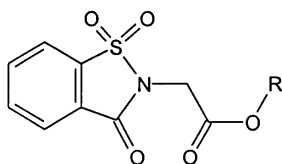
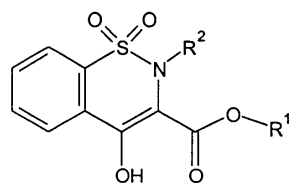
A. 2-pyridylamin,



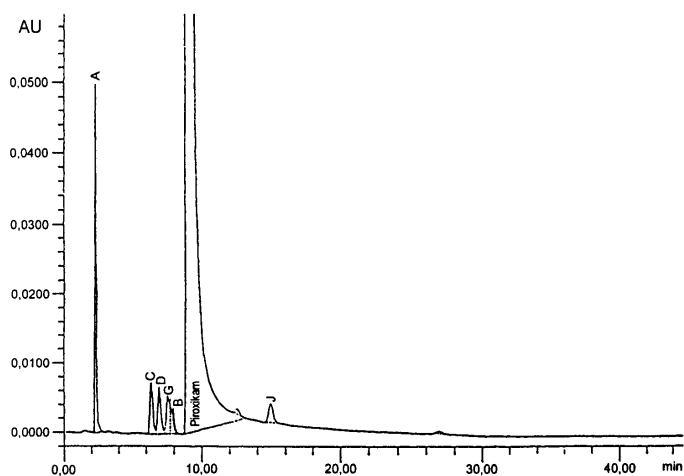
B. 4-hydroxy-3-[(2-pyridyl)aminokarbonyl]-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,



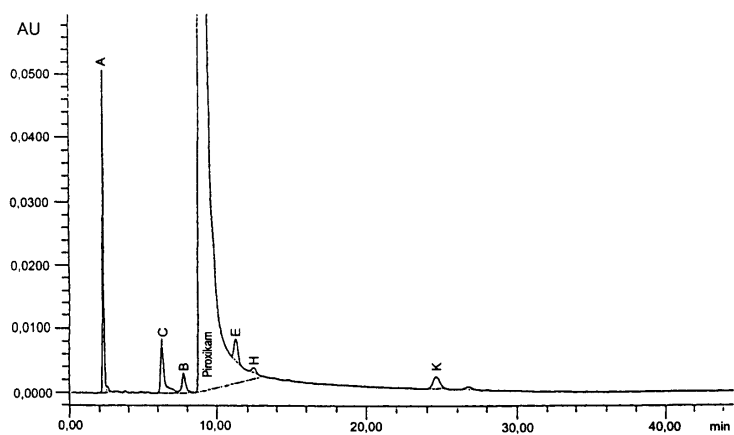
C. 4-hydroxy-3-karbamoyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,

D. R = CH<sub>3</sub>: 2-[(methoxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,E. R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>: 2-[(ethoxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,F. R = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>: 2-[(isopropyloxykarbonyl)methyl]-3-oxo-2,3-dihydro-1,2-benzisothiazol-1,1-dioxid,G. R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = H: 4-hydroxy-3-methoxykarbonyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,H. R<sup>1</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sup>2</sup> = H: 3-ethoxykarbonyl-4-hydroxy-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,I. R<sup>1</sup> = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = H: 4-hydroxy-3-isopropyloxykarbonyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,J. R<sup>1</sup> = CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>: 4-hydroxy-3-methoxykarbonyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,K. R<sup>1</sup> = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>: 3-ethoxykarbonyl-4-hydroxy-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid,L. R<sup>1</sup> = CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, R<sup>2</sup> = CH<sub>3</sub>: 4-hydroxy-3-isopropyloxykarbonyl-2-methyl-2H-1,2-benzothiazin-1,1-dioxid.

Následující vzory chromatogramů jsou pouze pro informaci a nejsou součástí požadavků článku.

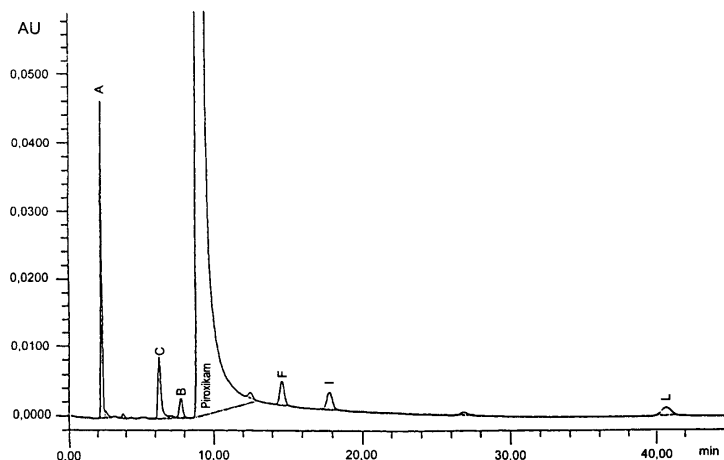


Obr. 1 Vzorový chromatogram s nečistotami společnými pro tři způsoby syntézy a s nečistotami „methylového“ způsobu zpracování



Obr. 2 Vzorový chromatogram s nečistotami společnými pro tři způsoby syntézy a s nečistotami „ethylového“ způsobu zpracování





Obr. 3 Vzorový chromatogram s nečistotami společnými pro tři způsoby syntézy a s nečistotami „isopropylového“ způsobu zpracování

“

160. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Pivmecillinami hydrochloridum doplňují články Plantae medicinales a Plantae medicinales ad potionem aquosam, které znějí:

”

## Plantae medicinales

Rostlinné drogy

2000



*Ustanovení tohoto článku jsou určena pro použití v souvislosti s jednotlivými články lékopisu. Požadavky se nevztahují nutně na výrobky, které nejsou předmětem těchto článků.*

Jsou to většinou celé, rozlámané nebo řezané rostliny, části rostlin, řasy, houby a lišejníky v nezpracovaném stavu, obvykle usušené, ale někdy čerstvé. Mezi rostlinné drogy se řadí také vybrané exsudáty, které nejsou specificky zpracovávány. Rostlinné drogy jsou jednoznačně definovány botanickým vědeckým názvem podle binominálního systému (rod, druh, odrůda a jméno autora).

### Výroba

Získávají se pěstováním nebo sběrem planě rostoucích rostlin. Jakost rostlinných drog je podstatně zaručena vhodným výběrem, šlechtěním, pěstováním, sušením, rozdrobňováním a skladovacími podmínkami. Rostlinné drogy jsou, je-li to možné, prosté nečistot jako jsou zemina, prach, nečistoty a jiné kontaminanty jako jsou plísňe, hmyz a ostatní živočišné kontaminanty. Rostlinné drogy nejsou shnilé.

Při použití dekontaminace je třeba prokázat, že obsahové látky v droze nebyly dotčeny a že droga neobsahuje škodlivé zbytky. Použití ethylenoxidu pro dekontaminaci rostlinných drog není povoleno.

### Zkoušky totožnosti

Totožnost rostlinných drog je prokázána makroskopickým a mikroskopickým popisem a dále mohou být požadovány další zkoušky (např. tenkovrstvá chromatografie).

### Zkoušky na čistotu

Není-li předepsáno jinak v jednotlivých člancích, provede se zkouška Cizí příměsi (2.8.2). K vyloučení záměn rostlinných drog mohou být provedeny specifické dodatečné zkoušky.

Je-li to vhodné, rostlinné drogy vyhovují dalším zkouškám, např. Celkový popel (2.4.16), Popel nerozpustný v kyselině chlorovodíkové (2.8.1), Extrahovatelné látky, Číslo bobtnavosti (2.8.4) a Číslo hořkosti.

Není-li uvedeno v jednotlivých člancích jinak, provádí se u rostlinných drog zkouška Ztráta sušením (2.2.32). Zkouška Stanovení vody destilací (2.2.13) se provádí u rostlinných drog s vysokým obsahem silice.

Rostlinné drogy vyhovují požadavkům zkoušky Zbytky pesticidů (2.8.13). Požadavky zohledňují charakter rostliny, kde je třeba přípravek, v němž může být rostlina použita, a kde je to možné i úplné údaje o zacházení s drogou určité šarže.

Obsah zbytků pesticidů může být stanoven metodou uvedenou v dodatku obecného postupu.

Je nutné zvážit riziko kontaminace rostlinných drog těžkými kovy. Nejsou-li v jednotlivém článku uvedeny limity pro těžké kovy nebo specifické prvky, v oprávněných případech mohou být takové limity vyžadovány.

Doporučení týkající se mikrobiologické jakosti přípravku obsahujícího výhradně jednu nebo více rostlinných drog, jsou uvedeny ve stati Mikrobiologická jakost léčivých přípravků (5.1.4 -Kategorie 4).

Kde je to nezbytné, mohou být požadovány limity pro aflatoxiny.

Při některých specifických okolnostech je nutné zvážit riziko radioaktivní kontaminace.

### Stanovení obsahu

Není-li předepsáno a schváleno jinak, stanovení obsahu se provádí vhodnou metodou.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněny před světlem.

---

## Plantae medicinales ad potionem aquosam

Rostlinné drogy určené k přípravě čajů

*Synonymum.* Plantae ad ptisanam

2000



Čaje se skládají výhradně z jedné nebo více rostlinných drog, určených k přípravě perorálních vodných přípravků jako jsou odvary, nálevy nebo maceráty. Přípravují se v čas potřeby.

Obvykle jsou distribuovány ve formě balení ve velkém nebo v sáčcích.

Rostlinné drogy vyhovují požadavkům jednotlivých příslušných článků Českého lékopisu, nebo v případě, že články nejsou vypracovány, vyhovují požadavkům článku Plantae medicinales.

Doporučení na mikrobiologickou jakost čajů (5.1.4 - Kategorie 4) bere v úvahu předepsaný způsob přípravy čaje (použije se vroucí nebo nevroucí voda).

### Zkoušky totožnosti

Totožnost rostlinných drog v čajích se určuje botanickým hodnocením.

## Zkoušky na čistotu

Stanovení podílu jednotlivých rostlinných drog v čajové směsi se provádí vhodnými metodami.

Čaje v sáčcích vyhovují následující zkoušce.

**Hmotnostní stejnoměrnost.** Stanoví se průměrná hmotnost dvaceti namátkově vybraných jednotek; plné sáčky čaje se jednotlivě zváží. Sáček se pak otevře tak, aby nedošlo k žádným ztrátám, důkladně se za pomoci štětce vyprázdní a prázdný sáček se zváží a z rozdílů se vypočítá hmotnost obsahu. Postup se opakuje s devatenácti zbývajících sáčků. Není-li uvedeno jinak, neliší se více než dva sáčky z dvaceti jednotlivých sáčků od průměrné hmotnosti o více procent, než uvádí tabulka; žádný ze sáčků se neliší o více než dvojnásobek.

Průměrná hmotnost	Odchyly
méně než 1,5 g	15 %
1,5 g až 2,0 g včetně	10 %
více než 2,0 g	7,5 %

## Uchování

V dobře uzavřených obalech, chráněné před světlem.

“

161. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články *Plantaginis ovatae semen* a *Plantaginis ovatae testa* znějí:

”

## Plantaginis ovatae semen

Semeno jitrocele vejčitého

*Synonymum.* Semen plantaginis ovatae

2000



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 narůžověle 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 vydaté strany 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 *kyselině mléčné RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: zejména úločky pokožky osemení s mnohohrannými slizovými buňkami; úločky vnitřních vrstev osemení s nahnědlými tenkostěnnými buňkami často spojenými s vnějšími vrstvami endospermu; úločky endospermu z buněk se ztlustlými celulosními stěnami, obsahující aleuronová zrna a kapénky oleje; zřídka úločky zárodka z tenkostěnných buněk. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R 50% (V/V)*. Jsou patrná škrobová zrna, jednoduchá nebo dvoučetná až 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 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 čirá supernatantní tekutina 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 *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* a suší se 5 min při 120 °C; pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou dvě oranžovorůžové skvrny (*arabiosa* a *xylosa*) a jedna žlutá skvrna (*galaktosa*) odpovídající polohou a zbarvením hlavním skvrnám na chromatogramech porovnávacích roztoků.

### Zkoušky na čistotu

*Cizí příměsi (2.8.2)*. Vyhovuje zkoušce Cizí příměsi; 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

V dobře uzavřených obalech, chráněno před světlem.

## Plantaginis ovatae testa

Osemení jitrocele vejčitého

*Synonyma*. Tegumentum plantaginis ovatae, Plantaginis ovatae seminis tegumentum

2000



Je to osemení druhu *Plantago ovata* FORSSK. (*P. ispaghula* ROXB.).

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Osemení tvoří narůžověle béžové úločky nebo šupinky až asi 2 mm dlouhé a 1 mm široké. Někdy je patrná na vypouklé straně světle hnědá skvrna, která odpovídá umístění zárodka v semeni před jeho odstraněním.

B. Droga se upráškuje (355). Prášek je světle žlutý. Pozoruje se pod mikroskopem v *kyselině mléčné RS*. Prášková droga je charakteristická těmito znaky: zejména úločky vnější vrstvy osemení s mnohohrannými slizovými buňka-

mi; úlomky vnitřních vrstev osemení s nahnědlými tenkostěnnými buňkami často spojenými s vnějšími vrstvami endospermu. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R* 50% (V/V). Občas jsou patrná škrobová zrna, jednoduchá nebo dvoučetná až 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 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 čirá supernatantní tekutina se přenesení 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 práškové drogy (355).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 12,0 %; 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

V dobře uzavřených obalech, chráněno před světlem.

162. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Plumbi acetat doplňuje článek Poloxamera, který zní:

”

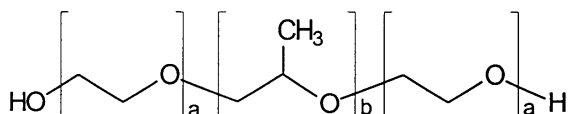
## Poloxamera

Poloxamery

2000



Je to syntetický blokový kopolymer ethylenoxidu a propylenoxidu. Obecný chemický vzorec je:



Typ poloxameru	Oxyethylenové jednotky (a)	Oxypropylenové jednotky (b)	Obsah oxyethylenu (%)	Průměrná molekulová hmotnost
124	10 - 15	18 - 23	44,8 - 48,6	2090 - 2360
182	6 - 10	27 - 33	26,9 - 30,7	2200 - 2800
184	10 - 15	27 - 33	37,5 - 41,3	2600 - 3200
188	75 - 85	25 - 30	79,9 - 83,7	7680 - 9510
237	60 - 68	35 - 40	70,5 - 74,3	6840 - 8830
331	5 - 10	52 - 57	14,5 - 18,3	3400 - 4200
338	137 - 146	42 - 47	81,4 - 84,9	12 700 - 17 400
407	95 - 105	54 - 60	71,5 - 74,9	9840 - 14 600

Může obsahovat antioxidační přísadu, např. butylhydroxytoluen.

### Vlastnosti

Poloxamer 124, poloxamer 182, poloxamer 184 a poloxamer 331 jsou bezbarvé nebo téměř bezbarvé kapaliny. Poloxamer 188, poloxamer 237, poloxamer 338 a poloxamer 407 jsou bílé nebo téměř bílé voskovité prášky, mikrokuličky nebo vločky s teplotou tání asi 50 °C.

Všechny poloxamery, s výjimkou poloxameru 331, jsou velmi snadno rozpustné ve vodě; všechny poloxamery jsou velmi snadno rozpustné v lihu 96% a prakticky nerozpustné v etheru petrolejovém (50 °C až 70 °C).

### Zkoušky totožnosti

A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem odpovídající referenční látky *Ph. Eur.*

B. Zkouška Průměrná molekulová hmotnost, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

#### Roztok S

*Poloxamer 331.* 10,0 g se rozpustí ve směsi objemových dílů vody prosté oxidu uhličitého R a lihu 96% R (1 + 2) a zředí se stejnou směsí na 100 ml.

*Všechny ostatní poloxamery.* 10,0 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 porovnávací barevný roztok HŽ<sub>7</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 7,5; měří se roztok S.

**Zbytkový ethylenoxid, propylenoxid a dioxan.** Stanoví se head-space plynovou chromatografií (2.2.28). Nejvýše 1 µg/g ethylenoxidu a nejvýše 5 µg/g propylenoxidu a nejvýše 5 µg/g dioxanu.

*Zkoušený vzorek.* 0,100 g se umístí do vhodné lahvičky.

*Porovnávací vzorek.* Asi 100 g *poloxameru 124 CRL* se umístí do vhodné čtyřhrdlé baňky opatřené míchačkou, teploměrem, trubicí pro přívod plynu, nádobou s tuhým oxidem uhličitým a odtahem k vývěvě. Baňka se opatrně evakuuje na tlak pod 0,2 kPa, evakuace se provádí zvolna, aby se zabránilo příliš silnému pění obsahu. Až ustane pění, zavádí se do baňky *dušík R* do dosažení tlaku 2 kPa. Pak se baňka zahřeje na 130 °C za současného zvýšení tlaku na 12 kPa. Po 4 h se ochladí na pokojovou teplotu a za stálého zavádění *dušiku R* se tlak vyrovná na atmosférický. Vzorek se uchovává pod *dušikem R*. K 50 g připraveného vzorku se ve vhodné lahvičce přidá vhodné množství *propylenoxidu R* a *dioxanu R* a určí se jejich obsah odečtením hmotností. Ke směsi se přidá *ethylenoxid R* následujícím způsobem: převede se asi 5 ml *ethylenoxidu R* při 2 °C až 5 °C do kádinky, chlazené ledem a z ní se převede vhodné množství ke směsi *poloxameru* za použití vychlazené plynové chromatografické stříkačky. Lahvička se utěsní a protřepe; množství přidaného ethylenoxidu se určí z rozdílu hmotností. Tato směs se zředí připraveným *poloxamerem* tak, aby obsahovala vhodné koncentrace v rozmezí 1 µg/g až 20 µg/g každé složky: ethylenoxidu, propylenoxidu a dioxanu (např. 1, 5, 10 a 20 µg/g). 0,100 g každého vzorku se vloží do vhodné lahvičky pro head-space nástřik a utěsní se.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 50 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřním povrchem potaženým 5µm vrstvou *poly(difenyl)(dimethyl)siloxanu R*,
- *helium pro chromatografii R* jako nosného plynu při průtokové rychlosti 0,8 ml/min,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 70 °C, pak se zvyšuje rychlostí 10 °C/min na 250 °C, teplota nástřikového prostoru se udržuje na 140 °C a detektoru na 250 °C.

Nastříkne se vhodný objem plynné fáze nad zkoušeným vzorkem a porovnávacím vzorkem z lahviček před zkouškou zahříváných 30 min při 110 °C. Při zaznamenávání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy: ethylenoxidu asi 1,0, propylenoxidu asi 1,3 a dioxanu asi 3,1.

Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky odpovídajícími ethylenoxidu a propylenoxidu na chromatogramu zkoušeného vzorku je nejméně 2,0.

Vynesou se kalibrační křivky ploch proti µg/g ethylenoxidu, propylenoxidu a dioxanu za použití chromatogramů porovnávacích vzorků; žádný bod se nesmí odchylovat od vypočtené přímky o více než 10 %. Obsahy ethylenoxidu, propylenoxidu a dioxanu ve zkoušené látce se vypočítají z ploch píků na chromatogramu zkoušeného vzorku a ze třech kalibračních křivek.

**Průměrná molekulová hmotnost.** K 15 g (*m* g) se v 250ml skleněné baňce se zabroušenou zátkou přidá 25,0 ml *ftalanhydridu RS* a několik skleněných kuliček a míchá se do rozpuštění. Mírně se 1 h vaří pod zpětným chladičem a po ochlazení se přidá chladičem dvakrát po 10 ml *pyridinu R*. Přidá se 10 ml *vody R*, promíchá se a nechá stát 10 min. Po přidání 70,0 ml *hydroxidů sodného 0,5 mol/l VS* a 0,5 ml roztoku *fenolfaleinu R* (10 g/l) v *pyridinu R* se titruje *hydroxidem sodným 0,5 mol/l VS* do světle růžového zbarvení, které vydrží 15 s a zaznamená se objem použitého hydroxidů sodného (*S*). Stejným způsobem se provede slepá zkouška, ale bez přítomnosti zkoušené látky. Zaznamená se objem použitého hydroxidů sodného (*B*).

Průměrná molekulová hmotnost se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{4000m}{B - S}$$

**Poměr oxypropylenu ku oxyethylenu.** Provede se metoda nukleární magnetické rezonanční spektrometrie (2.2.33), za použití roztoku zkoušené látky 100 g/l v *deuterizovaném chloroformu R*. Zaznamená se průměrná plocha dubletu objevujícího se při asi 1,08 ppm vyvolaného methylovými skupinami oxypropylenových jednotek (*A*<sub>1</sub>) a průměrná plocha složeného pásu od 3,2 do 3,8 ppm vyvolaného CH<sub>2</sub>O skupinami jak oxyethylenových, tak oxypropylenových jednotek a CHO skupinami oxypropylenových jednotek (*A*<sub>2</sub>) vztažených k vnitřnímu standardu.

Obsah oxyethylenu ve vzorku v hmotnostních procentech se vypočítá ze vztahu:

$$\frac{3300\alpha}{33\alpha + 58},$$

$$\text{kde } \alpha = \frac{A_2}{A_1} - 1.$$

**Voda**, semimikrostanovení (2.5.12). Nejvýše 1,0 % vody; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Celkový popel** (2.4.16). Nejvýše 0,4 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- typ poloxameru,
- název a koncentrace použité antioxidační přísady.

“

163. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Polyacrylatis dispersio 30% zní:

”

## Polyacrylatis dispersio 30%

Polyakrylátová disperze 30%

2000



Je to vodná disperze kopolymeru ethylakrylatu a methylnmethakrylatu se střední relativní molekulovou hmotností asi 800 000. Může obsahovat vhodný emulgátor. Zbytek po odpaření je 28,5 % až 31,5 %.

### Vlastnosti

Neprůhledná bílá slabě viskózní kapalina. Je mísitelná s vodou, dobře rozpustná v acetonu, v ethanolu a 2-propanolu.

### Zkoušky totožnosti

*Základní zkouška: 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 s referenčním spektrem Ph. Eur. polyakrylatu.
- B. K 1 g se přidá 5 ml vody R a promíchá se; směs zůstává neprůhledná. Tři 1g podíly se odděleně smíchají s 5 g ethanolu R, acetonu R a 2-propanolu R; získají se průhledné roztoky.
- C. K 1 g se přidá 10 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l RS. Směs zůstává neprůhledná.



D. Zkouška Vzhled filmu, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.

E. V Petriho misce se suší 4 g v sušárně při 60 °C po dobu 4 h a výsledný čirý film se přenesení do malé zkumavky (100 mm x 12 mm). Zkumavka s filmem se zahřívá nad plamenem a vznikající dýmy se jímají v druhé zkumavce držené blízko ústí první. Kondenzát vyhovuje zkoušce na estery (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Relativní hustota** (2.2.5). 1,037 až 1,047.

**Zdánlivá viskozita** (2.2.10). Nejvýše 50 mPa.s; stanoví se pomocí rotačního viskozimetru při 20 °C a při smykové rychlosti 10 s<sup>-1</sup>.

**Vzhled filmu.** 1 ml se naleje na skleněnou desku a nechá se vyschnout. Vznikne čirý elastický film.

**Pevné částice.** 100,0 g se zfiltruje přes zvážené nerezové ocelové síto (90). Promývá se vodou R, dokud se nezíská čirý filtrát, a vysuší se při 80 °C do konstantní hmotnosti. Hmotnost zbytku není větší než 0,500 g.

**Zbytkové monomery.** Nejvýše 100 µg/g; stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** 1,00 g se rozpustí v tetrahydrofuranu R a zředí se jím na 50,0 ml. K 5,0 ml roztoku chloristanu sodného R (35 g/l) se za neustálého míchání po kapkách přidává 10,0 ml roztoku. Odstředí se, čirá supernatantní tekutina se zfiltruje a 5,0 ml této tekutiny se zředí vodou R na 10,0 ml.

**Porovnávací roztok.** 10 mg ethylakrylatu R a 10 mg methylmethakrylatu R se rozpustí v tetrahydrofuranu R a zředí se jím na 50,0 ml. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí tetrahydrofuranem R na 100,0 ml. K 10,0 ml konečného roztoku se přidá 5,0 ml roztoku chloristanu sodného R (35 g/l) a promíchá se. 5,0 ml této směsi se zředí vodou R na 10,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,12 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm až 10 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů acetonitrilu R a vody R (15 + 85); průtoková rychlost je 2 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 205 nm.

Nastříknou se odděleně stejná množství (asi 50 µl) každého roztoku.

Vypočítá se obsah monomerů v procentech za použití ploch píků na chromatogramech zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku a z obsahu monomerů v porovnávacím roztoku.

**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).

**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 0,4 %, stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

**Mikrobiální znečištění** (2.6.12). Nejvýše 10<sup>3</sup> živých aerobních mikroorganismů v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách.

### Stanovení obsahu

1,000 g se suší 3 h při 110 °C a zbytek se zvaží.

### Uchovávání

Při teplotě 5 °C až 25 °C, chráněn před mrazem. S látkou se zachází tak, aby bylo minimalizováno mikrobiální znečištění.

### Označování

V označení na obalu se uvede, kde je to vhodné, název a koncentrace přidaného emulgátoru.

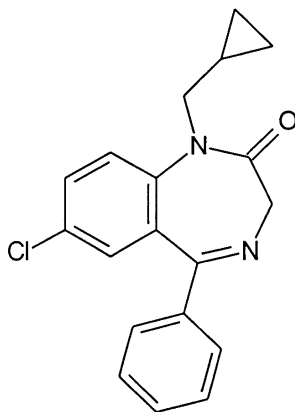
164. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Povidonum iodatum doplňuje článek Prazepamum, který zní:

”

## §† Prazepamum

Prazepam

2000

 $C_{19}H_{17}ClN_2O$  $M_r$  324,83

CAS 2955-38-6

Je to 7-chlor-1-cyklopropylmethyl-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{19}H_{17}ClN_2O$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v dichlormethanu, mírně rozpustný v lihu 96%.

Taje při asi 145 °C.

### Zkoušky totožnosti

Základní zkouška: B.

Alternativní sestava zkoušek: A a C, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. 30,0 mg se rozpustí v lihu 96% R a zředí se jím na 100,0 ml. 20,0 ml tohoto roztoku se zředí lihem 96% R na 100,0 ml (roztok A) a 2,0 ml tohoto roztoku se zředí stejným rozpouštědlem na 100,0 ml (roztok B). Měří se absorbance (2.2.25) při 300 nm až 350 nm. Roztok A vykazuje absorpční maximum při 312 nm. Měří se absorbance při 210 nm až 300 nm. Roztok B vykazuje absorpční maximum při 228 nm a inflexní bod při asi 252 nm; specifická absorbance v maximu při 228 nm je 900 až 940 a v maximu při 312 nm je 59 až 63.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem prazepamu CRL.

C. Hodnotí se chromatogramy ze zkoušky Příbuzné látky, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou, fluorescencí při 365 nm a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (b).

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** 0,25 g se rozpustí v *lihu 96% R* a zředí se jím na 10 ml. Roztok je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, *Metoda II*).

**Příbuzné látky.** Stanoví se tenkovrstvou chromatografií (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 *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 100 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 10 mg *prazepamu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 10 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 15 mg *nordazepamu nečistoty A CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 50 ml.

**Porovnávací roztok (d).** K 1 ml porovnávacího roztoku (a) se přidá 1 ml porovnávacího roztoku (c) a promíchá se.

Na vrstvu se nanese odděleně po 5  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se čerstvě připravenou směsí objemových dílů *ethylacetatu R* a *heptanu R* (50 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm a 365 nm. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není žádná skvrna odpovídající *nordazepamu nečistotě A* intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,3 %); na chromatogramu mohou být nejvýše čtyři další skvrny, z nichž žádná není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,1 %). 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  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku *olova* (10  $\mu$ 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

0,250 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.

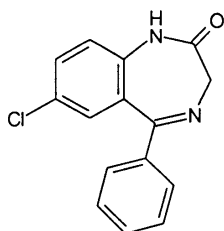
1 ml *kyseliny chloristé 0,1 mol/l VS* odpovídá 32,48 mg  $C_{19}H_{17}ClN_2O$ .

## Uchování

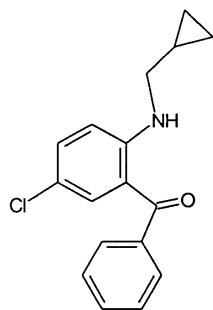
V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

Psychotropní látka. Separandum.

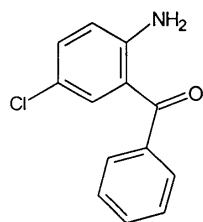
## Nečistoty



A. 7-chlor-5-fenyl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-on (*nordazepam*),



B. {5-chlor-2-[(cyklopropylmethyl)amino]fenyl}fenylketon,



C. (2-amino-5-chlorfenyl)fenylketon.

“

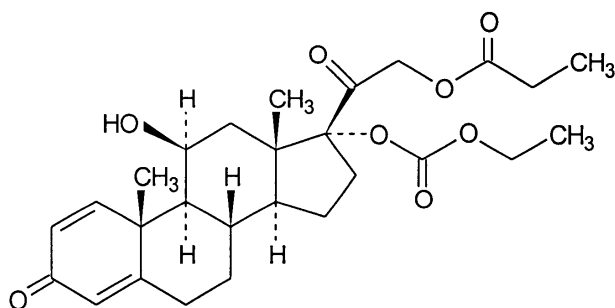
165. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Prazosini hydrochloridum doplňuje článek Prednicarbatum, který zní:

”

## † Prednicarbatum

Prednikarbat

2000

 $C_{27}H_{36}O_8$  $M_r$  488,58

CAS 73771-04-7

Je to 17-[(ethoxykarbonyl)oxy]-11 $\beta$ -hydroxy-3,20-dioxo-1,4-pregna-1,4-dien-21-ylpropionat. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 102,0 %  $C_{27}H_{36}O_8$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, snadno rozpustný v lihu 96% a v acetonu, mírně rozpustný v propylenglykolu.

Vyazuje polymorfismus.

### Zkoušky totožnosti

**A.** Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *prednikarbatu CRL*. Jestliže se spektra získaná v pevném stavu liší, rozpustí se odděleně zkoušená látka a referenční látka v co nejmenším množství *lihu 96% R*, odpaří se na vodní lázni do sucha a opět se zaznamenají spektra za použití zbytků.

**B.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 10 mg se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 10 mg *prednikarbatu CRL* se rozpustí ve směsi objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R* (1 + 9) a zředí se jí na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 5 mg *prednisolonacetatu CRL* se rozpustí v 5 ml porovnávacího roztoku (a).

Na vrstvu se odděleně nanese po 5  $\mu$ 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* a *dichlormethanu R* (15 + 77). Vyvíjí se po dráze 15 cm. Vrstva se nechá uschnout 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 zahřívá se při 120 °C 10 min nebo tak dlouho, dokud se neobjeví skvrny. Po vychladnutí 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, 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.

### Zkoušky na čistotu

**Specifická optická otáčivost (2.2.7).** +60° až +66°, počítáno na vysušenou látku; měří se roztok připravený rozpuštěním 0,250 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 Stanovení obsahu.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Nastaví se citlivost systému tak, aby výšky dvou hlavních píků na získaném chromatogramu činily asi 50 % celé stupnice zapisovače. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy prednikarbatu asi 17 min a nečistoty F asi 19 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky prednikarbatu a nečistoty F není menší než 3,0; jestliže není tohoto rozlišení dosaženo, upraví se složení mobilní fáze.

Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (b). Chromatogramy se zaznamenávají po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času hlavního píku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku plocha píku odpovídající nečistotě F není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (1 %), plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku nečistoty F, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,025násobek 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.

### Stanovení obsahu

Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*Roztoky se připravují bezprostředně před použitím.*

*Zkoušený roztok.* 30,0 mg se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 3 mg *prednikarbatu nečistoty F CRL* se rozpustí v mobilní fázi, přidá se 5,0 ml zkoušeného roztoku a zředí se mobilní fází na 100,0 ml. 1,0 ml se zředí mobilní fází na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí mobilní fází na 200,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 30,0 mg *prednikarbatu CRL* se rozpustí v mobilní fázi a zředí se jí na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- nerezové ocelové kolony délky 0,125 m a vnitřního průměru 4 mm naplněné *silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R* (5 µm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *acetonitrilu R* a *vody R* (5 + 6); průtoková rychlost je 0,7 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 243 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy prednikarbatu asi 17 min a nečistoty F asi 19 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píkem prednikarbatu a píkem nečistoty F není menší než 3,0; jestliže není tohoto rozlišení dosaženo, upraví se složení mobilní fáze.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (c). Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu činila nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku. Vypočítá se obsah prednikarbatu v procentech.

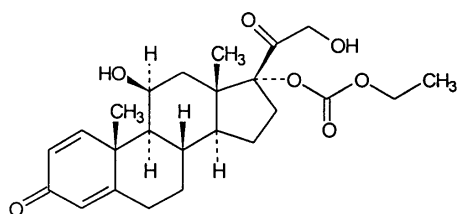
### Uchovávání

Chráněn před světlem.

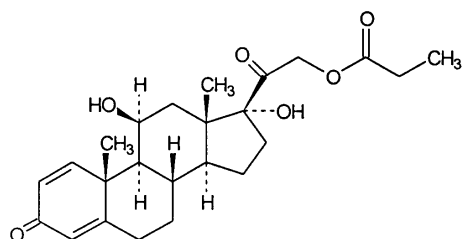
Separandum.

### Nečistoty

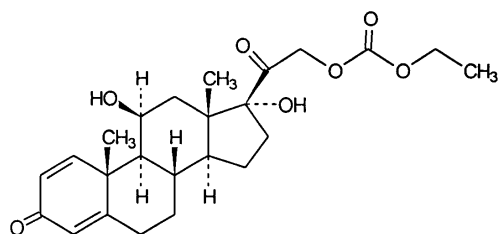
A. prednisolon,



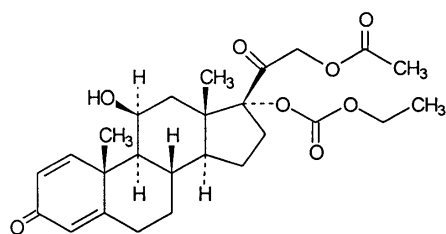
B. prednisolon-17-ethylkarbonat,



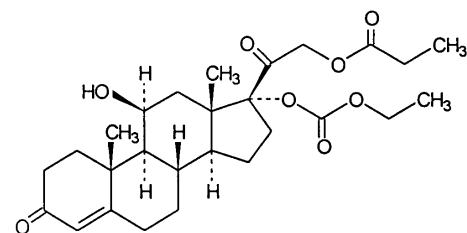
C. prednisolon-21-propionat,



D. prednisolon-21-ethylkarbonat,



E. prednisolon-17-ethylkarbonat-21-acetat,



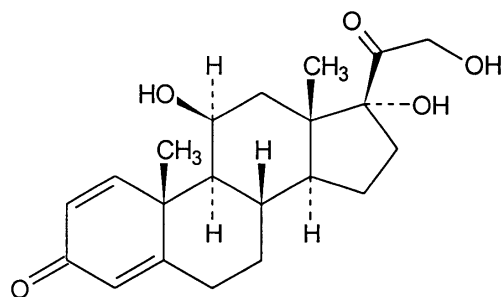
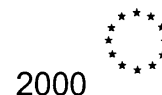
F. 1,2-dihydroprednikarbat.

166. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Prednisolonum zní:

”

## † Prednisolonum

Prednisolon



$C_{21}H_{28}O_5$

$M_r$  360,45

CAS 50-24-8

Je to 11 $\beta$ ,17,21-trihydroxy-1,4-pregnadien-3,20-dion. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 103,0 % sloučeniny  $C_{21}H_{28}O_5$ .

### 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 spektra získaná 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.** 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 *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  $\mu$ 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. Proveďte 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 zkumavky 100 mm dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou zabroušenou zátkou nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem. Rozpouštědlo se pod proudem *dusíku R* odpaří za mírného zahřátí. Přidají se 2 ml roztoku *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 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 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 zkumavky 100 ml dlouhé a o průměru 20 mm se skleněnou zabroušenou zátkou nebo polytetrafluorethylenovým uzávěrem. Rozpouštědlo se pod proudem *dusíku R* odpaří za mírného zahřátí. Přidají se 2 ml roztoku *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 µl zkoušeného roztoku (a), 5 µl porovnávacího roztoku (a), 10 µl zkoušeného roztoku (b) a 10 µl porovnávacího roztoku (b). Nanáší se po malých dávkách, aby se získaly malé skvrny. Využívají 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 každém z chromatogramů zkoušených roztoků odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramech 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 zkoušených roztoků 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. 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.** Provede se kapalinová chromatografie (2.2.29).

*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 oktadecylsilanizovaným s odstíněnými koncovými skupinami pro chromatografii bazických látek 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 *vodou R* na 1000 ml 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.

Nastaví se citlivost systému tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) při nástřiku 20 μl byla nejméně 50 % celé stupnice zapisovače.

Nastříkne se 20 μl porovnávacího roztoku (a). Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou retenční časy: prednisolonu asi 14 min a hydrokortisonu asi 15,5 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) rozlišení mezi píky 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 píku směsi 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.

“

167. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Propranololi hydrochloridum doplňuje článek Propylenglycoli monopalmitostearas, který zní:

”

## Propylenglycoli monopalmitostearas<sup>1)</sup>

Propylenglykolmonopalmitostearat



Je to směs propylenglykolmono- a diesterů kyseliny stearové a palmitové. Obsahuje nejméně 50,0 % monoesterů připravených kondenzací propylenglykolu a kyseliny stearové 50 rostlinného nebo živočišného původu.

### Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

### Vlastnosti

Bílá nebo téměř bílá voskovitá tuhá látka. Je prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v acetonu a v horkém lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

- A. Zkouška Teplota tání, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- B. Zkouška Podíl mastných kyselin, viz Zkoušky na čistotu, je zároveň zkouškou totožnosti.
- C. Zkouška Stanovení obsahu (obsah monoesterů) je zároveň zkouškou totožnosti.

### Zkoušky na čistotu

Teplota tání (2.2.15). 33 °C až 40 °C.

Číslo kyselosti (2.5.1). Nejvýše 4,0; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo jodové (2.5.4). Nejvýše 3,0.

Číslo zmýdelnění (2.5.6). 170 až 180; stanoví se s 2,0 g zkoušené látky.

Podíl mastných kyselin. Provede se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (2.4.22, Metoda A). Podíl mastných kyselin zkoušené látky má následující složení:

- kyselina stearová: 40,0 % až 60,0 %,

- součet obsahů kyseliny palmitové a kyseliny stearové: nejméně 90,0 %.

Volný propylenglykol. Nejvýše 5,0 %; stanoví se postupem popsáním ve zkoušce Stanovení obsahu.

Celkový popel (2.4.16). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

## Stanovení obsahu

Stanoví se obsah volného propylenglykolu a obsah monoesterů vylučovací chromatografií (2.2.30).

**Zkoušený roztok.** Do 15ml baňky se naváží asi 0,2 g ( $m_1$ ) s přesností na 0,1 mg. Přidá se 5,0 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do rozpuštění. Je-li třeba, mírně se zahřeje. Baňka se znovu zváží a vypočítá se celková hmotnost rozpouštědla a zkoušené látky ( $m_2$ ).

**Porovnávací roztoky.** Do čtyř 15ml baněk se postupně naváží s přesností na 0,1 mg asi 2,5 mg, 5,0 mg, 10,0 mg a 20,0 mg *propylenglykolu R*. Přidá se po 5,0 ml *tetrahydrofuranu R* a třepe se do úplného rozpuštění. Baňky se znovu zváží a vypočítá se koncentrace propylenglykolu v mg/g pro každý porovnávací roztok.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony pro gelovou chromatografii délky 0,6 m a vnitřního průměru 7 mm naplněné *styrendivinybenzen-kopolymerem R* (průměr částic 5  $\mu$ m, velikost pórů 10 nm),
- mobilní fáze, kterou je *tetrahydrofuran R*, s průtokovou rychlostí 1 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Nastříkne se 40  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 40  $\mu$ l každého porovnávacího roztoku. Při zaznamenání chromatogramů za předepsaných podmínek jsou relativní retenční časy vztažené k propylenglykolu pro monoestery asi 0,84 a pro diestery asi 0,78. Koncentrace propylenglykolu ( $c$ ) v mg/g ve zkoušeném roztoku se stanoví z kalibrační křivky získané za použití porovnávacích roztoků.

Obsah volného propylenglykolu ve zkoušené látce se vypočítá v procentech podle vzorce:

$$\frac{c \cdot m_2}{m_1 \cdot 10}$$

Z plochy píků monoesterů ( $s_1$ ) a diesterů ( $s_2$ ) se vypočte procentuální obsah monoesterů podle vzorce:

$$\frac{s_1}{s_1 + s_2} \cdot [100 - (P_1 + P_2)],$$

v němž značí:

$P_1$  - obsah volného propylenglykolu v procentech,

$P_2$  - obsah volných mastných kyselin v procentech, který se vypočte podle vzorce:

$$\frac{I_A \cdot 270}{561,1},$$

v němž značí:

$I_A$  - číslo kyselosti.

## Uchovávání

Chráněn před světlem.

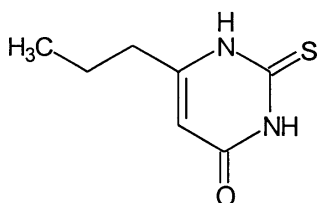
168. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Propylthiouracilum zní:

”

## † Propylthiouracilum

Propylthiouracil

2000

 $C_7H_{10}N_2OS$  $M_r$  170,23

CAS 51-52-5

Je to 2,3-dihydro-6-propyl-2-thio-4(1H)-pyrimidinon. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 100,5 % sloučeniny  $C_7H_{10}N_2OS$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický prášek nebo krystaly. Je velmi těžce rozpustný ve vodě, mírně rozpustný v lihu 96%, velmi těžce rozpustný v etheru. Rozpouští se v roztocích alkalických hydroxidů.

### 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). 217 °C až 221 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *propylthiouracilu CRL*. Zkouší se tablety připravené z 1 mg látky a 0,3 g *bromidu draselného R*.

C. Chromatogramy získané při zkoušce *Thiomočovina* a příbuzné látky, viz *Zkoušky na čistotu*, se pozorují v ultrafialovém světle při 254 nm před vystavením vrstvy parám jodu. Hlavní skvrna na chromatogramu zkoušeného roztoku (b) odpovídá polohou a velikostí hlavní skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

D. K asi 20 mg se přidá 8 ml *bromové vody R* a několik minut se protřepává. Pak se vaří do odbarvení směsi, nechá se vychladnout a zfiltruje se. K filtrátu se přidají 2 ml *chloridu barnatého RS1*; tvoří se bílá sraženina, která se po přidání 5 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* nezbarví fialově.

### Zkoušky na čistotu

**Thiomočovina a příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok (a).* 0,1 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).* 10 mg *propylthiouracilu CRL* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 10 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 50 mg *thiomočoviny R* se rozpustí v *methanolu R* a zředí se jím na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 100 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *2-propanolu R* a *chloroformu R* (0,1 + 6 + 50) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm. Vrstva se pak vystaví na 10 min parám jodu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) není žádná skvrna odpovídající thiomočoviny intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,05 %) a žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající thiomočoviny, není intenzivnější, než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (1,0 %).

**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 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

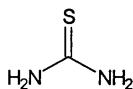
K 0,300 g se přidá 30 ml *vody R*, 30,0 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* a vaří se za protřepávání do úplného rozpuštění. Přidá se za míchání 50 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS*, mírně se vaří 5 min a ochladí se. Titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace (2.2.20) bodu ekvivalence. Spotřeba *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* je součtem objemu přidaného na začátku stanovení a objemu použitého při konečné titraci.

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 8,511 mg C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>2</sub>OS.

### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty



A. thiomočovina.

“

169. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Protamini hydrochloridum a Protamini sulfas znějí:

”

## † Protamini hydrochloridum

Protaminiumchlorid

  
2000

Je to směs hydrochloridů bazických peptidů, které se získávají extrakcí ze spermatu nebo jiker ryb (většinou druhu *Salmonidae* a *Clupeidae*). V roztoku se váže s heparinem, a tak inhibuje jeho protisrážlivý účinek. Za popsanych

podmínek stanovení dává protaminiumchlorid sraženinu. Počítáno na vysušenou látku, 1 mg protaminiumchloridu vysráží nejméně 100 m.j. heparinu.

### Výroba

Připravuje se v podmínkách, které minimalizují mikrobiální znečištění. Metoda výroby je validována, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následující zkoušce:

**Neškodnost (2.6.9).** Vyhovuje zkoušce na neškodnost. Každé myši se vstříkne 0,5 mg zkoušené látky rozpuštěné v 0,5 ml vody na injekci R.

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je hygroskopický, dobře rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru.

### Zkoušky totožnosti

A. 1,000 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) tohoto roztoku je  $-40^{\circ}$  až  $-60^{\circ}$ , počítáno na vysušenou látku.

B. Při zkoušce Stanovení obsahu tvoří sraženinu.

C. K 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 4,5 ml vody R, 1,0 ml roztoku hydroxidu sodného R (100 g/l) a 1,0 ml roztoku 1-naftolu R (0,2 g/l) a promíchá se. Směs se ochladí na  $5^{\circ}\text{C}$  a přidá se 0,5 ml bromnanu sodného RS; vznikne intenzivní červené zbarvení.

D. 2 ml roztoku S se zahřeje ve vodní lázni na  $60^{\circ}\text{C}$ , přidá se 0,1 ml síranu rtuťnatého RS a promíchá se; nevznikne žádná sraženina. Ochladí se v ledové vodě; vznikne sraženina.

E. Vyhovuje zkoušce (a) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,50 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 25,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Ke 2,5 ml roztoku S se přidá 7,5 ml vody R. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než barevný porovnávací roztok HŽ<sub>6</sub> nebo Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Absorbance (2.2.25).** 2,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 5,0 ml. Absorbance roztoku měřená při 260 nm až 280 nm není větší než 0,1.

**Chloridy.** 12,3 % až 19,0 %; počítáno na vysušenou látku. 0,400 g se rozpustí v 50 ml vody R, přidá se 5 ml kyseliny dusičné zředěné RS, 25,0 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS, 2 ml dibutylftalatu R a směs se protřepe. Titruje se thiokyanatem amonným 0,1 mol/l VS za použití 2 ml síranu amonno-železitého RS2 jako indikátoru. Intenzivně se třepe těsně před dosažením bodu ekvivalence.

1 ml dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS odpovídá 3,545 mg chloridu (Cl).

**Sírany.** Nejvýše 4,0 %; počítáno na vysušenou látku. 0,500 g se rozpustí ve 200 ml vody destilované R, přidá se 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zahřívá se k varu. Pak se přidá po kapkách za stálého míchání skleněnou tyčinkou 10 ml teplého roztoku chloridu barnatého R (100 g/l). Baňka se zakryje hodinovým sklem a nechá se 2 h stát na vodní lázni, aby se vytvořila hrubozrnná sraženina. K čiré supernatantní tekutině se přidá 0,1 ml roztoku chloridu barnatého R (100 g/l). Jestliže vznikne zákal, postup srážení se opakuje. Sraženina se kvantitativně převede do předem vyžihaného a zváženého porcelánového kelímku a promývá se horkou vodou destilovanou R tak dlouho, až přidání dusičnanu stříbrného RS1 k promývací vodě nevyvolá opalescenci. Kelímek se sraženinou se žihá při  $600^{\circ}\text{C}$  po dobu 1 h. Pak se nechá vychladnout v exsikátoru a zváží.

1,0 mg zbytku odpovídá 0,412 mg síranu (SO<sub>4</sub>).

**Baryum.** Nejvýše 10 μg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

**Zkoušený roztok.** 1,0 g se rozpustí ve vodě destilované R, přidá se 1 ml roztoku chloridu cesného R (250 g/l), 0,2 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou destilovanou R na 20,0 ml.

**Porovnávací roztok.** K 1,0 ml základního roztoku barya (50 µg Ba/ml) se přidá 5 ml roztoku chloridu cesného R (250 g/l), 1 ml kyseliny chlorovodíkové R a zředí se vodou destilovanou R na 100,0 ml. Měří se absorbance při 553,3 nm za použití baryové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen-oxid dusný vhodného složení.

**Železo (2.4.9).** 1,0 g se rozpustí zahřátím ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

**Rtuť.** Nejvýše 10 µg/g. 2,0 g se převedou do 250ml kuželové baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 20 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny dusičné R a kyseliny sírové R. Vaří se pod zpětným chladičem 1 h, pak se ochladí a opatrně zředí vodou R. Vaří se tak dlouho, až přestanou být viditelné unikající dýmy sloučenin dusíku. Ochlazený roztok se opatrně zředí vodou R na 200,0 ml, promíchá se a zfiltruje. 50,0 ml filtrátu se přenesou do dělicí nálevky. Vytřepává se postupně malými dávkami chloroformu R, až chloroformová vrstva zůstane bezbarvá. Chloroformové vrstvy se odstraní. K vodné vrstvě se přidá 25 ml kyseliny sírové zředěné RS, 115 ml vody R a 10 ml roztoku hydroxylamoniuchloridu R (200 g/l). Titruje se dithizonem RS2. Po každém přidání se směs dvacetkrát zatřepe a ke konci titrace se oddělí a odstraní chloroformová vrstva. Titruje se do vzniku modrozeleného zbarvení. Množství rtuti se vypočítá za použití ekvivalentu rtuti v mikrogramech na mililitr titračního roztoku stanoveného při standardizaci dithizonu RS2.

**Dusík.** 23,0 % až 27,0 %; počítáno na vysušenou látku. Stanoví se s 10,0 mg mineralizací s kyselinou sírovou (2.5.9); zahřívá se 3 h až 4 h.

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D 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 5,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**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 vsťikuje na kilogram hmotnosti králíka 1,0 ml roztoku obsahujícího 10 mg zkoušené látky.

## Stanovení účinnosti

**Zkoušený roztok (a).** 15,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 2,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 3,0 ml.

**Zkoušený roztok (c).** 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 3,0 ml.

Jako titrační roztok se použije sodná sůl heparinu BRP v šesti zředěních (např. 1,7 ml se zředí vodou R na 10,0 ml). Každý zkoušený roztok se titruje dvojmo následovně: přesně odměřené množství roztoku pro titraci, např. 1,5 ml se převede do kyvety vhodného kolorimetru, nastaví se vhodná vlnová délka ve viditelné oblasti (není rozhodující) a přidává se v malých dávkách titrační roztok až nastane prudké zvýšení absorbance; zaznamená se spotřeba titračního roztoku.

Provedou se tři nezávislá měření. Pro každou jednotlivou titraci se vypočítá množství m.j. heparinu v přidaném objemu titračního roztoku (při dosažení konečného bodu) na mg zkoušené látky. Výsledek stanovení účinnosti se vypočítá z průměru osmnácti hodnot. Linearita zkoušky se ověří běžnými statistickými metodami. Vypočítají se tři relativní směrodatné odchylky z výsledků každého ze tří zkoušených roztoků. Vypočítají se tři relativní směrodatné odchylky pro každé ze tří nezávislých stanovení účinnosti. Stanovení účinnosti lze hodnotit, jestliže průměrná relativní směrodatná odchylka počítaná z výsledků všech šesti relativních směrodatných odchylek je menší než 5 %.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných zabezpečených obalech. Jestliže je 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,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá pyrogenních látek.

## † Protamini sulfas

Protaminiumsulfat

2000



CAS 9009-65-8

Je to směs sírání bazických peptidů, které se získávají extrakcí ze spermatu nebo jiker ryb (většinou druhu *Salmonidae* a *Clupeidae*). V roztoku se váže s heparinem a tak inhibuje jeho protisrážlivý účinek. Za popsáných podmínek stanovení dává protaminiumsulfat sraženinu. Počítáno na vysušenou látku, 1 mg protaminiumsulfátu vysráží nejméně 100 m.j. heparinu.

## Výroba

Připravuje se v podmínkách, které minimalizují mikrobiální znečištění. Metoda výroby je validována, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následující zkoušce:

**Neškodnost (2.6.9).** Vyhovuje zkoušce na neškodnost. Každé myši se vstříkne 0,5 mg zkoušené látky rozpuštěné v 0,5 ml vody na injekci R.

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý prášek. Je hygroskopický, mírně rozpustný ve vodě, prakticky nerozpustný v lihu 96% a v etheru.

## Zkoušky totožnosti

- 1,000 g se rozpustí v kyselině chlorovodíkové 0,1 mol/l RS a zředí se jí na 100,0 ml. Specifická optická otáčivost (2.2.7) tohoto roztoku je  $-65^{\circ}$  až  $-85^{\circ}$ , počítáno na vysušenou látku.
- Při zkoušce Stanovení účinnosti tvoří sraženinu.
- K 0,5 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se přidá 4,5 ml vody R, 1,0 ml roztoku hydroxidu sodného R (100 g/l) a 1,0 ml roztoku 1-naftolu R (0,2 g/l) a promíchá se. Směs se ochladí na 5 °C a přidá se 0,5 ml bromnanu sodného RS; vznikne intenzivní červené zbarvení.
- 2 ml roztoku S se zahřejí ve vodní lázni na 60 °C, přidá se 0,1 ml síranu rtuťnatého RS a promíchá se; nevznikne žádná sraženina. Ochladí se v ledové vodě; vznikne sraženina.
- Vyhovuje zkoušce (a) na sírany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,20 g se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 10,0 ml.

**Vzhled roztoku S.** Ke 2,5 ml roztoku S se přidá 7,5 ml vody R. Roztok neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než barevný porovnávací roztok HŽ<sub>6</sub> nebo Ž<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Absorbace (2.2.25).** 2,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 5,0 ml. Absorbance roztoku měřená při 260 nm až 280 nm je nejvýše 0,1.

**Železo (2.4.9).** 1,0 g se rozpustí zahřátím ve vodě R a zředí se jí na 10 ml. Tento roztok vyhovuje limitní zkoušce na železo (10 µg/g).

**Rtuť.** Nejvýše 10 µg/g. 2,0 g se převedou do 250ml kuželové baňky se zabroušenou zátkou, přidá se 20 ml směsi stejných objemových dílů kyseliny dusičné R a kyseliny sírové R. Vaří se pod zpětným chladičem 1 h, pak se ochladí a opatrně zředí vodou R. Vaří se tak dlouho, až přestanou být viditelné páry sloučenin dusíku. Ochlazený roztok se opatrně zředí vodou R na 200,0 ml, promíchá se a zfiltruje. 50,0 ml filtrátu se přenese do dělicí nálevky. Vytřepává se postupně s malými dávkami chloroformu R, až chloroformová vrstva zůstane bezbarvá. Chloroformové vrstvy se odstraní. K vodní vrstvě se přidá 25 ml kyseliny sírové zředěné RS, 115 ml vody R a 10 ml roztoku hydroxylationiuchloridu R (200 g/l). Titruje se dithizonem RS2. Po každém přidání se směs dvacetkrát zatřepe a ke konci titrace se oddělí a odstraní chloroformová vrstva. Titruje se do získání modrozelené barvy. Množství rtuti se vypočítá za použití ekvivalentu rtuti v mikrogramech na mililitr titračního roztoku stanoveného při standardizaci dithizonu RS2.

**Sírany.** 16,0 % až 24,0 %, počítáno na vysušenou látku. 0,150 g se rozpustí v 15 ml vody destilované R, přidá se 5,0 ml kyseliny chlorovodíkové zředěné RS a zahřívá se k varu. Pak se k vroucímu roztoku pomalu po kapkách přidá 10 ml roztoku chloridu barnatého R (100 g/l). Kádinka se zakryje hodinovým sklem a zahřívá se 1 h na vodní lázni. Zfiltruje se, sraženina se promyje několika malými částmi horké vody R vysuší se a zbytek se žihá při 600 °C do konstantní hmotnosti.

1,0 g zbytku odpovídá 0,4117 g síranu (SO<sub>4</sub>) ve zkoušené látce.

**Dusík.** 21,0 % až 26,0 %, počítáno na vysušenou látku. Stanoví se s 10,0 mg mineralizací s kyselinou sírovou (2.5.9); zahřívá se 3 h až 4 h.

**Těžké kovy (2.4.8).** 1,0 g vyhovuje limitní zkoušce D 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 5,0 %; 1,000 g se suší 3 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Sterilita (2.6.1).** Pokud je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků bez dalšího vhodného sterilizačního postupu, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Pokud je látka určena pro výrobu parenterálních přípravků bez dalšího vhodného postupu odstraňujícího pyrogenní látky, vyhovuje zkoušce na pyrogenní látky, při níž se vstříkuje na kilogram hmotnosti králíka 1,0 ml roztoku obsahujícího 10 mg zkoušené látky.

## Stanovení účinnosti

**Zkoušený roztok (a).** 15,0 mg se rozpustí ve vodě R a zředí se jí na 100,0 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 2,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 3,0 ml.

**Zkoušený roztok (c).** 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí vodou R na 3,0 ml.

Jako titrační roztok se použije sodná sůl heparinu BRP v šesti zředěních (např. 1,7 ml se zředí vodou R na 10,0 ml). Každý zkoušený roztok se titruje dvojmo následovně: přesně odměřené množství roztoku pro titraci, např. 1,5 ml se převede do kyvety vhodného kolorimetru, nastaví se vhodná vlnová délka ve viditelné oblasti (není rozhodující) a přidává se v malých dávkách titrační roztok až nastane prudké zvýšení absorbance; zaznamená se spotřeba titračního roztoku.

Provedou se tři nezávislá měření. Pro každou jednotlivou titraci se vypočítá množství m.j. heparinu v přidaném objemu titračního roztoku (při dosažení konečného bodu) na miligram zkoušené látky. Výsledek stanovení účinnosti se vypočítá z průměru osmnácti hodnot. Linearita zkoušky se ověří běžnými statistickými metodami. Vypočítají se tři relativní směrodatné odchylky z výsledků každého ze tří zkoušených roztoků. Vypočítají se tři relativní směrodatné odchylky pro každé ze tří nezávislých stanovení účinnosti. Stanovení účinnosti lze hodnotit pouze v případě, jestliže průměrná relativní směrodatná odchylka počítaná z výsledků všech šesti relativních směrodatných odchylek je menší než 5 %.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných zabezpečených obalech. Jestliže je 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,
- kde je to vhodné, zda je látka prostá pyrogenních látek.

“

170. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Ratanhiae radix* zní:

”

## Ratanhiae radix

Ratanhový kořen

*Synonymum*. Radix ratanhiaie

2000



Je to usušený, většinou rozlámaný kořen druhu *Krameria triandra* RUIZ et PAVON. Droga je známá jako Peru-ratanhia.

Obsahuje nejméně 5,0 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol ( $C_6H_6O_3$ ;  $M_r$  126,1), vztaženo na vysušenou drogu.

### Popis a vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Kořen tmavě červenohnědý, má silnou uzlovitou hlavu. Sekundární kořeny mají stejnou barvu a jsou téměř rovné nebo jen mírně zkroucené. Kůra starších kořenů je šupinovitě rozpukaná, u mladších kořenů hladká s ostrými příčnými prasklinami, snadno se odděluje od dřeva. Lom je v kůře vláknitý, v dřevu tříštivý. Na hladkém příčném řezu je patrná tmavě hnědočervená kůra, která sahá asi do jedné třetiny průměru kořene, a husté, světle červenohnědé, jemně pórovité dřevo s četnými, jemnými dřeňovými paprsky. Centrální jádrové dřevo je často tmavší.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je hnědočervený. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: korkové buňky obsahují tmavě hnědé flobafeny; úlomky nezdřevnatělých lýkových vláken o průměru obvykle 12  $\mu$ m až 30  $\mu$ m s mírně ztlustlými stěnami; parenchymatické buňky lýka uspořádané v řadách obsahují hranolky a mikrokristaly šťavelanu vápenatého; úlomky cév obvykle o průměru 20  $\mu$ m až 60  $\mu$ m s dvůrkovitými ztenčeninami; úlomky cévic o průměru až 20  $\mu$ m, se štěrbinovitými ztenčeninami. Pozoruje se pod mikroskopem v roztoku *glycerolu R 50% (V/V)*; jsou patrná okrouhlá, jednotlivá nebo dvoučetná až čtyřčetná škrobová zrna; jednotlivá škrobová zrna mají až 30  $\mu$ m v průměru, některá škrobová zrna se nacházejí v buňkách dřeňových paprsků a v parenchymu.
- C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.  
*Zkoušený roztok*. 1,0 g práškové drogy (355) se smíchá s 10 ml směsí objemových dílů *vody R* a *lihu 96% R* (3 + 7), protřepává se 10 min a pak se zfiltruje. K filtrátu se přidá 10 ml *etheru petrolejového R* a protřepe se. Vrstva etheru petrolejového se oddělí, přidají se 2 g *siranu sodného bezvodého R*, protřepe se a zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha. Zbytek se rozpustí v 0,5 ml *methanolu R*.  
*Porovnávací roztok*. 5,0 mg *červeně sudanové G R* se rozpustí v 10 ml v *methanolu R*.  
Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *ethylaceta-tu R* a *toluenu R* (2 + 98) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a postříká se roztokem *modři pravé B R* (5 g/l).

Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se roztokem *hydroxidu sodného R (0,1 mol/l)* v *ethanolu R* a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v dolní třetině červená skvrna (červeň sudanová G). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je fialová skvrna (*ratanhia fenol I*) odpovídající polohou skvrně červeně sudanové G na chromatogramu porovnávacího roztoku, pod ní je nahnědlá skvrna (*ratanhia fenol II*) a pod ní modrošedá skvrna (*ratanhia fenol III*). Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být patrné další skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsi (2.8.2).** Nejvýše 2 % a nejvýše 5 % úlomků kořenových hlav nebo kořenů, jejichž průměr je větší než 25 mm. Kořeny zbavené kůry mohou být přítomny pouze ojedinele.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 12,0 %; 1,000 g práškové drogy (355) se suší v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 5,5 %.

### Stanovení obsahu

Provede se Stanovení tríslovin v rostlinných drogách (2.8.14); stanoví se s 0,750 g práškové drogy (180).

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

171. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Silymarinum* doplňuje článek *Simeticonum*, který zní:

”

## Simeticonum

Simetikon



CAS-8050-81-5

Připravuje se zavedením 4 % až 7 % křemíku do poly(dimethylsiloxanu) se stupněm polymerizace mezi 20 až 400. Simetikon obsahuje 90,5 % až 99,0 % poly(dimethylsiloxanu) (dimetikonu).

### Výroba

Poly(dimethylsiloxan) se získává hydrolyzou a polykondenzací dichlordimethylsilanu a chlortrimethylsilanu. Na povrchu je křemík modifikován zavedením methylsilanových skupin.

### Vlastnosti

Viskózní šedobílá opalizující kapalina. Je prakticky nerozpustný ve vodě a v methanolu, velmi těžce rozpustný až prakticky nerozpustný v ethanolu, částečně mísitelný s ethylacetatem, s dichlormethanem, s 2-butanonem a s toluenem.

### Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se získá způsobem popsaným ve Stanovení obsahu. Spektrum vykazuje maxima při  $2964\text{ cm}^{-1}$ ,  $2905\text{ cm}^{-1}$ ,  $1412\text{ cm}^{-1}$ ,  $1260\text{ cm}^{-1}$  a  $1020\text{ cm}^{-1}$  a kromě toho se shoduje se spektrem látky zvolené podle typu zkoušeného vzorku. Zkouší se tenký film látek nanesených odděleně mezi destičkami *chloridu sodného R*.
- B. 0,5 g se zahřívá ve zkumavce nad malým plamenem, dokud se nezačnou objevovat bílé dýmy. Zkumavka se převrátí nad druhou zkumavku obsahující 1 ml roztoku *kyseliny chromotropové sodné soli R* (1 g/l) v *kyselině sírové R* tak, aby dýmy dosáhly roztoku. Druhá zkumavka se protřepává asi 10 s a zahřívá se 5 min na vodní lázni; roztok se zbarví fialově.
- C. Zbytek získaný ze zkoušky Křemík v odstavci Stanovení obsahu, vyhovuje zkoušce na křemičitanu (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Kysele reagující látky.** K 2,0 g se přidá 25 ml směsi stejných objemových dílů *ethanolu R* a *etheru R*, předem neutralizované na 0,2 ml *modři bromthymolové RSI* a protřepe se. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebují nejvýše 3,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

### Odpěňovací účinnost

**Pěnicí roztok.** 5,0 g *natriumdokusatu R* se rozpustí v 1 l *vody R* (je-li třeba zahřátím na 50 °C).

**Odpěňovací roztok.** K 50 ml *2-butanonu R* se přidá 0,250 g simetikonu, za protřepávání se zahřeje nejvýše na 50 °C.

Do 250ml válcovité zkumavky o průměru 5 cm se převede 100 ml pěnicího roztoku a 1 ml odpěňovacího roztoku. Zkumavka se dobře uzavře a umístí se do vhodné vibrační třepačky, která splňuje následující podmínky:

- 250 až 300 kmitů za minutu,
- úhel kmitu: asi 10°,
- amplituda kmitu: asi 10 cm.

Třepe se 10 s a zaznamená se doba mezi koncem třepání a prvním objevením povrchu odpěněné kapaliny. Tato doba je nejvýše 15 s.

**Minerální oleje.** 2,0 g se pozorují ve zkumavce v ultrafialovém světle při 365 nm. Fluorescence není intenzivnější než fluorescence roztoku *chininiumsulfatu R* (0,1 mg/l) v *kyselině sírové 0,005 mol/l RS* pozorovaná za stejných podmínek.

**Fenylované sloučeniny.** 5,0 g se rozpustí za protřepávání v 10,0 ml *cyklohexanu R* a měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 200 nm až 350 nm za použití *cyklohexanu R* jako kontrolní tekutiny. Rozdíl absorbance měřené v maximum při 250 nm až 270 nm a absorbance měřené při 300 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 čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R*, 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 čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,02 g/l) v *dichlormethanu R*, 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 1 min protřepávají. Případné červené zbarvení zkoušeného roztoku není intenzivnější než zbarvení porovnávacího roztoku (5 µg/g).

**Těkavé látky.** Nejvýše 1,0 %; 1,00 g se zahřívá 2 h na misce o průměru 60 mm a hloubce 10 mm v sušárně při 150 °C.

### Stanovení obsahu

**Křemík.** Nejvýše 7 %; stanoví se termogravimetricky (2.2.34). 20,0 mg se zahřívá na teplotu 800 °C rychlostí 20 °C/min v proudu *dusiku R* o průtokové rychlosti 200 ml/min.

### Dimetikon

**Zkoušený roztok.** 50 mg (*E*) se převede do 125ml válcovité zkumavky se šroubovacím uzávěrem, přidá se 25,0 ml *toluenu R*, disperguje se pohybováním zkumavkou a přidá se 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*. Zkumavka se uzavře a ve vířivé míchačce se 5 min promíchává. Obsah zkumavky se převede do dělicí nálevky, nechá se usadit a 5 ml horní vrstvy se převede do zkumavky se šroubovacím uzávěrem obsahující 0,5 g *síranu sodného bezvodého R*, zkumavka se uzavře, silně se protřepe a odstředí se, aby se získal čirý zkoušený roztok.

**Porovnávací roztok.** Asi 0,20 g *dimetikonu CRL* se smíchá se 100,0 ml *toluenu R*. Za použití 25,0 ml tohoto roztoku se připraví porovnávací roztok stejným způsobem jako zkoušený roztok. Zároveň se připraví kontrolní roztok protřepáním 10 ml *toluenu R* s 1 g *síranu sodného bezvodého R*. Výsledná suspenze se odstředí.

Zaznamenají se infračervená absorpční spektra zkoušeného roztoku a porovnávacího roztoku v 0,5mm kyvetě od 1330 cm<sup>-1</sup> do 1180 cm<sup>-1</sup> a stanoví se absorbance při 1260 cm<sup>-1</sup> (2.2.24).

Obsah dimetikonu v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{25C \cdot A_M \cdot 100}{A_E \cdot E},$$

v němž značí:

$A_M$  - absorbanci zkoušeného roztoku,

$A_E$  - absorbanci porovnávacího roztoku,

$c$  - koncentraci porovnávacího roztoku v miligramech na mililitr,

$E$  - navážku zkoušené látky v miligramech.

172. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek *Sojae oleum hydrogenatum* doplňuje článek *Sojae oleum raffinatum*, který zní:

”

## Sojae oleum raffinatum

Sójový olej čištěný



2000

CAS 8001-22-7

Je to mastný olej získaný ze semen *Glycine soja* SIEB. a ZUCC. a *Glycine max* (L.) MERR. (*G. hispida* (MOENCH) MAXIM.) extrakcí a následným přečištěním. Může obsahovat vhodnou antioxidační přísadu.

### Vlastnosti

Čirá světle žlutá tekutina. Je mísitelný s etherem petrolejovým (50 °C až 70 °C) a prakticky nerozpustný v lihu 96%. Relativní hustota je asi 0,922 a index lomu asi 1,475.

### Zkouška totožnosti

Provede se zkouška Totožnost mastných olejů tenkovrstvou chromatografií (2.3.2). Chromatogram zkoušené látky odpovídá charakteristickému chromatogramu sójového 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, Metoda A). Nejvýše 10,0. Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je nejvýše 5,0.

**Nezmýdelnitelné 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, Metoda A). Podíl mastných kyselin v oleji má následující složení:

- nasycené mastné kyseliny s délkou řetězce méně než C<sub>14</sub>: nejvýše 0,1 %,
- kyselina myristová: nejvýše 0,2 %,
- kyselina palmitová: 9,0 % až 13,0 %,
- kyselina palmitolejová (odpovídá délkou řetězce makrogoladipatu 16,3): nejvýše 0,3 %,
- kyselina stearová: 3,0 % až 5,0 %,
- kyselina olejová (odpovídá délkou řetězce makrogoladipatu 18,3): 17,0 % až 30,0 %,
- kyselina linolová (odpovídá délkou řetězce makrogoladipatu 18,9): 48,0 % až 58,0 %,
- kyselina linolenová (odpovídá délkou řetězce makrogoladipatu 19,7): 5,0 % až 11,0 %,
- kyselina arachidová: nejvýše 1,0 %,
- kyselina ikosenová (odpovídá délkou řetězce makrogoladipatu 20,3): nejvýše 1,0 %,
- kyselina behenová: nejvýše 1,0 %.

**Brassikasterol** (2.4.23). Nejvýše 0,3 % ve sterolovém podílu oleje.

**Voda, mikrostanovení** (2.5.32). Pokud je látka určena k výrobě parenterálních lékových forem, je nejvýše 0,1 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky coulometrickou titrací vody. Použije se směs stejných objemových dílů *dekanolu R* a *methanolu bezvodého R* jako rozpouštědla.

## Uchovávání

Ve zcela naplněných dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem při teplotě nejvýše 25 °C.

## Označování

V označení na obalu se uvede:

- zda je látka vhodná k výrobě parenterálních lékových forem,
- název a množství přidaného antioxidantu.

“

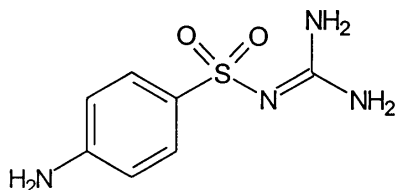
173. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Sulfafurazolium doplňuje článek Sulfaguanidinum, který zní:

”

## † Sulfaguanidinum

Sulfaguanidin

2000



$C_7H_{10}N_4O_2S$

$M_r$  214,25

CAS 57-67-0

Je to (4-aminofenylsulfonyl)guanidin. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_7H_{10}N_4O_2S$ .

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý jemně krystalický prášek, velmi těžce rozpustný ve vodě, těžce rozpustný v acetonu, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu. Je rozpustný ve zředěných roztocích minerálních kyselin.

## Zkoušky totožnosti

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C, D a E, viz *Obecné zásady* (1.2).

A. Teplota tání (2.2.14). 189 °C až 193 °C; stanoví se z vysušené látky.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) zkoušené látky se shoduje se spektrem *sulfaguanidinu CRL*.



- C. Hodnotí se chromatogramy získané 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 (a).
- D. Asi 5 mg se rozpustí v 10 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*. 1 ml tohoto roztoku se zředí *vodou R* na 10 ml. Roztok bez dalšího okyselení vyhovuje zkoušce na primární aromatické aminy (2.3.1).
- E. 0,1 g se suspenduje ve 2 ml *vody R*, přidá se 1 ml roztoku *1-naftolu R* a 2 ml směsi stejných objemových dílů *vody R* a *chlornanu sodného RS*; vzniká červené zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** Ke 2,5 g se přidá 40 ml *vody prosté oxidu uhličitého R* a zahřívá se 5 min při asi 70 °C. Asi 15min mícháním se chladí v ledové lázni, zfiltruje se a zředí se *vodou prostou oxidu uhličitého R* na 50 ml.

**Kyselé reagující látky.** K 20 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *modři bromthymolové RS1*. Ke změně zbarvení indikátoru se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.

**Zkoušený roztok (a).** 50 mg se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

**Zkoušený roztok (b).** 2 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 10 mg *sulfaguandinu CRL* se rozpustí v *acetonu R* a zředí se jím na 5 ml.

**Porovnávací roztok (b).** 5 ml zkoušeného roztoku (b) se zředí *acetonem R* na 200 ml.

**Porovnávací roztok (c).** 5 ml porovnávacího roztoku (b) se zředí *acetonem R* na 10 ml.

**Porovnávací roztok (d).** 10 mg *sulfanilamidu R* se rozpustí ve zkoušeném roztoku (b) a zředí se jím na 5 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směs objemových dílů *kyseliny mravenčí bezvodé R*, *methanolu R* a *dichlormethanu R* (10 + 20 + 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 (b) (0,5 %) a nejvýše jedna taková skvrna je intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,25 %). Zkoušku lze hodnotit, jestliže na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) jsou dvě zřetelně oddělené skvrny.

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce F na těžké kovy (20 µg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 8,0 %; 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

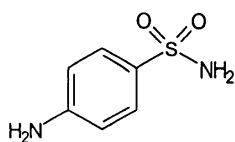
0,175 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a roztok se ochladí v ledové lázni. Provede se zkouška Dusík v primárních aromatických aminech (2.5.8) za elektrometrické indikace bodu ekvivalence.

1 ml *dusitanu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 21,42 mg C<sub>7</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S.

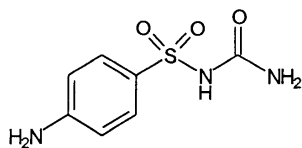
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

### Nečistoty



A. sulfanilamid,



B. sulfanilylmočovina.

“

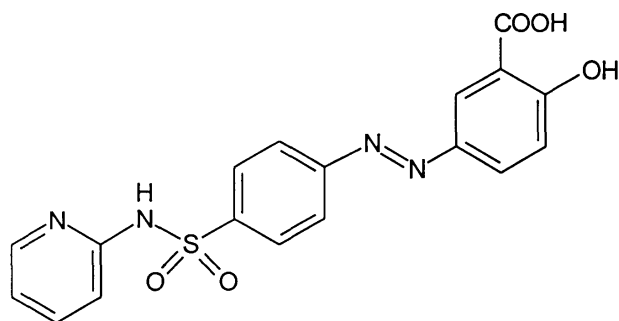
174. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Sulfasalazinum zní:

”

## † Sulfasalazinum

Sulfasalazin

2000

C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>SM<sub>r</sub> 398,39

CAS 599-79-1

Je to kyselina 2-hydroxy-5-{{4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl}azo}benzoová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 97,0 % až 101,5 % sloučeniny C<sub>18</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S.

### Vlastnosti

Jasně žlutý nebo hnědavě žlutý jemný prášek. Je prakticky nerozpustný ve vodě, velmi těžce rozpustný v lihu 96%, prakticky nerozpustný v dichlormethanu. Rozpouští se ve zředěných roztocích alkalických hydroxidů.

### Zkouška totožnosti

Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *sulfasalazinu CRL*.

## Zkoušky na čistotu

**Příbuzné látky.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v amoniaku zředěném RS3 a zředí se jím na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 1,0 ml zkoušeného roztoku se zředí amoniakem zředěným RS3 na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 mg sulfasalazinu derivátu pro rozlišení CRL se rozpustí v 10,0 ml porovnávacího roztoku (a). 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 0,25 m a vnitřního průměru 4,6 mm naplněné silikagelem oktadecylsilanizovaným pro chromatografii R (5 µm),
- mobilní fáze o průtokové rychlosti 1 ml/min:
  - mobilní fáze A - 1,13 g dihydrogenfosforečnanu sodného R a 2,5 g octanu sodného R se rozpustí v 1000ml odměrné baňce v 900 ml vody R. pH se upraví kyselinou octovou ledovou R na hodnotu 4,8 a objem se doplní vodou R na 1000 ml,
  - mobilní fáze B - směs objemových dílů mobilní fáze A a methanolu R (1 + 4),

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámky
0 - 15	60 → 45	40 → 55	lineární gradient
15 - 25	45	55	izokraticky
25 - 60	45 → 0	55 → 100	lineární gradient
60 - 65	0	100	izokraticky
65 - 67	0 → 60	100 → 40	nastavení počátečních podmínek
67 - 77	60	40	ustalování

- spektrofotometrického detektoru, 320 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (a). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky sulfasalazinu a sulfasalazinu derivátu pro rozlišení je nejméně 3,0.

Nastříkne se 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku (a). Jsou-li chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou relativní retenční časy nečistot vztažené na sulfasalazin následující:

A	2,00	D	1,90	G	1,39
B	1,85	E	1,63	H	0,16
C	0,80	F	0,85	I	0,28

Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha žádného píku, kromě hlavního píku, větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (1 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku, není větší než čtyřnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (4 %). Nepřihlíží se k píkům, jejichž retenční časy jsou kratší než 6 min (kyselina salicylová a sulfapyridin), a píkům, jejichž plocha je menší než 0,05násobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (a).

**Kyselina salicylová a sulfapyridin.** Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* 25,0 mg se rozpustí v amoniaku zředěném RS3 a zředí se jím na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 5,0 mg kyseliny salicylové R a 5,0 mg sulfapyridinu CRL se rozpustí v amoniaku zředěném RS3 a zředí se jím na 10,0 ml.

*Porovnávací roztok (b).* 2,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí amoniakem zředěným RS3 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),
- jako mobilní fáze se použije směs objemových dílů mobilní fáze A a mobilní fáze B, které jsou popsány ve zkoušce na příbuzné látky, (70 + 30), průtoková rychlost je 1 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 300 nm.

Nastříkne se 20 µl porovnávacího roztoku (b). Citlivost systému se nastaví tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu byla nejméně 50 % rozsahu celé stupnice zapisovače. Je-li chromatogram zaznamenáván za předepsaných

podmínek, relativní retenční časy jsou: kyselina salicylová asi 6 min a sulfapyridin asi 7 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky kyseliny salicylové a sulfapyridinu je nejméně 2.

Nastříkne se 20  $\mu$ l zkoušeného roztoku a 20  $\mu$ l porovnávacího roztoku (b). Chromatogram se zaznamenává po dobu 10 min. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku kyseliny salicylové větší než 0,5násobek plochy prvního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,5 %) a pík sulfapyridinu není větší než 0,5násobek plochy druhého 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).

**Chloridy (2.4.4).** K 1,25 g se přidá 50 ml *vody destilované R*, 5 min se zahřívá při asi 70 °C, ochladí se a zfiltruje. K 20 ml filtrátu se přidá 1 ml *kyseliny dusičné R*, nechá se 5 min stát a filtruje se do získání čirého roztoku. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (140  $\mu$ g/g).

**Sírany (2.4.13).** K 20 ml filtrátu získaného ve zkoušce Chloridy se přidá 1 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS*, nechá se 5 min stát a zfiltruje se. 15 ml filtrátu vyhovuje limitní zkoušce na sírany (400  $\mu$ g/g).

**Těžké kovy (2.4.8).** 2,0 g vyhovují limitní zkoušce D na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). Porovnávací roztok se připraví za použití 2 ml základního roztoku olova (10  $\mu$ g Pb/ml).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 1,0 %; 1,000 g se suší 2 h v sušárně při 100 °C až 105 °C.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 0,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

### Stanovení obsahu

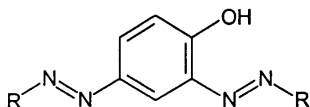
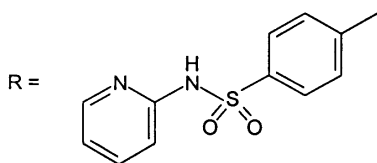
0,150 g se rozpustí v *hydroxidu sodném 0,1 mol/l RS* a zředí se jím na 100,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se převede do 1000ml odměrné baňky obsahující asi 750 ml *vody R*, přidá se 20,0 ml *kyseliny octové 0,1 mol/l RS* a zředí se na 1000,0 ml *vodou R*. Současně se stejným způsobem připraví porovnávací roztok za použití 0,150 g *sulfasalazinu CRL*. Měří se absorbance (2.2.25) obou roztoků v maximu při 359 nm.

Vypočítá se obsah  $C_{18}H_{14}N_4O_5S$  za použití naměřených absorbancí a koncentrací roztoků.

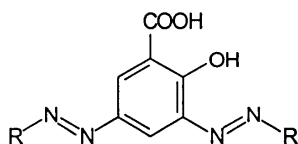
### Uchovávání

Chráněn před světlem.  
Separandum.

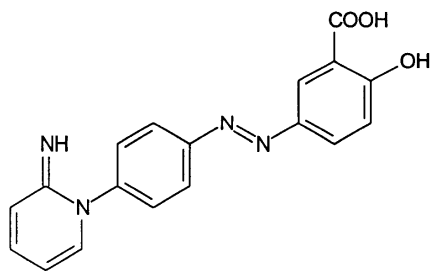
### Nečistoty



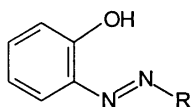
A. 2,4-bis{[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo}fenol,



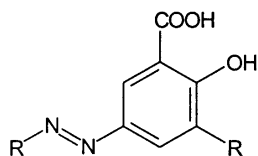
B. kyselina 2-hydroxy-3,5-bis{[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo}benzoová,



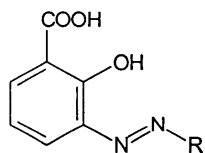
C. kyselina 2-hydroxy-5-[[4-(2-imino-1,2-dihydropyridin-1-yl)fenyl]azo]benzoová,



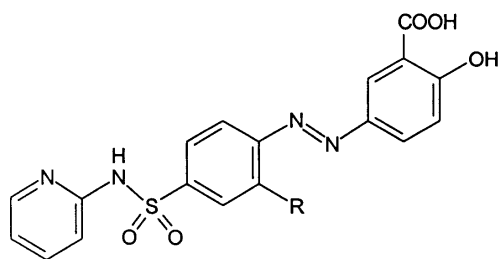
D. 2-[[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo]fenol,



E. kyselina 2-hydroxy-3-[[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]-5-[[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo]benzoová,

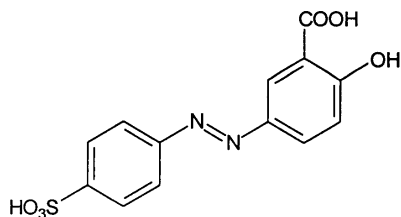


F. kyselina 2-hydroxy-3-[[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo]benzoová,



G. kyselina 2-hydroxy-5-[[2-[[4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]-4-[(2-pyridylamino)sulfonyl]fenyl]azo]benzoová,

H. kyselina 2-hydroxybenzoová (kyselina salicylová),



I. kyselina 2-hydroxy-5-[(4-sulfofenyl)azo]benzoová.

“

175. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Tanninum zní:

”

## Tanninum

Tanin

2000



CAS 1401-55-4

Je to směs esterů glukosy s kyselinou gallovou a kyselinou 3-galloylgallovou.

### Vlastnosti

Nažloutle bílý nebo nahnědlý amorfní lehký prášek nebo lesklé šupiny. Je velmi snadno rozpustný ve vodě, snadno rozpustný v acetonu, v lihu 96% a v glycerolu 85% a prakticky nerozpustný v dichlormethanu.

### Zkoušky totožnosti

- A. 0,1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí vodou R na 5 ml a smíchá se s 0,1 ml chloridu železitého RS1; vznikne černomodré zbarvení. Pak se přidá 1 ml kyseliny sírové zředěné RS; černomodré zbarvení se změní na zelené.
- B. K 1 ml roztoku S se přidají 3 ml roztoku želatiny R (1 g/l); směs se zakalí a vytvoří se vločkovitá sraženina.
- C. 0,1 ml roztoku S se zředí vodou R na 5 ml a smíchá se s 0,3 ml hydroxidu barnatého RS; vznikne zelenomodrá sraženina.

### Zkoušky na čistotu

Roztok S. 4,0 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 II (2.2.1).

Dextrin, gumy, sacharidy, soli. Ke 2 ml roztoku S se přidají 2 ml lihu 96% R; roztok je čirý. Pak se přidá 1 ml etheru R; do 10 min se roztok nezakalí.

Pryskyřice. K 5 ml roztoku S se přidá 5 ml vody R; do 15 min se směs nezakalí (2.2.1).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 12,0 %. 0,200 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.

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

“

176. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Tocoferoli alfa acetat zní:

”

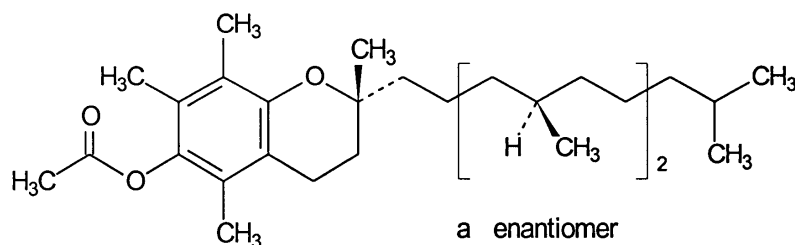
## † Tocoferoli alfa acetat

Tokoferolacetat alfa

2000



*Synonyma.* α-Tocopherylis acetat, 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 (2RS)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4RS,8RS)-4,8,12-trimethyltridecyl]-6-chromanylacetat. 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 a 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. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu HF<sub>254</sub> R*.

*Zkoušený roztok (a)*. Asi 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

*Zkoušený roztok (b)*. Ve skleněné zkumavce se zabroušenou zátkou se rozpustí asi 10 mg 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)*. Asi 10 mg *tokoferolacetatu alfa CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

*Porovnávací roztok (b)*. Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *tokoferolacetatu alfa CRL* místo zkoušené látky.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10 µl 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 (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 s nižší hodnotou  $R_F$  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 *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 100,0 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). Měří 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 *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 nejméně 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 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.

### 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:

- silanizované skleněné kolony délky 2,0 m až 3,0 m a vnitřního průměru 2,2 mm až 4,0 mm naplněné *křemelinou silanizovanou 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,
- plamenionizačního 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 na kolonu nebo prostřednictvím skleněné vstřikovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo nějaké jiné reprodukovatelné nastřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátorem.

*Rozlišení.* Nastříkne se 1 µl porovnávacího roztoku. Postup se opakuje až odezvvý 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 větší než 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 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 větší než 50 % rozsahu stupnice zapisovače. Změří se plochy píků tokoferolacetatu 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 tokoferolacetatu alfa ( $S'_T$ ) a dotriakontanu ( $S'_D$ ).

Stanoví se odezvvý faktor (RF) pro tokoferolacetat alfa na chromatogramu porovnávacího roztoku z plochy 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 nichž 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.

177. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Tocoferoli alfa RRR acetat zní:

”

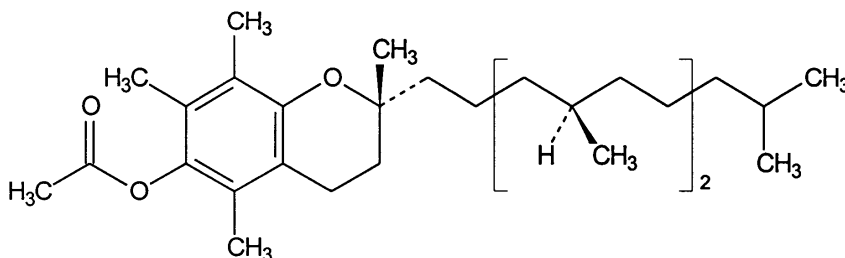
## † Tocoferoli alfa *RRR* acetat

Tokoferolacetat alfa *RRR*

*Synonyma.* *RRR*- $\alpha$ -Tocopheroli acetat, *RRR*- $\alpha$ -Tocopherylis acetat



2000



$C_{31}H_{52}O_3$

$M_r$  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, snadno rozpustný v acetonu, v ethanolu a v mastných olejích, dobře rozpustný v lihu 96%.

### 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 CRL*.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok (a).* 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

*Zkoušený roztok (b).* Ve skleněné zkumavce se zabroušenou zátkou se rozpustí asi 10 mg 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 CRL* se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

*Porovnávací roztok (b).* Připraví se stejným způsobem jako zkoušený roztok (b) za použití *tokoferolacetatu alfa CRL* místo zkoušené látky.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ 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 (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 porov-

návacího 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 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 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 *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 odpařením 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 *RRR* (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). Měří 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 *difenyldiaminu 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).** 0,5 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.* 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 0,25µm 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 vstřikovací trubice za použití automatického nástřikového zařízení nebo jiné reprodukovatelné nástřikovací metody. Plochy píků se měří elektronickým integrátozem. 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), jak je popsáno níže.

Stanoví se odezvoový faktor (RF) pro tokoferolacetat alfa na chromatogramu porovnávacího roztoku z plochy píku tokoferolacetatu alfa a píku dotriakontanu 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 tokoferolacetatu alfa ( $S'_T$ ) a dotriakontanu ( $S'_D$ ).

Obsah tokoferolacetatu alfa *RRR* 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 *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.

178. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Tocoferolum alfa RRR zní:

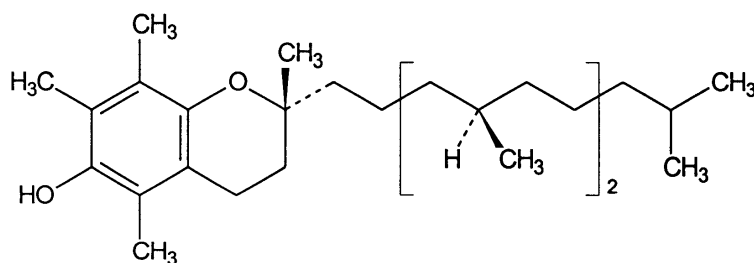
”

## † Tocoferolum alfa *RRR*

Tokoferol alfa *RRR*

Synonymum. *RRR*- $\alpha$ -Tocopherolum

2000



$C_{29}H_{50}O_2$

$M_r$  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 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 *desky s vrstvou silikagelu F<sub>254</sub> pro TLC R*.

*Zkoušený roztok*. 10 mg se rozpustí ve 2 ml *cyklohexanu R*.

*Porovnávací roztok*. 10 mg *tokoferolu alfa CRL* se rozpustí v 2 ml *cyklohexanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně po 10  $\mu$ 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.

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 *hexakynoželezitanu 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*. Promý-

vací 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 odpařením 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  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku olova (10  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

**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.** 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  $\mu\text{m}$  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 integrovačem. 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  $\mu\text{l}$  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  $S'_{D(\text{kor})}$  vypočítaná podle vzorce:

$$S'_{D(\text{kor})} = S'_D - \frac{S_I \cdot S'_T}{S_{TI}}$$

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 *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  $\mu\text{l}$  porovnávacího roztoku a zaznamená se chromatogram. Změří se plochy píků *tokoferolu alfa* ( $S_T$ ) a *dotriakontanu* ( $S_D$ ) a vypočítá se odezvvový faktor (RF) jak je popsáno níže.

Stanoví se odezvodový faktor (RF) pro tokoferolacetat alfa na chromatogramu porovnávacího roztoku z ploch píku tokoferolacetatu alfa a píku dotriakontanu podle vzorce:

$$RF = \frac{S_D \cdot m_T}{S_T \cdot m_D}$$

Stejným způsobem se nastříkne 1  $\mu$ l zkoušeného roztoku. Změří se plochy píků tokoferolu alfa ( $S'_T$ ) a dotriakontanu ( $S'_D$ ).

Obsah tokoferolu alfa RRR 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 *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.

“

179. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek *Tormentillae radix* zní:

”

## Tormentillae rhizoma

Nátržníkový oddenek

*Synonyma.* Radix tormentillae, Rhizoma tormentillae

2000



Je to celý nebo řezaný usušený kořenů zbavený oddenek druhu *Potentilla erecta* (L.) RAUSCH. (*P. tormentilla* STOKES).

Obsahuje nejméně 7,0 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol ( $C_6H_6O_3$ ;  $M_r$  126,1), vztaženo na vysušenou drogu.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

A. Oddenek válcovitě větvenovitý, silně proměnlivého vzhledu, často tvoří zkroucené uzlovité hlízy až 10 cm dlouhé a 1 cm až 2 cm silné, velmi tvrdé, jen vzácně větvené. Oddenek na povrchu hnědý až červenohnědý, svraštlý, se

zbytky kořenů a příčně protáhlými, vpadlými bělavými jizvami po stoncích. Na vrcholu oddenku mohou být zbytky četných nadzemních stonků. Oddenek na lomu tmavě červený až hnědožlutý, lom je krátký, zrnitý. Na hladkém příčném řezu je patrný pruh kambia, oddělující úzkou periferní oblast od nezřetelně paprscitého dřeva se zřetelně oddělenými malými skupinami zdřevnatělé tkáně uspořádané do soustředných kruhů, obklopujících velkou centrální dřeň.

**B.** Droga se upráškuje (355). Prášek je červenohnědý. Pozoruje se pod mikroskopem v *chloralhydrátu RS*. Práškováná droga je charakteristická těmito znaky: hrubě ostnitě drúzy šťavelanu vápenatého o průměru až 60 µm; úlomky tenkostěnného parenchymu obsahujícího červenohnědé třísloviny; skupiny úzkých, dvůrkovitě ztlustlých cév s širokými póry; ztlustlé, tečkované, mnohohranné buňky parenchymu; skupiny a úlomky sklerenchymatických vláken; někdy úlomky korku s deskovitými, hnědými, tenkostěnnými buňkami. Při pozorování v roztoku *glycerolu R 50% (V/V)* jsou patrná kulovitá nebo oválná škrobová zrna délky až asi 20 µm.

**C.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

*Zkoušený roztok.* 0,5 g práškované drogy (355) se protřepává 10 min s 10 ml *vody R* a pak se zfiltruje. Filtrát se protřepává dvakrát 10 ml *ethylacetatu R*. Spojené horní vrstvy se zfiltrují přes 6 g *síranu sodného bezvodého R*. Filtrát se odpaří do sucha za sníženého tlaku a zbytek se rozpustí v 1,0 ml *ethylacetatu R*.

*Porovnávací roztok.* 1,0 mg *katechinu R* se rozpustí v 1,0 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *etheru R*, *hexanu R* a *ethylacetatu R* (20 + 20 + 20 + 40) po dráze 10 cm. Vrstva se suší 10 min až 15 min na vzduchu a pak se postříká čerstvě připraveným roztokem *modři pravé B R* (5 g/l); jsou patrné načervenalé skvrny. Vrstva se vystaví působení par amoniaku; skvrny se zbarví intenzivněji červenohnědě. Vrstva se pozoruje v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní třetině intenzivní skvrna (katechin). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je skvrna katechinu obvykle intenzivnější než skvrna katechinu na chromatogramu porovnávacího roztoku; pod ní je intenzivní skvrna a další méně intenzivní skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Cizí příměsí (2.8.2).** Nejvýše 3 % kořenů a stonků i oddenků na lomu zčernalých a nejvýše 2 % ostatních cizích příměsí.

**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

Provede se Stanovení tříslovin v rostlinných drogách (2.8.14); použije se 0,500 g práškované drogy (180).

### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.



180. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články *Tragacantha* a *Tretinoinum* znějí:

”

## Tragacantha

Tragant

2000



CAS 9000-65-1

Je to na vzduchu ztvrdlý sliz vytékající samovolně nebo po naříznutí kmenu a větví druhu *Astragalus gummifer* LABILL. a některých dalších druhů rodu *Astragalus* ze západní Asie.

### Vlastnosti

Makroskopický a mikroskopický popis, viz Zkoušky totožnosti A a B.

### Zkoušky totožnosti

- A. Tenké, zploštělé, pentlicovité, bílé nebo nažloutlé průsvitné proužky, asi 30 mm dlouhé, 10 mm široké a až 1 mm silné, více nebo méně zakřivené; rohovitě; lom krátký; na povrchu jemné, podélné rýhy a soustředná, příčná žebra. Mohou být přítomny také poněkud silnější kusy podobného tvaru, méně průsvitné a hůře se lámající.
- B. Droga se upráškuje (355). Prášek je bílý nebo téměř bílý, s asi desetinásobným množstvím vody tvoří slizovitý gel. Pozoruje se pod mikroskopem v *glycerolu R* 50% (V/V). Ve slizovité hmotě jsou patrné četné vrstevnaté buněčné membrány, které se barví *chloridem zinečnatým s jodem RS* fialově. Škrobová zrna jednotlivá nebo v malých skupinách, většinou okrouhlá, někdy deformovaná, o průměru 4 µm až 10 µm, příležitostně až 20 µm; centrální hilum je viditelné v polarizovaném světle.
- C. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Arabská klovatina, viz Zkoušky na čistotu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou tři skvrny odpovídající galaktose, arabinose a xylose. Na čele chromatogramu je nažloutlá skvrna a mezi skvrnami galaktosy a arabinosy je šedozeleňá skvrna.
- D. 0,5 g práškované drogy (355) se navlhčí 1 ml *lihu 96% R* a postupně, za stálého protřepávání se přidává 50 ml *vody R*, dokud nevznikne homogenní sliz. 5 ml slizu se smíchá s 5 ml *vody R* a 2 ml *hydroxidu barnatého RS*; vznikne jemná vločkovitá sraženina. Zahřívá se 10 min na vodní lázni; vznikne intenzivně žluté zbarvení.

### Zkoušky na čistotu

**Arabská klovatina.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu pro TLC R*.

**Zkoušený roztok.** 100 mg práškované drogy (355) se v silnostěnné zkumavce smíchá s 2 ml roztoku *kyseliny trifluoroktové R* (100 g/l), silně se třepe do rozpuštění vzniklého gelu, zkumavka se uzavře a směs se zahřívá 1 h při 120 °C. Hydrolyzát se odstředí, čirá supernatantní tekutina se opatrně převede do 50ml baňky, přidá se 10 ml *vody R* a roztok se odpaří za sníženého tlaku do sucha. Ke konečnému čirému filmu se přidá 0,1 ml *vody R* a 0,9 ml *methanolu R*. Amorfni sraženina se odstředí a je-li třeba, supernatantní tekutina se zředí *methanolem R* na 1 ml.

**Porovnávací roztok.** 10 mg *arabinosy R*, 10 mg *galaktosy R*, 10 mg *rhamnosy R*, a 10 mg *xylosy R* se rozpustí v 1 ml *vody R* a zředí se *methanolem R* na 10 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 10 µl obou roztoků. Vyvíjí se směsí objemových dílů *roztoku dihydrogenfosforečnanu sodného R* (16 g/l), *butanolu R* a *acetonu R* (10 + 40 + 50) po dráze 10 cm. Vrstva se suší několik minut v proudu horkého vzduchu a vyvíjí se stejnou mobilní fází ještě jednou po dráze 15 cm. Potom se suší 10 min při 110 °C, postříká se *anisaldehydem RS* a znovu se 10 min suší při 110 °C. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou čtyři zřetelně oddělené skvrny (v pořadí vzrůstajícího  $R_F$ ) odpovídající galaktose (šedozeleňá až zelená), arabinose

(žlutozelená), xylose (zelenošedá nebo žlutošedá) a rhamnose (žlutozelená). Na chromatogramu zkoušeného roztoku není žlutozelená skvrna odpovídající rhamnose na chromatogramu porovnávacího roztoku.

**Methylcelulosa.** Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Arabská klovatina. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není patrná v blízkosti čela červená skvrna.

#### Slizy z rostlin rodu *Sterculia*.

A. 0,2 g práškované drogy (355) se v odměrném válci na 10 ml se zabroušenou zátkou děleném po 0,1 ml protřepává s 10 ml *lihu R 60% (V/V)*. Objem gelu je nejvýše 1,5 ml.

B. 1,0 g práškované drogy (355) se protřepává se 100 ml *vody R* a pak se přidá 0,1 ml *červeně methylové RS*. Barva roztoku se změní po přidání nejvýše 5,0 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*.

**Cizí látky.** 2,0 g práškované drogy (355) se v 250ml baňce s kulatým dnem smíchají s 95 ml *methanolu R* a promíchá se krouživým pohybem tak, aby se zkoušená droga navlhčila. Přidá se 60 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, několik skleněných varných kuliček o průměru asi 4 mm a zahřívá se 3 h pod zpětným chladičem na vodní lázni za občasného protřepávání. Varné kuličky se odstraní a ještě horká suspenze se zfiltruje ve vakuu filtrem ze slinutého skla (160). Baňka se promyje malým množstvím *vody R*, promývací tekutina se rovněž zfiltruje a zbytek na filtru se promyje asi 40 ml *methanolu R* a suší se do konstantní hmotnosti (asi 1 h). Po vychladnutí v exsikátoru se zváží. Zbytek váží nejvýše 20 mg (1,0 %).

**Průtokový čas.** Nejméně 10 s, je-li látka určena pro přípravu emulzí nejméně 50 s. 1,0 g práškované drogy (125 až 250) se v 1000ml baňce s kulatým dnem se zabroušenou zátkou smíchá s 8,0 ml *lihu 96% R* a baňka se uzavře. Promíchá se tak, aby suspenze pokryla vnitřní stěny baňky, ale aby nesmáčela zátku. Pak se přidá 72,0 ml *vody R*, baňka se uzavře a 3 min se intenzivně protřepává. Po 24 h stání se znovu 3 min intenzivně protřepává. Vzduchové bubliny se odstraní ze slizu ve vakuu (5 min). Sliz se převede do 50ml válce. Do slizu se ponoří skleněná trubice délky 200 mm a vnitřního průměru 6,0 mm, označená ve vzdálenosti 20 mm a 120 mm od spodního okraje. Trubice nesmí být umyta povrchově aktivními látkami. Když dosáhne hladina slizu horní značky, uzavře se trubice prstem. Pak se vyjme z válce, prst se odstraní a měří se stopkami čas v sekundách, potřebný k tomu, aby hladina slizu dosáhla spodní značky. Opakuje se čtyřikrát, vypočítá se průměrná hodnota posledních tří stanovení.

**Celkový popel (2.4.16).** Nejvýše 4,0 %.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Celkový počet živých mikroorganismů je nejvýše  $10^4$  v gramu; stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce (2.6.13) na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella*.

#### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.

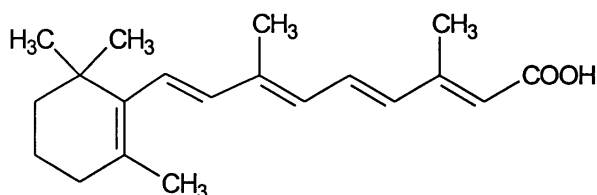
#### Označování

V označení na obalu se uvede, zda je látka vhodná pro přípravu emulzí.

† **Tretinoinum**

Tretinoin

2000

 $C_{20}H_{28}O_2$  $M_r$  300,44

CAS 302-79-4

Je to kyselina all-trans-retinoová, tj. kyselina (2*E*,4*E*,6*E*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{20}H_{28}O_2$ .

**Vlastnosti**

Žlutý nebo světle oranžový krystalický prášek, prakticky nerozpustný ve vodě, dobře rozpustný v dichlormethanu, těžce rozpustný v lihu 96%. Vlivem tepla, světla a vzduchu se rozkládá, zejména v roztoku.

Taje při asi 182 °C, za rozkladu.

Všechny postupy se provádějí co nejrychleji a za ochrany před aktinickým světlem; použijí se čerstvě připravené roztoky.

**Zkoušky totožnosti**

Základní sestava zkoušek: A a B.

Alternativní sestava zkoušek: A, C a D, viz Obecné zásady (1.2).

A. 75,0 mg se rozpustí v 5 ml dichlormethanu R a ihned se zředí na 100,0 ml okyseleným 2-propanolem R (připraví se zředěním 1 ml kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l RS 2-propanolem R na 1000 ml). 5,0 ml tohoto roztoku se zředí okyseleným 2-propanolem R na 100,0 ml a 5,0 ml takto naředěného roztoku se dále zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml. Měří se absorbance (2.2.25) tohoto roztoku při 300 nm až 400 nm; roztok vykazuje absorpční maximum při 353 nm. Specifická absorbance v maximu je 1455 až 1545.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety tretinoinu CRL.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R.

Zkoušený roztok. 10 mg se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml.

Porovnávací roztok. 10 mg tretinoinu CRL se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 10 ml.

Na vrstvu se odděleně nanese po 5 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny octové ledové R, acetonu R, etheru prostého peroxidických látek R a cyklohexanu R (2 + 4 + 40 + 54) 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. Asi 5 mg se rozpustí ve 2 ml chloridu antimonitého RS; vznikne intenzivní červené zbarvení, které se později změní na fialové.

**Zkoušky na čistotu**

Příbuzné látky. Proveďte se kapalinová chromatografie (2.2.29).

Zkoušený roztok. 0,100 g se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 50,0 ml.

Porovnávací roztok (a). 10,0 mg isotretinoinu CRL se rozpustí v methanolu R a zředí se jím na 10,0 ml.

Porovnávací roztok (b). 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí methanolem R na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) a 0,5 ml zkoušeného roztoku se promíchá a zředí se *methanolem R* na 25,0 ml.

*Porovnávací roztok (d).* 0,5 ml zkoušeného roztoku se zředí *methanolem R* na 100,0 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* (3 μm),
- mobilní fáze, kterou je směs objemových dílů *kyseliny octové ledové R*, *vody R* a *methanolu R* (5 + 225 + 770); průtoková rychlost je 1,0 ml/min,
- spektrofotometrického detektoru, 355 nm.

Odděleně se nastříkne po 10 μl každého z porovnávacích roztoků (b), (c) a (d) a zkoušeného roztoku. Nastaví se citlivost detektoru tak, aby výška hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) byla nejméně 70 % celé stupnice zapisovače. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky isotretinoinu a tretinoinu na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) je nejméně 2,0. Na chromatogramu zkoušeného roztoku není plocha píku isotretinoinu větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (2,0 %); součet ploch všech píků, kromě hlavního píku a píku isotretinoinu, není větší než plocha hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (0,5 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 0,5 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).

**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 *acetonu 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 30,04 mg C<sub>20</sub>H<sub>28</sub>O<sub>2</sub>.

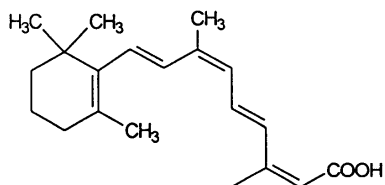
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě nepřevyšující 25 °C. Doporučuje se použít obsah otevřeného obalu co nejdříve a nespotebovanou část chránit v atmosféře inertního plynu.

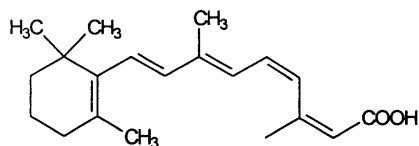
Separandum.

## Nečistoty

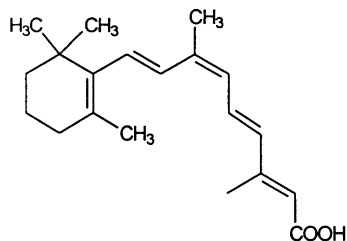
A. isotretinoin,



B. kyselina (2*Z*,4*E*,6*Z*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 9,13-di-*cis*-retinoová),



C. kyselina (2*Z*,4*Z*,6*E*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 11,13-di-*cis*-retinoová),



D. kyselina (2*E*,4*E*,6*Z*,8*E*)-3,7-dimethyl-9-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2,4,6,8-nonatetraenová (kyselina 9-*cis*-retinoová),

E. oxidační produkty tretinoinu.

“

181. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Triamterenum doplňuje článek Triethylis citras, který zní:

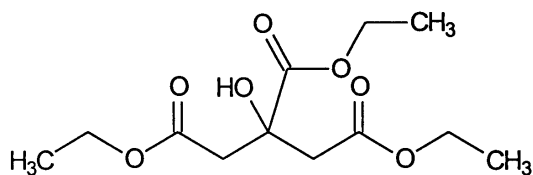
”

## Triethylis citras

Triethylcitrat



2000



$C_{12}H_{20}O_7$

$M_r$  276,29

CAS 77-93-0

Je to triethyl-2-hydroxy-1,2,3-propantrikarboxylat. Počítáno na bezvodou látku, obsahuje 98,5 % až 101,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{20}O_7$ .

## Vlastnosti

Čirá viskózní bezbarvá nebo téměř bezbarvá hygroskopická kapalina. Je dobře rozpustný ve vodě, mísitelný s lihem 96% a s etherem, těžce rozpustný v mastných olejích.

## Zkoušky totožnosti

*Základní sestava zkoušek: A a 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) se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. triethylcitratu.

C. Vyhovuje zkoušce na estery (2.3.1).

D. K 0,5 ml se přidá 5 ml lihu 96% R a 4 ml hydroxidu sodného zředěného RS. Vaří se pod zpětným chladičem asi 10 min. 2 ml tohoto roztoku vyhovují zkoušce na citronany (2.3.1).

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled.** Zkoušená látka je čirá (2.2.1) a není zbarvena intenzivněji než porovnávací barevný roztok HŽ<sub>6</sub> (2.2.2, Metoda II).

**Kyselé reagující látky.** 10 g se zředí 10 ml lihu 96% R předem zneutralizovaného, přidá se 0,5 ml modři bromthymolové RS2. Ke změně zbarvení indikátoru na modré se spotřebuje nejvýše 0,3 ml hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS.

**Index lomu (2.2.6).** 1,440 až 1,446.

**Příbuzné látky.** Stanoví se plynovou chromatografií (2.2.28).

**Zkoušený roztok.** 1,0 ml se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 50,0 ml.

**Porovnávací roztok (a).** 1,0 ml zkoušené látky a 0,5 ml methyltridekanoatu R se rozpustí v dichlormethanu R a zředí se jím na 50,0 ml.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- křemenné kapilární kolony délky 30 m a vnitřního průměru 0,32 mm s vnitřním povrchem potaženým 5 μm vrstvou poly(dimethyl)siloxanu R,
- helia pro chromatografii R jako nosného plynu s dělicím poměrem 50 : 1 a s lineární rychlostí asi 26 cm/s,
- plamenoionizačního detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 200 °C, teplota nástřikového prostoru a detektoru na 220 °C.

Nastříkne se po 1 μl každého roztoku a chromatogram se zaznamenává po dobu odpovídající dvojnásobku retenčního času triethylcitratu, který je asi 13,6 min. Zkoušku lze hodnotit, jestliže rozlišení mezi píky triethylcitratu a methyltridekanoatu na chromatogramu porovnávacího roztoku (a) je nejméně 1,5. Obsah příbuzných látek v procentech se vypočítá z ploch píků na chromatogramu zkoušeného roztoku obvyklým postupem (metoda normalizace). Nepřihlíží se k píkům, jejichž plocha je menší než 0,04 % plochy hlavního píku. Obsah žádné příbuzné látky není větší než 0,2 % a jejich součet není větší než 0,5 %.

**Těžké kovy (2.4.8).** 4,0 g se rozpustí v 8 ml lihu 96% R a zředí se vodou R na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce B na těžké kovy (5 μg/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 μg Pb/ml) získaný zředěním základního roztoku olova (100 μg Pb/ml) směsí stejných objemových dílů lihu 96% R a vody R.

**Voda, semimikrostanovení (2.5.12).** Nejvýše 0,25 %; 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

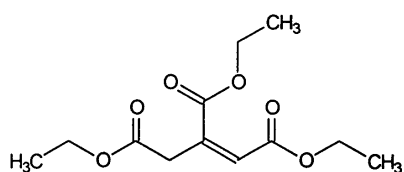
1,500 g se naváží do 250ml baňky z borokřemičitého skla, přidá 25 ml 2-propanolu R, 50 ml vody R, 25,0 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS a několik skleněných kuliček. Zahřívá se 1 h pod zpětným chladičem. Po ochlazení se přidá 1 ml fenolftaleínu RS1 a titruje se kyselinou chlorovodíkovou 1 mol/l VS. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška.

1 ml hydroxidu sodného 1 mol/l VS odpovídá 92,1 mg C<sub>12</sub>H<sub>20</sub>O<sub>7</sub>.

#### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech.

#### Nečistoty



A. triethyl-1,2,3-propentrikarboxylat (triethylakonitat).

“

182. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Triticum oleum raffinatum doplňuje článek Triticum oleum virginale, který zní:

”

## Triticum oleum virginale

Pšeničný olej panenský

Synonymum. Triticum aestivi oleum virginale

2000



CAS 8006-95-9

Je to mastný olej získaný z klíčků semen druhu *Triticum aestivum* L. lisováním za studena nebo jinými vhodnými mechanickými způsoby.

#### Vlastnosti

Čirá světle žlutá nebo zlatožlutá tekutina. 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 20,0; stanoví se s 10,0 g zkoušené látky.

Číslo peroxidové (2.5.5). Nejvýše 15,0.

Nezmýdelnitelné látky (2.5.7). Nejvýše 5,0 %; stanoví se s 5,0 g zkoušené látky.

Podíl mastných kyselin. Proveďte se zkouška Cizí oleje v mastných olejích plynovou chromatografií (Metoda C, 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 ikosenová: nejvýše 2,0 %.

Brassikasterol (2.4.23). Nejvýše 0,3 % ve sterolovém podílu zkoušené látky.

Voda, mikrostanovení (2.5.32). Nejvýše 0,1 %; stanoví se s 5,00 g zkoušené látky. Jako rozpouštědlo se použije směs stejných objemových dílů *methanolu R* a *dichlormethanu R*.

### Uchovávání

Ve zcela naplněných vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.

“

183. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, článek Trypsinum zní:

”

## Trypsinum<sup>1)</sup>

Trypsin



RZ2000

CAS 9002-07-7

Je to proteolytický enzym získaný aktivací trypsinogenu extrahovaného ze slinivky břišní zdravých savců. Účinnost je nejméně 0,5 mikrokatalů v miligramu, počítáno na vysušenou látku. Nejvyšší enzymová účinnost je v roztoku při pH 8; účinnost je reverzibilně inhibována při pH 3, při kterém je enzym nejstabilnější.

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 53 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.



## Výroba

Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Výrobní metoda je validována, aby se prokázalo, že pokud bude výrobek zkoušen, vyhoví následující zkoušce:

**Histamin (2.6.10).** Nejvýše 1 µg báze histaminu na 0,2 mikrokatalu trypsinové účinnosti. Použije se roztok zkoušené látky (10 g/l) v *tlumivém roztoku boritanovém o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* inaktivovaný zahříváním na vodní lázni po dobu 30 min. Pro ředění se použije roztok *chloridu sodného R* (9 g/l).

## Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický nebo amorfní prášek, mírně rozpustný ve vodě. Amorfni forma je hygroskopická.

## Zkoušky totožnosti

- A. 1 ml roztoku S, viz Zkoušky na čistotu, se zředí *vodou R* na 100 ml. Na bílé kapkovací destičce se smíchá 0,1 ml tohoto roztoku s 0,2 ml *tosylargininiummethylesterchloridu RS*; do 3 min vznikne červenofialové zbarvení.
- B. 0,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 5 ml, přidá se 0,1 ml roztoku *tosyllysylchloromethanhydrochloridu R* (20 g/l). Upraví se pH na hodnotu 7,0, 2 h se třepe a pak zředí *vodou R* na 50 ml. V důlku bílé kapkovací destičky se smíchá 0,1 ml tohoto roztoku s 0,2 ml *tosylargininiummethylesterchloridu RS*; do 3 min nevznikne žádné zbarvení.

## Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 0,10 g se rozpustí ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* a zředí se jí na 10,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze III (2.2.1).

**Hodnota pH (2.2.3).** 3,0 až 6,0; měří se roztok S.

**Absorbance (2.2.25).** 30,0 mg se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 100,0 ml. Roztok vykazuje absorpční maximum při 280 nm a minimum při 250 nm. Specifická absorbance v maximu je 13,5 až 16,5 a v minimu není větší než 7,0.

**Chymotrypsin.** K 1,8 ml *tlumivého roztoku o pH 8,0* se přidá 7,4 ml *vody R* a 0,5 ml roztoku *acetyltyrosinethylesteru R* (0,2 mol/l). Během míchání se přidá 0,3 ml roztoku S a spustí se stopky. Přesně po 5 min se změří pH (2.2.3) (zkoušený roztok). Současně se za stejných podmínek připraví porovnávací roztok nahrazením roztoku S 0,3 ml roztoku *chymotrypsinu BRP* (0,5 g/l) a měří se pH (2.2.3) přesně 5 min po přidání chymotrypsinu. Hodnota pH zkoušeného roztoku je vyšší než hodnota pH porovnávacího roztoku.

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 0,500 g se suší 2 h při 60 °C a tlaku nepřevyšujícím 670 Pa.

**Mikrobiální znečištění (2.6.12).** Celkový počet živých mikroorganismů je nejvýše 10<sup>4</sup> v gramu, stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Escherichia coli* a *Salmonella* (2.6.13).

## Stanovení účinnosti

Účinnost trypsinu se stanoví porovnáním rychlosti, s jakou hydrolyzuje *benzoylargininethylesterhydrochlorid R*, s rychlostí, s jakou hydrolyzuje *trypsin BRP* stejný substrát za stejných podmínek.

**Přístrojové vybavení.** Reakční nádoba o objemu 30 ml vybavená:

- zařízením, které udržuje teplotu na (25,0 ± 0,1) °C,
- zařízením na míchání (např. magnetická míchačka),
- víkem s otvory pro elektrody, hadicí pro přívod dusíku, pro konec byrety a pro přidávání zkoumadel.

Lze použít automatické nebo manuální titrační zařízení. U manuálního zařízení je byreta dělená po 0,005 ml a pHmetr s velkým rozsahem je vybaven skleněnou a kalomelovou elektrodou.

**Zkoušený roztok.** Dostatečné množství zkoušené látky se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml tak, aby výsledný roztok obsahoval asi 700 nanokatalů/ml.

**Porovnávací roztok.** 25,0 mg *trypsinu BRP* se rozpustí v *kyselině chlorovodíkové 0,001 mol/l RS* a zředí se jí na 25,0 ml.

Roztoky se uchovávají při 0 °C až 5 °C. 1 ml z každého roztoku se zahřívá 15 min při asi 25 °C a použije se po 50 µl z každého roztoku pro každou titraci, která se provádí v dusíkové atmosféře. K 10,0 ml *tlumivého roztoku boritanového o pH 8,0 (0,0015 mol/l)* v titrační nádobce se během míchání přidá 1,0 ml čerstvě připraveného roztoku *benzoylargininethylesterhydrochloridu R* (6,86 g/l). Po ustálení teploty na hodnotě (25,0 ± 0,1) °C (tj. asi po 5 min) se nastaví pH přesně na hodnotu 8,0 pomocí *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS*. Přidá se 50 µl zkoušeného roztoku a měří se čas. Hodnota pH 8,0 se udržuje přidáváním *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* mikrobyretou, jejíž špička je ponořena do roztoku; pH se upravuje každých 30 s a reakce probíhá 8 min. Vypočítá se spotřeba *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za 1 sekundu. Stejným způsobem se provede titrace porovnávacího roztoku.

Účinnost v mikrokatalech v miligramu se vypočítá podle vztahu:

$$\frac{m \cdot V}{m' \cdot V'} \cdot A,$$

v němž značí:

*m* - navážku zkoušené látky v miligramech,

*m'* - navážku *trypsinu BRP* v miligramech,

*V* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za sekundu u zkoušeného roztoku,

*V'* - spotřebu *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* za sekundu u porovnávacího roztoku,

*A* - účinnost *trypsinu BRP* v mikrokatalech v miligramu.

### Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem, při teplotě 2 °C až 8 °C.

### Označení

V označení na obalu se uvede účinnost v mikrokatalech v miligramu.

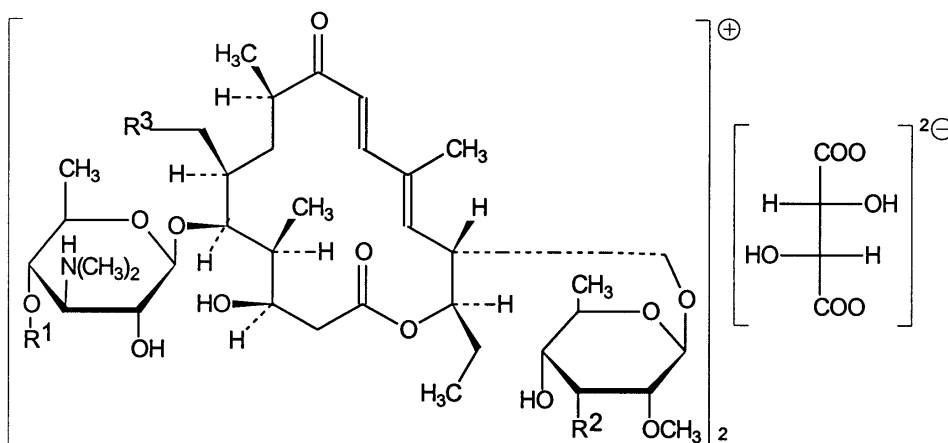
184. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, články Tylosini tartaras ad usum veterinarium a Tylosinum ad usum veterinarium znějí:

”

## † Tylosini tartaras ad usum veterinarium

Tylosiniumtartarat pro veterinární použití

2000



Název	Sumární vzorec	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>
tylosin A	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> N O <sub>17</sub>		OCH <sub>3</sub>	CHO
tylosin C	C <sub>45</sub> H <sub>75</sub> N O <sub>17</sub>		OH	CHO
tylosin D	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> N O <sub>17</sub>		OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
tylosin B	C <sub>39</sub> H <sub>65</sub> N O <sub>14</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	CHO

Je to směs vlnanů makrolidových antibiotik produkovaných organismem *Streptomyces fradiae* nebo získaná jiným způsobem. Hlavní složkou směsi je tylosinium-A-tartarat (*M*, 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-(dimethylamonio)-β-D-glukopyranosyl]oxy]-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-7-(2-oxoethyl)-11,13-oxacyklohexadecadien-2,10-dion] tartarat. Tylosin B (demykosiniumtartarat, *M*, 1693,97), tylosin C (makrociniumtartarat, *M*, 1954,25) a tylosin D (relomyciniumtartarat, *M*, 1986,33) mohou být také přítomny a přispívají k účinnosti zkoušené látky. Účinnost je nejméně 800 m.j. v miligramu, počítáno na vysušenou látku.

### Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

## 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.

## Zkoušky totožnosti

- A. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje s referenčním spektrem Ph. Eur. tylosiniumtartaratu.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ze zkoušky 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. Asi 30 mg se rozpustí ve směsi 0,15 ml vody R, 2,5 ml acetonhydridu 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.** Provede 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 oktadecylsilanizovaným 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 (metodou normalizace).

**Tyramin.** Nejvýše 0,35 %. 50,0 mg se rozpustí v 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 získanému při slepé zkoušce. 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). Je-li látka určena pro výrobu parenterálních lékových forem, není absorbance vyšší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku tyraminu R (15 mg/l) v roztoku kyseliny fosforečné R (3,4 g/l) (0,15 %).

**Ztráta sušením** (2.2.32). Nejvýše 4,5 %; 1,000 g se 3 h suší při 60 °C při tlaku nepřekračujícím 0,7 kPa.

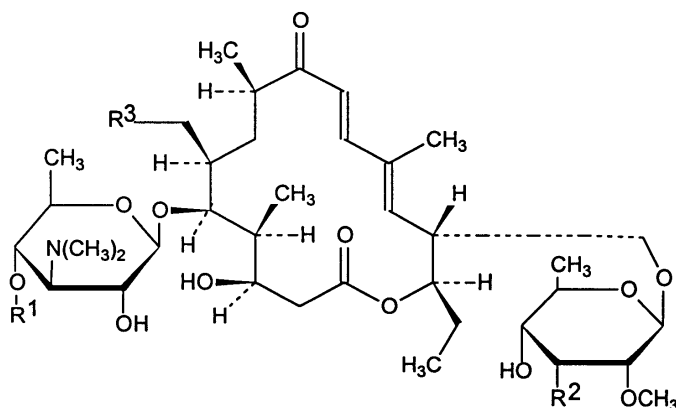
**Síranový popel** (2.4.14). Nejvýše 2,5 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

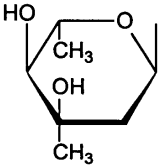
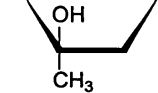
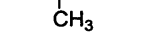


## † Tylosinum ad usum veterinarium

Tylosin pro veterinární použití

2000



Název	Sumární vzorec	R1	R2	R3
tylosin A	C <sub>46</sub> H <sub>77</sub> N O <sub>17</sub>		OCH <sub>3</sub>	CHO
tylosin C	C <sub>45</sub> H <sub>75</sub> N O <sub>17</sub>		OH	CHO
tylosin D	C <sub>46</sub> H <sub>79</sub> N O <sub>17</sub>		OCH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> OH
tylosin B	C <sub>39</sub> H <sub>65</sub> N O <sub>14</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	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), t.j. (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-hexopyranosyl)-3-dimethylamino-β-D-glukopyranosyl]oxy]-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-7-(2-oxoethyl)-11,13-oxacyklohexadecadien-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.

## Výroba

Je-li vyráběn postupem zahrnujícím fermentační kroky, vyhovuje požadavkům článku *Producta fermentationis*.

## 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 ze zkoušky 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. Asi 30 mg se rozpustí ve směsi 0,15 ml vody R, 2,5 ml acethydridu 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 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 oktadecylsilanizovaným 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 (metodou normalizace).

**Tyramin.** Nejvýše 0,35 %. 50,0 mg se rozpustí v 25,0 ml 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 získanému při slepé zkoušce. 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). Je-li látka určena pro výrobu parenterálních lékových forem, není absorbance vyšší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití 5,0 ml roztoku tyraminu R (15 mg/l) v roztoku kyseliny fosforečné R (3,4 g/l) (0,15 %).

**Ztráta sušením (2.2.32).** Nejvýše 5,0 %; 1,000 g se 3 h suší v sušárně při 60 °C při tlaku nepřekračujícím 0,7 kPa.

**Síranový popel (2.4.14).** Nejvýše 3,0 %; stanoví se s 1,00 g zkoušené látky.

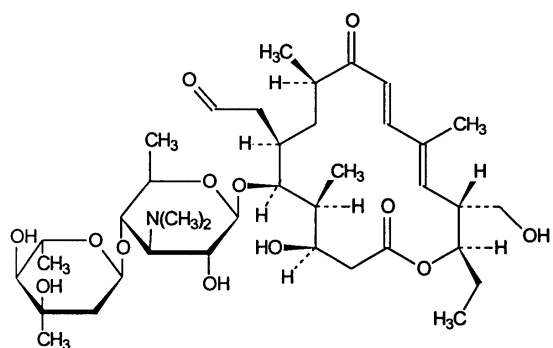
### Stanovení účinnosti

Provede se mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik (2.7.2) za použití tylosinu CRL.

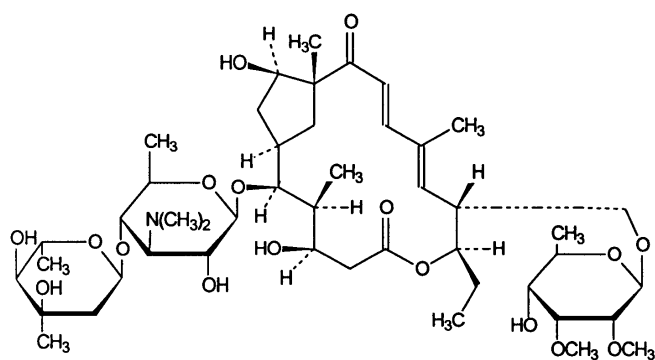
### Uchovávání

V dobře uzavřených obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

## Nečistoty



A. demycinosyltylosin,



B. aldol tylosinu A.



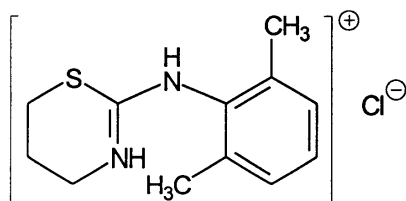
185. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Xantinoli nicotinas doplňuje článek Xylazini hydrochloridum, který zní:

”

## † Xylazini hydrochloridum

Xylaziniumchlorid

2000



$C_{12}H_{17}ClN_2S$

$M_r$  256,80

CAS 23076-35-9

Je to 2-[(2,6-xylyl)amino]-5,6-dihydro-4H-1,3-thiaziniumchlorid. Počítáno na vysušenou látku, obsahuje 98,0 % až 102,0 % sloučeniny  $C_{12}H_{17}ClN_2S$ .

### Vlastnosti

Bílý nebo téměř bílý krystalický hygroskopický prášek. Je snadno rozpustný ve vodě a v dichlormethanu a velmi snadno rozpustný v methanolu.

### 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). 165 °C až 169 °C; před stanovením se látka suší 2 h při 105 °C.

B. Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) tablety zkoušené látky se shoduje se spektrem tablety *xylaziniumchloridu CRL*. Tablety se připravují s *bromidem draselným R*.

C. Hodnotí se chromatogramy 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).

D. Vyhovuje zkoušce (b) na chloridy (2.3.1).

### Zkoušky na čistotu

**Roztok S.** 5,0 g se rozpustí, je-li třeba zahřátím při 60 °C, ve *vodě prosté oxidu uhličitého R* připravené z *destilované vody R*. Po ochlazení se zředí stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S neopalizuje intenzivněji než porovnávací suspenze II (2.2.1).

**Kyselé nebo zásaditě reagující látky.** K 5 ml roztoku S se přidá 0,1 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS* a 0,1 ml *modři bromfenolové RS*; roztok je modrý. Ke změně zbarvení indikátoru na žluté se spotřebuje nejvýše 0,2 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,01 mol/l VS*.

**Příbuzné látky.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití desky s vrstvou silikagelu  $F_{254}$  pro TLC R.

*Zkoušený roztok (a).* 0,500 g se rozpustí ve 20,0 ml *methanolu R*.

*Zkoušený roztok (b).* 1,0 ml zkoušeného roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 100,0 ml.

*Porovnávací roztok (a).* 25,0 mg *xylaziniumchloridu CRL* se rozpustí ve 100,0 ml *methanolu R*.

*Porovnávací roztok (b).* 1,0 ml porovnávacího roztoku (a) se zředí *methanolem R* na 5,0 ml.

*Porovnávací roztok (c).* 25,0 mg *2,6-dimethylanilinu R* se rozpustí ve 100,0 ml *methanolu R*. 1,0 ml tohoto roztoku se zředí *methanolem R* na 10,0 ml.

Na vrstvu se nanese odděleně po 4  $\mu$ l každého roztoku. Vrstva se vloží na 5 min do komory nasycené parami amoniaku a potom se suší 5 min v proudu studeného vzduchu. Vrstva se vyvíjí směsí objemových dílů *methanolu R*, *cyklohexanu R* a *dichlormethanu R* (10 + 15 + 75) po dráze 8 cm. Vrstva se nechá usušit na vzduchu v ultrafialovém světle při 254 nm a pozoruje se při stejné vlnové délce. Zahřívá se při 105 °C do vymizení pachu amoniaku (asi 60 min) a vystaví se na 5 min do komory nasycené parami chloru. Chlor se odstraní proudem studeného vzduchu (asi 5 min) a vrstva se postříká *o-tolidinem RS* a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu zkoušeného roztoku (a) skvrna odpovídající 2,6-dimethylanilinu není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %); žádná skvrna, kromě hlavní skvrny a skvrny odpovídající 2,6-dimethylanilinu, není intenzivnější než skvrna na chromatogramu porovnávacího roztoku (b) (0,2 %).

**Těžké kovy (2.4.8).** 12 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10  $\mu$ g/g). K přípravě porovnávacího roztoku se použije 10 ml základního roztoku olova (1  $\mu$ 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

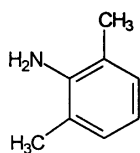
0,200 g se rozpustí ve 25 ml *lihu 96% R*, přidá se 25 ml *vody R* a titruje se *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* za potenciometrické indikace bodu ekvivalence (2.2.20).

1 ml *hydroxidu sodného 0,1 mol/l VS* odpovídá 25,68 mg  $C_{12}H_{17}ClN_2S$ .

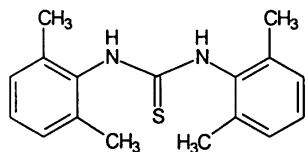
## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech, chráněn před světlem.  
Separandum.

## Nečistoty



A. 2,6-dimethylanilin (2,6-xyloidin),



B. N,N'-di(2,6-xylyl)thiomocovina.

186. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.1 Léčivé a pomocné látky, se za článek Zidovudinum doplňuje článek Zinci acetas dihydricus, který zní:

”

## Zinci acetas dihydricus

Dihydrát octanu zinečnatého

2000



$C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$

$M_r$  219,50  
 $M_r$  bezvodého 183,48

CAS 5970-45-6

Obsahuje 99,0 % až 101,0 % sloučeniny  $C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$ .

### Vlastnosti

Bílý krystalický prášek nebo lístky. Je snadno rozpustný ve vodě a dobře rozpustný v lihu 96%.

### Zkoušky totožnosti

A. Vyhovuje zkoušce (a) na octany (2.3.1).

B. Vyhovuje zkoušce na zinek (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 ml.

**Vzhled roztoku.** Roztok S je čirý (2.2.1) a bezbarvý (2.2.2, Metoda II).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,8 až 7,0; měří se roztok připravený zředěním 10 ml roztoku S vodou prostou oxidu uhličitého R na 20 ml.

**Redukující látky.** Směs 10 ml roztoku S, 90 ml vody R, 5 ml kyseliny sírové zředěné RS a 1,5 ml roztoku manganistanu draselného R (0,3 g/l) se vaří 5 min; roztok zůstane růžově zbarvený.

**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).

**Hliník.** Nejvýše 5 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 stejným roztokem na 25,0 ml.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku hliníku (200 µg Al/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R (200 g/l).

Měří se absorbance při 309,3 nm za použití hliníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

**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.** Použije se roztok připravený ve zkoušce Hliník.

**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.

**Měď.** Nejvýše 50 µg/g; stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, Metoda I).

*Zkoušený roztok.* Použije se roztok připravený ve zkoušce Železo.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku mědi (10 µg Cu/ml) zředěním roztokem kyseliny dusičné prosté olova a kadmia R (200 g/l).

Měří se absorbance při 324,8 nm za použití měděné 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 stejným roztokem 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).

Měří 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 stejným roztokem 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).

Měří se absorbance při 283,3 nm za použití olověné lampy s dutou katodou jako zdroje záření a plamene vzduch-acetylen.

### Stanovení obsahu

0,200 g se rozpustí v 5 ml kyseliny octové zředěné RS a provede se chelatometrická titrace zinku (2.5.11).

1 ml edetanu disodného 0,1 mol/l VS odpovídá 21,95 mg  $C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$ .

### Uchovávání

V dobře uzavřených, nekovových obalech.

“

187. V příloze části 6 Speciální část, kapitola Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, se za článek Parenteralia doplňuje článek Plantarum medicinalium praeparata, který zní:

”

## Plantarum medicinalium praeparata

Přípravky z rostlinných drog

*Synonymum.* Plantae medicinales praeparatae

2000



Připravují se extrakcí, destilací, lisováním, rozdrobňováním, čištěním, zahušťováním nebo fermentací z rostlinných drog. Zahrnují řezané nebo práškové rostlinné drogy, tinktury, extrakty, silice, lisované šťávy a zpracované exsudáty.

Extrakty získané z rostlinných drog vyhovují požadavkům článku *Extracta*.

Tinktury získané z rostlinných drog vyhovují požadavkům článku *Tincturae*.

Čaje připravené z rostlinných drog vyhovují požadavkům článku *Plantae medicinales ad potionem aquosam*.

Instantní čaje jsou tvořeny práškem nebo granulemi získanými (připravenými) z jedné nebo několika rostlinných drog. Jsou určeny k přípravě perorálních roztoků v čas potřeby.

“

188. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.1 Obecné články lékových forem, se za článek Producta allergenica doplňuje článek Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium, který zní:

”

## Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium<sup>1)</sup>

Přípravky s rizikem přenosu původců zvířecích spongiformních encefalopatií

RZ2000



Jsou to deriváty tkání nebo sekretů zvířat vnímavých k přenosným spongiformním encefalopatiím vyvolaným jinak než experimentální čelenží. Tento článek platí pro všechny látky nebo přípravky získané z takových zvířat a všechny látky nebo přípravky, u nichž byly výrobky získané z těchto zvířat použity jako účinné nebo pomocné látky nebo látky použité během výroby, např. jako suroviny nebo zdroje materiálů, výchozí materiály nebo zkoumadla.

### Výroba

Vyhovuje stati (5.2.8).

“

<sup>1)</sup> Pharmeuropa 12, 1, 48 (2000). Závazné od 1. 1. 2000.

189. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Alumini acetotartratis solutio* doplňuje článek *Amara tinctura*, který zní:

”

## Amara tinctura

N

Hořká tinktura

*Synonymum*. *Tinctura amara*

Je to lihový výluh z rostlinných drog obsahujících hořčiny.

### Příprava

Připravuje se macerací listu hořkého jetele (8000), pelyňkové natě (2800), sladkého oplodí pomeranče (8000) a hořcového kořene (2000) způsobem uvedeným v článku *Tincturae* s tím, že se použije jeden díl pelyňkové natě, 3 díly listu vachty trojlísté, 3 díly sladkého oplodí pomeranče, 3 díly kořene hořcového a 134 dílů lihu 60%. V hotovém výluhu se rozpustí 0,025 dílů skořicové silice. Maceruje se 7 dnů při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 14.

### Vlastnosti

Téměř čirá zelenohnědá tekutina, aromatického pachu a hořké kořenné chuti.

### Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu octadecylsilanizovaného pro chromatografii R* s fluorescenčním indikátorem pro detekci při 254 nm.

*Zkoušený roztok*. Zkoušený přípravek.

*Porovnávací roztok*. Referenční přípravek *Tinctura amara CRL*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm × 3 mm) 50 μl zkoušeného roztoku a 50 μl porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *triethylaminu R*, roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (0,400 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,7 a *acetonitrilu pro chromatografii R* (0,5 + 30 + 70) po dráze 2 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a znovu se vyvíjí směsí objemových dílů roztoku *dihydrogenfosforečnanu amonného R* (0,400 g/l), jehož pH bylo upraveno *kyselinou fosforečnou R* na hodnotu 2,7 a *methanolu R* (30 + 70) po dráze 17 cm. Po usušení na vzduchu se vrstva pozoruje v ultrafialovém světle při 254 nm a vyhodnotí se. Potom se vrstva postříká nejdříve roztokem *kyseliny sírové R* (50 g/l) v *lihu 96% R* a po vysušení v proudě vzduchu čerstvě připraveným roztokem *vanilinu R* (10 g/l) v *lihu 96% R*. Zahřívá se 1 min až 2 min při 110 °C, vyhodnotí se a dále se pozoruje v ultrafialovém světle při 366 nm a znovu se vyhodnotí. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku při každé detekci odpovídají polohou a zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku.

### Zkoušky na čistotu

*Hustota* (2.2.5).  $\rho_{20} = 0,895 \text{ g/cm}^3$  až  $0,910 \text{ g/cm}^3$ .

*Číslo hořkosti*. Nejméně 80. Provádí se porovnáním 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*. 5,00 g se zředí *vodou R* na 100,0 ml.

Připraví se řada porovnávacích roztoků tak, že v první zkumavce je 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 ml roztoku nejnižší koncentrace se převaluje v ústech 30 s tak, aby roztok přišel do styku s kořenem jazyka. Jestliže roztok nechutná hořce, vyprivne se a po 1 min se ústa vypláchnou vodou. Za 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 40,0 ml. 10,0 ml tohoto roztoku chutná hořce.

**Ethanol (2.9.10).** 54,0 % až 59,0 %.

**Methanol a 2-propanol (2.9.11).** Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

**Zbytek po odpaření.** 1,8 % až 3,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Tincturae*.

### Uchovávání

Viz článek *Tincturae*.

### Označování

Viz článek *Tincturae*.

“

190. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Belladonnae pulvis normatus* doplňuje článek *Belladonnae tinctura*, který zní:

”

---

## † **Belladonnae tinctura**

**N**

Rulíková tinktura

*Synonymum.* *Tinctura belladonnae*

---

Je to lihový výluh z rulíkových listů. Obsahuje 0,028 % až 0,032 % alkaloidů, počítáno jako hyoscyamin ( $C_{17}H_{23}NO_3$ ;  $M_r$  289,37).

### Příprava

Připravuje se macerací rulíkových listů (8000) způsobem uvedeným v článku *Tincturae* s tím, že se použije jeden díl rulíkových listů, 14 dílů lihu 60% a 0,007 dílů *kyseliny sírové R*. Maceruje se 15 dnů při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 12.

## Vlastnosti

Téměř čirá hnědozelená tekutina, slabého charakteristického pachu.

## Zkoušky totožnosti

- A. 10 g se odpaří na vodní lázni na objem asi 5 ml a zfiltruje se přes navlhčený filtr. K filtrátu se přidá 7 ml *chloroformu R* a protřepe se. Přidá se 0,5 g *tragantu R* práškovaného (125) a třepe se do vyčerení kapaliny. Zfiltruje se přes chomáček vaty a filtrát se odpaří na vodní lázni do sucha. Odparek se rozpustí v 1 ml *amoniaku zředěného RS1*, přidá se 10 ml *vody R* a promíchá se; vznikne modrozelená fluorescence.
- B. Hodnotí se chromatogramy získané ve zkoušce Atropin, viz Zkoušky na čistotu. Hlavní skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku odpovídají polohou, zbarvením a velikostí skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku

## Zkoušky na čistotu

**Hustota** (2.2.5).  $\rho_{20} = 0,895 \text{ g/cm}^3$  až  $0,910 \text{ g/cm}^3$ .

**Atropin**. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.

**Zkoušený roztok**. 6,0 g se odpaří na vodní lázni při 40 °C. Odparek se protřepává 15 min s 15 ml *kyseliny sírové 0,05 mol/l RS*, zfiltruje se a filtr se promývá *kyselinou sírovou 0,05 mol/l RS* do získání 20 ml filtrátu. Filtrát se smíchá s 1 ml *amoniaku 26% R* a dvakrát se protřepe s 10 ml *etheru prostého peroxidických látek R*, je-li třeba, vrstvy se odstředí. Spojené etherové vrstvy se vysuší 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 *hyoscyaminiumsulfátu 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 hyoscyaminiumsulfátu.

Na vrstvy se nanese odděleně do pruhů (20 mm × 3 mm) po 20 µl obou roztoků; vzdálenost mezi jednotlivými pruhy je 1 cm. Vytvoří se směs 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. Skvrny na chromatogramu zkoušeného roztoku nepřevyšují velikostí skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být přítomny další méně intenzivní skvrny. Pak se vrstva postříká *dusitanem sodným RS* tak, aby byla průsvitná. Pozoruje se po 15 min. Hnědé skvrny, odpovídající hyoscyaminu na chromatogramech zkoušeného i porovnávacího roztoku, se zbarví červenohnědě, ne však šedomodře (atropin).

**Ethanol** (2.9.10). 53,0 % až 58,0 %.

**Methanol a 2-propanol** (2.9.11). Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

**Zbytek po odpaření**. 0,8 % až 1,6 %. Stanoví se s 3,00 g zkoušené látky způsobem uvedeným v článku *Tincturae*.

## Stanovení obsahu

Asi 30,00 g se odpaří na vodní lázni na 3 g až 5 g. Po vychladnutí se přidá 0,1 ml *kyseliny chlorovodíkové 10% RS*, zředí se *vodou R* na 15,00 g, promíchá se, nechá se stát 15 min a zfiltruje se přes suchý filtr. K 10,00 g filtrátu (odpovídá 20 g tinktury) se přidá 50 g *etheru prostého peroxidických látek R*, 4 ml *amoniaku zředěného RS1*, 6 ml *vody R* a 5 min se silně protřepává. Potom se přidá 1 g *tragantu R* práškovaného (125) a znovu se třepe do vyčerení tekutiny a rychle se zfiltruje přes chomáček vaty. 25,0 ml filtrátu (odpovídá 10 g tinktury) se odpaří na vodní lázni, odparek se rozpustí v 1 ml *lihu 96% R* a znovu se odpaří na vodní lázni. Tento postup se opakuje ještě jednou. Odparek se rozpustí v 1 ml *chloroformu R*, přidá se 5,0 ml *kyseliny sírové 0,01 mol/l VS* připravené v čas potřeby zředěním *kyseliny sírové 0,05 mol/l VS* a zahřívá se na vodní lázni do odpaření chloroformu. Přidá se 5 ml *vody R*, 0,15 ml *červeně methylové směšného indikátoru RS* a retitruje se *hydroxidem sodným 0,02 mol/l VS* připraveným v čas potřeby zředěním *hydroxidem sodným 0,1 mol/l VS* do změny zbarvení. Za stejných podmínek se provede slepá zkouška.

1 ml *kyseliny sírové 0,01 mol/l VS* odpovídá 5,788 mg  $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{NO}_3$ .



## Uchovávání

Viz článek *Tincturae*.  
Separandum.

## Označování

Viz článek *Tincturae*.

## Vydávání

Bez lékařského předpisu se nevydává.

“

191. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Frangulae corticis extractum siccum normatum* doplňuje článek *Gallarum tinctura*, který zní:

”

---

## Gallarum tinctura

N

Duběnková tinktura

*Synonymum*. *Tinctura gallarum*

---

Je to lihový výluh z duběnek, který obsahuje nejméně 3,0 % polyfenolů, z toho nejméně 1,5 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol.

### Příprava

Připravuje se macerací duběnek (2000) způsobem uvedeným v článku *Tincturae* s tím, že se použije jeden díl duběnek a 6 dílů lihu 60%. Maceruje se 3 dny při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 5.

### Vlastnosti

Téměř čirá žlutohnědá tekutina, chuti silně svíravé.

### Zkoušky totožnosti

A. 0,05 ml se zředí vodou *R* na 5 ml a přidá se 0,2 ml chloridu železitého *RS1*; vznikne fialové zbarvení.

B. Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu *H R*.

*Zkoušený roztok*. 4 ml se zředí ethanolom 60% na 10 ml.

*Porovnávací roztok*. 30 mg taninu *R* a 10 mg kyseliny gallové *R* se rozpustí v 10,0 ml acetonu *R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů kyseliny mravenčí bezvodé *R*, vody *R* a ethylacetatu *R* (10 + 10 + 80) po dráze 15 cm. Vrstva se usuší v proudu horkého vzduchu a ještě horká se postříká roztokem difenylboryloxyethylaminu *R* (10 g/l) v methanolu *R*. Pozoruje se v ultrafialovém světle při 365 nm. Na chromatogramu porovnávacího roztoku jsou dvě modré skvrny, v dolní části (tanin) a v horní části (kyselina gallová). Na chromatogramu zkoušeného roztoku je řada modrých skvrn; v dolní

části chromatogramu dvě skvrny, v poloze vymezené skvrnou taninu na chromatogramu porovnávacího roztoku další dvě, v horní části chromatogramu jedna skvrna odpovídá polohou a zbarvením skvrně kyseliny gallové na chromatogramu porovnávacího roztoku a těsně nad ní je další modrá skvrna.

### Zkoušky na čistotu

**Hustota (2.2.5).**  $\rho_{20} = 0,940 \text{ g/cm}^3$  až  $0,950 \text{ g/cm}^3$ .

**Ethanol (2.9.10).** 45,0 % až 55,0 %.

**Methanol a 2-propanol (2.9.11).** Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

**Zbytek po odpaření.** 10,0 % až 14,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Tincturae*.

### Stanovení obsahu

*Zkouška se provádí za ochrany před světlem.*

1,00 g se zředí vodou R na 250,0 ml. Roztok se zfiltruje filtračním papírem o průměru 12 cm. Prvních 50 ml filtrátu se odstraní a zbytek se použije ke stanovení.

*Polyfenoly celkově.* 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_1$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Polyfenoly neadsorbovatelné na kožní prášek.* K 10,0 ml filtrátu se přidá 0,10 g kožního prášku CRL a 60 min se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá se 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_2$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Porovnávací roztok.* 50,0 mg pyrogallolu 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. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku a do 15 min po rozpuštění pyrogallu se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_3$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

Obsah tríslovin v procentech vyjádřený jako pyrogallol se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$m_1$  - hmotnost zkoušené látky v gramech,

$m_2$  - hmotnost pyrogallolu R v gramech.

Obsah polyfenolů v procentech se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{62,5 \cdot A_1 \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$m_1$  - hmotnost zkoušené látky v gramech,

$m_2$  - hmotnost pyrogallolu R v gramech.

### Uchovávání

Viz článek *Tincturae*.

### Označování

Viz článek *Tincturae*.

192. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Pilocarpini oculoguttae* doplňuje článek *Plantaginis extractum fluidum*, který zní:

”

## Plantaginis extractum fluidum

N

Tekutý jitrocelový extrakt

*Synonymum*. Extractum plantaginis fluidum

Je to lihovodný výtazek z jitrocelových listů.

### Příprava

Připravuje se macerací jitrocelových listů (8000) způsobem uvedeným v článku *Extracta* s tím, že se použije jeden díl jitrocelových listů, 3 díly vody a 1 díl lihu 96%. Maceruje se 2 dny při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku 1 : 1,1.

### Vlastnosti

Tmavě hnědá tekutina charakteristického pachu, poněkud trpké, slané nahořklé chuti. S vodou se míchá bez zákalu.

### Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.

*Zkoušený roztok*. 5 ml se zředí 5 ml *methanolu R* a zfiltruje se.

*Porovnávací roztok*. 5 mg *žlutí naftolové S R* se rozpustí v 1,0 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm × 3 mm) 20 μl zkoušeného roztoku a 10 μl porovnávacího roztoku. Vyvíjí se směsí objemových dílů *vody R*, *kyseliny octové ledové R* a *ethylacetatu R* (20 + 20 + 60) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu. Pak se postříká *dimethylaminobenzaldehydem RS2* a suší se 10 min při 100 °C až 105 °C.

Na chromatogramu zkoušeného roztoku je intenzivní hnědošedá skvrna (aukubin), která se barví modrošedě v poloze přibližně odpovídající skvrně na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku mohou být další méně intenzivní skvrny, odpovídající zbarvením aukubinu; na čele chromatogramu je intenzivně zbarvená skvrna (chlorofyl).

### Zkoušky na čistotu

*Hustota* (2.2.5).  $\rho_{20} = 1,020 \text{ g/cm}^3$  až  $1,050 \text{ g/cm}^3$ .

*Ethanol* (2.9.10). 25,0 % až 30,0 %.

*Methanol a 2-propanol* (2.9.11). Nejvýše 0,05 % (V/V) *methanolu* a nejvýše 0,05 % (V/V) *2-propanolu*.

*Zbytek po odpaření*. 18,0 % až 22,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Extracta*, odstavec *Extracta fluida*.

### Uchovávání

Viz článek *Extracta*.

## Označování

Viz článek *Extracta*.

“

193. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Prothrombinum multiplex humanum cryodesiccatum* doplňuje článek *Ratanhia tinctura*, který zní:

”

---

## Ratanhia tinctura

N

Ratanhová tinktura

*Synonymum*. *Tinctura ratanhiae*

---

Je to lihový výluh z ratanhového kořene. Obsahuje nejméně 0,2 % tříslovin, počítáno jako pyrogallol.

### Příprava

Připravuje se macerací ratanhového kořene (2000) způsobem uvedeným v článku *Tincturae* s tím, že se použije jeden díl ratanhového kořene a 6 dílů lihu 60%. Maceruje se 15 dnů při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 4,4.

### Vlastnosti

Čirá tmavě hnědočervená tekutina, slabého charakteristického pachu a svíravé chuti.

### Zkoušky totožnosti

A. K 0,05 ml se přidá 10 ml lihu 60% R a 0,1 ml chloridu železitého RS1; vznikne hnědozelené zbarvení (tříslovin).

B. K 0,05 ml se přidá 5 ml vody R a 0,2 ml amoniaku zředěného RS1; vznikne červené zbarvení.

C. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy silikagelu G R.

*Zkoušený roztok*. 5 ml se protřepává s 10 ml etheru petrolejového R. Petroletherová vrstva se oddělí, přidají se 2 g síranu sodného bezvodého R, protřepe se a pak se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 0,5 ml dichlormethanu R.

*Porovnávací roztok*. 5 mg thymolu R a 5 mg modře indofenolové R a 5 mg červeně sudanové G R se rozpustí v 10 ml dichlormethanu R.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (3 mm × 20 mm) po 10 µl každého roztoku a vyvíjí se dichlormethanem R po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu, postříká se asi 10 ml roztoku modří pravé B R (5 g/l) ve vodě R a poté se po usušení postříká hydroxidem sodným v ethanolu 0,1 mol/l RS. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je ve střední části žlutohnědá skvrna thymolu, ve spodní části je červená skvrna červeně sudanové G a pod ní je modrá skvrna modře indofenolové. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je asi ve vzdálenosti odpovídající skvrně thymolu na chromatogramu porovnávacího roztoku fialová skvrna fenolu ratanhia I. Mezi červení sudanovou G a modří indofenolovou je patrna hnědožlutá skvrna fenolu ratanhia II a dole je šedomodrá skvrna

fenolu ratanhia III. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou ve vzdálenosti odpovídající modři indofenolové další žlutohnědé skvrny a fialová skvrna je v okolí startu.

### Zkoušky na čistotu

**Hustota (2.2.5).**  $\rho_{20} = 0,905 \text{ g/cm}^3$  až  $0,915 \text{ g/cm}^3$ .

**Ethanol (2.9.10).** 53,0 % až 58,0 %.

**Methanol a 2-propanol (2.9.11).** Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

**Zbytek po odpaření.** 4,0 % až 7,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Tincturae*.

### Stanovení obsahu

*Zkouška se provádí za ochrany před světlem.*

4,00 g se zředí vodou R na 250,0 ml. Roztok se zfiltruje filtračním papírem o průměru 12 cm. Prvních 50 ml filtrátu se odstraní a zbytek se použije ke stanovení.

*Polyfenoly celkově.* 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_1$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Polyfenoly neadsorbovatelné na kožní prášek.* K 10,0 ml filtrátu se přidá 0,10 g kožního prášku CRL a 60 min se intenzivně protřepává, pak se zfiltruje. 5,0 ml filtrátu se zředí vodou R na 25,0 ml. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá se 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_2$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

*Porovnávací roztok.* 50,0 mg pyrogallolu 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. 5,0 ml tohoto roztoku se smíchá s 1,0 ml kyseliny fosfowolframové RS a zředí se roztokem uhličitanu sodného R (150 g/l) na 50,0 ml. Přesně 2 min po přidání posledního roztoku a do 15 min po rozpuštění pyrogallu se měří absorbance (2.2.25) v maximu při 715 nm ( $A_3$ ) za použití vody R jako kontrolní tekutiny.

Obsah tříslovin v procentech vyjádřený jako pyrogallol se vypočítá podle vzorce:

$$\frac{62,5 \cdot (A_1 - A_2) \cdot m_2}{A_3 \cdot m_1},$$

v němž značí:

$m_1$  - hmotnost zkoušené látky v gramech,

$m_2$  - hmotnost pyrogallolu R v gramech.

### Uchovávání

Viz článek *Tincturae*.

### Označování

Viz článek *Tincturae*.

194. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek Solutiones ad haemocolaturam zní:

”

## Solutiones ad haemocolaturam haemodiacolaturamque

Roztoky pro hemofiltraci a hemodiafiltraci

2000



Jsou to roztoky určené k parenterálnímu podání. Obsahují elektrolyty v přibližně stejné iontové koncentraci jako má plazma. Mohou obsahovat také glukosu.

Roztoky pro hemofiltraci a hemodiafiltraci jsou dodávány:

- v pevných nebo polopevných plastových obalech,
- v pružných plastových obalech s vnitřním zabezpečeným obalem,
- ve skleněných obalech.

Obaly a uzávěry vyhovují požadavkům pro obaly určené pro přípravky k parenterálnímu použití (3.2).

Používají se roztoky různého složení. Koncentrace jednotlivých složek v litru roztoku jsou obvykle v následujících rozmezech:

Tab. 1

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	125 - 150	125 - 150
draslík	0 - 4,5	0 - 4,5
vápník	1,0 - 2,5	2,0 - 5,0
hořčík	0,25 - 1,5	0,50 - 3,0
octan a/nebo mléčnan a/nebo hydrogenuhličitan	30 - 60	30 - 60
chloridy	90 - 120	90 - 120
Glukosa	0 - 25	

Je-li přítomen hydrogenuhličitan, roztok hydrogenuhličitanu sodného je obsažen v obalu nebo v oddělené části a je přidán k roztoku elektrolytu těsně před použitím.

V hemofiltraci a hemodiafiltraci mohou být použity též přípravky následujícího složení:

Tab. 2

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	130 - 167	130 - 167
draslík	0 - 4,0	0 - 4,0
hydrogenuhličitan	20 - 167	20 - 167
chloridy	0 - 147	0 - 147

Antioxidační přísady, např. disulfiditany, se k roztokům nepřidávají.

### Zkoušky totožnosti

Podle složení se provádějí následující zkoušky (2.3.1):

- draslík; zkouška (b),
- vápník; zkouška (a),
- sodík; zkouška (b),

- chloridy; zkouška (a),
- octany:
  - jestliže přípravek neobsahuje glukosu, provede se zkouška (b),
  - jestliže přípravek obsahuje glukosu, provede se následující zkouška: do zkumavky se zátkou, v níž je upevněná zahnutá trubička se převede 5 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*; zahřívá se a zachytí se několik mililitrů destilátu, ve kterém se provede zkouška (b) na octany,
- mléčnany;
- uhličitany a hydrogenuhličitany;
  - hořčík; k 0,1 ml *žluti titanové RS* se přidá 10 ml *vody R*, 2 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*; vznikne růžové zbarvení,
  - glukosa; k 5 ml zkoušeného přípravku se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,05 ml *síranu měďnatého RS*; roztok je modrý a čirý; zahřeje se k varu; vznikne objemná červená sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1). Jestliže neobsahuje glukosu, je bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*). Jestliže obsahuje glukosu, není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_7$  (2.2.2, *Metoda I*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 7,5; měří se zkoušený přípravek. Jestliže obsahuje glukosu, hodnota pH je 4,5 až 6,5. Obsahuje-li hydrogenuhličitan, hodnota pH je 7,0 až 8,5.

**Hydroxymethylfurfural.** K objemovému množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 25 mg glukosy se přidá 5,0 ml roztoku *p-toluidinu R* (100 g/l) v *2-propanolu R* obsahujícího *kyselinu octovou ledovou R* 10% (V/V) a 1,0 ml roztoku *kyseliny barbiturové R* (5 g/l). Směs se nechá 2 min až 3 min stát a změří se absorbance roztoku (2.2.25) při 550 nm; absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití roztoku obsahujícího 10 µg *hydroxymethylfurfuralu R* ve stejném objemu jako zkoušený roztok. Obsahuje-li přípravek hydrogenuhličitan, použije se jako porovnávací roztok, roztok obsahující 20 µg *hydroxymethylfurfuralu R*.

**Hliník** (2.4.17). Ke 200 ml zkoušeného přípravku, jehož pH bylo upraveno na hodnotu 6,0, se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0*; roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (10 µg/l). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml *základního roztoku hliníku* (2 µg Al/ml), 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 9 ml *vody R*. Připraví se kontrolní roztok, kterým je směs 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 10 ml *vody R*.

**Kontaminace částicemi.** S 50 ml zkoušeného přípravku se provede zkouška na částice pod hranicí viditelnosti (2.9.19).

Tab. 3

částice větší než	10 µm	25 µm
nejvyšší počet částic v mililitru	25	3

**Využitelný objem** (2.9.17). Vyhovuje zkoušce předepsané pro parenterální infuzní přípravky.

**Sterilita** (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 0,25 m.j. endotoxinu v mililitru.

**Pyrogenní látky** (2.6.8). Zkoušené přípravky, u kterých nelze provést validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky. Vstříkuje se 10 ml roztoku na kilogram hmotnosti králíka.

### Stanovení obsahu

**Sodík.** 97,5 % až 102,5 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* tak, aby jeho koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití *základního roztoku sodíku* (200 µg Na/ml).

Měří se absorbance při 589,0 nm za použití sodíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Draslík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* tak, aby koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji. Ke 100 ml roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *draslíku* (100 µg K/ml). Ke 100 ml každého porovnávacího roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

Měří se absorbance při 766,5 nm za použití draslíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Vápník.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *vápníku* (400 µg Ca/ml).

Měří se absorbance při 422,7 nm za použití vápníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Hořčík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *hořčíku* (100 µg Mg/ml).

Měří se absorbance při 285,2 nm za použití hořčíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Celkové chloridy.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Přesně odměřený objem zkoušeného přípravku odpovídající asi 60 mg chloridů se zředí *vodou R* na 50 ml. Přidá se 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, 25,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* a 2 ml *dibutylftalatu R*. Po protřepání se přidají 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* jako indikátoru a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* do červenožlutého zbarvení.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,545 mg Cl.

**Octany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol octanu se přidá 10,0 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 0,1 mmol octanu.

**Mléčnany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol mléčnanu se přidá 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* a 50 ml *acetonitrilu 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 0,1 mmol mléčnanu.

**Hydrogenuhličitan sodný.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 0,1 g hydrogenuhličitanu sodného se titruje *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 8,40 mg NaHCO<sub>3</sub>.

**Mléčnany a hydrogenuhličitan.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství mléčnanu a/nebo hydrogenuhličitanu. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

**Zkoušený roztok.** Použije se zkoušený přípravek.

**Porovnávací roztok.** Ve 100 ml *vody pro chromatografii R* se rozpustí přesně odvážená množství mléčnanů a hydrogenuhličitanů, aby byly získány roztoky o koncentraci odpovídající asi 90 %, 100 % a 110 % jejich deklarovaného množství.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,3 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem R* (9 µm),
- jako mobilní fáze, kterou je *kyselina sírová 0,005 mol/l R*, která byla předem *helium R* odplyněna; průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 85 °C.

Dvakrát se nastříkne po 20 µl zkoušeného roztoku a po 20 µl každého porovnávacího roztoku. Jsou-li chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou píky eluované v následujícím pořadí: mléčnany a pak hydrogenuhličitan.



Koncentrace mléčnanů a hydrogenuhličitanů ve zkoušeném roztoku se stanoví extrapolací plochy píku mléčnanu a výšky píku hydrogenuhličitanu z lineární regresní křivky získané z porovnávacích roztoků.

**Redukující cukry** (vyjádřeno jako glukosa bezvodá). 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství glukosy. Do 250ml kuželové baňky se zabroušenou zátkou se převede objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající 25 mg glukosy a přidá se 25,0 ml *citronanu měďnatého RS* a několik zrněk pemzy. Zahřívá se 2 min pod zpětným chadičem k varu a potom se přesně 10 min vaří. Po ochlazení se přidají 3 g *jodidu draselného R* rozpuštěného ve 3 ml *vody R* a opatrně po malých dávkách se přidává 25,0 ml roztoku *kyseliny sírové R* (25 %). Titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití *škrobu RS* jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Provede se slepá zkouška s 25,0 ml *vody R*.

Vypočte se obsah redukujících cukrů vyjádřený jako glukosa bezvodá ( $C_6H_{12}O_6$ ) za použití tabulky 4.

Tab. 4

Spotřeba <i>thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS</i> (ml)	Glukosa bezvodá (mg)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

#### Uchovávání

Při teplotě ne nižší než 4 °C.

#### Označování

V označení na obalu se uvede:

- složení přípravku vyjádřené v g/l a v mmol/l,
- vypočítaná hodnota osmolarity vyjádřená v mosmol/l,
- jmenovitý objem roztoku v obalu,
- zda je přípravek prostý bakteriálních endotoxinů nebo, kde je to vhodné, zda je prostý pyrogenních látek,
- podmínky uchovávání,
- upozornění, že nespotřebovaná část roztoku se odstraní.

“

195. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek Solutiones ad haemodialysim zní:

”

## Solutiones ad haemodialysim

Roztoky pro hemodialýzu

2000



Jsou to roztoky obsahující elektrolyty o přibližně stejné iontové koncentraci jako má plazma. Mohou obsahovat také glukosu.

Roztoky pro hemodialýzu se používají ve velkých objemech, proto se obvykle připravují ředěním koncentrovaných roztoků vodou vhodné jakosti, viz *Voda pro ředění roztoků pro hemodialýzu*, za použití např. automatického dávkovacího zařízení.

### Koncentrované roztoky pro hemodialýzu

Při přípravě a uchování koncentrovaných roztoků pro hemodialýzu se používají materiály a postupy, které zajišťují co nejmenší mikrobiální kontaminaci, jak je možné. V určitých případech je nutno použít roztoky sterilní.

Během ředění a použití roztoků se dodržují opatření zamezující mikrobiální kontaminaci. Naředěné roztoky se použijí ihned po přípravě.

Koncentrované roztoky pro hemodialýzu jsou dodávány:

- v pevných, polopevných nebo pružných plastových obalech,
- ve skleněných obalech.

Používají se tři typy koncentrovaných roztoků.

#### 1. Koncentrované roztoky s octanem nebo mléčnanem

Používají se roztoky různého složení. Koncentrace složek v roztocích je taková, aby po zředění na předepsaný objem jeden litr roztoku obsahoval jednotlivé složky obvykle v následujících rozmezech:

Tab. 1

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	130 - 145	130 - 145
draslík	0 - 3,0	0 - 3,0
vápník	0 - 2,0	0 - 4,0
hořčík	0 - 1,2	0 - 2,4
octany nebo mléčnany	32 - 45	32 - 45
chloridy	90 - 120	90 - 120
glukosa	0 - 12,0	

Koncentrované roztoky s octanem nebo mléčnanem se ředí před použitím.

#### 2. Koncentrované kyselé roztoky

Používají se roztoky různého složení. Koncentrace složek v roztocích je taková, aby po zředění na předepsaný objem a před neutralizací hydrogenuhličitanem sodným jeden litr roztoku obsahoval jednotlivé složky obvykle v následujících rozmezech:

Tab. 2

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	80 - 110	80 - 110
draslík	0 - 3,0	0 - 3,0
vápník	0 - 2,0	0 - 4,0
hořčík	0 - 1,2	0 - 2,4
kyselina octová	2,5 - 10	2,5 - 10
chloridy	90 - 120	90 - 120
glukosa	0 - 12,0	

Hydrogenuhlíčan sodný se přidá těsně před použitím ve formě roztoku nebo v pevném stavu. Jeho konečná koncentrace není vyšší než 45 mmol v litru. Koncentrovaný roztok hydrogenuhlíčitanu sodného je dodáván ve zvláštním obalu. Koncentrované kyselé roztoky a koncentrované roztoky hydrogenuhlíčitanu sodného se ředí a smíchávají ve vhodném zařízení těsně před použitím. Při přípravě zředěného roztoku je možné přidat hydrogenuhlíčan sodný též v pevném stavu.

### 3. Koncentrované roztoky bez tlumivého roztoku

Používají se roztoky různého složení. Koncentrace složek v roztocích je taková, aby po zředění na předepsaný objem jeden litr roztoku obsahoval jednotlivé složky obvykle v následujících rozmezech:

Tab. 3

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	130 - 145	130 - 145
draslík	0 - 3,0	0 - 3,0
vápník	0 - 2,0	0 - 4,0
hořčík	0 - 1,2	0 - 2,4
chloridy	130 - 155	130 - 155
glukosa	0 - 12,0	

Koncentrované roztoky bez tlumivého roztoku se používají zároveň s parenterální aplikací vhodných roztoků s hydrogenuhlíčanem.

### Zkoušky totožnosti

Podle složení se provádějí následující zkoušky (2.3.1):

- draslík; zkouška (b),
- vápník; zkouška (a),
- sodík; zkouška (b),
- chloridy; zkouška (a),
- mléčnany,
- uhličitany a hydrogenuhlíčitany,
- octany:
  - jestliže přípravek neobsahuje glukosu, provede se zkouška (b),
  - jestliže přípravek obsahuje glukosu, provede se následující zkouška: do zkumavky se zátkou, v níž je upevněná zahnutá trubička se převede 5 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*. Zahřívá se a zachytí se několik mililitrů destilátu, ve kterém se provede zkouška (b) na octany,
- hořčík: k 0,1 ml *žlutí titanové RS* se přidá 10 ml *vody R*, 2 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*; vznikne růžové zbarvení,
- glukosa: k 5 ml zkoušeného přípravku se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,05 ml *síranu měďnatého RS*; roztok je modrý a čirý. Zahřeje se k varu; vznikne objemná červená sraženina.

## Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1). Jestliže neobsahuje glukosu, je bezbarvý (2.2.2, *Metoda I*). Jestliže obsahuje glukosu, není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok  $Z_7$  (2.2.2, *Metoda I*).

**Hliník (2.4.17).** Ke 20 ml zkoušeného přípravku, jehož pH bylo upraveno na hodnotu 6,0 se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0*; roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (0,1 mg/l). Porovnávací roztok se připraví za použití 1 ml základního roztoku hliníku (2  $\mu\text{g Al/ml}$ ), 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 9 ml *vody R*. Připraví se kontrolní roztok, kterým je směs 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 10 ml *vody R*.

**Využitelný objem (2.9.17).** Změřený objem není menší než jmenovitý objem uvedený v označení.

**Sterilita (2.6.1).** Pokud je v označení na obalu uvedeno, že koncentrovaný roztok pro hemodialýzu je sterilní, vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny (2.6.14).** Nejvýše 0,5 m.j. endotoxinu v mililitru zředěného roztoku.

**Pyrogenní látky (2.6.8).** Zkoušené přípravky, u kterých nelze provést validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky. Zkoušený přípravek se zředí *vodou na injekci R* na koncentraci předepsanou pro použití. Vstříkne se 10 ml roztoku na kilogram hmotnosti králíka.

## Stanovení obsahu

*Stanoví se relativní hustota (2.2.5) a obsah se vypočítá v g/l a v mmol/l.*

**Sodík.** 97,5 % až 102,5 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

**Zkoušený roztok.** Přesně odvážené množství koncentrovaného roztoku se zředí *vodou R* tak, aby jeho koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku sodíku (200  $\mu\text{g Na/ml}$ ).

Měří se absorbance při 589,0 nm za použití sodíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Draslík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Přesně odvážené množství koncentrovaného roztoku se zředí *vodou R* tak, aby jeho koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji. Ke 100 ml roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku draslíku (100  $\mu\text{g K/ml}$ ). Ke 100 ml každého porovnávacího roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

Měří se absorbance při 766,5 nm za použití draslíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Vápník.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Přesně odvážené množství koncentrovaného roztoku se zředí *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku vápníku (400  $\mu\text{g Ca/ml}$ ).

Měří se absorbance při 422,7 nm za použití vápníkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Hořčík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Přesně odvážené množství koncentrovaného roztoku se zředí *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku hořčíku (100  $\mu\text{g Mg/ml}$ ).

Měří se absorbance při 285,2 nm za použití hořčíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Celkové chloridy.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Přesně odměřený objem zkoušeného přípravku odpovídající asi 60 mg chloridů se zředí *vodou R* na 50 ml. Přidá se 5,0 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, 25,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* a 2 ml *dibutylftalatu R*. Po protřepání se přidají 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* jako indikátoru a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* do červenožlutého zbarvení.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,545 mg Cl.

**Octany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol octanu se přidá 10,0 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 0,1 mmol octanu.

**Mléčnany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol mléčnanu se přidá 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* a 50 ml *acetonitrilu 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 0,1 mmol mléčnanu.

**Hydrogenuhlíčan sodný.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 0,1 g hydrogenuhlíčitanu sodného se titruje *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 8,40 mg  $\text{NaHCO}_3$ .

**Redukující cukry** (vyjádřeno jako glukosa bezvodá). 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství glukosy. Do 250ml kuželové baňky se zábroušenou zátkou se převede objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající 25 mg glukosy a přidá se 25,0 ml *citronanu měďnatého RS* a několik zrnek pemzy. Zahřívá se 2 min pod zpětným chadičem k varu a potom se přesně 10 min vaří. Po ochlazení se přidají 3 g *jodidu draselného R* rozpuštěné ve 3 ml *vody R* a opatrně po malých dávkách se přidává 25 ml roztoku *kyseliny sírové R* (25%). Titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití *škrobu RS* jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Proveďte se slepá zkouška s 25,0 ml *vody R*.

Obsah redukujících cukrů se vyjádří jako glukosa bezvodá ( $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ ) za použití tabulky 4.

Tab. 4

Spotřeba <i>thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS</i> (ml)	Glukosa bezvodá (mg)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

### Uchovávání

Při teplotě ne nižší než 4 °C.

### Označování

V označení na obalu se uvede:

- složení přípravku vyjádřené v g/l a v mmol/l,
- jmenovitý objem roztoku v obalu,
- kde je to vhodné, zda je přípravek sterilní,
- podmínky uchovávání,
- upozornění, že přípravek je nutno před použitím zředit,
- způsob ředění,
- že odebraný objem je přesně odměřen,
- iontové složení zředěného přípravku připraveného k použití,
- upozornění, že nespotřebovaný roztok se má odstranit,
- kde je to vhodné, že se před použitím přidá hydrogenuhlíčan sodný.

“

196. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Soluciones ad peritonealem dialysim* zní:

”

## Soluciones ad peritonealem dialysim

Roztoky pro peritoneální dialýzu



Jsou to roztoky určené k intraperitoneálnímu podání. Obsahují elektrolyty v přibližně stejné iontové koncentraci jako plazma a proměnlivá množství glukosy nebo jiných vhodných osmotických látek.

Roztoky pro peritoneální dialýzu jsou dodávány:

- v pevných nebo polopevných plastových obalech,
- v pružných plastových obalech spojených se speciálním zaváděcím zařízením; jsou obecně plněny méně než je jmenovitý objem obalu a opatřeny vnitřním zabezpečeným obalem,
- ve skleněných obalech.

Obaly a uzávěry vyhovují požadavkům pro obaly určené pro přípravky k parenterálnímu použití (3.2.1) a (3.2.2).

Používají se roztoky různého složení. Koncentrace jednotlivých složek v litru roztoku jsou obvykle v následujících mezích:

Tab. 1

	Vyjádřeno v mmol	Vyjádřeno v mEqv
sodík	125 - 150	125 - 150
draslík	0 - 4,5	0 - 4,5
vápník	0 - 2,5	0 - 5,0
hořčík	0,25 - 1,5	0,50 - 3,0
octan a/nebo mléčnan a/nebo hydrogenuhličitan	30 - 60	30 - 60
chloridy	90 - 120	90 - 120
glukosa	25 - 250	

Je-li přítomen hydrogenuhličitan, roztok hydrogenuhličitanu sodného je obsažen v obalu nebo v oddělené části a je těsně před použitím přidán k roztoku elektrolytu.

Pokud není uvedeno a schváleno jinak, antioxidační přísady, jako disiričitan, se nepřidávají.

### Zkoušky totožnosti

Podle složení se provádějí následující zkoušky (2.3.1):

- draslík; zkouška (b),
- vápník; zkouška (a),
- sodík; zkouška (b),
- chloridy; zkouška (a),
- octany; do zkumavky se zátkou, v níž je upevněná zahnutá trubička, se převede 5 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *kyseliny chlorovodíkové R*; zahřívá se a zachytí se několik mililitrů destilátu, ve kterém se provede zkouška (b) na octany,
- mléčnany, hydrogenuhličitan; stanovení obsahu je zároveň zkouškou totožnosti,
- hořčík; k 0,1 ml *žlutí titanové RS* se přidá 10 ml *vody R*, 2 ml zkoušeného přípravku a 1 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS*; vznikne růžové zbarvení,

- glukosa; k 5 ml zkoušeného přípravku se přidají 2 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* a 0,05 ml *síranu měďnatého RS*; roztok je modrý a čirý. Zahřeje se k varu; vznikne objemná červená sraženina.

### Zkoušky na čistotu

**Vzhled roztoku.** Zkoušený přípravek je čirý (2.2.1) a není zbarven intenzivněji než porovnávací barevný roztok Ž<sub>4</sub> (2.2.2, *Metoda I*).

**Hodnota pH** (2.2.3). 5,0 až 6,5; měří se zkoušený přípravek. Obsahuje-li hydrogenuhličitan, hodnota pH je 6,5 až 8,0.

**Hydroxymethylfurfural.** K objemovému množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 25 mg glukosy se přidá 5,0 ml roztoku *p-toluidinu R* (100 g/l) v *2-propanolu R* obsahujícím *kyselinu octovou ledovou R* 10 % (V/V) a 1,0 ml roztoku *kyseliny barbiturové R* (5 g/l). Směs se nechá 2 min až 3 min stát a změří se absorbance roztoku (2.2.25) při 550 nm. Absorbance není větší než absorbance porovnávacího roztoku připraveného současně stejným způsobem za použití roztoku obsahujícího 10 µg *hydroxymethylfurfuralu R* ve stejném objemu jako zkoušený roztok. Obsahuje-li přípravek hydrogenuhličitan, jako porovnávací roztok se použije roztok obsahující 20 µg *hydroxymethylfurfuralu R*.

**Hliník** (2.4.17). Ke 400 ml zkoušeného přípravku, jehož pH bylo upraveno na hodnotu 6,0 se přidá 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0*; roztok vyhovuje limitní zkoušce na hliník (15 µg/l). Porovnávací roztok se připraví za použití 3 ml základního roztoku *hliníku* (2 µg Al/ml), 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 9 ml *vody R*. Připraví se kontrolní roztok, kterým je směs 10 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 6,0* a 10 ml *vody R*.

**Kontaminace částicemi.** S 50 ml zkoušeného přípravku se provede zkouška na částice pod hranicí viditelnosti (2.9.19).

Tab. 2

částice větší než	10 µm	25 µm
nejvyšší počet částic v mililitru	25	3

**Využitelný objem** (2.9.17). Vyhovuje zkoušce předepsané pro parenterální infuzní přípravky.

**Sterilita** (2.6.1). Vyhovuje zkoušce na sterilitu.

**Bakteriální endotoxiny** (2.6.14). Nejvýše 0,25 m.j. endotoxinu v mililitru.

**Pyrogenní látky** (2.6.8). Zkoušené přípravky, u kterých nelze provést validovanou zkoušku na bakteriální endotoxiny, vyhovují zkoušce na pyrogenní látky. Vstříkují se 10 ml roztoku na kilogram hmotnosti králíka.

### Stanovení obsahu

**Sodík.** 97,5 % až 102,5 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda II*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* tak, aby jeho koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *sodíku* (200 µg Na/ml).

Měří se absorbance při 589,0 nm za použití sodíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Draslík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* tak, aby koncentrace byla vhodná pro stanovení na použitém přístroji. Ke 100 ml roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *draslíku* (100 µg K/ml). Ke 100 ml každého porovnávacího roztoku se přidá 10 ml roztoku *chloridu sodného R* (22 g/l).

Měří se absorbance při 766,5 nm za použití draslíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Vápník.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

**Zkoušený roztok.** Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

**Porovnávací roztoky.** Připraví se za použití základního roztoku *vápníku* (400 µg Ca/ml).

Měří se absorbance při 422,7 nm za použití vápnickové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Hořčík.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Stanoví se atomovou absorpční spektrometrií (2.2.23, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* Je-li třeba, zředí se zkoušený přípravek *vodou R* na koncentraci, která je vhodná pro stanovení na použitém přístroji.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku hořčíku (100 µg Mg/ml).

Měří se absorbance při 285,2 nm za použití hořčíkové lampy s dutou katodou jako zdroje záření a vzduch-acetylenového nebo vzduch-propanového plamene.

**Celkové chloridy.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Přesně odměřený objem zkoušeného přípravku odpovídající asi 60 mg chloridů se zředí *vodou R* na 50 ml. Přidá se 5,0 ml *kyseliny dusičné zředěné RS*, 25,0 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* a 2 ml *dibutylftalatu R*. Po protřepání se přidají 2 ml *síranu amonno-železitého RS2* jako indikátoru a titruje se *thiokyanatanem amonným 0,1 mol/l VS* do červenožlutého zbarvení.

1 ml *dusičnanu stříbrného 0,1 mol/l VS* odpovídá 3,545 mg Cl.

**Octany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol octanu se přidá 10,0 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 0,1 mmol octanu.

**Mléčnany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. K množství zkoušeného přípravku odpovídajícímu 0,7 mmol mléčnanu se přidá 10,0 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l VS* a 50 ml *acetonitrilu 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 0,1 mmol mléčnanu.

**Hydrogenuhlíčan sodný.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství. Objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající asi 0,1 g hydrogenuhlíčnanu sodného se titruje *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 8,40 mg NaHCO<sub>3</sub>.

**Mléčnany a hydrogenuhlíčtany.** 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství mléčnanů a/nebo hydrogenuhlíčtanů. Stanoví se kapalinovou chromatografií (2.2.29).

*Zkoušený roztok.* Použije se zkoušený přípravek.

*Porovnávací roztok.* Ve 100 ml *vody pro chromatografii R* se rozpustí taková přesně odvážená množství mléčnanů a hydrogenuhlíčtanů, aby se získaly roztoky o koncentraci odpovídající asi 90 %, 100 % a 110 % koncentrace deklarované.

Chromatografický postup se obvykle provádí za použití:

- kolony délky 0,30 m a vnitřního průměru 7,8 mm naplněné *katexem R* (9 µm),
- mobilní fáze, kterou je *kyselina sírová 0,005 mol/l R*, jež byla předem *heliem R* odplyněna; průtoková rychlost je 0,6 ml/min,
- diferenčního refraktometrického detektoru.

Teplota kolony se udržuje na 85 °C.

Dvakrát se nastříkne po 20 µl zkoušeného roztoku a po 20 µl každého porovnávacího roztoku. Je-li chromatogram zaznamenáván za předepsaných podmínek, jsou píky eluované v následujícím pořadí: mléčnany a pak hydrogenuhlíčtany.

Koncentrace mléčnanů a hydrogenuhlíčtanů ve zkoušeném roztoku se stanoví extrapolací plochy píku mléčnanů a výšky píku hydrogenuhlíčtanů z lineární regresní křivky získané z porovnávacích roztoků.

**Redukující cukry** (vyjádřeno jako glukosa bezvodá). 95,0 % až 105,0 % deklarovaného množství glukosy. Do 250ml kuželové baňky se zabroušenou zátkou se převede objemové množství zkoušeného přípravku odpovídající 25 mg glukosy a přidá se 25,0 ml *citronanu měďnatého RS* a několik zrněk pemzy. Zahřívá se 2 min pod zpětným chadičem k varu a potom se přesně 10 min vaří. Po ochlazení se přidají 3 g *jodidu draselného R* rozpuštěného ve 3 ml *vody R* a opatrně po malých dávkách se přidává 25,0 ml roztoku *kyseliny sírové R* (25%). Titruje se *thiosíranem sodným 0,1 mol/l VS* za použití *škrobu RS* jako indikátoru přidaného před koncem titrace. Provede se slepá zkouška s 25,0 ml *vody R*.

Obsah redukujících cukrů se vyjádří jako glukosa bezvodá (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>) za použití tabulky 3.



Tab. 3

Spotřeba thiosíranu sodného 0,1 mol/l VS (ml)	Glukosa bezvodá (mg)
8	19,8
9	22,4
10	25,0
11	27,6
12	30,3
13	33,0
14	35,7
15	38,5
16	41,3

**Uchovávání**

Při teplotě ne nižší než 4 °C.

**Označování**

V označení na obalu se uvede:

- složení přípravku vyjádřené v g/l a v mmol/l,
- vypočítaná hodnota osmolarity vyjádřená v mosmol/l,
- jmenovitý objem roztoku v obalu,
- zda je přípravek prostý bakteriálních endotoxinů nebo, kde je to vhodné, zda je roztok prostý pyrogenních látek,
- podmínky uchovávání,
- upozornění, že přípravek není určen pro intravenózní podání,
- upozornění, že nespotebovaná část roztoku se má odstranit.

“

197. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek Sulfuris suspensio doplňuje článek Thymi extractum fluidum, který zní:

”

**Thymi extractum fluidum**

N

Tekutý tymiánový extrakt

*Synonymum.* Extractum thymi fluidum

Je to lihovodný výtazek z tymiánové natě.

**Příprava**

Připravuje se macerací tymiánové natě (2000) způsobem uvedeným v článku *Extracta* s tím, že se použije jeden díl tymiánové natě, 0,1 dílu glycerolu 85% a 2 díly lihu 25%. Maceruje se 2 dny při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 1,16.

## Vlastnosti

Tmavě hnědá tekutina, charakteristického pachu a chuti. Chladem se kalí, při pokojové teplotě se opět vyjasní. S vodou se mísí bez zákalu, s lihem 96% se zakaluje.

## Zkouška totožnosti

Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy vhodného silikagelu s fluorescenční přísadou pro detekci při 254 nm.

*Zkoušený roztok.* 4,0 g se protřepávají 3 min s 5 ml *dichlormethanu R*. Dichlormethanová vrstva se zfiltruje přes 2 g *síranu sodného bezvodého R*. Filtrát se použije jako zkoušený roztok. *Porovnávací roztok.* 5 mg *thymolu R* a 10  $\mu$ l *karvakrolu R* se rozpustí v 10 ml *dichlormethanu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm  $\times$  3 mm) po 20  $\mu$ l každého roztoku a vyvíjí se dvakrát *dichlormethanem R* po dráze 12 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v ultrafialovém světle při 254 nm; skvrny se označí. Na chromatogramech porovnávacího roztoku a zkoušeného roztoku je ve střední části patrná skvrna thymolu. Na chromatogramu zkoušeného roztoku je těsně nad skvrnou odpovídající thymolu intenzivní skvrna, další skvrny jsou patrné v dolní třetině chromatogramu. 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 zbarvením skvrnám na chromatogramu porovnávacího roztoku více nebo méně intenzivní v závislosti na druhu použité tymiánové nati. Mezi dvěma hlavními skvrnami a startem mohou být další skvrny. V blízkosti čela chromatogramu je fialovočervená až šedofialová skvrna; další skvrny jsou v okolí startu.

## Zkoušky na čistotu

*Hustota* (2.2.5).  $\rho_{20} = 1,010 \text{ g/cm}^3$  až  $1,050 \text{ g/cm}^3$ .

*Ethanol* (2.9.10). 17,0 % až 23,0 %.

*Methanol a 2-propanol* (2.9.11). Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

*Zbytek po odpaření.* 14,0 % až 18,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Extracta*, odstavec *Extracta fluida*.

## Uchovávání

Viz článek *Extracta*.

## Označování

Viz článek *Extracta*.

“

198. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum erysipelatis suillae inactivatum* zní:

”

## **Vaccinum erysipelatis suillae inactivatum**

Inaktivovaná vakcína proti července prasat

2000



Je to inaktivovaný přípravek z jednoho nebo více vhodných kmenů *Erysipelothrix rhusiopathiae* (*E. insidiosa*).

### **Výroba**

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Kmeny *E. rhusiopathiae*, jejichž imunogenita byla ověřena na prasatech, se pomnoží ve vhodných živných půdách. Po vhodné době kultivace se bakterie zcela inaktivují fyzikálními či chemickými prostředky nebo jejich kombinací; může se přidat adjuvans.

### **Zkouška totožnosti**

Přípravek chrání vnímavá zvířata proti infekci vyvolané *E. rhusiopathiae*.

### **Zkoušky na čistotu**

**Bezpečnost.** Dvěma zdravým a vnímavým prasatům starým 3 až 4 měsíce se vstříkne způsobem uvedeným v označení po dvojnásobku dávky zkoušeného přípravku. Zvířata se pozorují nejméně 10 dnů. Neprojeví se žádná významná místní ani systémová reakce.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### **Stanovení účinnosti**

Účinnost zkoušeného přípravku se stanoví porovnáním dávky potřebné k ochraně myši proti smrtící dávce virulentní kultury *E. rhusiopathiae* s dávkou referenčního přípravku potřebnou k zajištění stejné ochrany. Pro toto porovnání je zapotřebí referenční přípravek vakcíny proti července prasat kalibrovaný v mezinárodních jednotkách a vhodná kultura *E. rhusiopathiae* k použití jako čelenžní přípravek.

Mezinárodní jednotka je specifická účinnost obsažená v určitém množství mezinárodního standardu, který pozůstává z definovaného množství lyofilizované vakcíny proti července prasat. Hodnotu účinnosti mezinárodního standardu v mezinárodních jednotkách vyhláší Světová zdravotnická organizace. Ke zkoušce se použijí zdravé bílé myši jednotného kmene o hmotnosti 17 g až 20 g. Rozdělí se nejméně do šesti skupin po šestnácti myších. Nejméně třem skupinám myši se podá referenční přípravek a nejméně třem skupinám zkoušený přípravek. Skupina deseti myši slouží jako kontrola čelenžního kmene. K čelenži se použije dostatečné množství virulentní kultury v růstové fázi vhodného kmene *E. rhusiopathiae* nebo takové ředění, aby se získala dávka, která usmrtí myši v průběhu dvou až pěti dnů.

Pomocí roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) se připraví nejméně tři ředění referenčního přípravku a nejméně tři ředění zkoušeného přípravku. V obou případech se ředění nastaví tak, aby dávka chránící asi 50 % myši byla co možná nejlíže střední hodnotě v řadě. Navržené dávky obsahují 0,2 m.j., 1,0 m.j. a 5,0 m.j. v 0,5 ml referenčního přípravku a podobně odstupňované dávky zkoušeného přípravku. Každé myši se podkožně vstříkne příslušné ředění a za 21 dnů se všechny myši, včetně myši z kontrolní skupiny, intraperitoneálně čelenžují. Myši se pozorují 8 dnů a zaznamenávají se počty uhynulých. Účinnost zkoušeného přípravku ve srovnání s referenčním přípravkem se vypočítá obvyklými statistickými metodami.

Přípravek vyhovuje stanovení účinnosti, jestliže dolní mez spolehlivosti ( $P = 0,95$ ) zjištěné účinnosti není nižší než 50 m.j. v dávce pro prase.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

V označení na obalu se uvedou sérologické typy, proti nimž je přípravek účinný, pokud to požaduje oprávněná autorita.

“

199. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, se za článek *Vaccinum parainfluenzae viri bovini vivum cryodesiccatum* doplňuje článek *Vaccinum paramyxoviris 3 aviarii inactivatum*, který zní:

”

## Vaccinum paramyxoviris 3 aviarii inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti ptačímu paramyxoviru 3

2000



Je to emulze nebo suspenze vhodného kmene ptačího paramyxoviru 3 inaktivovaného takovým způsobem, který zachová jeho imunogenní účinnost. Vakcína se používá k ochraně proti poklesu snášky nebo kvality krutích vajec.

## Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*. Virus se pomnoží v kuřecích embryích pocházejících ze zdravých chovů nebo ve vhodných tkáňových kulturách (5.2.4).

Zkouška inaktivace se provede na kuřecích embryích nebo ve vhodné buněčné kultuře a použité množství inaktivovaného viru odpovídá nejméně deseti dávkám vakcíny. Nejistí se žádný živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans.

### Výběr složení vakcíny

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) pro všechny kategorie krut, pro které je určena. K průkazu imunogenity se může použít následující zkouška.

*Imunogenita.* Zkouška popsaná v odstavci Stanovení účinnosti je vhodná k průkazu imunogenity.

### Zkoušení šarže

**Zkouška účinnosti šarže.** Provede se vhodná validovaná zkouška, pro kterou byla zjištěna přijatelná korelace se zkouškou popsanou v odstavci Stanovení účinnosti. Kritéria pro přijetí se stanoví v porovnání s šarží, která v uvedené zkoušce dala vyhovující výsledky.

## Zkouška totožnosti

Po podání zvířatům bez protilátek proti paramyxoviru 3 vakcína vyvolá tvorbu těchto protilátek.

## Zkoušky na čistotu

**Bezpečnost.** Každému z deseti krůřat, 14 až 28 dnů starých a nemajících protilátky proti paramyxoviru 3 se doporučeným způsobem vstříkne dvojnásobek vakcinační dávky. Ptáci se pozorují 21 dnů. Nejistí se žádné abnormální místní ani systémové reakce.

**Inaktivace.** Deseti kuřecím embryím z chovu prostého specifikovaných patogenů (SPF vejce) (5.2.2) a starým 9 až 11 dnů se do alantoidní dutiny vstříkne po dvou pětinách dávky a nechají se inkubovat. Pozorují se 6 dnů, pak se odděleně shromáždí alantoidní tekutina z vajec obsahujících živá embrya a z vajec obsahujících mrtvá embrya, z nichž se vyřadí ta, která uhynula do 24 h po injekci. Embrya, která uhynula za více než 24 h po injekci, se vyšetří na přítomnost ptačího paramyxoviru 3. Pokud je ptačí paramyxovirus 3 zjištěn, vakcína nevyhovuje zkoušce.

Do alantoidní dutiny každého z deseti 9 až 11 dnů starých SPF vajec se vstříkne po 0,2 ml spojené alantoidní tekutiny z vajec se živými embryi a do každého z dalších deseti SPF vajec po 0,2 ml spojené alantoidní tekutiny z vajec s uhynulými embryi a inkubuje se 5 až 6 dnů. Alantoidní tekutina z každého vejce se zkouší na přítomnost hemaglutinini-  
nů za použití kuřecích erytrocytů.

Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže nejsou přítomny známky hemaglutinačního účinku a jestliže neuhyne víc než 20 % embryí v některé skupině. Pokud v jedné skupině uhne více než 20 % embryí, opakuje se zkouška v této skupině. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže nejsou přítomny známky hemaglutinačního účinku a jestliže neuhyne více než 20 % embryí v této skupině.

K vyloučení bakteriální infekce z vnějšku se mohou v této zkoušce použít antibiotika.

**Cizí agens.** Každému z deseti kuřat z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) a 14 až 28 dnů starých se jedním z doporučených způsobů podají dvě dávky. Po třech týdnech se každému kuřeti stejným způsobem podá jedna dávka. Po dvou týdnech se získají vzorky sér od každého kuřete a provedou se zkoušky na přítomnost protilátek proti sledovaným agens metodami předepsanými pro chovy prosté specifikovaných patogenů (5.2.2): virus ptačí encefalomyelitidy, virus ptačí infekční bronchitidy, virus ptačí leukózy, hemaglutinující ptačí adenovirus, virus infekční burzitidy, virus infekční laryngotracheitidy, virus chřipky A, virus Markovy choroby. Vakcína nevyvolá tvorbu protilátek proti těmto virům.

**Sterilita.** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Stanovení účinnosti

Použijí se dvě skupiny po nejméně dvaceti krůřatách bez protilátek proti ptačímu paramyxoviru 3. Jedna skupina se vakcinuje doporučeným způsobem, druhá skupina se ponechá jako kontrolní. Zkouška není platná, jestliže ve vzorcích sér odebraných v době první vakcinace se prokáží protilátky proti ptačímu paramyxoviru 3 u vakcinovaných krůřat nebo kontrol, nebo jestliže v době čelenže se tyto protilátky prokáží u kontrol. V době vrcholné snášky se obě skupiny čelenžují okulonazálním způsobem dostatečným množstvím virulentního kmene ptačího paramyxoviru 3. Po dobu nejméně šesti týdnů po čelenži se zaznamenávají týdenní snášky v každé skupině a rozlišují se normální a abnormální vejce. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže produkce a kvalita vajec jsou ve vakcinované skupině významně lepší než v kontrolní skupině.

## Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

“

200. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum poliomyelitidis inactivatum* zní:

”

## Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti poliomyelitidě



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.

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 požadavkům.

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 vývojovými 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 opičímu viru 40 (SV40) a viru opičí imunodeficiencie. Jsou-li k výrobě vakcíny použity opice rodu *Macaca*, nemají prokazatelně protilátky proti herpesviru B (cerkopitecidi herpesvirus 1). Aby se předešlo nebezpečí vyplývajícímu ze zacházení s herpesvirem B (cerkopitecidi herpesvirus 1), 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 (cerkopitecidi 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, pokud není zřejmé, že jejich použití nesníží bezpečnost přípravku.

Všechny operace popsané v této části se provádějí mimo výrobní prostory vakcíny.

*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 (2.6.2); 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 odpovídajícím následujícím požadavkům se může použít pro pomnožení viru.

**Totožnost.** Každé pracovní inokulum se identifikuje jako lidský poliovirus typu 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 opičí ledvinné buňky, provedou se navíc opatření, která zajistí, aby kmen nebyl kontaminován takovými opičími viry, jako jsou virus opičí imunodeficiency, SV40, filoviry a herpesvirus B (cerkopitecidní herpesvirus 1). Pracovní inokulum připravené v primárních, sekundárních nebo terciárních opičích ledvinných buňkách vyhovuje požadavkům uvedeným dále v odstavci *Pomnožování viru a sklizeň* pro jednotlivé sklizeň připravené v těchto buňkách.

#### **Pomnožování a sklizeň viru**

Všechny práce s buněčnou bankou a buněčnými kulturami se provádějí v aseptických podmínkách v prostoru, kde se nepracuje s jinými buňkami nebo s viry. 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, jako např. fenolovou červen, 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, použije se jako kontrolní buňky  $200 \cdot 10^6$  buněk; použijí-li se k výrobě primární, sekundární nebo terciární opičí ledvinné buňky, odebere se k přípravě kontrolních buněk vzorek odpovídající nejméně 500 ml buněčné suspenze v koncentraci použité pro výrobu vakcíny.

Pouze jednotlivá sklizeň vyhovující následujícím požadavkům se může použít pro přípravu vakcíny. Zkouška totožnosti i zkouška na bakteriální a houbovou sterilitu se mohou provést místo na purifikované spojené monovalentní sklizni. Po prokázání pravidelnosti výroby na úrovni jednotlivé sklizeň se může koncentrace viru stanovit místo na spojené purifikované monovalentní sklizni.

**Kontrolní buňky.** Kontrolní buňky k výrobní buněčné kultuře vyhovují ve zkoušce totožnosti (při použití buněčné banky k výrobě) a požadavkům na cizí agens (2.6.16; při použití primárních, sekundárních nebo terciárních buněk opičích ledvin se zkoušky provádějí podle odstavců *Zkouška na kulturách buněk králičích ledvin* a *Zkouška na kulturách buněk ledvin opic rodu Cercopithecus*).

*Zkouška 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 cm<sup>2</sup> na mililitr inokula. Jako nenaočkované kontrolní buňky 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 viru SV40 a jiných cizích agens 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 vyřazeno 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 (cerkopitecidi 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 buňkách prokazatelně vnímavých k viru SV40. Kultury se inkubují při 37 °C a prohlížejí se po dobu 14 dnů. Na konci této doby se připraví subkultura z tekutiny na tentýž buněčný systém a primární kultury i subkultury se pozorují dalších 14 dnů.

#### ***Purifikace a purifikovaná monovalentní sklizeň***

Několik jednotlivých sklizní téhož typu se může spojit a koncentrovat. Monovalentní sklizeň nebo spojená monovalentní sklizeň se čistí validovanými metodami. 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, stanovené 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 metodou, která prokazatelně inaktivuje virus bez poškození imunogenity. Validační studie zahrnuje inaktivační křivku nejméně o čtyřech bodech (např. v čase 0 h, 24 h, 48 h a 96 h), která 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 vyhovuje následujícím požadavkům, se může použít k přípravě trivalentní směsi inaktivovaných monovalentních sklizní nebo konečné várky vakcíny.

**Zkouška účinnosti inaktivace.** Po inaktivaci formaldehydu disinfikovaným sodným, je-li to vhodné, se ověří nepřítomnost zbylého živého viru inokulací na vhodné buněčné kultury. K inokulaci se z každé inaktivované monovalentní sklizně použijí dva vzorky 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 cm<sup>2</sup> 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 láhve 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 účinnosti 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 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.

### **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 menší než minimální prokazatelné účinné množství a nejvýše 115 % deklarovaného 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 lidský poliovirus typu 1, 2 a 3 jako ukazatel dodržování výrobního postupu. 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 rozmezí schváleném pro daný přípravek.

*Inaktivovaná vakcína proti poliomyelitidě BRP* je kalibrovaná v jednotkách Ph. Eur. a určena 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 naředěné vakcíny se vstříkne nitrosvalově skupině 3 týdnů 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 typu 1, 2 a 3. Směs 100 CCID<sub>50</sub> 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 ponechají při teplotě (5 ± 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 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 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 detekovatelnou protilátkovou odpověď. Stanoví se neutralizační titr a vypočítá se geometrický 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

Viz článek *Vaccina ad usum humanum*.

“

201. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky, článek *Vaccinum pseudopestis aviariae inactivatum* zní:

”

## Vaccinum pseudopestis aviariae inactivatum

Inaktivovaná vakcína proti pseudomoru ptáků

*Synonymum.* Inaktivovaná vakcína proti Newcastlešské chorobě

2000



Je také známa jako inaktivovaná vakcína proti ptačímu paramyxoviru 1, v případě vakcíny určené pro určitý druh. Je to emulze nebo suspenze vhodného kmene viru Newcastlešské choroby (ptačí paramyxovirus 1) inaktivovaného takovým způsobem, který zachová jeho imunogenní účinnost.

### Výroba

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

Virus se pomnoží v kuřecích embryích pocházejících ze zdravých chovů nebo ve vhodných buněčných kulturách (5.2.4).

Zkouška inaktivace se provádí na kuřecích embryích nebo ve vhodné buněčné kultuře a použité množství inaktivovaného viru odpovídá nejméně deseti dávkám vakcíny. Nezjistí se žádný živý virus.

Vakcína může obsahovat adjuvans.

#### **Výběr složení vakcíny**

Vakcína je prokazatelně uspokojivá z hlediska bezpečnosti (5.2.6) a imunogenity (5.2.7) pro všechny druhy a kategorie ptáků, pro které je určena. K průkazu imunogenity se může použít následující zkouška.

*Imunogenita.* Pro kura domácího je k prokázání imunogenity vhodná zkouška s virulentní čelenží (zkouška B) popsaná v odstavci Stanovení účinnosti. Pro ostatní druhy ptáků (např. holuby nebo krůty) je k prokázání imunogenity vhodná zkouška C popsaná v odstavci Stanovení účinnosti.

#### **Zkoušení šarže**

**Zkouška účinnosti.** Pro vakcíny používané u kura domácího se provede zkouška A popsaná v odstavci Stanovení účinnosti. Jestliže povaha přípravku nedovoluje při provedení zkoušky A získat validní výsledky nebo jestliže šarže nevyhoví ve zkoušce A, provede se zkouška B.

Zkouška používající méně než dvacet ptáků ve skupině a kratší dobu sledování po čelenži se může použít, jestliže je prokázáno, že stanovení účinnosti je validní.

*Pro vakcíny používané pro jiné druhy, než je kur domácí,* se provede vhodná validovaná zkouška, pro kterou byla zjištěna přijatelná korelace se zkouškou C popsanou v odstavci Stanovení účinnosti. Kritéria pro přijetí se stanoví v porovnání s šarží, která v uvedené zkoušce dala vyhovující výsledky.

Může se použít zkouška provedená na kuřatech z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) založená na měření sérologické odpovědi na odstupňovaná množství vakcíny (např. 1/25, 1/50 a 1/100 dávky s odběrem séra po 17 až 21 dnech).

#### **Zkouška totožnosti**

Vakcína podaná zvířatům bez protilátek proti viru Newcastlelé choroby vyvolá tvorbu těchto protilátek.

#### **Zkoušky na čistotu**

**Bezpečnost.** Pokud je vakcína určena pro kura domácího, podá se deseti kuřatům z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2). Pokud vakcína není určena pro kura domácího, podává se deseti ptákům toho druhu, pro něž je určena a kteří nemají protilátky proti viru Newcastlelé choroby. Podají se dvě dávky vakcíny doporučeným způsobem každému z deseti ptáků starých 10 až 14 dnů. Doba pozorování je 21 dnů. Neobjeví se žádné abnormální místní ani systémové reakce.

**Inaktivace.** Deseti kuřecím embryím z chovu prostého specifikovaných patogenů (SPF vejce) (5.2.2) a starých 9 až 11 dnů se do alantoidní dutiny vstříkne po dvou pětinách dávky a nechají se inkubovat. Pozorují se 6 dnů, pak se odděleně shromáždí alantoidní tekutina z vajec obsahujících živá embrya a z vajec obsahujících mrtvá embrya, z nichž se vyřadí ta, která uhynula do 24 h po injekci. Embrya, která uhynula za více než 24 h po injekci, se vyšetří na přítomnost viru Newcastlelé choroby. Vakcína nevyhovuje zkoušce, je-li nalezen virus Newcastlelé choroby.

Do alantoidní dutiny každého z deseti 9 dnů až 11 dnů starých SPF vajec se vstříkne po 0,2 ml spojené alantoidní tekutiny z vajec se živými embryi a do každého z dalších deseti SPF vajec po 0,2 ml spojené tekutiny z vajec s uhynulými embryi a inkubuje se 5 až 6 dnů. Alantoidní tekutina z každého vejce se zkouší na přítomnost hemaglutinini-  
nů za použití kuřecích erytrocytů.

Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže nejsou přítomny známky hemaglutinačního účinku a jestliže neuhyne více než 20 % embryí v některé skupině. Pokud v jedné skupině uhynie více než 20 % embryí, opakuje se zkouška v této skupině. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže nejsou přítomny známky hemaglutinačního účinku a jestliže neuhyne více než 20 % embryí v této skupině. K vyloučení bakteriální infekce z vnějšku se mohou v této zkoušce použít antibiotika.

**Cizí agens.** Každému z deseti kuřat z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) a 14 až 28 dnů starých se doporučeným způsobem podají dvě dávky. Po třech týdnech se každému kuřeti stejným způsobem podá jedna dávka. Po dvou týdnech se získají vzorky sér od každého kuřete a provedou se zkoušky na přítomnost protilátek proti sledovaným agens metodami předepsanými pro chovy prosté specifikovaných patogenů (5.2.2): virus ptačí encefalomyelitidy, virus ptačí infekční bronchitidy, virus ptačí leukózy, hemaglutinující ptačí adenovirus, virus ptačí

infekční burzitidy, virus ptačí infekční laryngotracheitidy, virus chřipky A, virus Markovy choroby. Vakcína nevyvolá tvorbu protilátek proti těmto virům.

**Sterilita.** Vakcína vyhovuje zkoušce na sterilitu předepsané v článku *Vaccina ad usum veterinarium*.

### Stanovení účinnosti

*U vakcín pro použití u kura domácího se provede zkouška A. Jestliže ve zkoušce A se získají neuspokojivé výsledky, ale ve zkoušce B uspokojivé, vakcína vyhovuje požadavkům. Pro vakcíny používané pro jiné druhy, např. pro holuby, se provede zkouška C.*

A. Každému z nejméně deseti kuřat z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) a 21 až 28 dnů starých se vstříkne intramuskulárně objem vakcíny odpovídající 1/50 dávky. Za 17 až 21 dnů se odeberou vzorky séra od každého vakcinovaného kuřete a od nejméně pěti kontrolních kuřat stejného věku a stejného původu. Hladina protilátek v jednotlivých sérech se měří dále popsanou hemaglutinačně-inhibiční zkouškou (HI) nebo rovnocennou metodou se stejným počtem hemaglutinačních jednotek a erytrocytů.

Zkušební systém zahrnuje i negativní a pozitivní kontrolní séra. Pozitivní kontrolní sérum má HI titr mezi  $5,0 \log_2$  až  $6,0 \log_2$ .

Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže průměrný HI titr vakcinované skupiny je stejný nebo větší než  $4 \log_2$  a titr u nevakcinované skupiny je  $2 \log_2$  nebo méně. Jestliže HI titry nejsou uspokojivé, provede se zkouška B.

**Hemaglutinačně-inhibiční zkouška.** Zkoušená séra se 30 min inaktivují zahřátím na  $56^\circ\text{C}$ . Do první řady jamek mikrotitrační destičky se odpipetuje po 0,025 ml inaktivovaných sér. Do ostatních jamek se odpipetuje 0,025 ml roztoku *chloridu sodného R* (9 g/l) o pH 7,2 až 7,4.

Připraví se dvojnásobná ředění sér v celé destičce. Do každé jamky se přidá 0,025 ml suspenze obsahující 4 hemaglutinační jednotky inaktivovaného viru Newcastleeské choroby.

**Destička** se inkubuje 1 h při  $4^\circ\text{C}$ . Přidá se 0,025 ml 1% (V/V) suspenze červených krvinek odebraných 3 až 4 týdny starým kuřatům bez protilátek proti viru Newcastleeské choroby.

**Destička** se inkubuje 1 h při  $4^\circ\text{C}$ . HI titr odpovídá nejvyššímu ředění, které vykazuje úplnou inhibici.

B. Použijí se kuřata z chovu prostého specifikovaných patogenů (5.2.2) a stará 21 až 28 dnů. Pro vakcinaci se použijí nejméně tři skupiny, v každé nejméně 20 kuřat; deset kuřat se ponechá jako kontrolní skupina. Zvolí se takový počet různých objemů vakcíny, jaký je počet skupin: například objemy odpovídající 1/25, 1/50 a 1/100 dávky. Každé skupině se podá odlišný objem. Každému kuřeti se intramuskulárně podá objem zvolený pro danou skupinu.

Za 17 až 21 dnů se všem kuřatům podá intramuskulární injekce o obsahu  $6 \log_{10}$  embryonální LD<sub>50</sub> viru Newcastleeské choroby-kmene Herts (Weybridge 33/56). Kuřata se sledují 21 dnů. Z počtu kuřat, která přežijí 21 dnů v každé vakcinační skupině bez klinických známek onemocnění Newcastleeskou chorobou, se vypočítá PD<sub>50</sub> standardními statistickými metodami. Vakcína vyhovuje zkoušce, jestliže nejmenší dávka uvedená na označení vakcíny odpovídá nejméně 50 PD<sub>50</sub> a spodní hranice spolehlivosti je nejméně 35 PD<sub>50</sub> na dávku. Je-li tento limit méně než 35 PD<sub>50</sub> na dávku, zkouška se opakuje.

Vakcína v opakované zkoušce obsahuje nejméně 50 PD<sub>50</sub>. Zkoušku lze hodnotit pouze v případě, pokud všechna kuřata v kontrolní skupině uhynou během 6 dnů po čelenži.

C. Pro vakcinaci se použije nejméně dvacet ptáků cílového druhu bez protilátek proti ptačímu paramyxoviru 1 ve shodě s doporučeními pro použití. Jako nevakcinované kontroly se použije skupina nejméně deseti ptáků téhož věku, téhož původu a bez protilátek proti ptačímu paramyxoviru 1. Zkoušku nelze hodnotit, jestliže vzorky séra v době první vakcinace vykazují přítomnost protilátek proti ptačímu paramyxoviru 1 u vakcinovaných nebo kontrolních ptáků, nebo když zkoušky v době čelenže vykazují tyto protilátky u kontrolní skupiny. Čtyři týdny po poslední vakcinaci se provede čelenž intramuskulárním podáním dostatečného množství virulentního kmene ptačího paramyxoviru 1. Zkoušku nelze hodnotit, jestliže méně než 90 % ptáků kontrolní skupiny uhynie, nebo vykazuje vážné známky infekce virem Newcastleeské choroby. Vakcína vyhovuje, jestliže nejméně 90 % vakcinovaných ptáků přežívá a nevykazuje známky infekce ptačím paramyxovirem 1.

### Uchovávání

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

## Označování

Viz článek *Vaccina ad usum veterinarium*.

“

202. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.2 Jednotlivé léčivé přípravky se za článek *Vaccinum viri syncytialis meatus spiritus bovini vivum cryodesiccatum* doplňuje článek *Valerianae tinctura*, který zní:

”

---

## Valerianae tinctura

N

Kozlíková tinktura

*Synonymum*. Tinctura valerianae

---

Je to lihový výluh z kozlíkového kořene, jehož zbytek po odpaření je 4,0 % až 7,0 %.

### Příprava

Připraví se macerací kozlíkového kořene (2000) způsobem uvedeným v článku *Tincturae*, s tím, že se použije jeden díl kozlíkového kořene a 6 dílů lihu 60%. Maceruje se 7 dnů při pokojové teplotě. Poměr výchozí drogy k hotovému přípravku je 1 : 5.

### Vlastnosti

Téměř čirá hnědá tekutina, charakteristického pachu.

### Zkoušky totožnosti

- A. Asi 0,5 ml se smíchá s 5 ml *tlumivého roztoku octanového o pH 4,6* a 0,1 ml *oranže methylové RS*. Přidá se 5 ml *chloroformu R* a protřepe se. Chloroformová vrstva se oddělí a protřepe se se 3 ml směsi objemových dílů *lihu 96% R* a *kyseliny sírové R (3 + 22)*; vznikne červené zbarvení.
- B. Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.  
*Zkoušený roztok*. 5 ml se zahustí asi na 2 ml, které se smíchají s 3 ml roztoku *hydroxidu draselného R (100 g/l)*. Protřepe se dvakrát s 5 ml *dichlormethanu R*. Spodní (organická) vrstva se vždy odstraní. Vodná vrstva se zahřívá 10 min ve vodní lázni při 40 °C. Po ochlazení se smíchá s *kyselinou chlorovodíkovou zředěnou RS* až do kyselé reakce roztoku. Protřepe se dvakrát s 5 ml *dichlormethanu R*. Ke spojeným spodním vrstvám se přidají 2 g *síranu sodného bezvodého R*, protřepe se a pak se zfiltruje. Filtrát se odpaří do sucha a zbytek se rozpustí v 1,0 ml *dichlormethanu R*.  
*Porovnávací roztok*. 5 mg *fluoresceinu R* a 5 mg *červeně sudanové G R* se rozpustí v 10,0 ml *methanolu R*.

Na vrstvu se nanese odděleně do pruhů (20 mm × 3 mm) 20 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku a vyvíjí se směsí objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R*, *ethylacetatu R* a *hexanu R* (0,5 + 35 + 65) po dráze 10 cm. Vrstva se usuší na vzduchu a pozoruje se v denním světle. Na chromatogramu porovnávacího roztoku je v horní třetině červená skvrna (červeně sudanová) ve spodní části zelenožlutá skvrna (fluorescein). 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 zkoušeného roztoku je fialově modrá skvrna (kyselina hydroxyvalerenová) přibližně odpovídající skvrně fluoresceinu na chromatogramu porovnávacího roztoku a fialová skvrna (kyselina valerenová) přibližně odpovídající skvrně červeně sudanové na chromatogramu porovnávacího roztoku. Na chromatogramu zkoušeného roztoku jsou v horní polovině další, většinou méně intenzivní růžové až fialové skvrny.

### Zkoušky na čistotu

**Hustota (2.2.5).**  $\rho_{20} = 0,900 \text{ g/cm}^3$  až  $0,920 \text{ g/cm}^3$ .

**Ethanol (2.9.10).** 54,0 % až 59,0 %.

**Methanol a 2-propanol (2.9.11).** Nejvýše 0,05 % (V/V) methanolu a nejvýše 0,05 % (V/V) 2-propanolu.

**Zbytek po odpaření.** 4,0 % až 7,0 %. Stanoví se způsobem uvedeným v článku *Tincturae*.

### Uchovávání

Viz článek *Tincturae*.

### Označování

Viz článek *Tincturae*.

“

203. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky, článek *Radiofarmaca* zní:

”

---

## Radiofarmaca

Radiofarmaka

*Synonymum.* Radiopharmaceutica



2000

---

*Ustanovení tohoto článku se vztahují na lékopisné články radiofarmak.*

### Výklad pojmů

Pro účely tohoto obecného článku radiofarmaka jsou zahrnuty tyto pojmy a definice:

- radiofarmakum je jakýkoliv léčivý přípravek, který, je-li připraven k použití, obsahuje jeden nebo více radionuklidů (radioaktivních izotopů) včleněných pro lékařské účely,
- radionuklidový generátor je jakýkoliv systém obsahující vázaný mateřský radionuklid, z něhož vzniká dceřiný radionuklid, který se odděluje elucí nebo jiným způsobem a používá se k přípravě radiofarmak,

- kit pro radiofarmaka je jakýkoliv přípravek rekonstituovaný a/nebo spojený s radionuklidem do konečného radiofarmaka, obvykle před jeho podáním,
- prekurzor radiofarmaka je jakýkoliv jiný radionuklid vyrobený pro radioaktivní značení jiné látky před podáním.

Nuklid je druh atomu charakterizovaný počtem protonů a neutronů v jádře (tudíž jeho atomovým číslem  $Z$  a hmotnostním číslem  $A$ ) a energetickým stavem jádra. Izotopy daného prvku jsou nuklidy se stejným atomovým číslem, ale rozdílným číslem hmotnostním. Nuklidy obsahující nestabilně uspořádané protony a neutrony se samovolně přeměňují buď na stabilní, nebo jiné nestabilní kombinace protonů a neutronů s konstantní statistickou pravděpodobností. Takové nuklidy jsou považovány za radioaktivní a nazývají se radionuklidy. Počáteční nestabilní nuklid se označuje jako mateřský radionuklid a výsledný nuklid jako dceřiný nuklid.

Radioaktivní rozpad nebo přeměna mohou být provázeny emisí nabitých částic, elektronovým záchytem (EZ) nebo izomerním přechodem (IP). Nabitě částice emitované z jádra mohou být částice alfa (jádra helia s hmotnostním číslem 4) nebo částice beta (částice se záporným nábojem známé jako elektrony nebo částice s kladným nábojem známé jako pozitrony). Emise nabitých částic z jádra může být doprovázena zářením gama. Toto záření je také emitováno při procesu izomerního přechodu. Tyto emise záření gama mohou být částečně nahrazeny vyražením elektronů známých jako konverze elektronů. Tento jev, podobně jako elektronový záchyt, zapříčiňuje sekundární emisi rtg-záření (způsobený novým uspořádáním elektronů v atomu). Tato sekundární emise může být částečně nahrazena vyražením elektronů známých jako Augerovy elektrony. Radionuklidy s nedostatečným počtem neutronů se mohou přeměňovat emisí pozitronů. Tyto radionuklidy se nazývají pozitronové zářiče. Pozitrony jsou anihilovány při kontaktu s elektrony. Tento proces je doprovázen emisí obvykle dvou fotonů gama, každý o energii 511 keV, obvykle emitovaných v úhlu  $180^\circ$ . Tento jev se nazývá anihilační záření.

Přeměna radionuklidu se řídí zákony pravděpodobnosti s charakteristickou konstantou přeměny a z toho plynoucím exponenciálním zákonem. Čas, za který se přemění polovina počáteční hodnoty radioaktivity, se nazývá poločas přeměny ( $T_{1/2}$ ).

Pronikavost každého záření se liší podle jeho druhu a energie. Částice alfa jsou zcela absorbovány vrstvou látky o tloušťce od několika mikrometrů do několika desítek mikrometrů. Částice beta jsou zcela absorbovány vrstvou látky o tloušťce od několika milimetrů do několika centimetrů. Záření gama není úplně absorbováno, ale pouze zeslabeno a tloušťka vrstvy potřebná k desetinásobnému zeslabení může být např. až několik centimetrů olova. Ve většině případů platí, čím je hustota absorbatóru vyšší, tím kratší je dosah částic alfa a beta a tím větší je zeslabení záření gama.

Každý radionuklid je charakterizován stálým poločasem přeměny vyjádřeným v jednotkách času, druhem a energií emitovaného záření. Energie je udávána v elektronvoltech (eV), kiloelektronvoltech (keV) nebo v megaelektronvoltech (MeV).

Pojmem radioaktivita se popisuje jev radioaktivní přeměny a vyjadřuje se jako fyzikální veličina (aktivita). Radioaktivita přípravku je počet jaderných rozpadů nebo přeměn za jednotku času.

V mezinárodní soustavě jednotek (SI) se množství radioaktivity vyjadřuje v becquerelech (Bq), což je 1 jaderná přeměna za sekundu. Absolutní měření radioaktivity vyžadují specializovanou laboratoř, ale totožnost a měření záření může být provedeno poměrovou porovnávací metodou za použití referenčních přípravků poskytovaných laboratořemi uznanými oprávněnou autoritou.

**Radionuklidová čistota** je poměr radioaktivity daného radionuklidu a celkové radioaktivity radiofarmaka, vyjádřený v procentech. Odpovídající radionuklidové nečistoty spolu s limity jsou uvedeny v jednotlivých člancích.

**Radiochemická čistota** je poměr radioaktivity daného radionuklidu přítomného v radiofarmaku v určité chemické formě a celkové radioaktivity tohoto radionuklidu, vyjádřený v procentech. Odpovídající radiochemické nečistoty spolu s limity jsou uvedeny v jednotlivých člancích.

**Chemická čistota** je v člancích radiofarmak kontrolována specifikací limitů chemických nečistot.

**Nosič** je stabilní izotop daného prvku, který je buď přítomný nebo přidáný k radioaktivnímu přípravku ve stejné chemické formě, v jaké je přítomen radionuklid.

**Měrná radioaktivita** je radioaktivita radionuklidu vztažená na jednotku hmotnosti daného prvku nebo jeho chemické formy.

**Radioaktivní koncentrace** je radioaktivita radionuklidu vztažená na jednotku objemu.

**Celková radioaktivita** je radioaktivita radionuklidu vztažená na jednotku (lahvičku, tobolku, ampuli, generátor atd.).

**Vstupní suroviny** jsou všechny složky, ze kterých je radiofarmakum vyrobeno.

Doba použitelnosti je doba, po kterou musí specifikace uvedené v článku vyhovovat. Musí být zřetelně stanoveno datum, v případě potřeby i čas použitelnosti.

## Výroba

Článek *Radiofarmaca* popisuje způsob výroby radionuklidu tak přesně, jak je to možné. Radiofarmaka mohou obsahovat radionuklid:

- jako prvek ve formě atomu nebo molekuly, např. [ $^{133}\text{Xe}$ ], [ $^{15}\text{O}$ ] $\text{O}_2$ ,
- jako iont, např. [ $^{131}\text{I}$ ]jodid, [ $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ]technecistan,
- obsahující nebo včleněný do organické molekuly chelátací, např. [ $^{111}\text{In}$ ]oxin nebo kovalentně vázaný, např. 2- $^{18}\text{F}$ ]fluor-2-deoxy-D-glukosa.

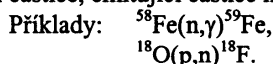
Vhodné způsoby výroby radionuklidů pro použití přímo nebo jako radiofarmaka jsou:

- bombardování terčových materiálů neutrony (obvykle v jaderných reaktorech),
- bombardování terčových materiálů urychlenými částicemi (v urychlovačích, jako jsou cyklotrony),
- jaderné štěpení těžkých nuklidů terčových materiálů (obvykle po bombardování neutrony nebo částicemi),
- z radionuklidových generátorů.

### *Bombardování neutrony nebo nabitými částicemi*

Jaderná reakce a pravděpodobnost jejího výskytu za jednotku času závisí na druhu a fyzikálních vlastnostech terčového materiálu a na druhu, energii a množství dopadajících částic. Jaderná přeměna při bombardování částic může být napsána ve formě:

terč jádra (bombardující částice, emitující částice nebo ozařování) vyrábějící jádro.



Kromě požadované jaderné reakce se mohou vyskytovat vedlejší přeměny. To by mohlo být ovlivněno energií dopadající částice a čistotou terčového materiálu. Také vedlejší přeměny mohou způsobit vzrůst radionuklidových nečistot.

### *Jaderné štěpení*

Malý počet nuklidů s vysokým atomovým číslem je štěpitelných a nejčastěji používanou reakcí je štěpení uranu-235 neutrony v jaderném reaktoru. Štěpením uranu-235 se může vyrábět jod-131, molybden-99 a xenon-133. Jejich extrakce ze směsi více než 200 jiných radionuklidů musí být pečlivě kontrolována, aby se minimalizovaly radionuklidové nečistoty.

### *Radionuklidové generátory*

Systémy radionuklidových generátorů používají mateřský radionuklid s relativně dlouhým poločasem přeměny, který se přeměňuje na dceřiný radionuklid obvykle s kratším poločasem přeměny.

Separaci dceřiného radionuklidu z mateřského chemickým nebo fyzikálním postupem je možné používat dceřiný radionuklid ve značné vzdálenosti od místa výroby generátorů, přestože má krátký poločas přeměny.

### *Terčové materiály*

Izotopické složení a čistota terčového materiálu určují relativní procento hlavního radionuklidu a radionuklidových nečistot. Použití izotopicky obohaceného terčového materiálu, ve kterém bylo zastoupení požadovaného terčového radionuklidu uměle zvýšeno, může zlepšit výtěžek při výrobě a čistotu požadovaného radionuklidu.

Chemická forma, čistota, fyzikální stav a chemické přísady, rovněž podmínky bombardování a fyzikální a chemické prostředí podmiňují chemický stav a chemickou čistotu vyráběných radionuklidů.

Při výrobě radionuklidů a zvláště radionuklidů s krátkým poločasem přeměny, není možné stanovit žádné z těchto jakostních kritérií před dalším zpracováním a výrobou radiofarmak. Proto každá šarže terčového materiálu musí být zkoušena před jejím použitím pro rutinní výrobu radionuklidu a výrobu radiofarmak, aby se zajistilo, že výtěžek radionuklidu z terče bude v požadovaném množství a kvalitě.

Terčový materiál umístěný v držáku v plynném, tekutém nebo pevném stavu tak, aby byl ozařován svazkem částic. Pro bombardování neutrony je terčový materiál obvykle obsažen v křemenných ampulích nebo nádobách z vysoce čistého hliníku nebo titanu. Je nutné zajistit, aby mezi nádobou a jejím obsahem za daných ozařovacích podmínek (teplota, tlak, čas) nemohlo dojít k žádným interakcím.



Pro bombardování nabitou částicí je držák pro terčový materiál obvykle sestaven z hliníku nebo jiného vhodného kovu, jehož výstupní okénka jsou obklopena chladicím systémem a obvykle slabou vrstvou kovu. Druh a tloušťka terčového okna mají vliv na výtěžek jaderné reakce a mohou také ovlivňovat radionuklidovou čistotu.

Výrobní postup zřetelně popisuje:

- terčový materiál,
- konstrukci držáku pro terčový materiál,
- naplnění terčového materiálu do ozařovacího systému,
- způsob ozařování (bombardování),
- separaci požadovaného radionuklidu

a hodnocení všech vlivů na účinnost výroby z hlediska kvality a množství vyrobeného radionuklidu.

Chemický stav izolovaného radionuklidu může hrát hlavní roli v dalším postupu výroby.

### **Prekurzory pro syntézu**

Tyto prekurzory se obvykle nevyrábějí v širokém měřítku. Některé se syntetizují v radiofarmaceutických výrobních laboratořích, jiné se dodávají specializovanými výrobci nebo laboratořemi.

Zkoušky totožnosti, zkoušky chemické čistoty a stanovení obsahu musí být provedeny validovanými metodami.

Jestliže jsou šarže prekurzorů uvolněny k použití na základě údajů z certifikátů analýz, musí být proveden důkaz prokazující spolehlivost analýzy výrobce a musí být provedena nejméně jedna zkouška totožnosti. Doporučuje se, aby zkouška materiálů prekurzoru ve výrobě proběhla před jeho použitím k výrobě radiofarmak, aby bylo zajištěno, že za specifických podmínek poskytuje prekurzor radiofarmaka v požadovaném množství a kvalitě.

### **Údaje o výrobním systému**

Všechny operace od přípravy terče až po rozplnění konečného radiofarmaka musí být zřetelně dokumentovány, včetně jejich vlivu na čistotu konečného výrobku a účinnost postupu. Kde je to možné, provedou se mezioperační kontroly a zaznamenají se výsledky každého výrobního kroku k tomu, aby se zjistilo, v kterém stupni se vyskytuje možný rozdíl od normálního výrobního postupu.

- a) Výroba radiofarmak se může provádět mechanickým nebo automatizovaným postupem tak, jak je tomu ve farmaceutickém průmyslu s tím, že se přizpůsobí specifitě vstupní radioaktivní suroviny a požadavkům radiační ochrany.
- b) Pro radiofarmaka s obsahem radionuklidu s krátkým poločasem přeměny, jako jsou pozitronové zářiče, se obvykle používá výroba ovládaná na dálku a automatizovaná radiosyntéza. Pro radionuklidy s velmi krátkým poločasem přeměny (kratším než 20 min) je provedení kontroly výrobního systému důležitým opatřením k zajištění kvality radiofarmak ještě před jejich propuštěním.
- c) Každý výrobní postup musí být validován provozní zkouškou před použitím v rutinní výrobě radiofarmak, aby bylo zajištěno, že při daných výrobních podmínkách, výrobní systém poskytne radiofarmaka v požadovaném množství a odpovídající kvalitě.
- d) Příprava lékové formy výsledného radiofarmaka k použití v nukleární medicíně všeobecně zahrnuje úpravu výchozí radioaktivity používaných radiofarmak, generátorů, kitů a prekurzorů. Všechny podmínky, které mohou mít vliv na kvalitu výrobku (tj. radiochemická čistota a sterilita) musí být zřetelně vymezeny a musí zahrnovat přiměřená měření pro radiační ochranu.

### **Zkoušky totožnosti**

**Radioaktivní přeměna.** Radioaktivita je exponenciálně úměrná přeměnové konstantě. Přeměnová konstanta je charakteristická pro každý radionuklid.

Křivka exponenciální přeměny (rozpadová křivka) je vyjádřena vztahem:

$$A_t = A_0 e^{-\lambda t},$$

v němž značí:

$A_t$  - radioaktivitu v čase  $t$ ,

$A_0$  - radioaktivitu v čase  $t = 0$ ,

$\lambda$  - přeměnovou konstantu charakteristickou pro každý radionuklid,

$e$  - základ přirozených logaritmů.

Poločas přeměny ( $T_{1/2}$ ) souvisí s přeměnovou konstantou  $\lambda$  podle vztahu:

$$T_{1/2} = \frac{\ln 2}{\lambda} \quad (\ln 2 \approx 0,693)$$

Radionuklid je identifikován hlavně svým poločasem přeměny nebo druhem a energií jeho záření, nebo zářeními, nebo obojím, jak je uvedeno v článku.

**Měření poločasu přeměny.** Poločas přeměny se měří vhodným detekčním přístrojem, jako jsou ionizační komora, Geiger-Müllerův počítač, scintilační detektor (pevný krystal nebo kapalina) nebo polovodičový detektor. Zkoušený přípravek se měří jako takový, nebo ředěný nebo sušený v tobolce po vhodném zředění. Zvolená hodnota radioaktivity, se zřetelem na experimentální podmínky, musí být dostatečně vysoká, aby umožnila detekci během několika předpokládaných poločasů přeměny, ale neměla by být tak vysoká, aby se projevil jev „ztráty impulzů“ v důsledku mrtvé doby Geiger-Müllerova počítače nebo náhodných koincidence u scintilačního detektoru.

Radioaktivní zářič se připraví tak, aby se vyloučila ztráta materiálu během manipulace. Kapalina (roztok) se plní do ampulí nebo uzavřených zkumavek. Pevná látka (případně zbytek po sušení v tobolce) se přikryje plátkem z příslušného acetátu celulosy nebo z jiného materiálu, jehož hmotnost na jednotku plochy je dostatečně malá, aby významně neoslabovala sledované záření.

Stejný zářič se měří za shodných geometrických podmínek v intervalech, obvykle odpovídajících polovině poločasu přeměny, celkově po dobu rovnou asi třem poločasům přeměny. Správná funkce přístroje se kontroluje za použití zářiče s dlouhým poločasem přeměny a je-li třeba, provede se korekce odchylek (viz odstavec Stanovení radioaktivity).

Do grafu se vynese časová závislost logaritmu počtu impulzů za jednotku času (četnosti) nebo časová závislost elektrického proudu, podle typu použitého přístroje. Vypočtený poločas přeměny by se neměl lišit o více než 5 % od poločasu přeměny udaného v Českém lékopise.

**Stanovení druhu a energie záření.** Druh a energie emitovaného záření mohou být stanoveny několika postupy způsoby zahrnujícími použití spektrometrie nebo sestavení křivky zeslabení. Pro analýzu záření beta se obvykle používá sestavení křivky zeslabení; pro stanovení totožnosti záření gama a detegovatelného rtg-záření se většinou používá spektrometrie.

*Křivka zeslabení* se vynáší pro čisté zářiče beta v případě, že není možné použít spektrometr pro záření beta nebo pro smíšené zářiče beta a gama v případě, že není možné použít spektrometr pro záření gama. Tato metoda odhadu maximální energie záření beta poskytuje pouze přibližnou hodnotu. Předpokladem správného měření je dodržení konstantních geometrických podmínek. Zářič se umístí před tenké okénko Geiger-Müllerova počítače nebo proporcionálního detektoru. Zářič je chráněn tak, jak je popsáno výše. Při měření četnosti impulzů zářiče je mezi ním a počítačem umístěvano postupně minimálně šest hliníkových fólií (stínítek) s postupně se zvyšující hmotností na jednotku plochy. S nejsilnější fólií se měří konstantní četnost impulzů. U čistých zářičů beta není četnost impulzů ovlivňována přidáním dalších fólií. Fólie se vkládají takovým způsobem, aby byly dodrženy konstantní geometrické podmínky. Vynese se závislost logaritmu četnosti impulzů na hmotnosti na jednotku plochy ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) pro každou fólii. Stejným způsobem je graf vyneseno pro referenční přípravky. Výsledek je stanoven na základě střední části křivky, která je prakticky lineární.

*Hmotnostní součinitel zeslabení* ( $\mu_m$ ) závisí na energii záření beta, na druhu a fyzikálních vlastnostech fólie, proto umožňuje stanovení totožnosti beta zářičů. Vyjadřuje se ve čtverečních centimetrech na miligram ( $\text{cm}^2/\text{mg}$ ). Vypočítá se podle vztahu:

$$\mu_m = \frac{\ln A_1 - \ln A_2}{m_2 - m_1},$$

v němž značí:

$m_1$  - hmotnost na jednotku plochy nejtenčí fólie,

$m_2$  - hmotnost na jednotku plochy nejsilnější fólie,

$m_1$  a  $m_2$  se nacházejí v lineární části křivky zeslabení,

$A_1$  - četnost impulzů odpovídající  $m_1$ ,

$A_2$  - četnost impulzů odpovídající  $m_2$ .

Takto vypočítaný hmotnostní součinitel zeslabení  $\mu_m$  se neliší o více než 10 % od součinitele zeslabení referenčního přípravku stejného radionuklidu, který byl měřen za stejných podmínek.

Dolet částic beta je dalším parametrem, který se může použít pro stanovení energie beta. Získá se z grafu popsaného výše jako hmotnost na jednotku plochy odpovídající průsečíku křivky zeslabení a vodorovné přímky pozadí.

*Kapalné scintilátory* mohou být použity k získání spektra alfa a beta zářičů (viz měření radioaktivity).

*Gama spektrometrie* se používá ke zkoušce stanovení totožnosti radionuklidů určením jejich energií a intenzity jejich záření gama a rtg-záření.

Pro spektrometrii gama a rtg-záření je výhodnější polovodičový germaniový detektor. Také se používá scintilační NaI detektor aktivovaný thalliem, ale má nižší energetické rozlišení.

Detekční systém musí být kalibrován za použití standardních zářičů, neboť detekční účinnost je funkcí energie záření gama a rtg-záření a závisí na druhu zářiče a na vzdálenosti detektoru od zářiče. Detekční účinnost může být změřena za použití kalibrovaného zářiče sledovaného radionuklidu nebo se většinou používá graf detekční účinnosti v závislosti na energii záření gama a rtg-záření, který se sestaví ze série kalibrovaných zářičů různých radionuklidů.

Spektrum záření gama a rtg-záření radionuklidu, který emituje pouze záření gama a rtg-záření, je jedinečné pro každý radionuklid a je charakterizováno energiemi a počtem fotonů určitých energií emitovaných na přeměnu z jedné energetické hladiny na druhou. Tato vlastnost se využívá ke kvalitativnímu i kvantitativnímu stanovení radionuklidů obsažených v zářiči a usnadňuje stanovení stupně radionuklidové nečistoty detekcí píků jiných radionuklidů, než které jsou očekávány.

Amplituda píků ve scintilačním nebo polovodičovém spektru zářiče klesá s jeho poločasem přeměny. Je-li v takovém zářiči přítomna radioaktivní nečistota s rozdílným poločasem přeměny, lze ji detegovat později při určení charakteristického píku nebo píků, jejichž amplitudy se snižují rozdílnou rychlostí, než je očekáváno u uvažovaného radionuklidu. Stanovení poločasu přeměny dodatečných píků opakovanými měřeními vzorku může pomoci k určení totožnosti nečistot.

*Tabulka fyzikálních vlastností radionuklidů (5.7)* uvedená v Českém lékopise shrnuje obecně uznávané fyzikální charakteristiky radionuklidů používaných přípravků, které jsou uvedeny v Českém lékopise. V tabulce jsou navíc uvedeny i fyzikální charakteristiky hlavních možných nečistot radionuklidů zmíněných v člancích.

Pravděpodobnost přeměny znamená pravděpodobnost přeměny jádra v daném energetickém stavu cestou přeměny, které se týká. Místo pravděpodobnosti se častěji užívá pojmů intenzita a relativní zastoupení.

Pravděpodobnost emise znamená pravděpodobnost, že atom radionuklidu dá vzniknout emisi částic nebo s tím spojeného záření.

Nehledě na jeden nebo jiný význam je obvykle pravděpodobnost měřena na 100 přeměn.

## Stanovení radioaktivity

Radioaktivita přípravku je vztažena k datu a, pokud je nezbytné, i k času.

Absolutní měření radioaktivity daného vzorku je možné jen v případě, že je známo přeměnové schéma radionuklidu, ale v praxi je doporučeno mnoho korekcí k dosažení správného výsledku. Z toho důvodu je obvyklé měření pomocí primárního standardního zářiče. Primární standardy pro radionuklidy s velmi krátkým poločasem přeměny, tj. pozitronové zářiče, nejsou k dispozici. Měřicí přístroje se kalibrují za použití vhodných standardů pro jednotlivé radionuklidy. Standardy se získávají z laboratoří uznaných oprávněnou autoritou. Ionizační komory a Geiger-Müllerovy počítače se používají pro měření zářičů beta a beta/gama; scintilační, polovodičové detektory nebo ionizační komory se používají pro měření zářičů gama; beta zářiče s nízkou energií vyžadují kapalně scintilační detektory. Pro detekci a měření zářičů alfa se vyžadují specializovaná zařízení a techniky. Pro přesné měření radioaktivity je nezbytné, aby standardy a vzorky byly měřeny za stejných podmínek.

Nizkoenergetické zářiče beta se měří detektory s kapalnými scintilátory. Vzorek se rozpustí v roztoku obsahujícím jednu nebo více, často dvě organické fluorescenční látky (primární a sekundární scintilátory). Část kinetické energie ionizujícího záření je převáděna na fotony viditelného záření, které jsou snímány fotonásobičem a převáděny na elektrické impulzy. Při použití detektoru s kapalným scintilátorem by měla být provedena korekce na zhášecí efekt. Přímá měření jsou provedena, kdekoli je to možné, za stejných podmínek (tj. objemy a druhy roztoků) pro zkoušený vzorek i pro standardní zářič.

Všechna měření radioaktivity musí být korigována odečtením pozadí způsobeného přirozenou radioaktivitou prostředí a rušivými signály vznikajícími v samotném zařízení.

Při měření radionuklidů o vysokých aktivitách některými přístroji je třeba korigovat výsledky na ztrátu četnosti impulzů v důsledku časového rozlišení (mrtvé doby) detekčního zařízení a připojeného elektronického zařízení. Pro detekční systém s danou mrtvou dobou  $\tau$  po každém impulzu je korekce podle vztahu:

$$N = \frac{N_{\text{Poz}}}{1 - N_{\text{Poz}} \tau}$$

v němž značí:

$N$  - skutečnou četnost impulzů za sekundu,

$N_{\text{Poz}}$  - pozorovanou četnost impulzů za sekundu,

$\tau$  - mrtvou dobu v sekundách.

U některých přístrojů je tato korekce prováděna automaticky. Korekce četnosti na mrtvou dobu se provádí dříve než korekce na pozadí.

Jestliže doba jednotlivého měření  $t_m$  ve srovnání s poločasem přeměny  $T_{1/2}$  není zanedbatelně krátká, je nutné během tohoto měření počítat s přeměnou. Po korekci daného přístroje (četnost, ionizační proud atd.) na pozadí a je-li to nezbytné také pro ztráty způsobené elektronickým vlivy, korekce na přeměnu během doby měření je dána vztahem:

$$R_{\text{kor}} = \frac{R \frac{t_m \ln 2}{T_{1/2}}}{1 - \exp\left(-\frac{t_m \ln 2}{T_{1/2}}\right)},$$

v němž značí:

$R_{\text{kor}}$  - záznam přístroje korigovaný k počátku jednotlivého měření,

$R$  - záznam přístroje před korekcí na přeměnu, ale již korigovanou na pozadí atd.

Výsledky stanovení radioaktivity vykazují odchylky, které pocházejí hlavně z náhodné povahy jaderných přeměn. Pro kompenzaci odchylek v počtu přeměn na jednotku času musí být zaznamenán dostatečný počet impulzů. Směrodatná odchylka je druhou odmocninou počtu impulzů, proto je potřeba nejméně 10 000 impulzů k získání relativní směrodatné odchylky menší než 1 % (mez spolehlivosti: 1 sigma).

Všechny údaje o obsahu radioaktivity by měly být provázeny údaji o datu, je-li to nutné, času, kdy bylo měření provedeno. Tyto údaje o radioaktivním obsahu musí být vztaženy k časovému pásmu (SEČ, GMT). Radioaktivita v jiném čase se může vypočítat z exponenciální rovnice nebo z tabulek.

Radioaktivita roztoku vyjádřená na jednotku objemu vyjadřuje radioaktivní koncentraci (objemovou radioaktivitu).

## Radionuklidová čistota

Ve většině případů radionuklidová čistota radiofarmaka a totožnost každého přítomného radionuklidu a jejich radioaktivita musí být známy. Všeobecně nejpoužívanější metodou zkoušky na radionuklidovou čistotu je gama spektrometrie. Není to úplně spolehlivá metoda, protože nečistoty emitující částice alfa a beta nejsou obvykle snadno detegovatelné a použijí-li se NaI detektory, jsou píky nečistot emitujících záření gama často překryty spektrem hlavního radionuklidu.

Jednotlivé články předpisují požadavky na radionuklidovou čistotu (např. spektrum gama se výrazně neliší od spektra referenčního přípravku) a mohou udávat limity pro určité radionuklidové nečistoty (např. kobalt-60 v kobaltu-57). Ačkoli tyto požadavky jsou nezbytné, samy o sobě nezaručují, že radionuklidová čistota radiofarmaka je vhodná pro humánní použití. Výrobce musí provádět podrobné zkoušení svých výrobků, zvláště u přípravků radionuklidů s krátkým poločasem přeměny pro nečistoty s dlouhým poločasem přeměny po vhodné době přeměny. Tímto způsobem se získávají informace o vhodnosti jednotlivého výrobního procesu a správnosti jeho zkušebních postupů. V případech, kdy dva nebo více pozitronů emitujících radionuklidů vyžadují identifikaci a/nebo rozlišení, jako např.  $^{18}\text{F}$ -nečistoty v  $^{13}\text{N}$ -přípravku, jako doplnění ke spektrometrii gama se vyžaduje stanovení poločasu přeměny.

Vzhledem k rozdílným poločasům přeměny různých radionuklidů obsažených v radiofarmakách se radionuklidová čistota mění s časem. Požadavky na radionuklidovou čistotu musí být zcela provedeny v době použitelnosti. Někdy je obtížné tyto zkoušky provést před propuštěním šarže, jestliže poločas přeměny radionuklidu v přípravku je příliš krátký. Zkouška je pak součástí kontroly jakosti výroby.

## Radiochemická čistota

Stanovení radiochemické čistoty spočívá v oddělení různých chemických látek obsahujících radionuklid a v odhadu procenta radioaktivity spojené s deklarovanou chemickou látkou. Radiochemické nečistoty mohou pocházet:

- z výroby radionuklidu,
- z následných chemických postupů,
- z neúplné preparativní separace,

- z chemických změn během uchovávání.

Požadavky na radiochemickou čistotu musí vyhovovat během celé doby použitelnosti.

V zásadě se může ke stanovení radiochemické čistoty použít jakákoliv analytická separace. Např. články pro radiofarmaka mohou zahrnovat papírovou chromatografii (2.2.26), tenkovrstvou chromatografii (2.2.27), elektroforézu (2.2.31), vylučovací kapalinovou chromatografii (2.2.30), plynovou chromatografii (2.2.28) a kapalinovou chromatografii (2.2.29). Technický popis těchto analytických metod je uveden v člancích. Navíc se musí také dodržovat předpisy o ochraně zdraví před ionizujícím zářením.

V nemocničních zařízeních se nejvíce používá tenkovrstvá a papírová chromatografie. U papírové a tenkovrstvé chromatografie se nanáší na start objem odpovídající objemu popsaném v článku tak, jak je předepsáno v obecných státech pro chromatografii. Je vhodné zkoušený přípravek neředit, ale je důležité nanést takové množství radioaktivity, při němž ještě nedochází ke ztrátě četnosti impulzů během měření radioaktivity. V případě nanášky velmi malého množství radioaktivního materiálu, může být přidán nosič, pokud je to uvedeno v jednotlivých člancích. Po vyvíjení se vrstva usuší a určí se polohy radioaktivních ploch autoradiograficky nebo měřením radioaktivity podél proužků chromatogramu za použití vhodného kolimátoru nebo nastříháním proužků a měřením jednotlivých částí chromatogramu. Polohu skvrn nebo ploch lze určit chemicky porovnáním s roztoky stejných chemických látek (neradioaktivních) vhodnou chemickou metodou. Radioaktivita se může měřit integrálně přístrojem s automatickým vyhodnocováním nebo digitálním počítačem. Poměry ploch píků jsou úměrné poměrům radioaktivních koncentrací chemických látek. Jsou-li proužky nastříhány na jednotlivé části, poměry množství změřené radioaktivity udávají poměr koncentrací radioaktivních chemických látek.

### Měrná radioaktivita

Měrná radioaktivita se obvykle počítá z radioaktivní koncentrace (radioaktivita na jednotku objemu) a z koncentrace sledované chemické látky, po ověření, že radioaktivita odpovídá pouze danému radionuklidu (radionuklidová čistota) a dané chemické látce (radiochemická čistota).

Měrná radioaktivita se mění s časem. Měrná radioaktivita se udává k referenčnímu datu, a je-li třeba i k času. Požadavky na měrnou radioaktivitu musí plně vyhovovat po celou dobu použitelnosti.

### Chemická čistota

Určení chemické čistoty, které vyžaduje stanovení obsahu jednotlivých chemických nečistot, je uvedeno v článku.

### Enantiomerická čistota

Kde je to vhodné, ověří se stereoizomerická čistota.

### Fyziologická distribuce

Pro určitá radiofarmaka je předepsána fyziologická distribuce. Rozložení vzorku radioaktivity sledované ve specifických orgánech, tkáních nebo ostatních částech těla na vhodných druzích zvířat (obvykle potkanech nebo myších) může spolehlivě indikovat očekávanou distribuci u lidí a tím vhodnost pro zamýšlené použití.

Jednotlivé články popisují podrobnosti týkající se provedení zkoušky a požadavky na fyziologickou distribuci, kterým musí radiofarmaka vyhovovat.

Fyziologická distribuce potvrzuje požadavky vhodnosti rozložení radioaktivních sloučenin v určeném cílovém orgánu nebo tkáni u lidí a limity jejich rozložení do oblastí, které nejsou cílovým orgánem nebo tkání.

Zkouška se obvykle provádí takto:

Každému ze tří zvířat se intravenózně podá zkoušený přípravek. Je-li to důležité, druh, pohlaví, rod, hmotnost a/nebo věk zvířat jsou specifikovány v článku. Zkoušená injekce je radiofarmakum určené pro humánní použití. Je-li třeba, přípravek se rekonstituuje podle předpisu výrobce. V některých případech je nezbytné před podáním přípravku zředit.

Podání se provádí normálně intravenózní cestou, použije se vena caudalis. Ve zvláštních případech se mohou použít i jiné žíly, jako jsou vena saphena, vena femoralis, vena jugularis nebo vena penile. Zvířata, u kterých je prokázáno, že

nedošlo k intravenóznímu podání (extravazace pozorovaná v průběhu podání nebo následně vyšetřením radioaktivity ve tkáni) jsou ze zkoušky vyloučena.

Bezprostředně po injekčním podání se každé zvíře umístí do zvláštní klece, kde se sbírají exkrementy a zamezuje se kontaminaci povrchu těla zvířat.

V určitém čase se po injekčním podání zvířata vhodným způsobem usmrtí a pitvají. Vhodným zařízením, jak je uvedeno v tomto článku, se změří radioaktivita vybraných orgánů a tkání. Vypočítá se fyziologická distribuce a vyjádří se jako procento radioaktivity nalezené v každém orgánu nebo tkáni. Pro tento účel, radioaktivita v orgánu je vztažena k podané radioaktivitě vypočítané z obsahu radioaktivity ve stříkačce změřené před a po injekčním podání. Pro některá radiofarmaka může být vhodné určit poměr radioaktivity ve zvážených vzorcích vybraných tkání (radioaktivita/hmotnost).

Aby přípravky vyhověly zkoušce, distribuce radioaktivity musí zcela vyhovovat nejméně u dvou ze tří zvířat.

## Sterilita

Radiofarmaka určená pro parenterální podávání se připravují podle předpisů vylučujících mikrobiální znečištění a zaručujících sterilitu. Zkouška sterility se provádí podle předpisu uvedeného v obecné stati (2.6.1). U radiofarmak vznikají určité problémy v důsledku krátkého poločasu přeměny některých radionuklidů, malých velikostí šarží a nebezpečí ozáření. Před vydáním povolení k použití určité šarže není vždy možné čekat na výsledky zkoušky sterility. Parametrické uvolňování (5.1.1) vyrobeného přípravku plně validovaným postupem je v takových případech metoda výběru. Jestliže se použije aseptický způsob výroby, zkouška na sterilitu je prováděna jako kontrola jakosti výroby.

Jestliže je velikost šarže radiofarmak limitována jedním nebo několika vzorky (např. terapeutická radiofarmaka nebo radiofarmaka s velmi krátkým poločasem přeměny), vzorkování šarže na sterilitu se nepoužívá. Jsou-li radiofarmaka sterilizována filtrací a/nebo vyráběna asepticky (5.1.1), postup validace je rozhodující.

Jestliže je poločas přeměny radionuklidu velmi krátký (tj. menší než 20 min), podání radiofarmak pacientům je obecně dáno validovaným výrobním systémem.

Z bezpečnostních důvodů (vysoká hodnota radioaktivity) nelze použít pro zkoušku sterility takové množství radiofarmak, jak je uvedeno ve zkoušce na sterilitu (2.6.1). Pro snížení limitu ozáření pracovníků se upřednostňuje metoda membránové filtrace.

Požadavky na použití protimikrobních přísad uvedené v článku *Parenteralia* nejsou závazné pro radiofarmaka ve vícedávkových obalech, pokud to není uvedeno v článku.

## Bakteriální endotoxiny – pyrogenní látky

Pro určitá radiofarmaka je zkouška na pyrogenní látky předepsána. Zkouška se provádí v souladu s obecnou statí (2.6.14) při dodržení nezbytných předpisů radiační ochrany pracovníků provádějících zkoušku. Limit pro bakteriální endotoxiny je uveden v jednotlivém článku.

Někdy je obtížné provést tyto zkoušky před propuštěním šarže k použití, protože poločas radio-nuklidu v přípravku je krátký. Zkouška je pak součástí kontroly jakosti výroby.

## Uchovávání

Ve vzduchotěsných obalech na vhodně stíněném místě, aby pracovníci byly chráněni před primárním nebo sekundárním zářením, a které vyhovuje národním i mezinárodním předpisům týkajících se uchovávání radioaktivních látek. Následkem ozařování mohou obaly a roztoky během uchovávání ztmavnout, toto ztmavnutí však nutně neznamená zhoršení kvality přípravků.

Radiofarmaka jsou určena k rychlé spotřebě a konec doby použitelnosti musí být zřetelně uveden.

## Označování

Označování radiofarmak je v souladu s národními a evropskými předpisy.

V označení na obalu se uvede:

- název přípravku a/nebo jeho odkaz,
- jméno výrobce,

- identifikační číslo,
- pro tekuté a plynné přípravky: celková radioaktivita v obalu nebo koncentrace radioaktivity v mililitru vztažená k referenčnímu datu, a je-li třeba i k času, a objem tekutiny v obalu,
- pro tuhé přípravky, jako jsou lyofilizáty: celková radioaktivita vztažená k referenčnímu datu a je-li třeba i k času. Po rekonstituci vhodným roztokem je přípravek považován za tekutý,
- pro tobolky: radioaktivita každé tobolky vztažená k referenčnímu datu, a je-li třeba i k času, a počet tobolek v obalu.

Označení může být v určitých případech změněno, např. u radiofarmak obsahujících radionuklidy s krátkým poločasem přeměny.

Na vnějším obalu se dodatečně uvede:

- cesta podání,
- doba použitelnosti,
- název a koncentrace přidaných protimikrobních přísad,
- kde je to vhodné, zvláštní podmínky uchovávání.

“

204. V příloze části 6 Speciální část, kapitola 6.2 Léčivé přípravky, kapitola 6.2.3 Radiofarmaceutické přípravky, se za článek Stanni pyrophosphatis et technetii [99mTc] solutio iniectionis doplňuje článek Strontii (89Sr) chloridi solutio iniectionis, který zní:

”

## Strontii (<sup>89</sup>Sr) chloridi solutio iniectionis

Injekce s chloridem stronnatým (<sup>89</sup>Sr)



2000

Je to sterilní roztok obsahující chlorid stronnatý [<sup>89</sup>Sr]. Stroncium-89 je radioaktivní izotop stroncia a může být získán ozařováním stroncia obohaceného stronciem-88 neutrony. Přípravek obsahuje 90,0 % až 110,0 % deklarované radioaktivity stroncia-89 k referenčnímu datu uvedenému v označení. Nejvýše 0,6 % celkové radioaktivity připadá na jiné radionuklidy než je stroncium-89. Měrná radioaktivita není menší než 1,85 MBq stroncia-89 v miligramu stroncia. Injekce obsahuje 6,0 mg/ml až 12,5 mg/ml stroncia.

### Vlastnosti

Čirý bezbarvý roztok.

Stroncium-89 má poločas přeměny 50,5 dne a emituje záření beta o maximální energii 1,492 MeV.

### Zkoušky totožnosti

- Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Spektrum se významně neliší od spektra referenčního roztoku stroncia-89. Proveďte se přímé porovnání spekter nebo se použije zařízení kalibrované pomocí referenčního roztoku stroncia-89. Referenční roztok stroncia se získává od národní laboratoře. Detegované fotony gama mají energii 0,909 MeV a vznikají z krátkodobého dceřinného produktu stroncia-89, tj. z yttria-89m (0,01 % přeměn), které je v rovnováze se stronciem-89.
- K 0,1 ml se přidá 1 ml čerstvě připraveného roztoku *natriumrhodisonatu R* (1 g/l), promíchá se a nechá se stát 1 min; vzniká červenohnědá sraženina.
- K 1 ml *dusičnanu stříbrného RS2* se přidá 50 µl zkoušeného přípravku; vzniká bílá sraženina.

## Zkoušky na čistotu

**Hodnota pH** (2.2.3). 4,0 až 7,5.

### Radionuklidová čistota.

**a. Gama zářiče.** Vhodným přístrojem se zaznamená spektrum záření gama a rtg-záření způsobem uvedeným v článku *Radiofarmaca*. Nejvýše 0,4 % celkové radioaktivity připadá na jiné radionuklidy než je yttrium-89m.

**b. Beta zářiče.** 100 µl se odpaří do sucha pod zdrojem sálavého tepla. Zbytek se rozpustí ve 2 ml *kyseliny bromovodíkové 47% R*, odpaří se pod zdrojem sálavého tepla do sucha a zbytek se rozpustí ve 2 ml *kyseliny bromovodíkové zředěné RS1*. Roztok se nanese na kolonu o průměru 5 mm až 6 mm naplněnou asi 2 ml *katexu R1* (100 µm až 250 µm) předem promytého *kyselinou bromovodíkovou zředěnou RS1*. Kolona se promývá stejným rozpouštědlem do nádoby obsahující 50 µl roztoku *síranu sodného bezvodého R* (15 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* do získání 10 ml eluátu.

Ke vhodnému objemu scintilačního roztoku v měřicí lahvičce se přidá 1 ml *vody R*, 0,1 ml roztoku *síranu sodného bezvodého R* (15 g/l) v *kyselině chlorovodíkové 1 mol/l RS* a 100 µl eluátu. Protřepe se; vznikne čirý roztok. Vhodným detekčním přístrojem se určí radioaktivita síry-35 a fosforu-32 ve vzorku, jak je popsáno v článku *Radiofarmaca*.

S ohledem na účinnost separace, účinnost měření a radioaktivní přeměnu se stanoví radioaktivní koncentrace síry-35 a fosforu-32 ve vzorku jako procento celkových nečistot beta zářičů ve zkoušeném přípravku. Nejvýše 0,2 % celkové radioaktivity zkoušeného přípravku připadá na součet radioaktivit síry-35 a fosforu-32.

*Poznámka: Následující zkoušky Hliník, Železo a Olovo se mohou provést současně se zkouškou Stroncium. Pokud ne, porovnávací roztok se připraví tak, aby obsahoval přibližně stejnou koncentraci stroncia jako zkoušený roztok.*

**Hliník.** Nejvýše 2 µg/ml. Stanoví se atomovou emisní spektrometrií (metoda plazmy nebo oblouku) (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 0,2 ml se zředí vhodným objemem *kyseliny dusičné zředěné RS*.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *hliníku (10 µg Al/ml)* zředěného podle potřeby *kyselinou dusičnou zředěnou RS*.

**Železo.** Nejvýše 5 µg/ml. Stanoví se atomovou emisní spektrometrií (metoda plazmy nebo oblouku) (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 0,2 ml se zředí vhodným objemem *kyseliny dusičné zředěné RS*.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *železa (20 µg Fe/ml)* zředěného podle potřeby *kyselinou dusičnou zředěnou RS*.

**Olovo.** Nejvýše 5 µg/ml. Stanoví se atomovou emisní spektrometrií (metoda plazmy nebo oblouku) (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 0,2 ml se zředí vhodným objemem *kyseliny dusičné zředěné RS*.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *olova (10 µg Pb/ml)* zředěného podle potřeby *kyselinou dusičnou zředěnou RS*.

**Stroncium.** 6,0 µg/ml až 12,5 µg/ml. Stanoví se atomovou emisní spektrometrií (2.2.22, *Metoda I*).

*Zkoušený roztok.* 0,2 ml se zředí vhodným objemem *kyseliny dusičné zředěné RS*.

*Porovnávací roztoky.* Připraví se za použití základního roztoku *stroncia (10 mg Sr/ml)* zředěním podle potřeby *kyselinou dusičnou zředěnou RS*.

**Sterilita.** Vyhovuje zkoušce na sterilitu uvedené v článku *Radiofarmaca*.

## Stanovení radioaktivity

Změří se radioaktivita postupem popsaným v článku *Radiofarmaca* a porovná se za použití vhodného zařízení s referenčním roztokem stroncia-89 nebo se změří na přístroji kalibrovaném pomocí tohoto roztoku.

## Uchovávání

Viz článek *Radiofarmaca*.

## Označování

Viz článek *Radiofarmaca*.



205. V příloze se za část 6 doplňuje část 7, která zní:

”

## Speciální dodatky

Uvedená čísla stránek se týkají Českého lékopisu 1997 (Českého lékopisu 1997 - Doplněk 1999) vydaného jako příloha 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 ve znění vyhlášky č. 296/1999 Sb.

Změny byly zpracovány podle článků European Pharmacopoeia 3<sup>rd</sup> Edition, Supplement 2000 označených „corrected 2000“, podle dalších změn evropských lékopisných textů ohlášených Evropskou lékopisnou komisí a podle připomínek k současně závazným českým lékopisným textům. Změny převzaté z Ph. Eur. 3, Suppl. 2000 jsou značeny písmenem (E) za číslem stránky.

Do změn označených písmenem (E) bylo zařazeno rovněž rychlé zezávaznění jednotlivých článků, u nichž v souvislosti se zezávazněním stati (5.2.8) *Producta cum possibili transmissione vectorum encephalopathiarum spongiformium animalium* byl změněn odstavec Výroba, viz Pharmeuropa 12, 1 (48) 2000 s oznámením, že v souladu s rozhodnutím AP-CSP(99)4 výboru pro veřejné zdraví Rady Evropy je závaznost těchto statí a článků stanovena od 1. 1. 2000 (v textu Změn označeny<sup>1)</sup>).

str. 13 (E)

Značky a symboly

Odstavec Sbírky mikroorganismů

současný text:

ATCC

American Type Culture Collection

12301 Parklawn Drive  
Rockville, MD 20852, USA

C.I.P.

Collection de l' Institut Pasteur

B.P.52, 25 de Bactéries Rue du Dr Roux  
75724 Paris Cedex 15, France

I.P.

Collection Nationale de Culture de Microorganismes (C.N.C.M.)

Institut Pasteur  
25 Rue du Dr Roux  
75724 Paris Cedex 15, France

nový text:

ATCC

American Type Culture Collection

10801 University Boulevard  
Manassas, Virginia 20110-2209, USA

\*C.I.P.

Collection de Bactéries de l'Institut Pasteur

B.P.52, 25 Rue du Docteur Roux  
75724 Paris Cedex 15, France

IMI

International Mycological Institute

Bakenham Lane  
Surrey TW20, 9TY, Great Britain

\* I.P. Collection Nationale de Culture de Microorganismes (C.N.C.M.)

Institut Pasteur

25 Rue du Docteur Roux  
75724 Paris Cedex 15, France

\*Změna byla zveřejněna již v ČL 97 - Dopl. 1999, ale pro lepší přehlednost se uvádí znovu.

str. 30 (E)

2.1.16 Detekční trubičky pro plyny

Odstavec *Trubička pro detekci vodních par*, 1. řádek zdola:

současný text: ... 60 ml/m<sup>3</sup> (popř. méně) s relativní směrodatnou odchylkou ...

nový text: ... 67 ml/m<sup>3</sup> (popř. méně) s relativní směrodatnou odchylkou ...

- str. 98 2.4.8 Těžké kovy  
Odstavec **Metoda D**, 6. řádek:  
současný text: ... Přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu R* ...  
nový text: ...Přidá se 0,1 ml *fenolftaleinu RS* ...
- str. 114 (E) 2.4.25 Zbytkový ethylenoxid a dioxan  
3. a 4. řádek zdola:  
současný text: ... a poměr signálu k šumu pro ethylenoxid je nejméně 5.  
nový text: ... a poměr signálu k šumu pro dioxan je nejméně 5.
- str. 131 (E) 2.5.26 Oxid dusnatý a oxid dusičitý v medicínálních plynech  
Odstavec **Přístroj**, 4. a 5. řádek pod obrázkem:  
současný text: ... a oxidu dusičitého; obsahuje nerezovou, skleněnou nebo křemennou pícku udržovanou na teplotě nepřevyšující 550 °C, ...  
nový text: ... a oxidu dusičitého. Účinnost konvertoru má být před použitím ověřena, ...
- str. 786 (E) Aciclovirum  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,150 g se rozpustí v 60 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se ...  
nový text: 0,150 g se rozpustí v 60 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se ...
- str. 860 (E) Aer medicalis  
Odstavec **Olej**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 0,1 mg/m<sup>3</sup>; stanoví se za použití měřicího systému ...  
nový text: Nejvýše 0,1 mg/m<sup>3</sup>, za atmosférického tlaku a při 0 °C; stanoví se za použití měřicího systému ...
- str. 861 (E)  
Odstavec **Voda**, 2. řádek zdola:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 863 (E)  
Odstavec **Vodní pára**, 2. řádek shora:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 888 (E) Algeldratum  
Odstavec **Roztok S**, 1. a 2. řádek:  
současný text: 1,25 g se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 7,5 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 50 ml.  
nový text: 2,5 g se rozpustí zahřátím na vodní lázni v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové R* a zředí se *vodou destilovanou R* na 100 ml.  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. a 2. řádek:  
současný text: 10 ml roztoku S se neutralizuje *amoniakem 26% R* za použití *žlutí metanilové RS* jako vnějšího indikátoru. V případě potřeby se roztok zfiltruje a zředí se *vodou R* na 15 ml.  
nový text: 20 ml roztoku S se neutralizuje *amoniakem 26% R* za použití *žlutí metanilové RS* jako vnějšího indikátoru. V případě potřeby se roztok zfiltruje a zředí se *vodou R* na 30 ml.
- str. 889 (E)  
Odstavec **Mikrobiální znečištění**, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... stanoví se plotnovou metodou. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost *Enterobacteria*...  
nový text: ... stanoví se počítáním na pevných půdách. Vyhovuje zkoušce na nepřítomnost enterobakterií ...

- str. 909 (E) **Aluminii sulfas**  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:  
současný text: 6 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. ...  
nový text: 8 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. ...
- str. 914 **Amiloridi hydrochloridum**  
Odstavec C, 2. řádek:  
současný text: ... 1 ml *bromové vody RS* ...  
nový text: ... 1 ml *bromové vody R* ...  
Odstavec **Příbuzné látky, Zkoušený roztok**:  
současný text: 20 g se rozpustí ...  
nový text: 20 mg se rozpustí ...  
Odstavec **Příbuzné látky, Porovnávací roztok (c)**:  
současný text: ...-6-chlorpyrin-...  
nový text: ... -6-chlorpyrazin- ...
- str. 952 (E) **Ampicillinum natricum**  
Odstavec **Příbuzné látky**, poslední řádek:  
současný text: ... roztoku (d) (4,5 %). Nepřihlíží se k píku rozpouštědla.  
nový text: ... roztoku (d) (4,5 %); plocha žádného píku, kromě hlavního píku a píku odpovídajícího dimeru ampicilinu, není větší než dvojnásobek plochy hlavního píku na chromatogramu porovnávacího roztoku (d) (2 %). Nepřihlíží se k píku kontrolního roztoku získaného při slepé zkoušce.
- str. 1024 (E) **Barii sulfas**  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:  
současný text: 7,5 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. ...  
nový text: 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 20 ml. ...
- str. 1060 (E) **Betadexum**  
Odstavec **Roztok S**, 1. řádek:  
současný text: 1,000 g se rozpustí zahřátím ve *vodě R*, ...  
nový text: 1,000 g se rozpustí zahřátím ve *vodě prosté oxidu uhličitého R*, ...
- str. 1072 (E) **Betamethasoni natrii phosphas**  
7. řádek:  
současný text: ... *kyseliny octové R, vody R* ...  
nový text: ... *kyseliny octové ledové R, vody R* ...
- str. 1158 **Calcii phosphas**  
Odstavec **Fluoridy**, 7 řádek:  
současný text: ... hodnota pH na 5,2 *amoniakem R* ....  
nový text: ... hodnota pH na 5,2 *amoniakem 17,5% RS* ...
- str. 1190 (E) **Carbonei dioxidum**  
Odstavec **Voda**, poslední řádek zdola:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...  
Odstavec **Vodní pára**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 1223 **Cefazolinum natricum**  
Odstavec **Zkoušky totožnosti B.**, 3. řádek:  
současný text: ... roztok je hnědočervený ...  
nový text: ... roztok je žlutý ...

str. 1270 (E)

Chlorali hydras

Odstavec **Vlastnosti**, 1. a 2. řádek:

současný text: ... snadno rozpustný v lihu 96% a v etheru.

nový text: ...snadno rozpustný v lihu 96%.

str. 1271 (E)

Odstavec **Roztok S**:

současný text: 2,5 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 25 ml.

nový text: 3,0 g se rozpustí ve vodě prosté oxidu uhličitého R a zředí se jí na 30 ml.

Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:

současný text: 7,5 ml roztoku S se zředí vodou R na 15 ml. ...

nový text: 10 ml roztoku S se zředí vodou R na 20 ml. ...

str. 1283 (E)

Chlordiazepoxidi hydrochloridum

6. řádek zdola:

současný text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %) ...

nový text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %) ...

1. řádek zdola:

současný text: ... (0,5 %) ...

nový text: ... (0,1 %) ...

str. 1285 (E)

Chlordiazepoxidum

9. řádek zdola:

současný text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,5 %) ...

nový text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (c) (0,1 %) ...

4. řádek zdola:

současný text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,25 %) ...

nový text: ... chromatogramu porovnávacího roztoku (a) (0,05 %) ...

str. 1318 (E)

Chlortetracyclini hydrochloridum

9. a 10. řádek zdola:

současný text: - mobilní fáze, která je směsí 50 ml kyseliny chloristé RS, 450 ml dimethylsulfoxidu R a 500 ml vody R, s průtokovou rychlostí ...

nový text: - mobilní fáze, která se připraví takto: do 500 ml vody R se přidá 50 ml kyseliny chloristé RS a za třepání se přidá 450 ml dimethylsulfoxidu R; průtoková rychlost je 1 ml/min,

str. 1336 (E)

Cinnarizinum

Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:

současný text: 0,150 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a 2-butanonu R,

...

nový text: 0,150 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů kyseliny octové bezvodé R a 2-butanonu R, ...

str. 1477 (E)

Dexamethasoni natrii phosphas

4. řádek:

současný text: ... kyseliny octové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60)...

nový text: ... kyseliny octové ledové R, vody R a 1-butanolu R (20 + 20 + 60)...

str. 1539 (E)

Dimethylis sulfoxidum

18. řádek:

současný text: ...chromatografii R1 (125 µm až 136 µm) ...

nový text: ...chromatografii R1 (125 µm až 180 µm) ...

- str. 1682 (E) **Fentanyli dihydrogenocitras**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. a 2. řádek:  
současný text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7). ...  
nový text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *2-butanonu R* (1 + 7). ...
- str. 1686 (E) **Ferrosi gluconas**  
Odstavec **Zkoušky totožnosti**, 1. řádek:  
současný text: **A.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu G R*.  
nový text: **A.** Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu G pro TLC R*.
- str. 1687 (E)  
Odstavec **Baryum**, 3. řádek:  
Vypouští se věta: Roztoky se pozorují proti světlu.  
Odstavec **Těžké kovy**, 2. až 4. řádek zdola:  
současný text: ... 7,5 ml tohoto roztoku se neutralizuje za použití *papíru lakmusového červeného R* a *amoniaku zředěného RS1* a zředí se *vodou R* na 15 ml. ...  
nový text: ... 10 ml tohoto roztoku se neutralizuje za použití *papíru lakmusového červeného R* a *amoniaku zředěného RS1* a zředí se *vodou R* na 20 ml. ...  
Odstavec **Mikrobiální znečištění**, 1. a 2. řádek:  
současný text: Nejvýše 10<sup>3</sup> živých mikroorganismů v 1 gramu. Stanoví se plotnovou metodou.  
nový text: Nejvýše 10<sup>3</sup> živých aerobních mikroorganismů v 1 gramu. Stanoví se počítáním na pevných půdách.
- str. 1689 (E) **Ferrosi sulfas**  
Odstavec **Těžké kovy**, 2. a 3. řádek zdola:  
současný text: ... 7,5 ml roztoku (a) se neutralizuje za použití *papíru lakmusového R* a *amoniaku zředěného RS1* a zředí se *vodou R* na 15 ml. ...  
nový text: ... 10 ml roztoku (a) se neutralizuje za použití *papíru lakmusového R* a *amoniaku zředěného RS1* a zředí se *vodou R* na 20 ml. ...
- str. 1803 (E) **Haloperidolum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledo-vé R* ...  
nový text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 1835 až 1836 (E) **Hyaluronidasum<sup>1)</sup>**  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.  
Zvířata, ze kterých se hyaluronidasa získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.
- str. 2038 **Lini oleum**  
Odstavec **Nevysychavé oleje**:  
Celý Odstavec se vypouští.
- str. 2059 (E) **Lupuli flos**  
Odstavec **Porovnávací roztok**, 1. řádek:  
současný text: 1,0 mg *červeně sudanové R*, ...  
nový text: 1,0 mg *sudanu I R*, ...

11. a 12. řádek shora:

současný text: ... a nad ní skvrna, odpovídající *červení sudanové R*, ...

nový text: ... a nad ní skvrna, odpovídající *sudanu I R*, ...

řádek 16. shora:

současný text: ... odpovídající skvrně *červeně sudanové R*, ...

nový text: ... odpovídající skvrně *sudanu I R*, ...

str. 2086 (E)

**Magnesii hydroxidum**

Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:

současný text: 1,0 g se rozpustí v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, ...

nový text: 1,3 g se rozpustí v 15 ml *kyseliny chlorovodíkové RS*, ...

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

současný text: ... a zbytek se rozpustí v 15 ml *vody R*. ...

nový text: ... a zbytek se rozpustí ve 20 ml *vody R*. ...

str. 2098 (E)

**Magnesii trisilicas**

Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:

současný text: 7,5 ml roztoku *S* se zneutralizuje ...

nový text: 10 ml roztoku *S* se zneutralizuje ...

Odstavec **Těžké kovy**, 2. řádek:

současný text: ... zředí se *vodou R* na 15 ml, ...

nový text: ... zředí se *vodou R* na 20 ml, ...

str. 2242 (E)

**Natrii chloridum**

5. řádek zdola:

současný text: Měří se emisní intenzita při 768 nm.

nový text: Měří se emisní intenzita při 766,5 nm.

str. 2261 (E)

**Natrii lactatis solutio**

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

současný text: ... se rozpustí ve směsi 10 ml *kyseliny octové ledové R* ...

nový text: ... se rozpustí ve směsi 10 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...

str. 2268 (E)

**Natrii salicylas**

Odstavec **Vlastnosti**, 2. řádek:

současný text: ... mírně rozpustný v lihu 96% a prakticky nerozpustný v etheru.

nový text: ... mírně rozpustný v lihu 96%.

str. 2269 (E)

Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:

současný text: 1,5 g se rozpustí v 15 ml směsi ....

nový text: 1,6 g se rozpustí v 16 ml směsi ....

str. 2290

**Niclosamidum**

Odstavec **Stanovení obsahu**, 4. řádek:

současný text: ... odpovídá 32,71 g ...

nový text: ... odpovídá 32,71 mg ...

str. 2292

**Niclosamidum monohydricum**

Odstavec **Stanovení obsahu**, 4. řádek:

současný text: ... odpovídá 32,71 g ...

nový text: ... odpovídá 32,71 mg ...

- str. 2292 (E) Nicotinamidum  
Odstavec **Vlastnosti**, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... bezbarvé krystaly, slabého charakteristického pachu. Je snadno rozpustný ve vodě  
a v ethanolu, těžce rozpustný v etheru.  
nový text: ... bezbarvé krystaly. Je snadno rozpustný ve vodě a v ethanolu.
- str. 2293 (E)  
Odstavec **Příbuzné látky**, 1. a 2. řádek:  
současný text: Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.  
nový text: **A.** Proveďte se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:  
současný text: 10 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 15 ml. ...  
nový text: 12 ml roztoku S se zředí *vodou R* na 18 ml. ...
- str. 2302 (E) Nitrogenii oxidum  
Odstavec **Voda**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 2303 (E)  
Odstavec **Vodní pára**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 2304 (E) Nitrogenum  
Odstavec **Voda**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 2305 (E)  
Odstavec **Vodní pára**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 2322 (E) Nystatinum  
Odstavec **Výroba**, 1. řádek:  
současný text: ... Výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, ...  
nový text: ... Jestliže je látka určena pro perorální podání, výrobní postup se validuje, aby se prokázalo, ...
- str. 2352 (E) Oxygenum  
Odstavec **Voda**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...  
Odstavec **Vodní pára**, 1. řádek:  
současný text: Nejvýše 60 ml/m<sup>3</sup>; ...  
nový text: Nejvýše 67 ml/m<sup>3</sup>; ...
- str. 2376 (E) Pancreatis pulvis  
Odstavec **Emulze olivového oleje**, 2. řádek:  
současný text: ... 80 ml *trometamolu RS1*, ...  
nový text: ... 80 ml *trometamolu RS*, ...

- str. 2391 (E) Penicillaminum  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,1000 g se rozpustí v 30 ml *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,1000 g se rozpustí ve 30 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 2396 (E) Pentobarbitalum natricum  
Odstavec **Vlastnosti**, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... Je velmi snadno rozpustná ve vodě, prakticky nerozpustná v etheru.  
nový text: ... Je velmi snadno rozpustná ve vodě.  
Odstavec **B.**, 1. řádek:  
současný text: Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.  
nový text: Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.
- str. 2397 (E)  
Odstavec **Příbuzné látky**, 1. a 2. řádek:  
současný text: Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití vrstvy *silikagelu GF<sub>254</sub> R*.  
nový text: Provede se tenkovrstvá chromatografie (2.2.27) za použití *desky s vrstvou silikagelu GF<sub>254</sub> pro TLC R*.  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... K 7,5 ml tohoto roztoku S se přidá 2,5 ml *kyseliny octové zředěné RS* a 2,5 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5* a zfiltruje se. Filtrát se zředí *vodou R* na 15 ml.  
nový text: ... K 9 ml tohoto roztoku S se přidají 3 ml *kyseliny octové zředěné RS* a 2,5 ml *tlumivého roztoku o pH 3,5* a zfiltruje se. Filtrát se zředí *vodou R* na 18 ml.
- str. 2400 (E) Pepsini pulvis  
Odstavec **Zkoušky totožnosti**, 1. a 2. řádek:  
současný text: 30 mg *modře fibrinové R* se suspenduje ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2*. 1 ml této suspenze se umístí na filtrační papír, který se pak promývá ...  
nový text: 30 mg *vláknité modře fibrinové R* se rozmělní ve třecí misce a suspenduje se ve 20 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS2*. Tato suspenze se filtruje přes filtrační papír, který se pak promývá ...
- str. 2502 (E) Prednisoloni natrii phosphas  
Odstavec **C.**, 9. řádek:  
současný text: ... *kyseliny octové RS*, *vody R* a *1-butanolu R* ...  
nový text: ... *kyseliny octové ledové RS*, *vody R* a *1-butanolu R* ...
- str. 2550 Propylphenazonum  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 3. řádek:  
současný text: ... odpovídá 23,03 g ...  
nový text: ... odpovídá 23,02 mg ...
- str. 2626 (E) Selenii disulfidum  
Odstavec **Zkoušky totožnosti B.**, 1. řádek:  
současný text: ... zfiltruje přes *křemelinu H R*.  
nový text: ... zfiltruje přes *křemelinu G R*.
- str. 2646 (E) Somatostatinum  
Odstavec **Aminokyseliny**, 1. řádek:  
současný text: ... za použití *norleucinu R* jako vnitřního ...  
nový text: ... za použití *DL-norleucinu R* jako vnitřního ...



str. 2718 (E)

Sulpiridum

4. řádek zdola:

současný text: - kolony délky 0,15 m a vnitřního průměru ...

nový text: - kolony délky 0,25 m a vnitřního průměru ...

Odstavec 1. řádek zdola:

současný text: ... obsahuje *dihydrogenfosforečnan draselný R (68 g/l), oktansulfonan sodný R (0,76 g/l)* a ...nový text: ... obsahuje *dihydrogenfosforečnan draselný R (6,8 g/l), oktansulfonan sodný R (1 g/l)* a ...

str. 2719 (E)

6. řádek:

současný text: ... Nastříkne se 20 µl porovnávacího ...

nový text: ... Nastříkne se 10 µl porovnávacího ...

8. řádek:

současný text: Nastříkne se odděleně 20 µl zkoušeného roztoku a 20 µl porovnávacího roztoku ...

nový text: Nastříkne se odděleně 10 µl zkoušeného roztoku a 10 µl porovnávacího roztoku ...

Odstavec **Chloridy**. 1. a 2. řádek:současný text: K 1,0 g se přidá 1,7 ml *kyseliny octové zředěné RS* a zředí se *vodou R* na 20 ml. K 10 ml tohoto roztoku ...nový text: 1,0 g se třepe s 20 ml *vody R* a zfiltruje přes filtr ze slinutého skla (40). K 10 ml tohoto roztoku ...

str. 2757 (E)

Tetracyclinum

Odstavec **Příbuzné látky**. 4. a 5. řádek:

současný text: ... odpovídajícího 4-epitetracyklinu nebo anhydrotetracyklinu nebo 4-epianhydrotetracyklinu není ...

nový text: ... odpovídajícího 4-epitetracyklinu nebo 4-epianhydrotetracyklinu nebo anhydrotetracyklinu není ...

str. 2879

Vaselinum album

Odstavec. **Vzhled**, 2. řádek:současný text: ... a *kyseliny chlorovodíkové R 15% (V/V)* ...nový text: ... a *kyseliny chlorovodíkové 1% RS* ...

str. 2880

Odstavec **Cizí, snadno zuhelnitelné látky**, 2. řádek:

současný text: a zahřívá se ve vodní lázni tak, ...

nový text: a zahřívá se ve vodní lázni při 70 °C tak, ...

str. 2881

Vaselinum flavum

Odstavec **Cizí, snadno zuhelnitelné látky**, 2. řádek:

současný text: a zahřívá se ve vodní lázni tak, ...

nový text: a zahřívá se ve vodní lázni při 70 °C tak, ...

str. 2925 (E)

Auricularia

Odstavec **Ototampona**, 1. a 2. řádek:současný text: **Ototampona medicata**

Ušní tampony s léčivý

nový text: **Ototampona**

Ušní tampony

str. 3078 (E)

**Soluciones ad haemodialysim,  
Aqua ad concentratas solutiones diluendas haemodialysi**Odstavec **Těžké kovy**, 1. a 2. řádek:

současný text: 150 ml se zahřívá v odpařovací misce na vodní lázni, až se objem zmenší na 15 ml. ...

nový text: 200 ml se zahřívá v odpařovací misce na vodní lázni, až se objem zmenší na 20 ml.

str. 3079 (E)

Odstavec **Mikrobiální znečištění**, 1. a 2. řádek:

současný text: ... Stanoví se plotnovou metodou.

nový text: ... Stanoví se počítáním na pevných půdách.

str. 3150

**Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis adsorbatum**Odstavec **Antigenní čistota**:

současný text: Nejméně 1500 Lf ...

nový text: Nejméně 1000 Lf ....

str. 3250 (E)

**Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum**Odstavec **Výroba**. Před 1. řádek se doplňuje věta:

Výroba vakcín je založena na systému jednotné inokulace viru, a je-li virus pomnožován v buněčné linii, používá se systém buněčné banky.

str. 3251 (E)

Odstavec **Inaktivace**, 4. a 5. řádek:

současný text: ... Subkultury po 7 dnech a po 14 dnech se zkoušejí na přítomnost rabického viru imunofluorescenční zkouškou. ...

nový text: ... Po 7 dnech se udělá pasáž. Kultury se ponechají ještě dalších 14 dní a potom se zkoušejí na přítomnost rabického viru imunofluorescenční zkouškou.

str. 3252 (E)

Odstavec **Inaktivace**, 2. a 3. řádek:

současný text: ... Subkultury se po 7 dnech a po 14 dnech zkoušejí na přítomnost rabického viru imunofluorescenční zkouškou.

nový text: Po 7 dnech se udělá pasáž. Kultury se ponechají ještě dalších 14 dní a potom se zkoušejí na přítomnost rabického viru imunofluorescenční zkouškou.

str. 3269

**Vaccinum tuberculosis (BCG) cryodesiccatum**Odstavec **Teplotní stabilita**, 2. a 3. řádek:

současný text: ... Rozdíl počtu živých zárodků v zahřáté vakcíně oproti nezahřáté je nejvýše 20 %.

nový text: ... Počet živých zárodků v zahřáté vakcíně je nejméně 20 % počtu zárodků v nezahřáté vakcíně.

str. 4907 (E)

**2.4.24 Totožnost a kontrola zbytkových rozpouštědel**

1. řádek:

současný text: ... v obecné kapitole 5.4.

nový text: ... ve stati 5.4. Zbytková rozpouštědla.

Odstavec **Roztok rozpouštědla (b)**, 3. řádek:

současný text: ... uvedené v tabulce 2.

nový text: ... uvedené v tabulce 2 (viz stať 5.4. Zbytková rozpouštědla).

Odstavec **Roztok rozpouštědla (c)**, 3. řádek:

současný text: ... uvedené v tabulce 1 nebo 2.

nový text: ... uvedené v tabulce 1 nebo 2 (viz stať 5.4. Zbytková rozpouštědla).

str. 4912 (E)

5. řádek:

současný text: ... opakovaných nástřiků porovnávacího roztoku (a) ...

nový text: ... opakovaných nástřiků porovnávacího roztoku (c) ...

str. 4947 (E)

8. řádek:

současný text: - hodnotu lambda ( $\lambda$ ) použitého lyzátu. Lambda je ...

nový text: - hodnotu lambda ( $\lambda$ ) použitého lyzátu.  $\lambda$  je ...

## 2.6.14 Bakteriální endotoxiny

str. 4949 (E)

7. řádek zdola:

současný text: ... tedy obsahuje 1 m.j. endotoxinu v mililitru. ...

nový text: ... tedy obsahuje  $\lambda$  m.j. endotoxinu v mililitru. ...

str. 4951 (E)

Odstavec Stanovení endotoxinů ve zkoušeném přípravku, c), 1. a 2. řádek:

současný text: tři logaritmicky stejně vzdálené koncentrace referenčního endotoxinu BRP pokrývající lineární část regresní křivky. Každé ředění se připraví dvakrát.

nový text: dvojice samostatně připravených roztoků tří logaritmicky stejně vzdálených koncentrací referenčního endotoxinu BRP pokrývající lineární část regresní křivky.

str. 4967 (E)

## 2.7.2 Mikrobiologické stanovení účinnosti antibiotik

Před název tabulky 2.7.2-1 se doplní:

Následující část se uvádí pro informaci a jako návod, netvoří závaznou součást obecné metody.

str. 4971 (E)

Rifamycinum natricum. 5. sloupec:

současný text: *Micrococcus flavus*

nový text: *Micrococcus luteus*

str. 4975 (E)

Neomycini sulfas 2. sloupec:

současný text: *Neomycini sulfas CRL*

nový text: *Neomycini sulfas pro mikrobiologické stanovení CRL*

str. 4976 (E)

1. řádek, pod tabulkou: Vypouští se text:

Následující část se uvádí pro informaci a jako návod, netvoří závaznou součást obecné metody.

str. 4978 (E)

1. až 3. řádek:

současný text: 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.

nový text: 2) amfotericinu B, pro který se připraví tlumivý roztok fosforečnanový o pH 10,5 (0,2 mol/l) takto: 35 g *hydrogenfosforečnanu draselného R* se rozpustí ve *vodě R*, přidá se 20 ml *hydroxidu sodného 1 mol/l RS* a zředí se *vodou R* na 1000,0 ml.

str. 4979 (E)

Odstavec *Půda F*, 4. řádek:

současný text:

chlorid sodný 30,0 g

nový text:

chlorid sodný 10,0 g

str. 4997 (E)

**2.9.23 Pyknometrické stanovení hustoty tuhých látek**Odstavec **Vyjádření výsledků**, 1. řádek a vzorce:současný text: Objem vzorku ( $V_s$ ) je dán jedním z následujících dvou výrazů (které jsou ekvivalentní):

$$V_s = V_c + \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1} \qquad V_s = V_c - \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1}$$

nový text: Objem vzorku ( $V_s$ ) je dán následujícím výrazem:

$$V_s = V_c - \frac{V_r}{\frac{P_i - P_r}{P_f - P_r} - 1}$$

str. 5001 (E)

**3.1.10 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na neinjekční vodné roztoky**

8. řádek zdola:

současný text: ... obsahuje asi 1,2  $\mu\text{g}$  vinylchloridu).nový text: ... obsahuje asi 1,2  $\mu\text{g}$  vinylchloridu). Nechá se 2 hodiny stát. Základní roztok vinylchloridu se uchovává v chladničce.

str. 5003 (E)

Odstavec **Absorbance roztoku S1**, 3. řádek:

současný text: ... až 310 nm není v žádném bodě spektra větší než 0,25.

nový text: ... až 310 nm není větší než 0,25.

Odstavec **Absorbance roztoku S2**, 2. řádek:

současný text: ... materiál v žádném bodě spektra větší než 0,2 ...

nový text: ... materiál větší než 0,2 ...

Odstavec **Extrahovatelné kadmium.**, 2. řádek:současný text: ... (2.2.23, *Metoda I*), ale s jedním porovnávacím roztokem.nový text: ... (2.2.23, *Metoda I*).

str. 5004 (E)

Odstavec **Základní roztok cínu.**, 1. a 2. řádek:současný text: 81 mg *diisooktyl-2,2'-[[dioktylstannandiyl(bis)thio]] diacetatu* obsahující asi 27 % *triisooktyl-2,2',2''-[[oktylstannantriyl]tris]thio]] triacetatu CRL* se v odměrné ...nový text: 81 mg *příslady polymeru 23 CRL* se v odměrné ...Odstavec **Extrahovatelný zinek.**, 2. řádek:současný text: ... (2.2.23, *Metoda I*), ale s jedním porovnávacím roztokem.nový text: ... (2.2.23, *Metoda I*).

str. 5005 (E)

**3.1.11 Materiály na bázi neměkčeného polyvinylchloridu pro obaly na suché lékové formy k perorálnímu podání**

24. řádek zdola:

současný text: ... obsahuje asi 1,2  $\mu\text{g}$  vinylchloridu).nový text: ... obsahuje asi 1,2  $\mu\text{g}$  vinylchloridu). Nechá se 2 hodiny stát. Základní roztok vinylchloridu se uchovává v chladničce.

str. 5007 (E)

Odstavec **Absorbance roztoku S1**, 3. řádek:

současný text: ... až 310 nm není v žádném bodě spektra větší než 0,3.

nový text: ... až 310 nm není větší než 0,3.

Odstavec **Absorbance roztoku S2**, 2. řádek:

současný text: ... v žádném bodě spektra větší než 0,5 ...

nový text: ... větší než 0,5.

Odstavec *Základní roztok cínu.*, 1. a 2. řádek:

současný text: 81 mg *diisooktyl-2,2'-[[dioktylstannandiyl]bis(thio)]diacetatu* obsahující asi 27 % *triisooktyl-2,2',2''-[[oktylstannantriyl]tris(thio)]triacetatu CRL* se v odměrné ...

nový text: 81 mg *přísady polymeru 23 CRL* se v odměrné ...

Odstavec *Extrahovatelný zinek.*, 2. řádek:

současný text: ... (2.2.23, *Metoda I*), ale s jedním porovnávacím roztokem.

nový text: ... (2.2.23, *Metoda I*).

str. 5281 (E)

**Zbytková rozpouštědla**

Odstavec **Volba 1**, rovnice (1):

současný text:

$$c = \frac{100 \cdot \text{PDE}}{\text{dávka}} \quad (1),$$

nový text:

$$c = \frac{1000 \cdot \text{PDE}}{\text{dávka}} \quad (1),$$

str. 5285 (E)

**Tab. 3**, 2. sloupec, 7. řádek:

současný text: methylether

nový text: terc.butylmethylether

str. 5292

**Tab. A3.1.**, 2. řádek:

současný text: tělesná hmotnost březí potkaní samice 430 g

nový text: tělesná hmotnost březí potkaní samice 330 g

str. 5395

3. řádek pod strukturním vzorcem:

současný text: ... -10H-1,21: ...

nový text: ... -10H,21H-1,21: ...

str. 5396 (E)

**Alcuronii chloridum**

Odstavec **Kysele nebo zásaditě reagující látky**, 2. řádek:

současný text: Přidá se 0,04 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*, ...

nový text: Přidá se 0,4 ml *hydroxidu sodného 0,01 mol/l VS*, ...

str. 5426 (E)

**Aminoglutethimidum**

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

současný text: ... Porovnávací roztok se připraví za použití 10 ml základního roztoku *olova (1 µg Pb/ml)*.

nový text: ... Připraví se porovnávací roztok (1 µg Pb/ml) zředěním základního roztoku *olova (100 µg Pb/ml)* směsí 15 ml *acetonu R* a 5 ml *vody R*.

str. 5431 (E)

**Amphotericinum B**

Odstavec **Zkoušky totožnosti, C**, 1. a 2. řádek:

současný text: K 1 ml roztoku 0,5 g/l zkoušené látky v *dimethylsulfoxidu R* se přidá 5 ml *kyseliny fosforečné R*, která vytvoří spodní vrstvu. ...

nový text: K 1 ml roztoku zkoušené látky (5 g/l) v *dimethylsulfoxidu R* se opatrně, aby nedošlo k promísení obou kapalin, přidá 5 ml *kyseliny fosforečné R*, která vytvoří spodní vrstvu.

str. 5456 (E)

**Benperidolum**

Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:

současný text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* ...

nový text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...

- str. 5468 (E) **Bromperidolum**  
Odstavec 6., 1. a 2. řádek:  
současný text: Na vrstvu se nanese odděleně po 1 µl každého roztoku a vyvíjí se směsí ...  
nový text: Na vrstvu se nanese odděleně po 1 µl každého roztoku a vyvíjí se v nenasycené komoře směsí ...  
Odstavec D, 1. řádek:  
současný text: 10 mg se rozpustí v 5 ml *ethanolu R*, ...  
nový text: Asi 10 mg se rozpustí v 5 ml *ethanolu R*, ...  
Odstavec E., 2. a 3. řádek:  
současný text: Ke zbytku se přidá *kyselina dusičná zředěná RS* a zfiltruje se.  
nový text: Zbytek se převede do 5 ml *kyseliny dusičné zředěné RS* a zfiltruje se.
- str. 5469 (E)  
9. řádek pod tabulkou:  
současný text: ... upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo program lineárního gradientu.  
nový text: ... upraví se koncentrace acetonitrilu v mobilní fázi nebo časový program lineárního gradientu.  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* a *2-butanonu R* (1 + 7) ...  
nový text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* a *2-butanonu R* (1 + 7) ...
- str. 5508 **Carbaethopendecinií bromidum**  
Odstavec **Vzhled roztoku**, 1. řádek:  
současný text: 2 g se rozpustí v 1 ml *vody R*. ...  
nový text: 2 g se rozpustí v 10 ml *vody R*. ...
- str. 5512 **Carbomera**  
poslední řádek:  
současný text: ... porovnávacího roztoku (0,025 %).  
nový text: ...porovnávacího roztoku (0,25 %).
- str. 5522 (E) **Cefuroximum axetili**  
Odstavec **Vlastnosti**, 1. řádek:  
současný text: Bílý nebo téměř bílý prášek.  
nový text: Bílý nebo téměř bílý amorfni prášek.
- str. 5534 (E) **Cera alba**  
Odstavec **Ceresin, parafiny a některé další vosky**, 4. a 5. řádek:  
současný text: ... Nevzniká sraženina při teplotě 59 °C až 65 °C; roztok může opalizovat.  
nový text: ... Při teplotě 59 °C až 65 °C vzniká sraženina.
- str. 5535 (E) **Cera flava**  
Odstavec **Ceresin, parafiny a některé další vosky**, 4. a 5. řádek:  
současný text: Nevzniká sraženina při teplotě 59 °C až 65 °C; roztok může opalizovat.  
nový text: ... Při teplotě 59 °C až 65 °C vzniká sraženina.
- str. 5547 (E) **Cholesterolum<sup>1)</sup>**  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje tímto textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.
- str. 5564 (E) **Clozapinum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,100 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové ledové R* a titruje se ...  
nový text: 0,100 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* a titruje se ...

- str. 5593 (E) Decylis oleas<sup>1)</sup>  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje tímto textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.
- str. 5611 (E) Dimeticonum  
Odstavec B:  
současný text: Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) vykazuje maxima při 2964 cm<sup>-1</sup> až 2905 cm<sup>-1</sup>, 1412 cm<sup>-1</sup>, 1260 cm<sup>-1</sup>, 1020 cm<sup>-1</sup>. Získané spektrum se shoduje spektrem materiálu zvoleného podle typu zkoušeného roztoku.  
nový text: Infračervené absorpční spektrum (2.2.24) se shoduje se spektrem *dimetikonu CRL*. Spektrum v rozmezí od 850 cm<sup>-1</sup> do 750 cm<sup>-1</sup> se nehodnotí. Získané spektrum se shoduje se spektrem materiálu zvoleného podle typu zkoušeného roztoku.
- str. 5643 (E) Erythropoietini solutio concentrata  
Odstavec B., 13. a 14. řádek:  
současný text: ... 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*.  
nový text: ... V lahvi s postranním tubusem se smíchá 9 g *močoviny R*, 6,0 ml *akrylamid-bisakrylamidu (36,5 : 1) 30% RS*, 1,05 ml 40% amfolytu (o pH 3 až 5), 0,45 ml 40% amfolytu (o pH 3 až 10) a 13,5 ml *vody R*.
- str. 5644 (E)  
Odstavec *Porovnávací roztok (c)*, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... vhodných pro kalibraci SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy v rozmezí 10 kD do 70 kD.  
nový text: ... vhodných pro kalibraci SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy v rozmezí od 10 kDa do 70 kDa.  
Odstavec *Porovnávací roztok (d)*, 2. řádek:  
současný text: ... vhodných pro kalibraci SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy v rozmezí 10 kD do 70 kD a ...  
nový text: ... vhodných pro kalibraci SDS-polyakrylamidové gelové elektroforézy v rozmezí od 10 kDa do 70 kDa a ...
- str. 5668 (E) Ethylis oleas<sup>1)</sup>  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje tímto textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.
- str. 5674 (E) Etilefrini hydrochloridum  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové ledové R* a ...  
nový text: 0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové bezvodé R* a ...
- str. 5687 (E) Eugenolum  
Odstavec **Vlastnosti**, 3. řádek:  
současný text: ... mísitelný s kyselinou octovou, ...  
nový text: ... mísitelný s kyselinou octovou ledovou, ...

str. 5692 (E)

**Fenbendazolium**

Tabulka se nahrazuje touto tabulkou:

Čas (min)	Mobilní fáze A % (V/V)	Mobilní fáze B % (V/V)	Poznámka
10 – 40	100 → 0	0 → 100	lineární gradient
40 – 41	0	100	izokraticky
41 – 50	0 → 100	100 → 0	ustalování

Odstavec **Těžké kovy**, 1. a 2. řádek:

současný text: ... K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (1 µg Pb/ml).

nový text: ... K přípravě porovnávacího roztoku se použijí 2 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

str. 5693 (E)

Odstavec **Nečistoty, B**:

současný text: R = Cl: methyl-[5(6)-chlorbenzimidazol-2-yl] karbamat.

nový text: R = Cl: methyl-[5-chlorbenzimidazol-2-yl] karbamat.

str. 5697 (E)

**Fenofibratum**Odstavec **Roztok S**, 1. a 2. řádek:

současný text: 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.

nový text: K 5,0 g se přidá 25 ml vody destilované R a zahřívá se 10 min při 50 °C. Po ochlazení se zředí stejným rozpouštědlem na 50 ml a zfiltruje se.

Odstavec **Halogeny**, 1. a 2. řádek:

současný text: K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml vody destilované R; roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g, vyjádřeno jako chloridy).

nový text: K 5 ml roztoku S se přidá 10 ml vody destilované R; roztok vyhovuje limitní zkoušce na chloridy (100 µg/g, vyjádřeno jako chloridy).

Odstavec **Sírany**, 1. a 2. řádek:

současný text: K 10 ml roztoku S se přidá 5 ml vody destilované R; roztok vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

nový text: 15 ml roztoku S vyhovuje limitní zkoušce na sírany (100 µg/g).

str. 5701 (E)

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

současný text: 0,200 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů kyseliny octové ledové R a 2-butanonu R (1 + 7) a titruje se ...

nový text: 0,200 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů kyseliny octové bezvodé R a 2-butanonu R (1 + 7) a titruje se ...

str. 5704 (E)

**Fenticonazoli nitras**Odstavec **Chromatografický postup**, 4. a 5. řádek:

současný text: - mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a tlumivého roztoku fosforečnaného připraveného takto: 34,0 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí ...

nový text: - mobilní fáze, která je směsí objemových dílů acetonitrilu R a tlumivého roztoku fosforečnaného připraveného takto: 3,4 g dihydrogenfosforečnanu draselného R se rozpustí ...

str. 5737 (E)

**Glucosum liquidum**

Odstavec 1., 1. a 2. řádek:

současný text: ... Obsahuje 70 % až 99,5 % sušiny. ...

nový text: ... Obsahuje nejméně 70 % sušiny. ...



str. 5738 (E)

Odstavec **Ztráta sušením**, 1. řádek:současný text: ... se smíchá se 3 g *křemeliny R* ...nový text: ... se smíchá se 3 g *křemeliny G R* ...Odstavec **Glukosový ekvivalent**, 9. a 10. řádek:současný text: Roztok vřanau měďnatého se potom titruje standardním roztokem, který obsahuje přesně 0,600 g *glukosy R* ve 100 ml *vody R* ( $V_0$ ).nový text: Roztok vřanau měďnatého se potom titruje standardním roztokem, který obsahuje 6,00 g/l *glukosy R* ( $V_0$ ).

str. 5743 (E)

**Glyceromacrogoli caprylocapras**

Tabulka 2., sloupec Číslo hydroxylové:

současný text:	nový text:
80 až 120	170 až 205
140 až 180	140 až 180
170 až 205	80 až 120

str. 5750 (E)

**Glyceromacrogoli stearas<sup>1)</sup>**Odstavec **Výroba** se nahrazuje tímto textem:Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

str. 5766 (E)

**Histidinum**Odstavec **Těžké kovy**:současný text: 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 (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).nový text: 2,0 g se rozpustí ve směsi 3 ml *kyseliny chlorovodíkové zředěné RS* a 15 ml *vody R*, zahřeje se, pokud je třeba a zředí se *vodou R* na 20 ml. 12 ml tohoto roztoku vyhovuje limitní zkoušce A na těžké kovy (10  $\mu\text{g/g}$ ). Porovnávací roztok se připraví za použití základního roztoku olova (1  $\mu\text{g Pb/ml}$ ).

str. 5783 (E)

**Insulinum<sup>1)</sup>**Odstavec **Výroba** se nahrazuje textem:Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.

Zvířata, ze kterých se insulin získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.

str. 5810 (E)

**Itraconazolum**Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:současný text: 0,300 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* ...nový text: 0,300 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...

str. 5815 (E)

**Ivermectinum**Odstavec **Specifická optická otáčivost**, 2. a 3. řádek:

současný text: ... a zředěním stejným rozpouštědlem na 50,0 ml.

nový text: ... a zředěním stejným rozpouštědlem na 10,0 ml.

str. 5823 (E)

**Jecoris aselli oleum (typus A)**

1. řádek, vypouští se text:

*Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavku článku.*

str. 5826 (E)

Odstavec *Čištění*, 2. a 3. řádek:současný text: ... naplněné *silikagelem kyansilanizovaným pro chromatografii R* (10 µm), ...nový text: ... naplněné *silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R* (10 µm), ...

str. 5830 (E)

**Jecoris aselli oleum (typus B)**

1. řádek nad obrázkem 1, vypouští se text:

*Následující vzor chromatogramu je pouze pro informaci a tato část není součástí požadavku článku.*

str. 5834 (E)

Odstavec *Čištění*, 2. a 3. řádek:současný text: ... naplněné *silikagelem kyansilanizovaným pro chromatografii R* (10 µm), ...nový text: ... naplněné *silikagelem nitrilovaným pro chromatografii R* (10 µm), ...

str. 5848 (E)

**Lactulosi solutio**Odstavec *Methanol*, 1. řádek:současný text: Stanoví se *head-space* plynovou chromatografií (2.2.28, *Metoda II*).nový text: Stanoví se *head-space* plynovou chromatografií (2.2.28).

str. 5849 (E)

17. řádek shora:

současný text: ... (50 µg/g, počítáno s hustotou methanolu ...

nový text: ... (30 µg/g, počítáno s hustotou methanolu ...

str 5864 (E)

**Macrogoli stearas<sup>1)</sup>**Odstavec *Výroba* se nahrazuje tímto textem:*Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.*

str. 5867 (E)

**Magnesii chloridum tetrahemihydricum**Odstavec *Draslík*, 6. řádek:

současný text: Měří se emisní intenzita při 768 nm.

nový text: Měří se emisní intenzita při 766,5 nm.

str. 5869 (E)

**Magnesii chloridum hexahydricum**Odstavec *Draslík*, 6. řádek:

současný text: Měří se emisní intenzita při 768 nm.

nový text: Měří se emisní intenzita při 766,5 nm.

str. 5922 (E)

**Metoclopramidum**Odstavec *Vzhled roztoku*, 1. řádek:současný text: 2,5 g se rozpustí v 25 ml *kyseliny chlorovodíkové 0,1 mol/l RS*.nový text: 2,5 g se rozpustí v 25 ml *kyseliny chlorovodíkové 1 mol/l RS*.

str. 5923 (E)

Odstavec *Stanovení obsahu*, 1. řádek:současný text: 0,250 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové ledové R* ...nový text: 0,250 g se rozpustí v 50 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...

str. 5927 (E)

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

současný text: K přípravě porovnávacího roztoku se použije 1 ml základního roztoku olova (10 µg Pb/ml).

nový text: K přípravě porovnávacího roztoku se použije základní roztok olova (1 µg Pb/ml).

- str. 5967 **Nitredipinum**  
Nečistota B, chemický název:  
současný text: R = CH<sub>3</sub>: ethyl-methyl-(4RS) ...  
nový text: R = CH<sub>3</sub>: dimethyl-(4RS) ...
- str. 5969 (E) **Norfloxacinum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,240 g se rozpustí v 80 ml *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,240 g se rozpustí v 80 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 5983 (E) **Omega-3-acidorum triglycerida**  
Obrázek 1, Vzorový chromatogram pro oligomery a parciální glyceridy tvoří závaznou část článku. Obrázek se přesunuje na str. 4612 (5980) před zkoušku Konjugované dieny
- str. 5989 (E) **Orthosiphonis folium**  
11. řádek zdola:  
současný text: ... nad touto skvrnou jsou dvě skvrny (modrá a fialová)  
nový text: ... nad touto skvrnou je jedna nebo dvě skvrny s více nebo méně intenzivní modrou až fialově modrou fluorescencí.
- str. 5996 (E) **Parnaparinum natricum<sup>1)</sup>**  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.  
Zvířata, ze kterých se parnaparin získává, musí splňovat požadavky oprávněné autority na zdraví zvířat určených pro konzumaci lidmi.
- str. 6025 (E) **Picotamidum monohydricum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,150 g se rozpustí ve směsi 20 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6026 (E)  
Odstavec Nečistota D:  
současný text: (3-pyridyl)methylamin.  
nový text: (pyridin-3-ylmethyl)amin.
- str. 6027 (E) **Pilocarpini hydrochloridum**  
1. řádek zdola:  
současný text: ... (asi 40 min). Zkoušku lze ...  
nový text: ... (asi 40 min). Jestliže jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek, jsou jednotlivé látky eluovány v následujícím pořadí: kyselina pilokarpová, kyselina isopilokarpová, isopilokarpin a pilokarpin. Zkoušku lze ...
- str. 6030 (E) **Pilocarpini nitras**  
5. řádek zdola:  
současný text: ... (asi 40 min). Zkoušku lze ...  
nový text: ... (asi 40 min). Jestliže jsou chromatogramy zaznamenávány za předepsaných podmínek jsou jednotlivé látky eluovány v následujícím pořadí: kyselina pilokarpová, kyselina isopilokarpová, isopilokarpin a pilokarpin. Zkoušku lze ...

- str. 6034 (E) **Pimozidum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,300 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6061 (E) **Prilocainum**  
4. řádek zdola:  
současný text: 2,5 mg zkoušené látky a 2,5 mg *prilocainu nečistoty E CRL* ...  
nový text: 2,5 mg zkoušené látky a 3,0 mg *prilocainu nečistoty E CRL* ...
- str. 6062 (E)  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,400 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,400 g se rozpustí ve 20 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6087 (E) **Pyridostigmini bromidum**  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,230 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,230 g se rozpustí v 10 ml *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6088 **Quinidini sulfas dihydricus**  
Odstavec **Zkoušky totožnosti**, B, 1. řádek:  
současný text: ... 0,2 ml *bromové vody RS* ...  
nový text: ... 0,2 ml *bromové vody R* ...
- str. 6092 **Quinini hydrochloridum dihydricum**  
Odstavec **Zkoušky totožnosti**, B, 1. a 2. řádek:  
současný text: ... 0,2 ml *bromové vody RS* ...  
nový text: ... 0,2 ml *bromové vody R* ...
- str. 6096 **Quinini sulfas dihydricus**  
Odstavec **Zkoušky totožnosti**, B, 1. řádek:  
současný text: ... 0,2 ml *bromové vody RS* ...  
nový text: ... 0,2 ml *bromové vody R* ...
- str. 6115 (E) **Salviae officinalis folium**  
3. řádek shora:  
současný text: ... drogy, obojí počítáno na sušinu.  
nový text: ... drogy, obojí počítáno na vysušenou drogu.  
Odstavec **Zkoušky totožnosti A.**, 1. řádek:  
současný text: Čepel listu je asi 2 cm až 10 cm dlouhá a 1 cm až 5 cm široká, ...  
nový text: Čepel listu je asi 2 cm až 10 cm dlouhá a 1 cm až 2 cm široká, ...  
Odstavec **Zkoušky totožnosti C.**, 4. řádek:  
současný text: ... 5 µl *thujonu R* a 25 µl *cineolu R* a se rozpustí ...  
nový text: ... 5 µl *thujonu R* a 2 µl *cineolu R* se rozpustí ...  
4. a 5. řádek zdola:  
současný text: ... thujonu o stejné nebo větší velikosti a intenzitě než odpovídající skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku.  
nový text: ... thujonu o přibližně stejné velikosti a intenzitě než odpovídající skvrny na chromatogramu porovnávacího roztoku. Jsou přítomny ještě další skvrny.

- str. 6121 Serpilli herba  
1. Odstavec, 2. řádek:  
současný text: ... nejméně 1 ml těkavých fenolů v 1 kilogramu silice, ...  
nový text: ... nejméně 1 ml těkavých fenolů v 1 kilogramu drogy, ...
- str. 6124 Silymarinum  
Odstavec **Chromatografický profil**, 1. odstavec:  
současný text: 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**.  
nový text: Podíl obsahových látek vyjádřený jako součet silybininu a isosilybininu (*silybin*) je nejméně 30,0 %, počítáno na vysušenou látku a obsahové látky celkově, vyjádřeno jako součet silybininu A, silybininu B, isosilybininu A, iso-silybininu B, silychristinu, silydianinu a taxifolinu je nejméně 58,0 %, počítáno na vysušenou látku, vzorce viz odstavec **Obsahové látky**.
- str. 6142 (E) Stearomacrogolum<sup>1)</sup>  
Odstavec **Výroba** se nahrazuje tímto textem:  
Kde je to vhodné, vyhovuje článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.
- str. 6144 (E) Sufentanili dihydrogenocitras  
Odstavec **Příbuzné látky**, 5. řádek:  
současný text: ... Pak se zneutralizuje 10,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* ...  
nový text: ... Pak se přidá 10,0 ml *hydroxidu sodného zředěného RS* ...
- str. 6145 (E)  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,400 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,400 g se rozpustí v 50 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6156 (E) Terconazolom  
Odstavec **Stanovení obsahu**, 1. řádek:  
současný text: 0,150 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové ledové R* ...  
nový text: 0,150 g se rozpustí v 70 ml směsi objemových dílů *kyseliny octové bezvodé R* ...
- str. 6164 (E) Thymi etheroleum  
Odstavec **Zkoušky totožnosti A** 2. a 3. řádek zdola:  
současný text: ... a hnědorůžová skvrna odpovídá thymolu. Bezprostředně pod těmito skvrnami je bledě fialová skvrna ...  
nový text: ... a hnědorůžová skvrna odpovídá thymolu. Bezprostředně pod ní je bledě fialová skvrna ...
- str. 6192 (E) Triflusalum  
Odstavec **Těžké kovy**, 1. řádek:  
současný text: 1,50 g se rozpustí v 9 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 15 ml.  
nový text: 2,0 g se rozpustí v 9 ml *lihu 96% R* a zředí se *vodou R* na 20 ml.
- str. 6214 (E) Tyrosinum  
Odstavec **Látky reagující s ninhydrinem**. *Zkoušený roztok (a)*, 1. řádek:  
současný text: ... a zředí se *vodou R* na 10 ml.  
nový text: ... a zředí se stejným rozpouštědlem na 10 ml.

- str. 6235 Xylosum  
Odstavec **Chloridy, 2. řádek:**  
současný text: ... chloridy (330 µg/ml).  
nový text: ... chloridy (330 µg/g).  
Odstavec **Těžké kovy, 1. řádek:**  
současný text: ... na těžké kovy (20 µg/ml).  
nový text: ... na těžké kovy (20 µg/g).
- str. 6268 (E) Vaccina ad usum humanum<sup>1)</sup>  
Odstavec začínající slovy: „Provedou se taková opatření .....“ se nahrazuje následujícím textem:  
Kde je to vhodné, látky používané při výrobě humánních vakcín vyhovují článku *Producta cum possibili transmissione vectorium encephalopathiarum spongiformium animalium*.
- str. 6272 Acidi borici aqua ophthalmica  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, B, 1. řádek:**  
současný text: ... a 0,2 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6273 Acidi borici oculoguttae  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, B, 1. řádek:**  
současný text: ... a 0,2 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6303 Chloramphenicoli oculoguttae  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, B, 1. a 2. řádek:**  
současný text: ... a 0,4 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,4 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6334 Kalii et natrii iodidi oculoguttae  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, F, 1. řádek:**  
současný text: ... a 0,2 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6336 Kalii iodidi oculoguttae  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, F, 1. řádek:**  
současný text: ... a 0,2 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6342 Natrii tetraboratis globulus  
Odstavec **Stanovení obsahu, 4. řádek:**  
současný text: ... odpovídá 9,535 mg ...  
nový text: ... odpovídá 95,35 mg ...
- str. 6343 Natrii tetraboratis oculoguttae  
Odstavec **Zkoušky totožnosti, C, 1. řádek:**  
současný text: ... a 0,1 ml *dithizonu RS*. ...  
nový text: ... a 0,2 ml čerstvě připraveného roztoku *dithizonu R* (0,05 g/l) v *chloroformu R*. ...
- str. 6345 Oculoguttae viscosae isotonicae  
Odstavec **Tetraboritan sodný, poslední řádek:**  
současný text: ... odpovídá 1,907 mg ...  
nový text: ... 19,07 mg ...

- str. 6361 **Solutio Galli-Valerio**  
Odstavec **Formaldehyd**, poslední řádek:  
současný text: ... hydroxidu sodného 0,5 mol/l ...  
nový text: ... hydroxidu sodného 0,5 mol/l VS ...
- str. 6417 (E) **Vaccinum hepatitis A inactivatum adsorbatum**  
Odstavec **Zkouška totožnosti**, 2. a 3. řádek:  
současný text: ... nebo zkouškou imunogenity na myších, popsanou v odstavci Stanovení účinnosti.  
nový text: ... nebo stanovením *in vivo* (2.7.14)
- str. 6441 **Vaccinum morbillorum vivum**  
4. řádek:  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .
- str. 6442 **Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum**  
Odstavec A, poslední a předposlední řádek:  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .
- str. 6443  
Odstavec B, poslední řádek:  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .  
Odstavec C, poslední řádek:  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .
- str. 6452 **Vaccinum parotitidis vivum**  
Odstavec **Stanovení účinnosti**, poslední řádek:  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .
- str. 6478 **Vaccinum rubellae vivum**  
Odstavec **Stanovení účinnosti**, 5. a 6. řádek:  
současný text: ... logaritmu koncentrace viru je nižší než  $\pm 0,3$ .  
současný text: ... logaritmu virové koncentrace je nejvýše  $\pm 0,3$ .
- str. 6491 **Zinci oxidi suspensio**  
Odstavec **Glycerol**, poslední řádek:  
současný text: ... odpovídá 9,209 ...  
nový text: ... odpovídá 9,209 mg ...

“

## Čl. II

Tato vyhláška nabývá účinnosti dnem vyhlášení.

Ministr:  
prof. MUDr. Fišer, CSc. v. r.



**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 2001 činí 3000,- 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. **Internetová prodejna:** www.sbirkyzakonu.cz – **Drobný prodej – Benešov:** HAAGER – Potřeby školní a kancelářské, Masarykovo nám. 101; **Bohumín:** ŽDB, a. s., technická knihovna, Bezručova 300; **Brno:** Vyšehrad, s. r. o., 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., Česká 3; **Hradec Králové:** TECHNOR, Hořícká 405; **Cheb:** EFREX, s. r. o., Karlova 31; **Chomutov:** DDD Knihkupectví – Antikvariát, Ruská 85; **Kadaň:** Knihařství – Příbíkova, J. Švermy 14; **Kladno:** eL VaN, Ke Stadionu 1953; **Klatovy:** Krameriovo knihkupectví, Klatovy 169/I.; **Liberec:** Podještědské knihkupectví, Moskevská 28; **Most:** Knihkupectví Šeříková, Ilona Růžičková, Šeříková 529/1057; **Napajedla:** Ing. Miroslav Kučeřík, Svatoplukova 1282; **Olomouc:** BONUM, Ostružnická 10, Tycho, Ostružnická 3; **Ostrava:** LIBREX, Nádražní 14, Profesio, Hollarova 14, SEVT, a. s., Nádražní 29; **Pardubice:** LEJHANEK, 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:** Dům učebnic a knih Černá Labuť, Na Poříčí 25, FIŠER-KLEMENTINUM, Karlova 1, KANT CZ, s. r. o., Hybernská 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, Puškinovo nám. 17; **Praha 8:** JASIPA, Zenklova 60; **Praha 10:** Abonentní tiskový servis, Háječek 40, Uhřetěves, BMSS START, areál VÚ JAWA, V Korytech 20; **Prerov:** 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:** Severočeská distribuční, s. r. o., Havířská 327, tel.: 047/560 38 66, fax: 047/560 38 77; **Zábřeh:** Knihkupectví PATKA, Žižkova 45; **Zatec:** 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. **Reklamacce:** 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.